



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

EFFECTO DE UNA ZONA DE SEGURIDAD EN UN EXHIBIDOR DE
BISONES AMERICANOS (*Bison bison*), EN EL ZOOLOGICO DE
CHAPULTEPEC, SOBRE SU COMPORTAMIENTO SOCIAL Y ESTRÉS.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

ISABEL JÁUREGUI MIER Y TERÁN

ASESORES:

MVZ MC MARCELA DEL ROSARIO GONZALEZ DE LA VARA
MVZ EDGAR ARTURO GAYOSSO DOMINGEZ

MÉXICO D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi papá, que siempre me apoyó y me cuidó, y aunque ya esta en el cielo yo se que lo sigue haciendo desde allá. Te extraño.

A mi mamá, que es mi ejemplo de mujer fuerte y que sin su apoyo y consejos no estaría aquí hoy. No sabes cuanto te quiero y te admiro.

A mi hermano, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, sabes que te quiero mucho.

A Alejandro, que es el amor de mi vida, gracias por estar siempre conmigo, apoyarme y entenderme, te amo muchísimo.

A Regina, Paulina, Joel y mis demás amigos, que me ayudaron y estuvieron conmigo durante este proceso y siempre. Los quiero.

A los bisontes del Zoológico de Chapultepec, ya que sin ellos este proyecto no hubiera sido posible.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores la MVZ Marcela González de la Vara y el MVZ Edgar Gayosso Domínguez, gracias por su tiempo, apoyo y consejos, sin ustedes no hubiera podido realizar y finalizar mi tesis.

Al MVZ Gerardo Tapia Hervet Calderón, gracias por su apoyo y consejos, fueron muy importantes para mi durante este proceso.

Al Zoológico de Chapultepec y su personal, que me apoyó y ayudó durante la realización de este proyecto.

A Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre (DGZVS), que autorizó la realización de la investigación y me dio las facilidades para llevarlo a cabo.

A la Dra. Marta Romano Pardo, que me facilitó las instalaciones de su laboratorio en el CINVESTAV del Instituto Politécnico Nacional.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, que me formó y me dio los conocimientos necesarios para poder desarrollarme en el ámbito laboral y en mi vida personal.

CONTENIDO

	Página
Resumen.....	6
Introducción	
- Situación actual del bisonte americano (<i>Bison bison</i>).....	7
- Hábitat y alimentación.....	7
- Reproducción.....	9
- Comportamiento social.....	9
- Bienestar y estrés.....	10
- Estrés crónico.....	13
- Pruebas para medir estrés.....	14
- Medición de sustancias en el pelo.....	14
- Planeamiento del problema.....	16
Hipótesis.....	17
Objetivo general.....	17
Objetivos específicos.....	17
Material y métodos	
- Lugar.....	18
- Animales, alojamiento y manejo.....	18
- Estudios de comportamiento.....	19
- Acondicionamiento de la zona de seguridad.....	20
- Toma de muestras.....	23
- Condición corporal.....	25
- Análisis estadísticos.....	25
Resultados.....	26
Discusión.....	28
Conclusiones.....	31
Referencias.....	32

FIGURAS

Página

Figura 1. Croquis del exhibidor.....	21
Figura 2. Esquemas de las sombras del exhibidor.....	22
Figura 3. Localización el alimento dentro del exhibidor.....	22
Figura 4. Tabla para la medición de condición corporal.....	25

ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de identificación y medición de condición corporal.	36
Anexo 2. Registro de actividades de mantenimiento.....	39
Anexo 3. Registro de comportamiento	40
Anexo 4. Etograma para bisontes en cautiverio.....	41
Anexo 5. Imágenes	
Imagen 1. Desgaste de las terrazas del exhibidor de bisontes americanos en el Zoológico de Chapultepec.....	45
Imagen 2. Sombras en el exhibidor	45
Imagen 3. Toma de muestras.....	46
Imagen 4. Toma de muestras (2).....	46
Imagen 5. Viales de vidrio para centelleo.....	47
Imagen 6. Vortex.....	47
Imagen 7. Secado de muestras con nitrógeno de alta pureza.....	48
Imagen 8. Estuche comercial Cort-CT2 de laboratorios Cisbio.....	48
Imagen 9. Frecuencia/hr. Promedio de conductas agresivas en los tres períodos de observación.....	49
Imagen 10. Frecuencia/hr. Promedio de conductas afiliativas en los tres períodos de observación.....	49
Imagen 11. Índices de competencia social.....	50
Imagen 12. Proporción de tiempo. Promedio de conductas de mantenimiento de los tres períodos de observación.....	50
Imagen 13. Condición corporal de los bisontes obtenida en los cuatro muestreos.....	51
Imagen 14. Condición corporal promedio de los bisontes.....	51
Imagen 15. Concentraciones de cortisol promedio en pelo (ng/ml).....	52

RESUMEN

JÁUREGUI MIER Y TERÁN ISABEL. Efecto de una zona de seguridad en un exhibidor de bisontes americanos (*Bison bison*), en el Zoológico de Chapultepec, sobre su comportamiento social y estrés (bajo la dirección de: MVZ MC Dra. Marcela del Rosario González de la Vara y MVZ Edgar Arturo Gayosso Domínguez).

En este estudio se acondicionó en el exhibidor de los bisontes americanos del Zoológico de Chapultepec una zona de seguridad con alimento y sombra, donde los individuos desplazados en las interacciones dominante-subordinado pudieran huir y refugiarse. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de esta zona de seguridad sobre el comportamiento social y de mantenimiento, la condición corporal y las concentraciones de cortisol en pelo como un indicador de estrés crónico. Se observaron directamente 4 bisontes americanos (*Bison bison*) machos en cautiverio durante 3 períodos de 30 días cada uno (antes, durante y después del acondicionamiento de la zona de seguridad). Diariamente se observó durante la mañana de 10:00 a 13:00 hrs. el comportamiento social y de mantenimiento. Antes y después de cada período de observación se midió la condición corporal y se obtuvieron las muestras de pelo con una rasuradora inalámbrica. Las concentraciones de cortisol en pelo se determinaron mediante Radio Inmunoanálisis. En los bisontes se observó una jerarquía social lineal que no cambió a lo largo del estudio. Después del acondicionamiento de la zona de seguridad, las conductas agresivas disminuyeron significativamente ($P < 0.05$) y aumentó la proporción de tiempo comiendo y echados ($P < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de cortisol en pelo a lo largo de la investigación (promedio \pm ES, 1er período 1.6509; 2do período 2.204; 3er período 1.834). La condición corporal mejoró en todos los ejemplares al final del estudio y se correlacionó positivamente con la jerarquía social.

1. Introducción.

1.1 Situación actual del bisonte americano (*Bison bison*)

El bisonte americano (*Bison bison*), es el mamífero terrestre más grande nativo de Norte América ¹, solía habitar en las planicies del Norte de México, Estados Unidos y Canadá ².

Durante el siglo XIX se encontró al borde de la extinción debido, entre otros factores, a la caza inmoderada, en la actualidad sólo habita libre en parques naturales, ranchos privados y en pequeñas poblaciones fragmentadas en Canadá³. En México se encuentra en la NOM-059-SEMARNAT-2001 catalogado como especie en peligro de extinción; habitan en cautiverio en ranchos comerciales al Norte del país y existe una población en vida libre en Janos, Chihuahua⁴. En la lista roja del UICN, está clasificado como amenazado y 21,000 de los ejemplares existentes se encuentra en programas de conservación y preservación; en los Estados Unidos existen 42 áreas destinadas a estos programas ⁵.

La Población de Estados Unidos y Canadá es de 600 000 – 720 000 individuos adultos, de los cuales el 95% son utilizados para la producción comercial de carne.

1.2 Hábitat y alimentación

Su hábitat consiste en praderas, pastizales y bosques; son considerados generadores de hábitat, esto quiere decir que no sobre pastorean y que por medio del pelo de sus patas delanteras ayudan a distribuir semillas².

Estos animales viven en condiciones climáticas muy extremas, su habilidad para tolerar las bajas temperaturas se debe a las características de su pelaje, ya que tiene 10 veces más folículos pilosos por cm² que los bovinos domésticos⁶.

Los bisontes son animales de gran tamaño, los machos llegan a pesar de 600- 860 kg y de altura llegan a medir hasta 190 cm, mientras que las hembras pesan entre 350- 550 kg en promedio.

Estos animales son rumiantes forrajeros no selectivos cuya alimentación se realiza principalmente durante la mañana, está se basa en pastos, líquenes y ocasionalmente algunos frutos⁷.

Por su tamaño, su digestión es más lenta y la comida permanece en el rumen más tiempo lo que produce un mejor uso de la microflora del tracto gastrointestinal. Se dice que son más eficientes que el ganado y otros ungulados para procesar dietas altas en fibra y bajas en proteína, esto es debido a que el nitrógeno en el rumen de los bisontes es limitado por lo que reciclan urea. En este proceso el amoníaco pasa las paredes del rumen y es transportado al hígado, el hígado convierte el amoníaco a urea, la cual es liberada en la sangre. La urea en la sangre vuelve al rumen vía saliva o a través de sus paredes. Cuando la urea regresa al rumen re-convertida en amoníaco, puede servir como una fuente de nitrógeno para el crecimiento bacteriano y mejorar la digestión².

Estos animales pasan la mayor parte del año adquiriendo y conservando energía en forma de grasa la cual es consumida rápidamente durante la época reproductiva, los machos maduros llegan a perder un mínimo del 10% de su peso disminuyendo su condición corporal¹.

No existen tablas para la medir condición corporal en los bisontes, sin embargo se han adecuado tablas de bovinos domésticos para estos animales⁸.

1.3 Reproducción

La época reproductiva de los bisontes americanos en Norte América ocurre entre los meses de junio y octubre, siendo su pico máximo a principios de agosto.

Las hembras alcanzan la madurez sexual entre los dos y tres años mientras que los machos maduran sexualmente a los 4 ó 5 años, pero no montan a las hembras hasta que tienen el tamaño necesario para competir por ellas, esto es aproximadamente a los 6 años⁹.

Son animales poliéstricos estacionales y tienen un período de gestación de 285 días. Las hembras paren una sola cría a la que lactan por un período de 6 a 8 meses, el becerro nace de color rojizo pero después de tres meses su pelaje comienza a obscurecer¹⁰.

1.3 Comportamiento social

Los bisontes son animales gregarios que se caracterizan por formar ya sea grupos constituido por hembras, machos menores de tres años y algunos machos viejos ó grupos de machos maduros solteros².

Las crías permanecen con sus madres de 9 a 14 meses, posteriormente, si son machos son expulsados al grupo de machos maduros y las hembras permanecen en el grupo donde compiten con las otras hembras para establecerse socialmente¹⁰.

El tamaño de la manada y su estructura cambian durante el año, ya que en la época reproductiva los machos adultos se integran al grupo de las hembras². En ambos grupos se crean jerarquías lineales de dominancia muy bien establecidas en cautiverio; sin embargo, en vida libre las jerarquías son muy inestables¹⁰.

En los machos la jerarquía dentro del grupo está directamente relacionada con el tamaño corporal y la edad, mientras que en las hembras solo está relacionado con la edad.

La jerarquía social para los machos es muy importante ya que puede influir sustancialmente en su comportamiento; es sabido que tanto en los bovinos domésticos como en los bisontes americanos, la formación de jerarquías sociales da origen a encuentros agresivos donde los individuos de baja jerarquía social tienen menos acceso a los recursos como alimento, agua, lugar de descanso y hembras para reproducirse¹⁰. Durante el establecimiento de las jerarquías sociales los niveles de estrés se incrementan, lo que tiene un efecto negativo sobre su bienestar predisponiéndolos a presentar enfermedades y a bajar su condición corporal^{11, 12}.

En bovinos domésticos, esta situación se ve acentuada si en una relación de dominancia el individuo subordinado no tiene un lugar a donde huir de sus agresores, llamado "Zona de seguridad". Esta zona es de vital importancia ya que es un lugar en donde los animales con menor jerarquía pueden evitar encuentros agresivos y continuar con sus conductas de mantenimiento como comer, beber y descansar, entre otras^{13,14}.

1.5 Bienestar y estrés

El bienestar ha sido definido como el estado del individuo en sus intentos por adaptarse al medio¹⁵.

La palabra estrés se refiere a la respuesta del organismo a estímulos nocivos los que se denominan “factores estresantes”.

El Síndrome general de adaptación (SGA), también conocido como síndrome del estrés, es lo que Hans Selye en 1936 señaló como el proceso bajo el cual el organismo afronta diferentes factores estresantes. Selye definió tres etapas para este proceso: Primero hay una “señal de alarma”, a partir de la cual el cuerpo se prepara para “la respuesta de defensa o la huida”. No obstante, ningún organismo puede mantener esta condición de excitación, por ello existe la segunda etapa que permite al mismo, sobrevivir a la primera, en ésta se construye una resistencia. Finalmente, si la duración del estrés es suficientemente prolongada, el cuerpo entra a una tercera etapa que es de agotamiento; una forma de envejecimiento debida al deterioro del organismo por mantener constante el desgaste durante la resistencia. El estrés para Selye podría ser cualquier cosa, desde la privación prolongada de alimento hasta la inyección de una sustancia extraña al cuerpo, inclusive, el ejercicio excesivo.

La respuesta al estrés no es específica, es decir, estímulos de una naturaleza muy distinta inducen una misma respuesta, y depende de varios factores, como la intensidad del estímulo, su duración, su predicción y su control¹⁶.

Los animales reaccionan al estrés con una serie de respuestas neurológicas por medio del sistema nervioso autónomo (SNA) y endócrinas por medio del eje hipotálamo-hipofisario-adrenocortical (HHA); ambos desvían energía de procesos no esenciales (crecer, digestión, reproducción), para resolver la situación estresante. Son capaces de producir metabolitos energéticos tanto de almacenamiento en tejidos (se movilizan lípidos de tejidos grasos y glucógeno del hígado), o transformando proteínas en metabolitos energéticos (gluconeogenesis, que es la conversión de ácidos grasos y aminoácidos en glucosa en el hígado). Esta fuente de energía es usada por los mecanismos de defensa para atacar al mecanismo estresor¹⁷.

El sistema nervioso autónomo regula el equilibrio interno, manteniendo los valores fisiológicos dentro de lo normal (homeostasis); este tiene dos grandes ramas, el sistema nervioso simpático y el sistema nervioso parasimpático. El sistema nervioso simpático, durante la etapa de alerta del estrés, se encarga del aumento de la frecuencia respiratoria, la presión arterial, la frecuencia y volumen de las contracciones cardíacas, la producción de glucosa en el hígado, del aporte sanguíneo del tejido muscular, la liberación de epinefrina de la médula suprarrenal, dilatación de las pupilas, la disminución del aporte sanguíneo en los órganos abdominales, riñones y piel.

Por el contrario, el sistema nervioso parasimpático controla la recuperación y relajación después de una situación estresante.

La activación del HHA se da tras un evento estresante, el cual estimula la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH). Esta hormona es sintetizada en neuronas especializadas del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), y liberada en la base de la eminencia media y llega a la glándula pituitaria vía circulación porta

hipotalámica-pituitaria estimulando la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). La ACTH es producida por células especializadas en el lóbulo anterior de la glándula pituitaria desencadenando la síntesis de cortisol en la zona fascicular de la corteza de las glándulas adrenales.

El cortisol es una hormona glucocorticoide, que produce aumento de la presión sanguínea, glucemia y suprime el sistema inmunológico¹⁸; tiene una actividad catabólica, proteolítica y lipolítica en tejidos periféricos, así como actividad anabólica en el hígado, incluyendo gluconeogénesis y síntesis de proteínas.

Su secreción es pulsátil y obedece a ritmos circadianos en bovinos y otras especies¹⁶.

Las concentraciones de cortisol son muy bajas durante el descanso y hay un aumento antes de que el periodo de actividad comience, esto se ha reportado en especies nocturnas y diurnas¹⁹.

1.6 Estrés crónico

A largo plazo tanto en los bovinos domésticos como en otras especies, la activación del HHA tienen efectos negativos sobre:

- La eficiencia reproductiva, disminuyendo los niveles de hormonas como la LH, FSH y testosterona²⁰.
- El sistema inmune, inhibiendo las funciones de las células de defensa como macrófagos, monocitos y células B y T haciéndolos más propensos a presentar enfermedades^{18, 21}.

- La movilización de la energía por parte del animal disminuyendo su condición corporal²².

Debido a que los glucocorticoides juegan una parte importante en la movilización de energía durante la gluconeogénesis, diferentes situaciones fisiológicas como la privación de comida, el ejercicio agudo, alta producción de leche, entre otros, involucran cambios en balances de energía y activa la respuesta al estrés aumentando la secreción de glucocorticoides^{23, 24, 25}.

El cortisol es el indicador más usado para medir estrés; se ha medido en bovinos en diferentes matrices biológicas como sangre, saliva y heces, sin embargo, sus episodios de liberación son irregulares y difíciles de interpretar¹⁶.

Debido a la organización del HHA, la liberación de corticosteroides al torrente sanguíneo y saliva es un proceso que toma algunos minutos de iniciado el evento estresante; la respuesta entonces prolongada inicia después de terminado el evento. Esta respuesta es generalmente evaluada midiendo niveles de corticosteroides en sangre al menos 10 minutos y en saliva 20 minutos después de que el animal fue expuesto por primera vez a esta situación.

La amplitud de la respuesta depende de la especie, probablemente en relación con los niveles basales de cortisol: en bovinos los niveles son muy bajos: 10-12 ng/L en sangre, y en saliva es el 10 % aproximadamente del nivel en sangre.

Si el disparo del estímulo es mantenido, el nivel de cortisol en plasma usualmente declina después de la respuesta aguda, por lo tanto, niveles de cortisol en sangre y saliva no son muy útiles para detectar situaciones de estrés crónico¹⁶.

1.7 Pruebas para medir estrés

Para medir las respuestas al estrés a largo plazo en bovinos, se ha usado la prueba de desafío a la ACTH; esta prueba consiste en la inyección IV de ACTH (dosis de 0.11- 0.5 UI/kg) y sucesivos muestreos sanguíneos para medir sus concentraciones de cortisol mostrando un pico 1 hora después de aplicada la ACTH^{25, 26}. Ésta es una prueba invasiva, cara y estresante para los animales.

Actualmente se ha desarrollado una técnica práctica, no invasiva y que no causa dolor al animal para medir estrés crónico en bovinos domésticos, esta es cuantificando las concentraciones de cortisol que se acumulan en el pelo²⁷.

1.8 Medición de sustancias en el pelo

Existen diferentes mecanismos por los cuales muchas sustancias se incorporan al pelo. Los folículos pilosos están rodeados por redes capilares, por lo que es sabido que diferentes sustancias son capaces de entrar a las células del pelo en crecimiento por difusión pasiva de la sangre, también las secreciones de las glándulas sebáceas unidas a cada folículo piloso y de glándulas sudoríparas cercanas bañan el tallo piloso en crecimiento por varios días antes de emerger por la piel^{28, 29}.

La retención de sustancias en el pelo depende de diversos factores, incluyendo su naturaleza química, su metabolismo y la condición física del pelo. Mientras la cutícula del pelo comienza a dañarse por diversos factores, se vuelve fácil para las

sustancias en la corteza ser eliminadas y es sabido que las concentraciones de estas descienden lentamente cuando el pelo se aleja de la raíz³⁰.

Los métodos mas usados para medir glucocorticoides en matrices biológicas son el Radioinmuno análisis (RIA), ELISA y la Cromatografía líquida de alta presión y detección de rayos UV.

El RIA es la técnica inmunológica más común para el análisis de hormonas en pelo, es capaz de medir pequeñas cantidades de hormona debido a que es muy sensible.

La esencia del radioinmuno análisis es la competencia entre un antígeno marcado (tracer o indicador) y un antígeno no marcado (hormona en la muestra) uniéndose a un anticuerpo. Debido a que esta técnica es altamente sensible, depende del uso de una cantidad limitada de anticuerpo. Si el anticuerpo principal está en exceso, hay una pequeña o no hay competencia de unión entre el antígeno indicador y el de la muestra, mientras que, si hay una cantidad limitada de anticuerpo, las muestras con alta concentración de hormona tienen una mejor oportunidad de competir contra el antígeno indicador por el anticuerpo unido que las muestras de menor concentración de hormona^{31, 32}.

El RIA asume que un antígeno puede ser ligado a una molécula radioactiva (³H o ¹²⁵I), y mantener actividad de unión; está compuesto por:

- Un anticuerpo, que es una inmunoglobulina producida en contra de un antígeno (s) específico.
- Un antígeno indicador, que esta marcado de tal manera que permite su detección, éste debe tener una estructura similar al antígeno no marcado (el contenido en la muestra), y generalmente es marcado con ¹²⁵I o ³H.

- Un antígeno estándar, es la hormona que se encuentra en las muestras que se obtuvieron del animal.
- Método de separación, que es la habilidad de separar la unión del complejo antígeno- anticuerpo por una hormona libre.

El desempeño del RIA puede ser afectado por una variedad de factores incluyendo, concentración del indicador, concentración del anticuerpo, tiempo de incubación, temperatura y cantidad de hormona, entre otros^{31, 32}.

1.9 Planteamiento del problema

En el exhibidor de los bisontes americanos (*Bison bison*), del Zoológico de Chapultepec, se cuenta con 4 ejemplares machos de entre 16 y 20 años de edad. En la competencia por los recursos como comida, lugares de descanso y agua, las conductas agresivas son cada vez más frecuentes causando lesiones y afectado sus conductas de mantenimiento.

En observaciones preliminares se encontró que los bisontes de baja jerarquía social eran frecuentemente agredidos y relegados a una fosa en la cual no hay sombras, acceso a bebederos ni alimento. Esto se vio reflejado en su condición corporal y lesiones que disparan mecanismos de estrés crónico disminuyendo así su nivel de bienestar.

En el exhibidor de los bisontes americanos del Zoológico de Chapultepec no se cuenta con una zona de seguridad.

En el presente estudio se propone el acondicionamiento de una zona de seguridad con agua, alimento y sombra en el exhibidor de los bisontes para que los individuos de baja jerarquía social tengan donde refugiarse de sus agresores.

2. Hipótesis

La presencia de una zona de seguridad en el exhibidor de bisontes americanos disminuirá las conductas agresivas, las concentraciones de cortisol acumulados en el pelo y mejorará la condición corporal de los bisontes.

3. Objetivo general

Evaluar el efecto de una zona de seguridad en un exhibidor de bisontes americanos (*Bison bison*), sobre las conductas agresivas y los niveles de cortisol en pelo.

3.1 Objetivos específicos

3.1.1 Comparar el comportamiento social y de mantenimiento de los bisontes americanos (*Bison bison*), antes, durante y después del acondicionamiento de la zona de seguridad en el exhibidor.

3.1.2 Evaluar las concentraciones de cortisol en pelo de bisonte americano (*Bison bison*), antes, durante y después del acondicionamiento de la zona de seguridad en el exhibidor como una variable de respuesta al estrés crónico.

3.1.3 Evaluar la condición corporal de los bisontes americanos (*Bison bison*), antes, durante y después del acondicionamiento de la zona de seguridad en el exhibidor como un indicador de la movilización de la reserva energética del animal.

3.1.4 Correlacionar las diferentes variables evaluadas entre ellas y con las concentraciones de cortisol obtenidas en las muestras.

4. Material y Métodos

4.1 Lugar

El presente estudio se realizó en el Zoológico de Chapultepec “Alfonso L. Herrera” ubicado en la avenida Chivatito s/n, primera sección del Bosque de Chapultepec, colindando con la calle de Reforma y la calle de Arquímedes en la delegación Miguel Hidalgo de la Ciudad de México, con una latitud de 19°N y altitud de 2235m sobre el nivel del mar; del día 14 de abril al 12 de agosto del 2009. Durante este periodo se presentó un clima templado con temperaturas que oscilaron entre los 18° y 24°C.

4.2 Animales, alojamiento y manejo

Se emplearon 4 bisontes americanos (*Bison bison*), machos, nacidos en el Zoológico de Chapultepec, dos de ellos en 1989 (20 años), uno en 1990 (19 años), y uno en 1993 (16 años).

A cada ejemplar se le asignó un número y se le identificó con fotografías laterales y del tren posterior para así poder medir su condición corporal desde el inicio del estudio (Anexo 1).

Los animales están alojados en un exhibidor de 25 m x 35 m aproximadamente con 3 niveles o terrazas, dos asoleaderos (5.5 m x 5.2 m), dos casas de noche (3.4 m x 5.2 m) y dos bebederos (1.30 m x 0.80 m). Al principio del estudio no se contaba con sombreaderos, solo con sombra natural la cual era insuficiente y las terrazas se encuentran desgastadas por el uso, entre otros factores (Anexo 5, imagen 1).

Los cuatro bisontes son alimentados por la mañana (10:00 am), primero con una paca de alfalfa achicalada y luego se coloca el resto de la alimentación (11:00 am),

que consiste en: 27 kg de zanahoria, 2 pacas de alfalfa achicalada y 20 kg de alimento balanceado para animales herbívoros (High Fiber Mazuri®).

La limpieza del exhibidor y casas de noche se realiza diariamente por la mañana (10:00 am).

4.3 Estudios de comportamiento

Una semana antes de iniciado el estudio se realizaron observaciones piloto con el método que se menciona más adelante, con el fin de adaptar un etograma validado para bovinos domésticos a bisontes americanos en cautiverio. (Anexo 2)

Se observaron a los bisontes 30 días antes (primer período), 30 días durante (segundo período), y 30 días después (tercer período) del acondicionamiento de la zona de seguridad. Las observaciones se hicieron directamente desde el techo de la casa de noche diariamente de 10:00 a 13:00 hrs (3 horas), por un período total de 90 días.

4.3.1 Comportamiento social

Se observaron directamente las conductas sociales agresivas (topeteos, desplazamientos y amenazas), y afiliativas (lamido social, acicalamiento).

De estas conductas se obtuvo la frecuencia / unidad de tiempo, el lugar donde se realizaban y se calcularon índices de comportamiento social³³, (índice de agresividad, índice de desplazamiento e índice de éxito) con las siguientes fórmulas:

Índice de agresividad (IA) = No de veces que agrede

No de veces que agrede+ No de veces que es agredida

Índice de desplazamiento (ID) = No de veces que desplaza

No de veces que desplaza+ No de veces que es desplazada

Índice de éxito (IE)= No de individuos que desplaza

No de individuos que desplaza+ No de individuos que lo desplazaron

4.3.2 Conductas de mantenimiento

Por medio de muestreo de barrido, cada 5 minutos se registraron las siguientes conductas de mantenimiento: rumiando (parados y echados), echados, comiendo, bebiendo, locomoción y rascado, y el lugar donde se desarrollaron dentro del exhibidor³⁴, de esta manera se obtuvo la proporción de tiempo en la que se desarrollaron conductas de mantenimiento (Anexo 3).

4.4 Acondicionamiento de la zona de seguridad

Se acondicionó una zona de seguridad dentro del exhibidor el día 30 de comenzado el estudio.

Esta zona se estableció en un lugar donde existe sombra natural, no interfiere con la vista del público y diariamente fue provista con comida (1 ración). Con la finalidad de evitar que la zona de seguridad se convierta en zona de conflicto debido a que tiene recursos como alimento y sombra, se colocaron en el exhibidor áreas sombreadas el día número 22 de comenzado el estudio con el propósito de que los bisontes se acostumbren a ellas antes de acondicionar la zona de seguridad. (Figura 1).

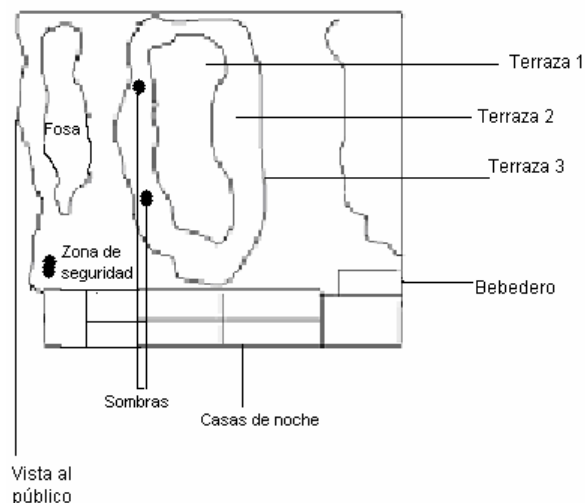


Figura 1. Croquis del exhibidor

Para construir las sombras se utilizaron diferentes materiales disponibles dentro del zoológico (Cuadro 1), y fueron hechas por personal de mantenimiento.

Cuadro 1.

Materiales para las sombras del exhibidor

Material	Cantidad	Medidas	Personal	Tiempo
Troncos de árbol	2	3 o 3.5mts	Jardinería	1 día
Cemento	2	Bulto	Mantenimiento	1 día
Estructura metálica	2	2 mts. Aprox.	Mantenimiento	Sin determinar
Palma	c.b.p.		Jardinería	1 día

* c.b.p -Cuanto baste para

Se cortó un árbol seco, obteniendo 2 troncos de 3 metros cada uno, los cuales se colocaron en el exhibidor enterrándolos como mínimo 1 metro en el suelo, posteriormente se colocó cemento para asegurar la estabilidad de la estructura de solera. (Anexo 5, imagen 2).

La estructura cuenta con un barreno al tronco con tubos de armazón de 1.20 m. en cada lado, dando una longitud total de 2.40 mts, también cuenta con soportes que van soldados a un cinturón de solera (Figura 2).

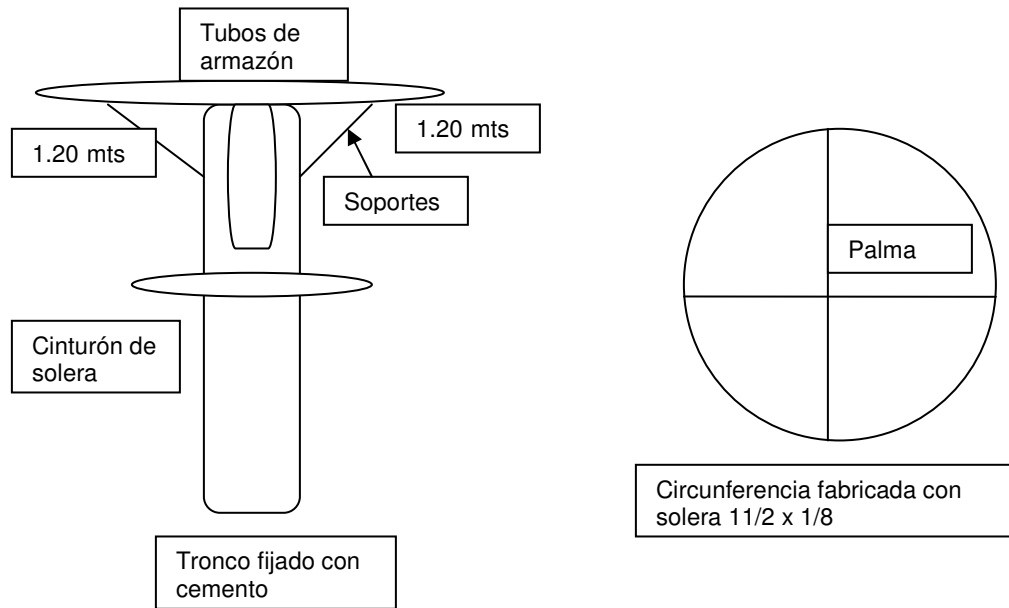


Figura 2. Esquema de las sombras del exhibidor.

El alimento fue colocado con la misma cantidad de grano, zanahoria y alfalfa en varios lugares (Figura 3), con la finalidad de que los bisontes tuvieran acceso a este recurso de manera equitativa: esto se realizó a partir del mismo día del acondicionamiento de la zona de seguridad.

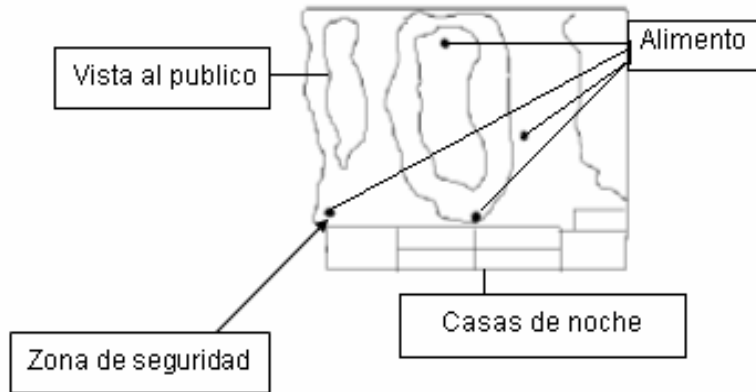


Figura 3. Localización del alimento dentro del exhibidor

4.5 Toma de muestras

Las muestras de pelo se obtuvieron los días 0, 30, 60 y 90 del estudio para lo cual se encerraron a los 4 ejemplares, 2 en casas de noche y 2 en corrales para minimizar riesgos tanto para el animal como para el manejador. Desde el techo de la casa de noche se tomó una muestra (5 g) del costado derecho de cada animal con una rasuradora eléctrica inalámbrica unida a un tubo de metal de 3 m de largo aproximadamente (Anexo 5, imagen 3 y 4).

Las muestras fueron guardadas en bolsas de plástico Zip-lock a temperatura ambiente e identificadas con el número del bisonte, número de muestra y la fecha del muestreo.

Posteriormente cada muestra fue limpiada (se retiraron ramas y restos de alimento manualmente), cortada con tijeras (2mm de longitud aproximadamente) y fueron almacenadas e identificadas con número del bisonte, número de muestra y fecha del muestreo en papel aluminio dentro de bolsas Zip-lock.

De cada muestra se pesaron 500 mg, se incubaron a temperatura ambiente con 20 mL de metanol (EMD, Canadá), en viales de vidrio para centelleo (Anexo 5, imagen

5). Las muestras se agitaron suavemente durante una hora en un vortex (Anexo 5, imagen 6), se incubaron a temperatura ambiente (22°C) durante 18 horas y se volvieron a agitar durante tres horas^{35, 36, 37}.

Posteriormente se decantaron durante una hora en tubos cónicos de borosilicato, se vertió el contenido en viales de vidrio para centelleo donde se secaron con nitrógeno de alta pureza. (Anexo 5, imagen 7)

Como indicador de estrés, se midieron las concentraciones de cortisol acumuladas en el pelo de los bisontes mediante radioinmunoanálisis con un estuche comercial Cort-CT2 de laboratorios Cisbio® (Imagen 8), en el laboratorio de la Dra. Marta Romano Pardo, CINVESTAV- IPN.

4.5.1 Radioinmuno análisis (RIA)

Los extractos de 500 mg de pelo fueron resuspendidos en 100 µL de buffer RIA y analizados por duplicado mediante RIA usando el estuche comercial con ¹²⁵I, siguiendo las instrucciones del fabricante.

El ensayo está basado en la competición entre el cortisol marcado radiactivamente y el cortisol contenido en los estándares o en las muestras frente a una cantidad dada y limitada de sitios de unión del anticuerpo anti-cortisol fijados en la fase sólida (tubos recubiertos).

La cantidad de cortisol marcado unido al anticuerpo es inversamente proporcional a la cantidad de cortisol no marcado presente en el ensayo.

El ensayo utiliza anticuerpo de conejo anti-cortisol altamente específico para cortisol y tiene reacciones cruzadas con Fludrocortisona en un 12.1%, 5α Dihidro cortisol en un 8.8%, 21-Desoxycortisol en un 8.6%, corticosterona en un 2.8% y de menos del

1% con otros esteroides endógenos (aldosterona, corticosterona, cortisona, dexametasona, estradiol y estrona, entre otros), como lo especifica el fabricante. Los puntos de la curva estándar del ensayo comercial son 0, 20, 75, 500, 2000 nmol/l mismos que se usaron sin modificaciones en este estudio. Las mediciones fueron hechas con un contador de rayos gamma marca Cobra II Auto Gamma Counting System. Packard Inst. Canberra Company®.

Las concentraciones de cortisol presentes en cada una de las muestras se determinaron calculando el porcentaje de unión de esta hormona al anticuerpo específico para cortisol en fase sólida³¹, de esta manera se construyó por regresión lineal la curva estándar de cada ensayo usando el programa estadístico Stat View®, 1996, para Macintosh.

4.6 Condición corporal

Como un indicador de la movilización de reservas energéticas de los bisontes se midió la condición corporal los días 0, 30, 60 y 90 del estudio por medio de tablas ya existentes para bovinos domésticos³⁸, (Figura 4), las cuales fueron usadas en bisontes hembra gestantes⁸.

GUÍA RÁPIDA DE EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL									
C.C.	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
Costillas Visibles	todas	todas	casi	3-5	1-2	0	0	0	0
Columna Visible	++++	+++	++	+	no	no	no	no	no
Grasa en encoladura	no	no	no	no	no	no	+	++	+++
Pérdida de músculo	+++	++	+	no	no	no	no	no	no

Figura 4. Tabla para la medición de condición corporal^{38, 8.}

4.7 Análisis estadísticos

Los datos que presentaron una distribución normal se analizaron mediante Análisis de Varianza con medidas repetidas en tiempo y prueba de Tukey para comparación de medias; como pruebas estadísticas para medir el tipo de distribución que tienen los datos, se usaron Sesgo y Curtosis; para correlacionar los datos de conducta, concentraciones de cortisol y condición corporal, se utilizó la prueba de Spearman correlations; los datos obtenidos de comportamiento social y mantenimiento no tuvieron una distribución normal, por lo que para hacer las comparaciones entre periodos e individuos se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, posteriormente para hacer las comparaciones post hoc entre periodos se utilizó la prueba de U de Mann Whitney.

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa estadístico Stat View® 1996, para Macintosh.

5. Resultados

5.1 Comportamiento social

En cuanto a las interacciones agresivas, no se observaron diferencias significativas en la frecuencia de amenazas y desplazamientos, en ninguno de los periodos de observación $P < 0.05$; sin embargo la frecuencia de topeteos fue diferente en los tres periodos de observación, destacando una disminución significativa hacia el tercer período $P > 0.05$ (Anexo 5, imagen 9).

No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de interacciones afiliativas (lamer, oler, entre otras), en ninguno de los tres períodos (Anexo 5, imagen 10).

Basados en los índices de competencia social (índice de agresividad, índice de desplazamiento e índice de éxito), se observó una jerarquía social claramente lineal en el grupo y estadísticamente se mostró una diferencia significativa entre los bisontes. El bisonte 4 presentó los mayores índices de competencia social seguido del bisonte 3, el bisonte 1 y el bisonte 2 que fue el omega del grupo; esta jerarquía no se modificó durante ninguno de los períodos de observación $P > 0.05$ (Anexo 5, imagen 11).

En todos los períodos la mayor frecuencia de interacciones agresivas (topeteos y amenazas), se presentó en la mañana (10:00 a 11:30) cuando se ofrecía el alimento y después de comer.

5.2 Conductas de mantenimiento

Se encontraron diferencias significativas en el número de veces que se observaron a los bisontes parados, echados y comiendo, en el tercer período en comparación con los períodos 1 y 2 $P < 0.05$ (Anexo 5, imagen 12). Sin embargo no se encontraron diferencias significativas en el número de veces que se les observó rascándose, en locomoción, bebiendo y rumiando (parados o echados) en los 3 períodos de observación $P > 0.05$ (Anexo 5, imagen 12).

5.3 Condición corporal

En cuanto a la condición corporal no se mostraron diferencias significativas en ninguno de los muestreos realizados (antes y después de cada período de observación), (Anexo 5, imagen 13). Sin embargo, en el tercer periodo el bisonte 1, el bisonte 2 y el bisonte 4, aumentaron su condición su corporal 0.5 puntos, mostrándose principalmente en el área de la encoladura y en fosa del ijar (Anexo 1, medición de condición corporal)

Se observaron diferencias significativas en cuanto a la condición corporal entre bisontes, siendo el bisonte 1 el de menor condición corporal y el bisonte 4 el de mayor condición corporal $P = 0.0001$. (Anexo 5, imagen 14).

Al correlacionar la condición corporal con los índices de competencia social, se observó que existe una correlación positiva entre la condición corporal y los índices de éxito $P = 0.01$, índice de agresividad $P = 0.01$ e índice de desplazamiento $P = 0.01$.

Dentro de las conductas de mantenimiento se encontró una correlación positiva de la condición corporal con el tiempo que permanecen echados rumiando $P = 0.0043$

5.4 Concentración de cortisol en pelo

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de cortisol en el pelo de los bisontes en ninguno de los 4 muestreos realizados antes y después de cada período de observación (Anexo 5, imagen 15).

Las concentraciones de cortisol en el pelo de los bisontes no se encontraron correlacionadas significativamente $P > 0.05$, con el comportamiento social, de mantenimiento y la condición corporal

6. Discusión

Pocos estudios se han realizado sobre las jerarquías de dominancia social en bisontes tanto en vida libre como en cautiverio^{6, 10, 25}. En el presente estudio las jerarquías sociales en un grupo de 4 machos, medidas por los índices de competencia social (índice de agresividad, índice de desplazamiento e índice de éxito), fueron claramente lineales, no se modificaron durante el estudio y se encontraron correlacionadas positivamente con la condición corporal; es decir que los animales de mayor jerarquía tenían mayor condición corporal. Estos mismos hallazgos fueron reportados por Roden *et al.* (2005), donde observaron en bisontes machos alojados en una reserva natural que los individuos con mayor rango social eran los más pesados ($P=0.0001$). Sin embargo, Lott (2002) y Creel (2001), observaron que las jerarquías sociales en una manada de bisontes en vida libre eran inestables y no lineales; esto puede deberse a la presencia de las hembras, ya que la estructura de los grupos sociales en vida libre cambia durante el año debido a la época reproductiva y a los cambios de estación. En el Zoológico de Chapultepec no

hay hembras; probablemente este factor influye en que no hayan cambios en la estructura del grupo. Cabe mencionar que los bisontes del Zoológico de Chapultepec nacieron en este mismo exhibidor y por lo tanto han permanecido en el mismo grupo por muchos años.

Algunos autores mencionan que los bisontes viejos en vida libre viven solos y evitan en lo posible las interacciones agresivas con otros individuos^{1, 25, 10}; contrario a lo observado en nuestro estudio, donde los bisontes son adultos maduros y viejos (16-20 años) y sí compiten por los recursos. Por otro lado, Roden (2005), encontró que en un grupo de bisontes de entre 2 y 9 años de edad, los individuos de mayor edad tenían un rango social más elevado; sin embargo en la presente investigación, la edad no se encontró correlacionada con la jerarquía social, probablemente porque el rango de edades es muy corto en el grupo.

En este trabajo se observó una mayor frecuencia de interacciones agresivas durante el período de alimentación, estas mismas conductas se han observado en bovinos domésticos^{39, 40}; al parecer el alimento es el recurso por el que se presentan más relaciones de dominante-subordinado, incluso más que por el agua de bebida. Esto mismo se ha observado en bovinos domésticos incluso en pastoreo^{41, 12, 42}. Val Laillet (2008), encontró que en vacas el 87.6% de las interacciones agresivas con desplazamientos se dan por competencia en el acceso al alimento. En vida libre, los bisontes pelean más por pequeñas parcelas de pasto que por un gran territorio en particular⁶. En este trabajo las frecuencias de interacciones agresivas como los topeteos, disminuyeron significativamente en el tercer período de observación, reduciendo así las probabilidades de lesionarse. Además, al disponer de una zona de seguridad, los individuos de baja jerarquía social pueden escapar y obtener alimento

sin tener que competir por él con animales más grandes, viéndose esto reflejado en el aumento de la condición corporal de los bisontes (Anexo 1, medición de condición corporal), y en la proporción de tiempo comiendo y echados (Anexo 5, imagen 12), lo que tiene un efecto positivo sobre su bienestar²³. Por otro lado, con la presencia de la zona de seguridad, el bisonte de mayor rango social ya no tiene que proteger su alimento de los otros miembros del grupo, lo que representaría un gasto de energía adicional^{6, 10, 41, 25}

En la literatura consultada no se encontraron estudios acerca del comportamiento afiliativo en bisontes; en este trabajo encontramos que al igual que en los bovinos domésticos, las interacciones afiliativas (lamido social y olerse) fueron menos frecuentes que las interacciones agresivas y éstas se dirigieron hacia la cabeza y el cuello^{43, 44, 45}.

En esta investigación, no se pesaron a los animales por cuestiones logísticas, por esa razón se usaron tablas para medir condición corporal en bovinos adaptada para bisontes machos³⁸. No sabemos por lo tanto, cuál es la condición corporal óptima en los bisontes. Es necesario realizar estudios al respecto por tiempo prolongado manteniendo a los bisontes en condiciones adecuadas (alimento, sombras, entre otros), y por medio de observaciones frecuentes establecer cuál es la condición corporal óptima en estos animales.

La medición de cortisol en pelo se ha usado en otras especies como un indicador de estrés crónico (macacos⁴⁶, humanos²⁹entre otras). Se trata de una técnica no invasiva, en la cual la muestra de pelo es relativamente fácil de obtener, no causa dolor en el animal y es fácil de transportar y almacenar. En la literatura consultada no se han reportado datos sobre la medición de las concentraciones de cortisol en pelo

de bisontes americanos (*Bison bison*), únicamente Mooring *et al.* (2006), reportaron metabolitos de cortisol en heces. En la presente investigación encontramos que en el pelo de estos animales se acumula el cortisol como tal.

En este estudio no se encontraron diferencias en los niveles de cortisol entre individuos ($p > 0.05$), ni entre períodos de observación. Contrario a lo reportado por Mooring *et al.* (2006), donde encontró que los niveles de cortisol fecal en bisontes estaban correlacionados positivamente con la jerarquía social. Por otro lado debemos tomar en cuenta que a pesar de que en el tercer período disminuyó la frecuencia de interacciones agresivas en el grupo y los bisontes descansaron y comieron más tiempo, ésto pudo no verse reflejado en las concentraciones de cortisol en pelo debido a que en este período (julio-agosto), comienza la época reproductiva lo que puede aumentar los niveles de cortisol circulante.

7. Conclusiones

A pesar de que no se mostraron diferencias estadísticas antes y después del acondicionamiento de la zona de seguridad; a lo largo del estudio se observó que la presencia de esta área en el exhibidor disminuye las interacciones agresivas, así como aumenta los tiempos de descanso y comida; por lo tanto, mejora la condición corporal de los individuos: disminuyendo el riesgo de presentar lesiones mejorando así su bienestar.

En este estudio se presentaron por primera vez reportes sobre el comportamiento afiliativo de esta especie; también se midieron por primera vez las concentraciones de cortisol en pelo de bisonte americano, lo cual servirá en estudios posteriores sobre estrés crónico en estos animales.

Es necesario realizar estudios a largo plazo y en mayor número de ejemplares sobre las interacciones sociales de los bisontes y su relación con el estrés crónico.

8. Referencias

1. Lott D.F. American bison socioecology. *Applied Animal Behaviour Science* 1991, 29: 135-145.
2. Committee on the status of endangered wildlife in Canada. Assessment and status report on the plains bison (*Bison bison bison*) in Canada. Canada; COSEWIC 2004
3. National Bison Association, About bison 2009, Febrero-Abril (Citado 2002), Disponible en URL : <http://www.bisoncentral.com/>.
4. Ceballos, G y Oliva G. Los mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Fondo de Cultura Económica México, 2005
5. Gates, C. & Aune, K.. *Bison bison*. In: IUCN 2008. 2008 IUCN Red List of Threatened Species.
6. Lott D.F.. American bison: A Natural History. University of California Press, London, England 2002. 229 pp.
7. Larter, N. C., and C.C. Gates. Diet and habitat selection of wood bison in relation to seasonal change in forage quantity and quality. *Canadian Journal of Zoology* , 1991, 69(10):2677-2685.
8. Crudeli G.A; Pellerano, G.S; Olazarri, M.J; Konrad, J.L:2008, Efecto de diferentes variables sobre la preñez en bisontas sometidas a sincronización del celo e inseminadas artificialmente a tiempo fijo. Catedra teriogenología, Facultad de ciencias veterinaria. Universidad Nacional del Noreste Sargento Cabral, Corrientes, Argentina. *Rev. vet.* 2008.19: 1, 14–17.

9. Meagher, M., "Bison bison." Mammalian Species. The American Society of Mammalogists, 1996, 266.
10. Roden C., Vervaecke H., Van Elsacker L., Dominante age and weight in American bison males (*Bison bison*) during non rut in semi-natural conditions. Applied Animal Behaviour Science; 2005, 92: 169-177.
11. Hasegawa, N., Nishiwaki, A., Sugawara K Ito. The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behavior and adrenocortical response. Applied Animal Behaviour Science 1997, 51:15-27.
12. González, M., Yabuta A.K., Galindo F. Behaviour and adrenal activity of first parturition and multiparous cows under a competitive situation. Applied Animal Behaviour Science. 2003. 259-266.
13. Bouissou, M.F., Boissy, A., Le Neindre, P., Veissier, I. 2001. The social behavior of cattle. In: L.J. Keeling and Gonyou (eds). Social behaviour in farm animals. CAB, International, Wallingford, UK.
14. Bavera G.A, 2007, Etología aplicada en producción bovina, Disponible en URL:http://www.engormix.com/etologia_aplicada_a_produccion_s_articulos_1356_GDL.htm
15. Broom D.M., Johnson K.G. Stress and animal Welfare. Chapman and Hill. 1993.
16. Mormède, P., Andanson, S., Auperin, B., Beerda B., Guémené D., Malmkvist J., Manteca X., Manteuffel G., Prunnet, P. Van Reenen C.G., Richard, S., Veissier, I. Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal functions as a tool to evaluate animal welfare. 2007.92:317-339.

17. Tresguerres J.A.F., Fisiología humana, Mc Graw Hill , Tercera edición, Madrid España. 2008
18. Johansson A., Daily and Seasonal Rhythms of Melatonin, Cortisol, Leptin, Free Fatty Acids and Glycerol in Goats, Department of Basic Veterinary Sciences Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki Finland, 2008.
19. Greco D, GH Stabenfeldt. 2002. Glándulas endocrinas y su función. En: Cunningham JG (ed). Fisiología Veterinaria. Pp 456 – 495. McGraw – Hill Interamericana, México.
20. Hein K.G., Allrich R.D. Influence of exogenous adrenocorticotropic hormone on estrous behavior in cattle. Journal of Animal Science. 1992. 70: 243-247
21. Sapolsky, R.M. 1992. Neuroendocrinology of the stress response. In behavioural Endocrinology, Eds. Becker, J.B. Bredovle, S.M. and Crews, D. Massachussets Institute of Technology, Cambridge, Massachussets
22. Clark, C.F.E., Fulkerson, W.J., Nandra, K.S., Barchia, I., Macmillan, K. L.The use of indicators to assess the degree of mobilization of body reserves in dairy cows in early lactation on a pasture-based diet. 2005. Livestock Production Science. 94: 199-211.
23. Jahn E., Arredondo S., Bonilla W., Del Pozo A.; Effect of temperature and energy supplementation on milk production of grazing dairy cows. Instituto de investigaciones Agropecuarias, Quilamapu, Chile. 2006. 370(1-2):17-49
24. Creel S. Social Dominance and Strees Hormones. TREE. 2001. 16: 491-497
25. Mooring MS., et al. Glucocorticoids of bison bulls in relation to social status. Hormones and Behaviour, 2006. 49: 369-375

26. Lay, D.C. Friend, T.H., Randel, R.D., Jenkins, O.C., Nevendorff, D.A. Kapp, G.M. and Bushong, D.M. Adrenocorticotrophic hormone dose response and some physiological effects of transportation on pregnant Brahman cattle. *Journal of Animal Science*. 1996. 74: 1806-1811.
27. González, M., Valdez, R., Lemus, V., Vázquez, J.C., Villa-Godoy A., Romano P.M. Measurement of cortisol in hair as a method to differentiate acute from chronic stress in dairy heifers. *Proceedings of the XXIV World Buiatrics Congress*. Niza France 2006. 419.
28. Raul, J.-S., Cirimele, V., Ludes, B., & Kintz, P. Detection of physiological concentrations of cortisol and cortisone in human hair. *Clin Biochem*, 2004. 37, 1105-11.
29. Kirschbaum C., Tietze A., Skoluda N., Dettenborn L., Hair as a retrospective calendar of cortisol production—Increased cortisol incorporation into hair in the third trimester of pregnancy, *Psychoneuroendocrinology*, 2009. 34, 32—37
30. Pragst, F. and Balikova, M.A. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta*, 2006. 370, 17-49.
31. Zambrano A.F. y Díaz S.V. El radioinmunoanálisis y su control de calidad. Centro Nuclear de México Nabor Carrillo e Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. México. 1996.
32. Brown JL, Walker S, Steinman K; *Endocrine Manual For Reproductive Assessment Of Domestic And Non-Domestic Species*, Conservation and Research Center, Conservation & Research Center Smithsonian's National Zoological Parke, Faculty of Veterinary Medicine; Chiang Mai University, Thailand 2004, 53-55

33. Beilharz R.G and Mylrea P.J. Social position and behvio of dairy heifers in yards. *Animal Behaviour*. 1963, 11:522-528.
34. Martin P., Bateson P. *Measuring Behaviour an introductory guide*. London Cambridge University Press. 1994
35. Gaillard Y, Vaysette F, Gilbert P. Compared interest between hair analysis andurinalysis in doping controls. Results for amphetamines, corticosteroids and anabolic steroids in racing cyclists. *Forensic Science International*. Vol 107. Issues 1-3. In January 2000: 361-379.
36. Spiehler V.Hair analysis by immunological methods from the beginning to 2000. *Forensic Science International*. Vol 107, Issues 1-3. Jan 2000:249-259.
37. Koren L., Mokady O., Karaskov T., Klein J., Koren G., Geffen E. A novel method using hair for determining hormonal levels in wildlife. *Animal Behaviour* 2002. 63: 403-406.
38. Ferguson J.D.,Galligan D.T., Thomsen N. Principal descriptions of body conditions score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 1994. 77. 2695-2703.
39. Manson, F.J., Appleby M.C. Spacing of cows at a food trough. *Applied Animal Behaviour Science*. 1990. 26:69-81
40. Val-Laillet D, Veira D.M., Von Keyserlingkt M.A. Dominance in Free-Stall–Housed Dairy Cattle Is Dependent upon Resource. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91: 3922-3926.
41. Phillips CJ., Rind M.I., The effects of social dominance on production and behavior of grazing dairy cows offered forage supplements. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85: 51-59.

42. González-de-la-Vara M, De Anda FJ, Vázquez ChJC, Romano CM, Vill-Godoy A. Grouping primiparous dairy cows: behaviour, production performance and cortisol in serum and hair . Proceedings of the 42nd Congress of the ISAE. University College Dublin, Ireland 5-9 August 2008. 82.
43. Reinhardt, V., Reinhardt, A., Cohesive relationships in a cattle herd (*Bos indicus*). *Behavior.*, 1981, 77:121-151.
44. Sato, S., Tarumizu, K., Hatae, K. The influence of social factors on allogrooming in cows. *Applied Animal Behaviour Science.*1993, 38:235-244.
45. Val-Laillet D, Guesdon V., Von Keyserlingk M., Pasillé A., Rushen J. Allogrooming in cattle: Relationships between social preferences, feeding displacements and social dominance. *Applied Animal Behaviour Science.* 2009, 116:141-149.
46. Davenport MD, Tiefenbacher S, Lutz CK, Novak MA, Meyer JS. Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *Gen Comp Endocrinol.* 2006 Jul;147(3):255-61.

Anexo 1
Fotografías de identificación



Foto 1 Bisonte 1



Foto 2 Bisonte 2



Foto 3 Bisonte 3



Foto 4 Bisonte 4

Fotografías de evaluación de condición corporal



Foto 5 Bisonte 1 CC 2.5
Primer período



Foto 6 Bisonte 1 CC 3
Tercer período

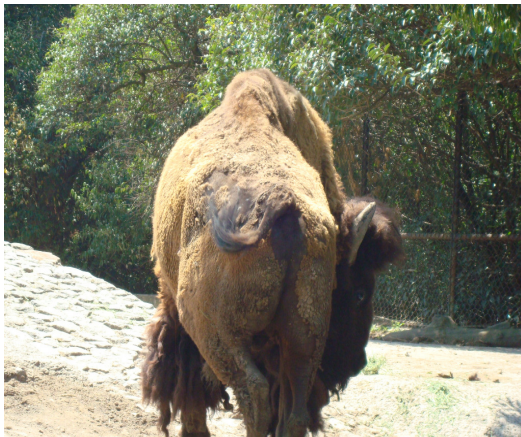


Foto 7 Bisonte 2 CC 3
Primer período



Foto 8 Bisonte 2 CC 3.5
Tercer período



Foto 9 Bisonte 3 CC 3.5
Primer período



Foto 10 Bisonte 3 CC 3.5
Tercer período



Foto 11 Bisonte 4 CC 4.5
Primer período



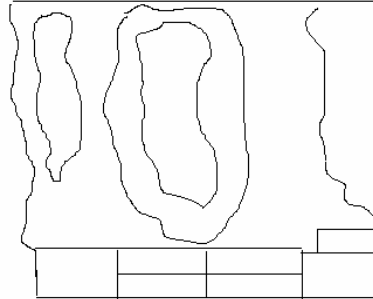
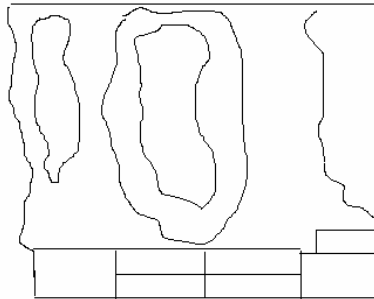
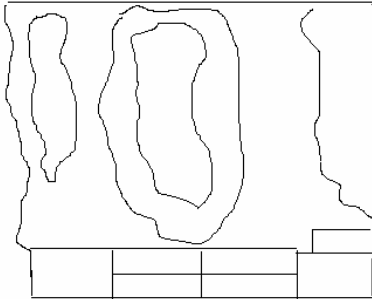
Foto 12 Bisonte 4 CC 5
Tercer período

Anexo 2
Registro de actividades de mantenimiento
FECHA: **T°:**

HORA:

HORA:

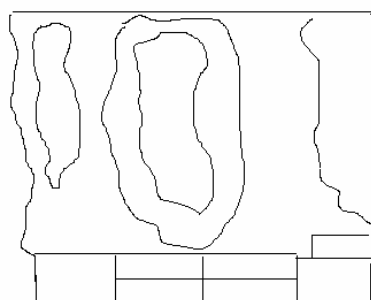
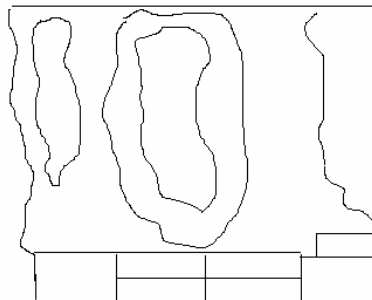
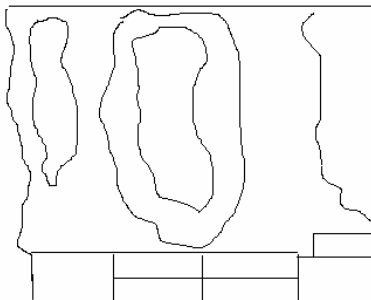
HORA:



HORA:

HORA:

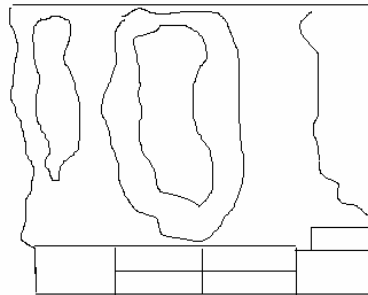
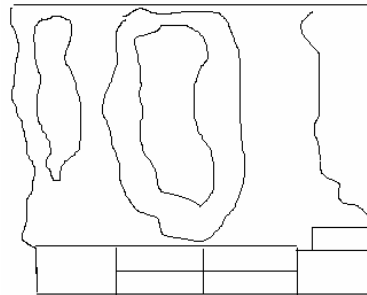
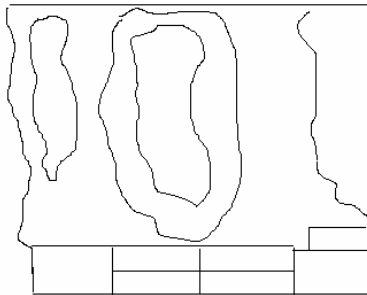
HORA:



HORA:

HORA:

HORA:



Anexo 4

Etograma para bisontes en cautiverio

Comportamiento social: Interacciones agresivas, evasivas y de lamido social. Estos comportamientos se refieren a la agresión, evasión y pacificación que ocurren entre miembros del hato.

1- Amenazar (A). Bisonte que voltea hacia o se acerca a otro individuo con la cabeza baja y embiste sin tener contacto con el otro bisonte.

2- Topetear cabeza y cuello (TC-C). El bisonte hace contacto cabeza con cabeza o con el cuello de otro bisonte.

3-Topetear cuerpo (T-B). El bisonte usa la frente para hacer contacto con el cuerpo (que no sea cabeza o cuello) de otro bisonte.

4- Ignorar (I). El bisonte no muestra ninguna respuesta al comportamiento social de otro individuo dirigido hacia ella.

5- Evadir (E). El bisonte se retira del otro individuo en respuesta a la conducta que éste emite.

Interacciones sociales no agresivas: Se refiere a interacciones sociales afiliativas de las que se medirá frecuencia/unidad de tiempo y duración.

1- Lamer. El bisonte pone la lengua sobre el cuerpo de otro bisonte, así tenemos: Lamer cabeza (LC), Lamer cuello (LcII), Lamer flanco (LF), Lamer rabo (LR), Lamer lomo (LI), Lamer pata (Lp).

2- Solicitar lamido (SL). El bisonte acerca cualquier parte de su cuerpo mostrando sumisión.

3- Oler. El bisonte pone la nariz sobre el cuerpo de otro bisonte. Así tenemos: Oler cabeza (OC), Oler cuerpo (Ob) cuando el bisonte pone su nariz sobre cualquier parte de del cuerpo de otro bisonte, excepto cabeza, ano y nariz, Oler nariz con nariz (On-n) cuando el bisonte pone la nariz en la nariz de otro bisonte.

Comportamiento de mantenimiento: Se realizará un escaneo c/5 minutos de (9:00 a 12:00 hrs) para obtener la proporción de tiempo y el lugar donde se realizan dichas conductas.

1- Echado (E). El bisonte se encuentra echada en el exhibidor.

2- Echado rumiando (ER). El bisonte se encuentra echado y presenta movimientos de masticación propios de la rumia.

3- Echado comiendo (Eco). El Bisonte se encuentra echado y come.

3- Parado (P). El bisonte se encuentra parado en el corral.

4- Parado rumiando (PR). El bisonte se encuentra parado y presenta movimientos de masticación propios de la rumia.

5- Locomoción (L). El bisonte se encuentra caminando o corriendo en el exhibidor.

6- Comiendo (Co). El bisonte se encuentra comiendo.

7- Bebiendo (B). El bisonte se encuentra tomando agua del bebedero.

Consecuencia de las interacciones sociales:

1- Desplazamiento (D). El bisonte receptor de la interacción social es desplazado de forma inmediata (no más de 3 seg.) del lugar que estaba ocupando.

2- Nuevo comportamiento (NC). El emisor y el receptor realizan un comportamiento nuevo no listado en este etograma después de la interacción en un tiempo no mayor de 3 seg.

3-Fin del comportamiento (F). El bisonte deja de hacer el comportamiento que estaba realizando en un tiempo no mayor de 3 seg.

Adaptado de:

González, M., Yabuta A.K., Galindo F. 2003. Behaviour and adrenal activity of first parturition and multiparous cows under a competitive situation. Applied Animal Behaviour Science. 259-266.

Anexo 5 Imágenes



Imagen 1. Terrazas desgastadas del exhibidor de bisontes americanos en Zoológico de Chapultepec.



Imagen 2. Sombras en el exhibidor



Imagen 3. Toma de muestras, la cual se realizó con una rasuradora eléctrica inalámbrica unida a un tubo de metal

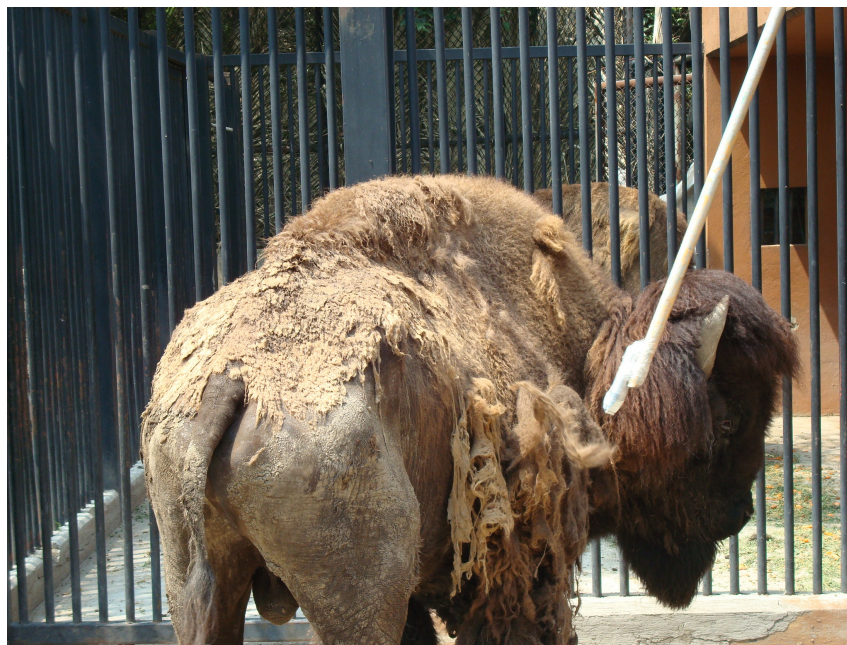


Imagen 4. Toma de muestras (2)



Imagen 5. Viales de vidrio para centelleo, en los cuales las muestras se incubaron con metanol



Imagen 6. Vortex en el que se agitaron suavemente las muestras

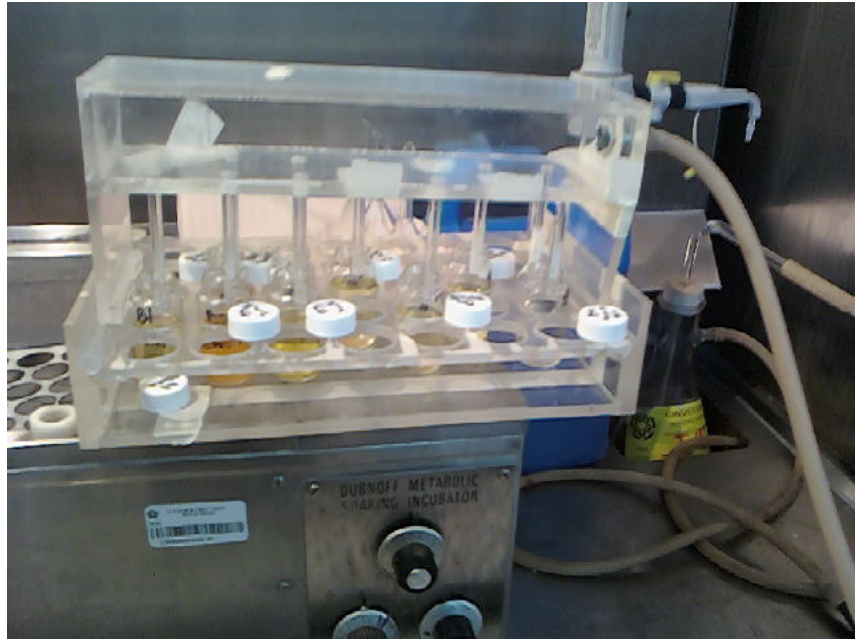
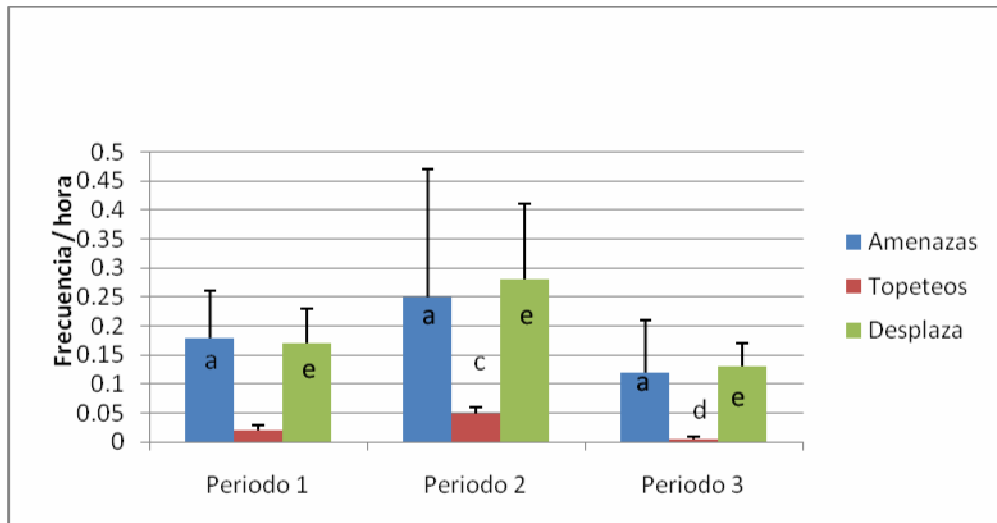


Imagen 7. Secado de muestras con nitrógeno de alta pureza.

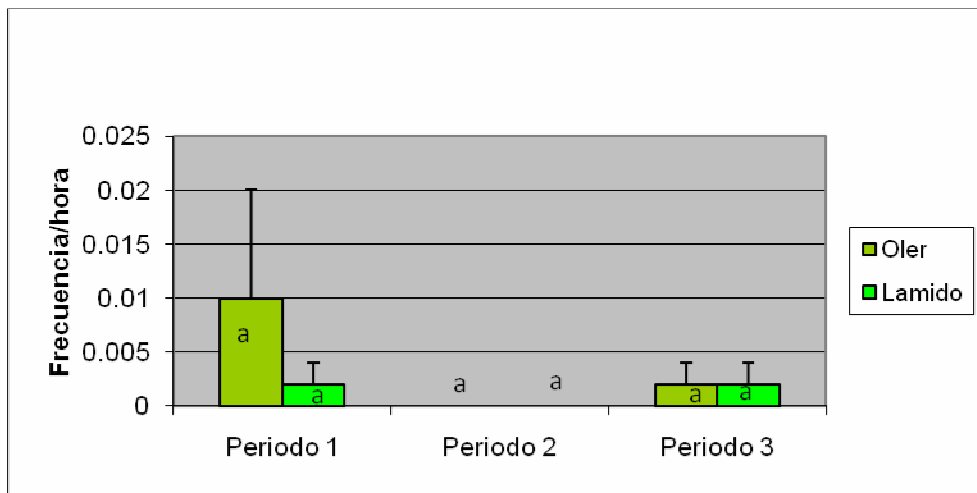


Imagen 8. Estuche comercial Cort-CT2 de laboratorios Cisbio®



Letras diferentes $p < 0.05$

Imagen 9. Frecuencia/hr. Promedio de conductas agresivas en los tres períodos de observación. Antes de la adecuación de la zona de seguridad (período 1), durante la adecuación (período 2), y después de la adecuación (período 3).



Letras diferentes $p < 0.05$

Imagen 10. Frecuencia/hr. Promedio de conductas afiliativas en los tres períodos de observación. Antes de la adecuación de la zona de seguridad (período 1), durante la adecuación (período 2), y después de la adecuación (período 3).

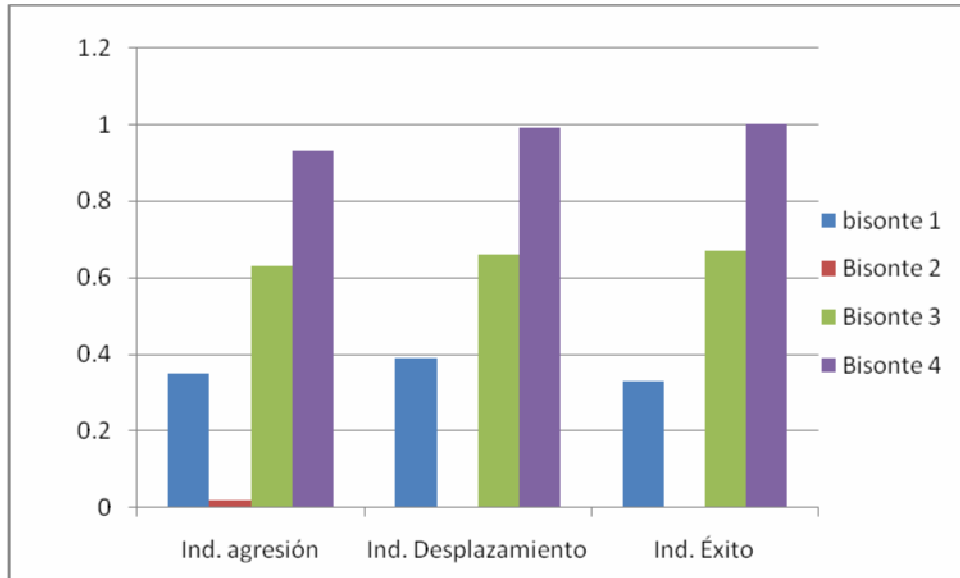


Imagen 11. Índices de competencia social: índice de agresión, índice de desplazamiento e índice de éxito del bisonte1, bisonte 2, bisonte 3 y bisonte 4, durante el desarrollo del estudio.

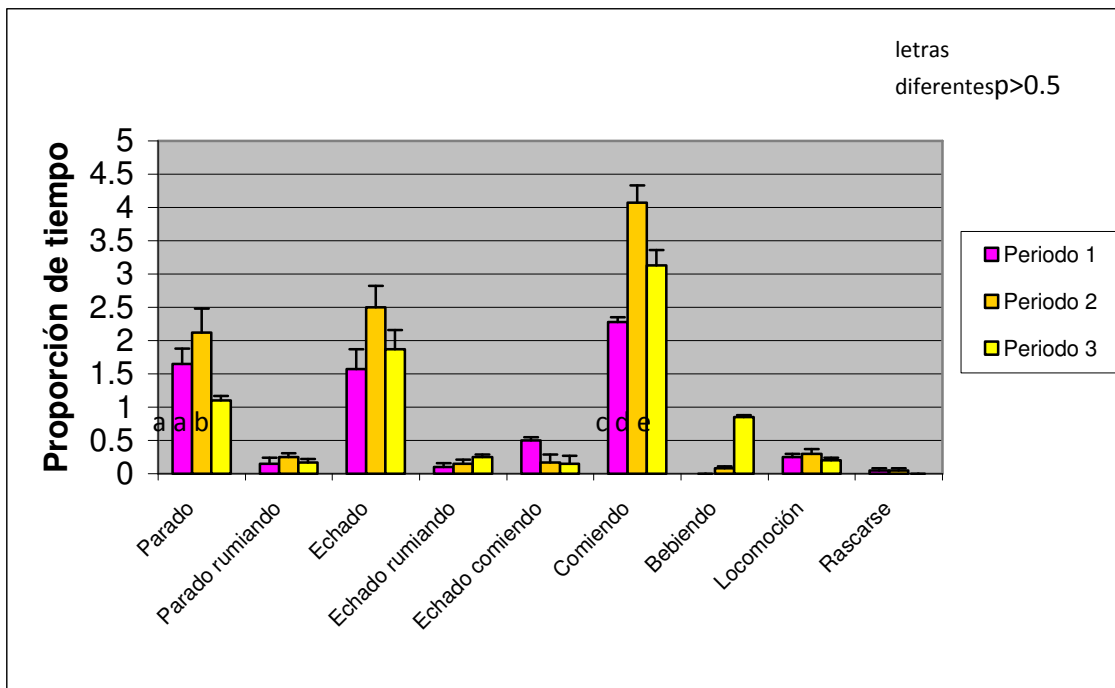


Imagen 12. Proporción de tiempo. Promedio de conductas de mantenimiento en los tres períodos de observación. Antes de la adecuación de la zona de seguridad (período 1), durante la adecuación (período 2), y después de la adecuación (período 3).

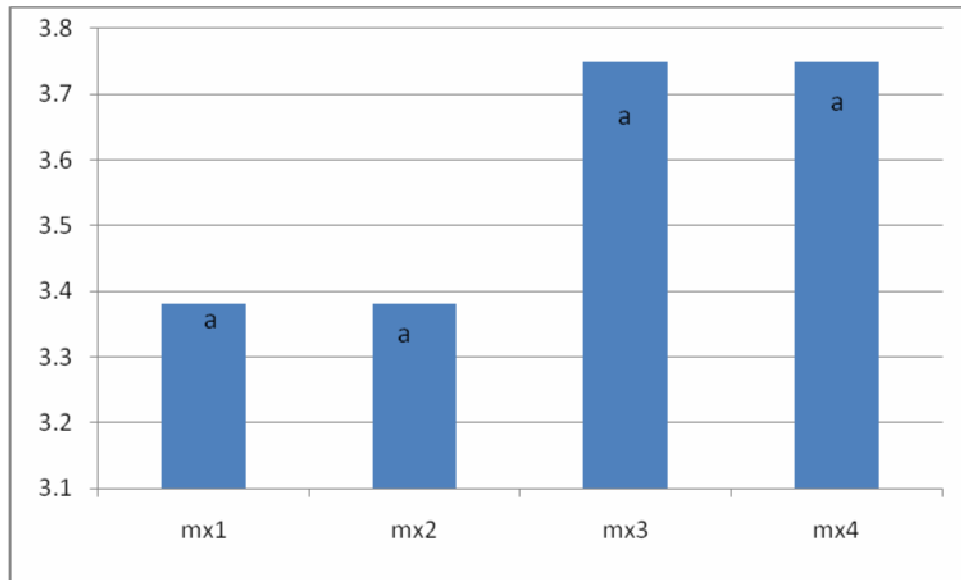


Imagen 13. Condición corporal promedio de los bisontes obtenida en los cuatro muestreos.
Letras diferentes = $p > 0.85$

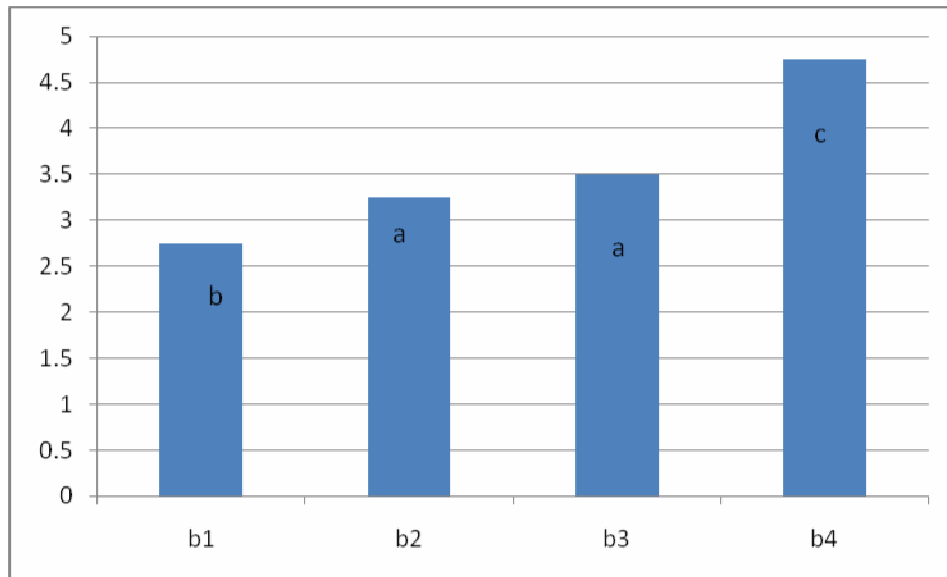


Imagen 14. Condición corporal promedio de cada bisontes.
Letras diferentes = $p > 0.0001$

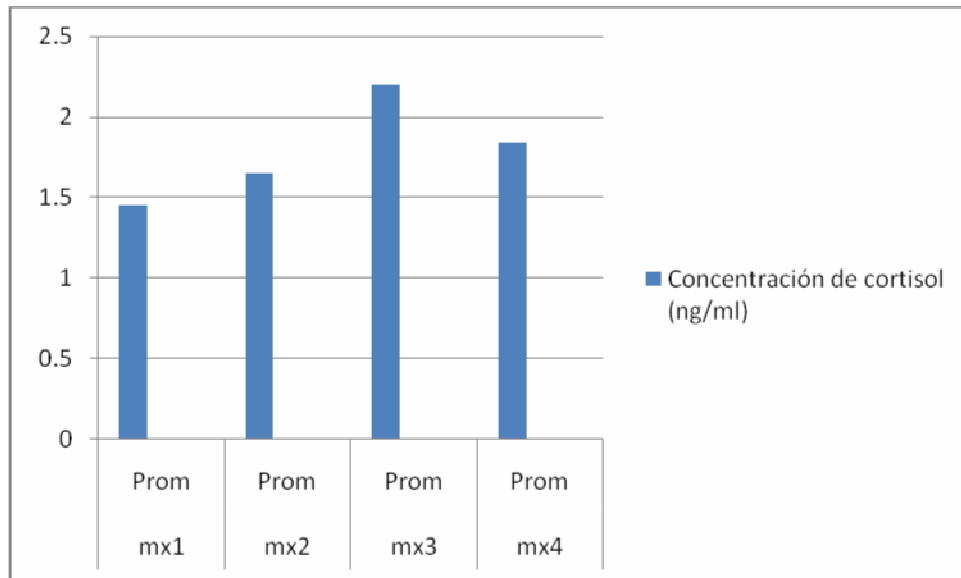


Imagen 15. Concentraciones de cortisol promedio en pelo (ng/ml), obtenidas al inicio y al final de los tres períodos.