



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL
MADURACIÓN SEXUAL EN ELEFANTES AFRICANOS (*Loxodonta*
***africana*) EN CAUTIVERIO.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

SINUÉ DAVID GARCÍA DELGADO

TUTOR PRINCIPAL:

MARTA C. ROMANO PARDO CINVESTAV

COMITÉ TUTORIAL:

MARIO PEREZ MARTINEZ FMVZ-UNAM

FRANCISCO A. GALINDO MALDONADO FMVZ-UNAM

MÉXICO, CD-MX OCTUBRE DE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

I. DEDICATORIAS

A mi madre Beatriz Delgado por estar conmigo y apoyarme en cada paso de mi vida.

A Quetzalli Hernández por el gran impulso y luz que has dado a mi vida.

A mi hermano Atahualpa O. García por impulsarme a seguir adelante.

A mis primos Emanuel y Luis Reséndiz por estar a mi lado y apoyarme en todo momento.

A mi Familia por estar siempre conmigo.

A Gerardo Martínez por la Hermandad que tenemos y ser un ejemplo a seguir por la labor trascendental que desempeña.

II. AGRADECIMIENTOS

A mi madre por apoyarme durante toda mi vida y ser un pilar en mi vida.

A Quetzalli Hernández por estar ahí conmigo en los momentos más difíciles y acompañarme en mis locuras y necesidades.

A mi Hermano Atahualpa García y su esposa Liliana por el apoyo y ser parte de mi vida.

A mi primo Luis Reséndiz por los consejos y el apoyo durante etapas muy difíciles en mi vida.

A Mi familia por todo el apoyo que me han dado.

A mi asesora la Dra. Marta Romano por dirigir este proyecto que se volvió una realidad.

A Frank Carlos Camacho por permitirme y apoyarme en el desarrollo de este trabajo.

A Gerardo Martínez mi mentor, amigo y “hermano” por todos los consejos, regaños y paciencia que has tenido conmigo.

A la Dra. Mariana Pedernera por el apoyo y consejos que brindo durante el desarrollo de este trabajo.

Al MVZ Enrique Olloqui por el apoyo y consejos que brindo durante el desarrollo de este trabajo.

Al Staff de entrenadores de elefantes africanos de Africam Safari por su colaboración en este trabajo.

A Africam Safari por el apoyo económico y facilitar el trabajo con los ejemplares de elefante africano (*Loxodonta africana*)

A Ricardo A. Valdez por el apoyo y experiencia aportados durante el desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Anne Sisto por todo el apoyo, consejos y amistad que me ha brindado desde la licenciatura.

A la Dra, Marcela González de la Vara por todo el apoyo, consejos y amistad que me ha brindado desde la licenciatura.

A la Dra. Susana Rojas por el apoyo y consejos que me ha brindado.

A la Dra. Alejandra Hernández por todo el apoyo, consejos y amistad que me ha brindado desde la licenciatura.

A Julio Adrián González por la amistad de tantos años, el apoyo y consejos.

A Indolfo García por la amistad de tantos años, el apoyo y consejos.

Al Dr. Navarro por los consejos y amistad.

III. RESUMEN

El Elefante africano (*Loxodonta africana*) es una especie emblemática de África y de gran importancia para su entorno ecológico, catalogada como vulnerable en la lista roja de la IUCN, y dentro del apéndice II de CITES. Es una especie muy versátil se localiza en gran variedad de ecosistemas, desde bosques hasta en desiertos. Está amenazado principalmente por el conflicto con el humano (Caza furtiva y fragmentación de su hábitat). Los zoológicos tienen un rol muy importante en la conservación de ésta y muchas especies más, a través de educación de los visitantes, y programas de manejo por condicionamiento operante por refuerzo positivo (CO-RP), así como programas de reproducción. Esto es muy importante dado que la reproducción del elefante en cautiverio es compleja, al ser la especie de mamífero terrestre que posee el ciclo estral más largo, con una duración de 12 a 18 semanas, y una gestación prolongada de 22 meses, teniendo 1 sola cría por parto. Este proyecto tuvo como propósito evaluar a un grupo de 9 individuos de la especie, 3 machos y 6 hembras para conocer la etapa reproductiva en la que se encuentra cada ejemplar. En el estudio se determinaron las concentraciones de esteroides sexuales y gonadotropinas (Testosterona en machos, P4, LH y FSH para hembras) en suero obtenido de muestreos sanguíneos, y se correlacionaron con observaciones conductuales registradas cada 15 días durante un periodo de 12 meses. Así mismo se hicieron zoometrías y estudios de ultrasonografía transrectal por CO-RP para medir las estructuras del tracto reproductor. Se observó que los machos presentaron patrones de secreción de Testosterona similares al de machos adultos africanos, pero nunca alcanzaron valores de periodo de "musth". Las hembras no presentaron patrones de secreción hormonal (P4, FSH y LH) correspondientes al de ejemplares adultas ciclando. Sin embargo se encontraron diferencias entre los individuos de mayor edad y los más jóvenes por lo que se concluye que los machos y la hembra de mayor edad presentan características que indican que podrían estar en proceso de pubertad.

Palabras clave: Esteroides Sexuales, Elefante Africano, Loxodonta africana, Refuerzo Positivo, Gonadotropinas.

IV. ABSTRACT

African elephant (*Loxodonta africana*) it is an emblematic species of Africa it has a great importance in its ecological environment. It is catalogued as vulnerable in the IUCN Red List and in CITES appendix II. It is a very versatile species located in a great variety of ecosystems like forest even in to Desserts. Threatened by human conflict (Furtive hunting and habitat fragmentation). Zoos have a very important role in the conservation in to a lot of species, by education programs by establishing operant conditioning-positive reinforcement (OC-PR) and reproduction programs; elephant reproduction is not easy issue in captivity. Elephant have the longest estrous cycle (12-18 weeks) and gestation (22 months) studied, having only one calf per breeding. This project involved 9 subjects between six to 11 years, three males and six females finding witch reproductive stage is each subject by hormone determinations using Radioimmunoassay method, looking for sexual steroids and gonadotropins concentrations (testosterone in males, P4, LH and FSH in females) in serum obtained by blood sampling and correlating with measuring behavior during 12 months, 15 days between each sampling, zoometric parameters were measured and 4 ultrasound transrectal studies using OC-PR. This study provide evidence that in this group of elephants males present a secretion pattern of seric testosterone similar to adult males but never reach "Musth" levels, females didn't get adult cycling females seric secretion patterns of sexual hormones (P4, FSH y LH). There is not a relation between hormonal levels and sexual behavior. The evidence suggests there is a difference between the older subjects and youngest, indicating that the older males and female present characteristics suggesting they could be nearest to puberty, or even in puberty.

Key Words: African Elephants, Positive Reinforcement, Sexual steroids, Gonadotropins

V. INDICE

1 Introducción.....	1
2 Elefantes en los Zoológicos.....	2
3 Taxonomía y Biología del elefante africano.....	3-5
4 Comportamiento del elefante africano.....	6-9
5 Reproducción del elefante africano.....	10-17
7 Condicionamiento operante.....	18
8 Radio Inmunoanálisis (RIA).....	19-20
9 Justificación del estudio que se propone.....	21
10 Hipótesis.....	21
11 Objetivos.....	21-22
12. Material Y Métodos.....	23-34
13. Resultados.....	35-92
14. Discusión.....	93-97
15. Conclusión.....	98
16. Referencias.....	99-105
17. Anexo.....	106-110

VI. LISTA DE FIGURAS

Figura 1	1
Figura 2	2
Figura 3	4
Figura 4.....	5
Figura 5	7
Figura 6	9
Figura 7.....	11
Figura 8	13
Figura 9	14
Figura 10	15
Figura 11	17
Figura 12	18
Figura 13	23
Figura 14	24
Figura 15-23	25
Figura 24	26
Figura 25	35
Figura 26	36
Figura 27	37
Figura 28	39
Figura 29	40
Figura 30	41
Figura 31.....	42
Figura 32.....	43
Figura 33	44
Figura 34.....	45
Figura 35.....	46
Figura 36.....	47
Figura 37, 38.....	49
Figura 39, 40	50
Figura 41, 42	51

Figura 43,44	52
Figura 45, 46	60
Figura 47,48	61
Figura 49.50.....	62
Figura 51, 52.....	63
Figura 53, 54.....	64
Figura 55, 56.....	65
Figura 57	66
Figura 58	67
Figura 59, 60.....	68
Figura 61, 62.....	69
Figura 63, 64.....	70
Figura 65, 66.....	71
Figura 67	72
Figura 68	74
Figura 69	75
Figura 70	76
Figura 71	77
Figura 72	78
Figura 73	79
Figura 74	80
Figura 75	81
Figura 76	82
Figura 77	83
Figura 78	84
Figura 79	85
Figura 80	86
Figura 81	87
Figura 82	88
Figura 83, 84.....	89
Figura 85, 86.....	90
Figura 87, 88.....	91
Figura 89	92

VII. LISTA DE CUADROS

Tabla 1	3
Tabla 2	28
Tabla 3	30-32
Tabla 4	33
Tabla 5	33
Tabla 6.....	34
Tabla 7	48
Tabla 8,9	53
Tabla 10, 11,.....	54
Tabla 12, 13.....	55
Tabla 14, 15	56
Tabla 16.....	57
Tabla 17,18	58
Tabla 19.....	59
Tabla 20.....	106
Tabla 21	107
Tabla 22	108
Tabla 23	109
Tabla 24, 25	110

INTRODUCCIÓN

Los elefantes africanos (*Loxodonta africana*) son una de las especies icóno de África. Es de gran importancia para el entorno ecológico en el que se desarrollan ya que cumplen una función muy importante como fuentes dispersoras de semillas y de abono del suelo. Es una especie que se encuentra catalogada como vulnerable por la lista roja de la IUCN, está en el apéndice II de CITES y apéndice II de la CMS. Esta especie se puede encontrar en una gran variedad de hábitats desde llanuras, sabanas, bosques, matorrales, pantanos e incluso desiertos. También en alturas desde el nivel del mar hasta grandes montañas. En la actualidad, su hábitat está muy fragmentado debido a los asentamientos humanos. (Clubb y Mason, 2002; Olson et al. ,2004; Galanti et al., 2006; Fowler et al. 2006; Campos y Blake, 2011; Valeix et al., 2011).

La principal amenaza de esta especie es la caza furtiva, ya que se busca el marfil que poseen tanto hembras como machos en sus largos colmillos (incisivos), siendo ésta la causa por la cual son asediados. Además se ha suscitado un grave conflicto debido al crecimiento desmedido de los asentamientos humanos que invaden su hábitat, creando un problema constante, ya que los elefantes en busca de comida causan grandes pérdidas a la agricultura y a las reservas de agua, lo que desafortunadamente resulta en graves lesiones e incluso la muerte de personas así y elefantes. (Clubb y Mason, 2002; Olson et al. 2004; Fowler et al. 2006).



Figura 1. Elefantes Africanos (*Loxodonta africana*).

ELEFANTES EN LOS ZOOLOGICOS

En la actualidad los zoológicos juegan un papel muy importante en los esfuerzos de conservación de la biodiversidad, estas instituciones contribuyen enormemente a esto, por medio de la educación de las nuevas generaciones y apoyando los esfuerzos de conservación que existen en la actualidad (Olson et al. 2004; Fowler et al 2006).

En la actualidad, hay una gran cantidad de zoológicos que cuentan con ejemplares de elefantes, en su mayoría el manejo que se les realiza a los ejemplares es por medio de condicionamiento operante (CO), lo que es muy beneficioso tanto para los ejemplares, así como para los entrenadores. La mayoría de los individuos que se mantienen en cautiverio son ejemplares adultos, muy pocos de estos individuos son animales jóvenes, en su mayoría superan los 20 años (Olson et al. 2004; Fowler et al 2006).

Estos ejemplares cumplen con una función importante generando empatía, conciencia y preocupación, entre el público que asiste a estas instituciones.

Así mismo los zoológicos desarrollan programas de manejo de diferentes índoles, desde el monitoreo del estado de salud de los ejemplares, hasta programas de manejo reproductivo, los cuales implican conocer el estadio reproductivo hasta lograr reproducir a ésta y otras especies que se encuentran en peligro de extinción (Adams y Berg, 1980, Fowler, 2006).



Figura 2. Elefantes en Zoológico.

TAXONOMÍA Y BIOLOGÍA DEL ELEFANTE AFRICANO

a) Taxonomía

El elefante africano (*Loxodonta africana*) junto con el elefante asiático (*Elephas maximus*) son los únicos representantes del orden Proboscidea; siendo el africano de un linaje más primitivo que el de su primo asiático.

Tabla 1: Taxonomía del Elefante Africano (*Loxodonta africana*)

Categoría	Taxón
Reino	Animalia
Clase	Mammalia
Orden	Proboscidea
Genero	<i>Loxodonta</i>
Especie	<i>L. africana</i> , <i>L. Cyclotis</i>

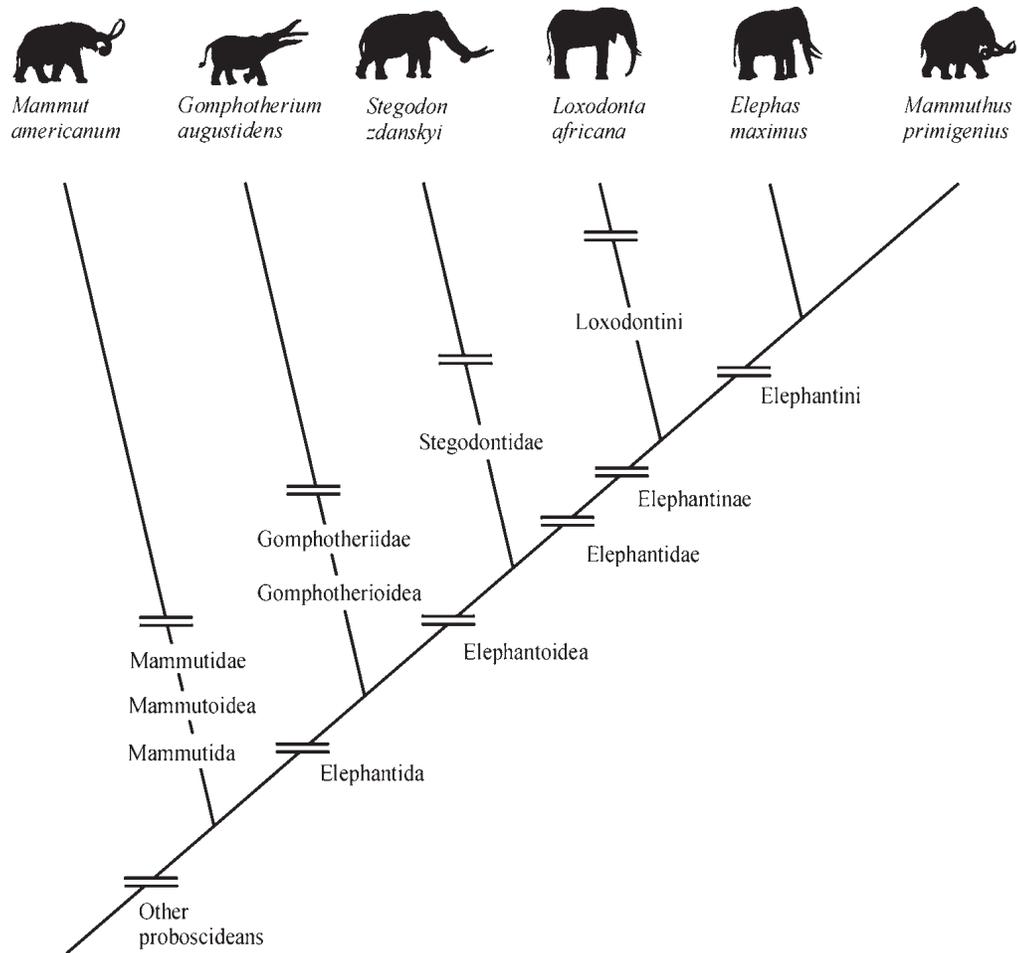


Figura 3. Esquema evolutivo del orden Proboscidea (Tomado de Fowler, Biology Medicine, and Surgery of Elephants 1ª edición 2006).

b) Biología de la especie

El elefante africano (*Loxodonta africana*) es una de las especies más grandes de mamíferos terrestres, poseen un sistema óseo muy fuerte el cual conforma el 25% de su peso total. Los machos pesan alrededor de 7 toneladas y las hembras entre 4 a 6, aunque se han registrado datos de ejemplares que llegan a pesar hasta 10 toneladas, esta especie nunca deja de crecer aunque una vez alcanzada la madurez sexual su crecimiento es muy lento. Son herbívoros, y es una especie muy activa, recorren grandes distancias en busca de alimento y fuentes de agua. (Olson et al, 2004; Fowler et al. 2006).

Llegan a medir 3.50 m hasta 4 m en su punto más alto que es la cruz, su piel es muy gruesa, dura y arrugada, con cabello esparcido en todo el cuerpo, es la especie con las orejas más grandes, como abanicos, ambos sexos poseen colmillos que en realidad son un par de incisivos superiores modificados evolutivamente, los del macho son más largos y pesados que los de la hembra, llegan a alcanzar una longitud de 2.50 m. Tienen una trompa, la cual es la fusión de la nariz y el belfo superior, que se compone de 70,000 músculos y en la punta tiene dos proyecciones que se llaman dedos; poseen el cerebro más grande entre los mamíferos terrestres. En los miembros anteriores tienen cuatro uñas en cada uno y tres en cada miembro posterior. (Olson et al. 2004; Fowler et al. 2006).



Figura 4. Ejemplar de Africam Safari tomado por David García.

COMPORTAMIENTO DEL ELEFANTE AFRICANO

A) Conducta general de la especie

Su estructura social es muy compleja y especializada, ya que viven dentro de una dinámica social fluida en la cual machos y hembras viven por separado pero en algunos momentos pueden entrecruzar sus caminos. Es una especie territorial y gregaria, generalmente se encuentran en grupos pequeños denominados familias, los cuales están compuestos entre dos hasta 30 hembras, sus crías respectivas y juveniles inmaduros, generalmente están emparentados entre sí (J. Poole, 1996). Pueden reunirse en grupos más grandes de hasta alrededor de 50-200 individuos, los machos al llegar a la pubertad (12-14 años) dejan a su grupo por sí mismos o son forzados a dejarlo por la matriarca, pueden unirse por un par de años más a un nueva familia, si es que son aceptados, de lo contrario se alejan de su grupo natal y se llegan a asociar con otros machos y regresan a los grupos en época reproductiva. La matriarca suele ser la hembra más vieja, es la que guía al grupo hacia las zonas de alimentación y fuentes de agua (J. Poole, 1989; Rasmussen, 1998; Olson, 2004; Wittemyer col, 2005; Archie et al, 2006; Fowler et al, 2006; Wittemyer y Getz, 2007; Gobush y Wasser, 2009).

Se comunican de diversas formas y pueden hacerlo a grandes distancias a través de señales químicas y vocalizaciones, emiten sonidos infra sónicos que pueden tener un alcance aproximado de entre 5 hasta 10 Km los cuales no detecta el hombre. Se sabe que las hembras pueden emplear hasta 22 diferentes vocalizaciones las cuales están relacionadas con las dinámicas del grupo, cohesión y protección, mientras que los machos solo utilizan 7, las cuales están principalmente relacionadas a la comunicación entre machos en función de marcar una dominancia y el aspecto reproductivo. También se comunican por medio de lenguaje corporal (J. Poole, 1996; Rasmussen, 1998; Olson, 2004; Fowler et al, 2006; Meyer, 2008).

B) Comportamiento sexual

a) Conducta de la hembra durante el ciclo estral

Una hembra que no está en estro no tiene interés alguno en los machos, generalmente se desplaza con su familia (grupo), siguiendo a la matriarca y cooperando en el cuidado de las crías, apoyando a la matriarca en defensa del grupo, generalmente pasan gran parte de su tiempo movilizándose en busca de agua y alimento (Hodges, 1998; Olson, 2004; Brown et al, 2004; Fowler et al, 2006; Owens y Owens, 2009; Fishlock y Lee, 2013).

La hembra que se encuentra en estro, generalmente se aísla del grupo en busca de un macho y emite sonidos para atraerlo, tiene la capacidad de decidir con qué macho se reproduce, generalmente buscan a machos grandes con buena condición corporal, agresivos, prefieren formar pareja con un macho en musth (Hodges, 1998; Olson, 2004).

Una vez que elige al macho con el que se va a reproducir, éstos forman un vínculo de asociación mientras la hembra esté receptiva, se alimentan juntos, pasan mucho tiempo juntos, finalmente copulan en repetidas ocasiones. Una vez que pasa el periodo de receptividad, la hembra se reintegra a su familia y pierde la asociación con el macho (Poole, 1989; Brown et al, 2004; Olson, 2004; Fowler et al, 2006, Fishlock y Lee, 2013).



Figura 5. Elefantes en proceso de cortejo.

b) Conducta del macho durante el “Musth”

El macho entra en pubertad alrededor de los 25 años en vida libre, aunque tienen la capacidad de entrar antes, en cautiverio se presenta desde los 14 años de edad (Poole et al, 1984; Rasmussen, 1998; Olson, 2004; Fowler et al, 2006; Evans y Harris 2008).

El “musth” (ímpetu sexual del macho) es un fenómeno fisiológico-etológico en el cual entran los machos una vez alcanzada la pubertad. En este periodo hay un aumento en la agresividad a consecuencia de un incremento en los niveles de testosterona, también hay secreción de la glándula temporal la que se vuelve más constante, y adquiere una consistencia más viscosa, coloración más oscura y olor específico más fuerte, se produce goteo urinario, que es un flujo constante de pequeñas cantidades de orina. (Poole et al, 1984; Rasmussen, 1998; Olson, 2004; Fowler et al, 2006; Bagley et al, 2006; Evans y Harris 2008; Ganswindt et al, 2010).

Los machos en “musth” están en un estado de reactividad muy constante, hay meneo de la cabeza, entierra los colmillos en el suelo para liberar presión y mitigar el dolor provocado por la inflamación de las glándulas temporales. En el caso de que más de un macho se encuentre en la misma área puede haber enfrentamientos; los machos juveniles y aquéllos que no estén en musth generalmente evitan los enfrentamientos. En caso contrario, generalmente terminan en peleas las cuales pueden durar unos pocos instantes, o estos enfrentamientos se pueden mantener durante horas, dependiendo de las características de cada individuo, como fuerza, edad, tamaño, peso, condición física y condición corporal (Banes, 1982; Poole et al, 1984, 1989; Rasmussen, 1998; Olson, 2004; Fowler et al, 2006; Bagley et al, 2006; Evans y Harris 2008; Ganswindt et al, 2010).

El macho en “musth” identificará y defenderá a las hembras en estro de posibles amenazas (otros machos), estos encuentros entre machos pueden incluso costarles la vida (Poole, 1989; Bagley et al, 2006).



Figura 6. Pelea de Machos en Musth.

REPRODUCCIÓN DEL ELEFANTE AFRICANO

A) Características Reproductivas de la Hembra

a) Pubertad

La pubertad se define como el estado fisiológico de transición, dinámico y progresivo en el que un individuo adquiere la capacidad de producir gametos viables y funcionales, Es decir que las hembras son capaces de producir un óvulo fértil, así como un cuerpo lúteo adecuado y funcional, desarrollan folículos y presentan un estro fértil, y los machos tengan la capacidad de producir espermatozoides viables capaces de fecundar un óvulo. (González P.E., 1978; Hafez et al. 2004; Galina et al. 2009).

Esta etapa es variable, depende de factores como la genética y medio ambiente. Se sabe que la edad a la pubertad esta determinada genéticamente por la especie, raza etc. Un factor muy importante es la condición corporal, la cual se ve afectada directamente por la influencia del medio ambiente, es decir, que el individuo tenga un desarrollo adecuado, que alcance el tamaño y peso pertinente para que inicie la pubertad, lo cual es afectado por la nutrición que el individuo recibe durante su desarrollo. (Hafez et al., 2004; Galina et al., 2009; Juárez et al., 2013).

Una vez alcanzados estos requerimientos, el individuo recibe señales metabólicas que indican que cuenta con reservas de energía suficientes, ya es capaz de reproducirse. El hipotálamo recibe dicha señal, libera un pulso de Kisperptina, la cual es una hormona de origen peptídico y regula la liberación de pulsos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que a su vez estimula en la adenohipófisis la secreción de gonadotropinas. La Hormona Luteinizante (LH) es secretada de manera pulsátil y va previamente acompañada de pulsos de GnRH, dentro de sus funciones está la luteinización de los folículos en ovario y la ovulación en hembras, de igual forma estimula la secreción de testosterona en machos y la Hormona Folículo Estimulante (FSH) que es la encargada de estimular el desarrollo folicular (reinicio de la ovogénesis), así como la secreción de estrógenos (E2) conjuntamente con la LH, y estimula la espermatogénesis en el macho. (Hafez et al. 2004; Galina et al. 2009).

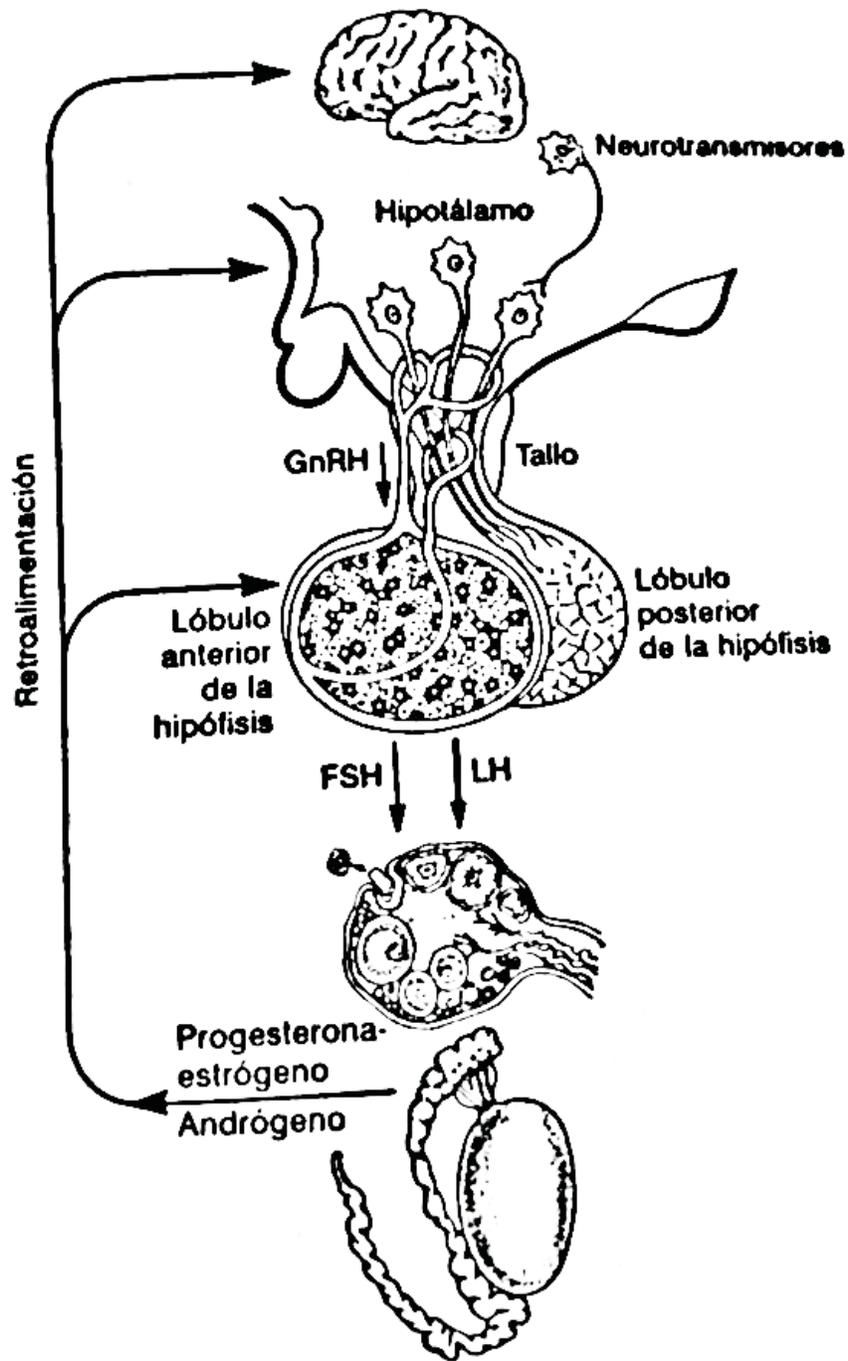


Figura 7. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gonadal (Tomado de Hafez, Reproducción e Inseminación Artificial en Animales, 7ª edición 2004).

b) Ciclo estral

El ciclo estral se define como el periodo de tiempo que transcurre desde la presentación de un estro, hasta el inicio del siguiente, es decir, el periodo que transcurre entre una ovulación hasta la siguiente. En las especies domésticas tiene una duración entre 16 - 24 días. (Hafez et al., 2004; Galina et al., 2009; Juárez et al., 2013)

Es regulado por el eje Hipotálamo-Hipófisis-Gonadal, en donde hay interacción de este por medio de hormonas, como son la Kisseptina, GNRH y las gonadotropinas antes mencionadas en conjunto con los esteroides sexuales formados en las gónadas. Como son testosterona principalmente, en el macho secretada por las células de Leydig, se encarga de desarrollar y mantener las glándulas sexuales accesorias, estimula estados tardíos de la espermatogénesis, comportamiento sexual y además posee efectos anabólicos (Hafez et al., 2004; Galina et al., 2009; Juárez et al., 2013).

La progesterona es secretada por las células del cuerpo lúteo, actúa sinérgicamente con los E2 para promover el comportamiento estral, prepara el tracto reproductor femenino para la implantación del embrión, de igual manera mantiene la gestación, y los estrógenos producidos por las células de la teca interna, promueven el comportamiento sexual, el desarrollo de la glándula mamaria, posee efecto anabólico y ejerce retroalimentación positiva y negativa sobre LH y FSH. (Hafez et al., 2004; Galina et al., 2009; Juárez et al., 2013).

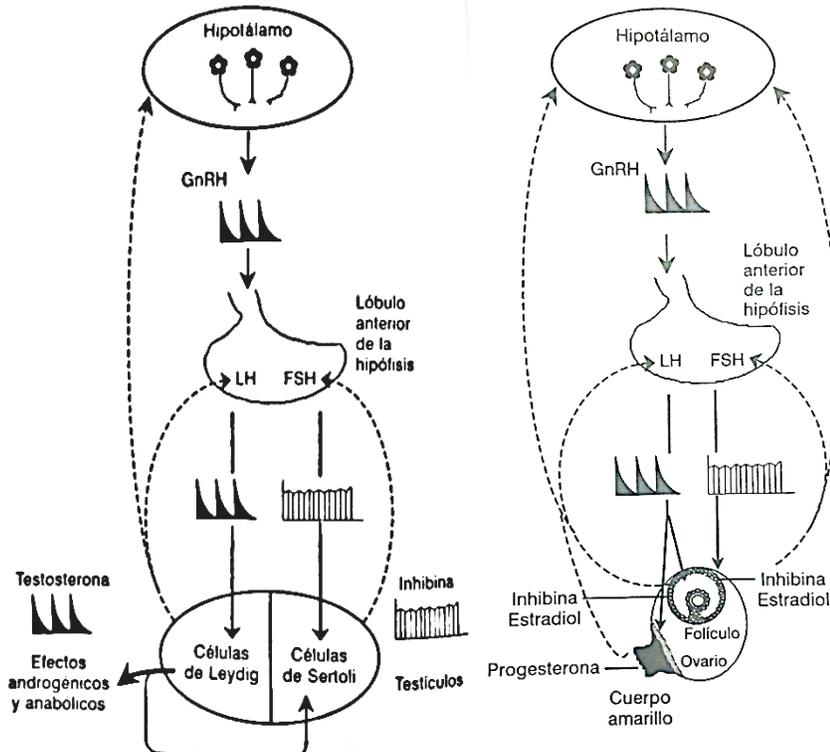


Figura 8. Funcionamiento del eje Hipotálamo-Hipófisis-Gonadal en machos y hembras. Las líneas solidas indican efectos estimulatorios, y los guiones indican los efectos inhibitorios. (Tomado de Hafez, Reproducción e Inseminación Artificial en Animales, 7ª edición, 2004).

Existen reportes de gestación y partos en elefantes africanos (*Loxodonta africana*) en vida libre, se ha calculado que la hembra podría entrar a pubertad entre los 8 y 10 años de edad aproximadamente, se ha reportado que la primera ovulación puede suceder entre los 7 y los 22 años de edad (J. Poole, 1996). En cautiverio hay reportes de hembras gestantes de 3.5 años de edad.

El ciclo estral del elefante es el más largo que se ha estudiado en mamíferos terrestres, teniendo una duración de 12 a 18 semanas. Se divide en fase folicular, la cual tiene una duración de 4 a 6 semanas y fase lútea, la cual tiene una duración de 8 a 12 semanas, la hembra es receptiva (en estro) durante aproximadamente 4 a 6 días (Carden et al, 1998; Hodges, 1998; Brown et al, 2004; Olson, 2004; Fowler et al, 2006; Hildebrand et al, 2011; Brown et al, 2014).

Durante el ciclo se dan 2 picos de hormona luteinizante (LH) de los cuales el 2º es el que induce la ovulación (Plotka, 1988; McFarlane et al, 1990; Olson, 2004; Fowler et al, 2006).

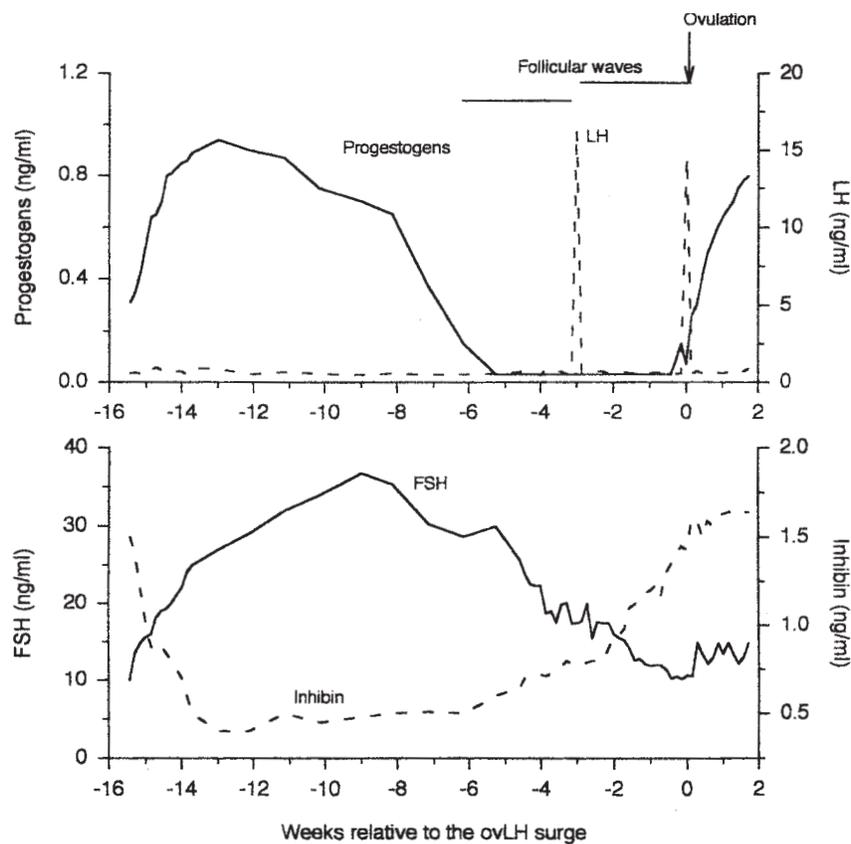


Figura 9. Ciclo estral en elefantes (tomado de Brown, Reproductive Endocrine Monitoring of Elephants: An Essential Tool for Assisting Captive Management, 2000).

c) Gestación

La gestación del elefante tiene una duración de 22 meses (659 ± 30 días), con intervalos entre partos de 3 a 5 años. El producto de la misma, es una cría de aproximadamente 90 kg y 1 m de alto (Hodges, 1998; Olson, 2004; Fowler et al, 2006; Wittemyer et al, 2007). La mortalidad de las crías es más elevada en los primeros 12 meses de vida, siendo aun mayor en hembras muy jóvenes o muy viejas, la experiencia de la madre así como la jerarquía que tenga dentro del grupo y su condición corporal son factores que afectan también la mortalidad de la cría (Barnes, 1982; J. Poole, 1996; Rasmussen, 1998; FleB col, 1999; Brown, 2000; Wittemyer, 2007; Oliveira y Chelini, 2008; Thitaram col, 2008; Owens y Owens 2009; Freeman, 2011; Hildebrand, 2011).

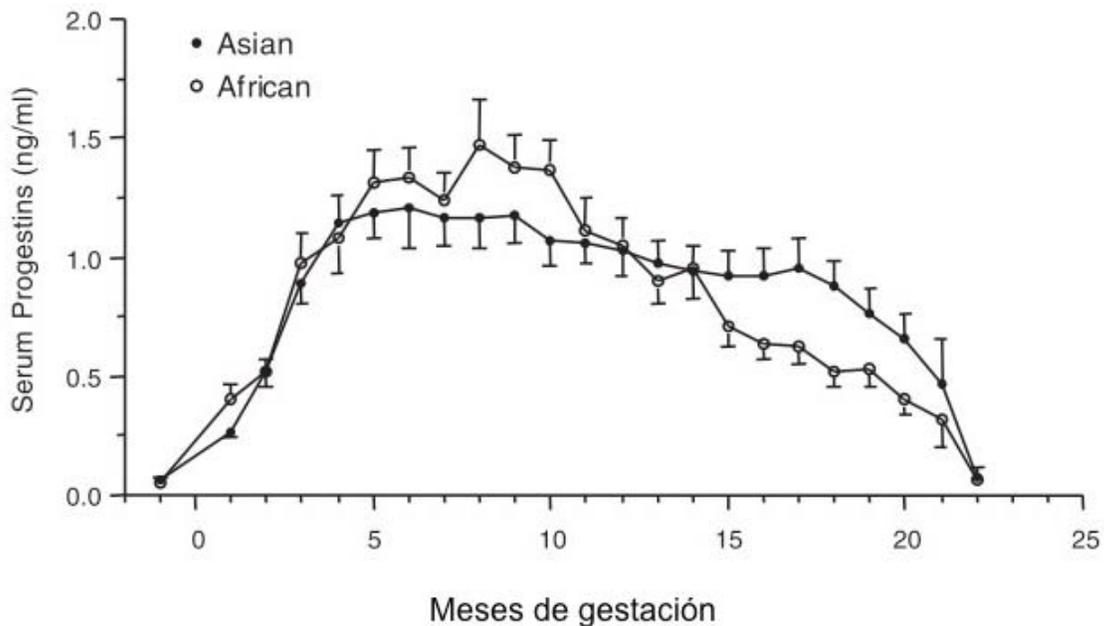


Figura 10. Perfil de progestinas en hembras gestantes de elefantes africanos y asiáticos (Tomado de Fowler, *Biology Medicine, and Surgery of Elephants* 1ª edición 2006).

B) Características reproductivas del elefante macho

a) Fisiología del “Musth”

La etapa reproductiva del macho es conocida como “**musth**” (impulso sexual del macho), es un fenómeno fisiológico-etológico en el cual entran los machos una vez alcanzada la pubertad. Es evidente por cambios muy aparentes en la fisonomía de los animales como la secreción de la glándula temporal, la cual se vuelve más constante, aumenta el volumen de secreción y adquiere una consistencia más viscosa, coloración más oscura y olor específico. También se presenta el goteo urinario, que es un flujo constante de pequeñas cantidades de orina y cambio de color del pene. Este periodo puede durar alrededor de 3 a 5 días en animales jóvenes y conforme estos van creciendo, el periodo de tiempo que permanecen en este estado se va incrementando hasta llegar a los 6 meses en animales muy longevos (alrededor de 55 a 60 años, Poole et al, 1984; Olson, 2004; Fowler et al, 2006; Bagley et al, 2006; Rasmussen et al, 2008; Ganswindt et al, 2010).

El macho en “musth” tiene la capacidad de reconocer e identificar a hembras que se encuentran en estro, es decir, potenciales parejas para poder reproducirse, por medio de señales químicas (Bagley et al, 2006). En este periodo se ha encontrado un incremento muy importante en la concentración sanguínea de testosterona, alcanzándose hasta 100 veces los valores del periodo no reproductivo. De acuerdo a los datos antes mencionados, se conoce que el macho entra en pubertad alrededor de los 25 años en vida libre, aunque tiene la capacidad de entrar antes en condiciones de cautiverio, desde los 14 años de edad (Poole et al, 1984; Olson, 2004; Fowler et al, 2006).

Durante esta etapa el elefante macho entra en un estado de sobre estimulación mental (“intoxicación mental”), debido a los niveles hormonales mencionados, asimismo sufre dolor constante, por lo cual el individuo busca la manera de descargar toda esa energía agresiva en cualquier oportunidad que se le presente. El manejo de estos individuos es bastante complejo por el estado reactivo en el que se encuentran y cualquier descuido puede terminar en una situación fatal (Poole et al, 1984; Olson, 2004; Fowler et al, 2006).

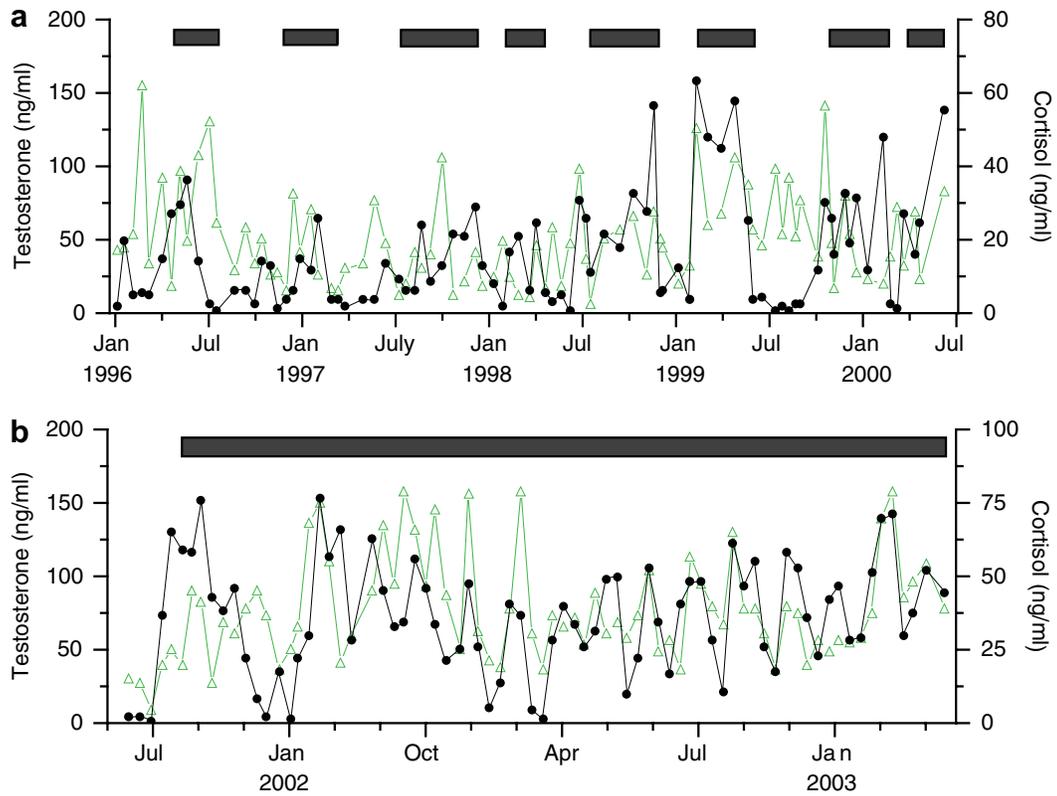


Figura 11. Niveles de testosterona (● ng/mL) y cortisol (△ ng/mL) en 2 machos adultos (Tomado de J. Brown, Comparative endocrinology of testicular, adrenal and thyroid function in captive Asian and African elephant bulls, 2007).

CONDICIONAMIENTO OPERANTE

Hoy en día el condicionamiento operante por refuerzo positivo (CO-RP) es una de las principales herramientas de manejo de animales en cautiverio. Es de vital importancia para evitar en medida de lo posible el manejo de especies de gran interés con protocolos de contención química, lo que implica poner en riesgo a los ejemplares así como al personal involucrado en su manejo. La aplicación del CO-RP a través de contacto protegido con la finalidad de reducir los riesgos potenciales, es muy útil en una gran variedad de especies, principalmente en megavertebrados en los cuales el manejo implica que el factor riesgo siempre está presente.

Es debido a esta herramienta, que se facilita mantener un monitoreo constante y adecuado del estado de salud de los ejemplares en diversos niveles. Estos protocolos evitan el estrés para los ejemplares, aumentando la seguridad, higiene y eficacia de los mismos.



Figura 12. Condicionamiento Operante por Refuerzo Positivo (CO-RP) de un ejemplar en Africam Safari (Imagen tomada por Quetzalli Hernández, 2014).

RADIOINMUNOANALISIS (RIA)

El Radioinmunoensayo (o abreviado RIA del inglés Radioimmunoassay) es un tipo de inmunoensayo o método radioinmunométrico que se basa en la formación específica de los complejos Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) lo que le dota de una gran especificidad, y excelente sensibilidad por el uso de marcadores radioactivos (Romano M. C. 2010).

Hoy en día, esta técnica se utiliza para detectar y cuantificar sustancias que se encuentran en cantidades muy pequeñas y mezcladas con muchas otras. Es por tanto una técnica muy sensible y muy específica. Utilizando anticuerpos de gran afinidad se pueden detectar hasta picogramos de antígeno. ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$).

El fundamento de la técnica se basa en mezclar una cantidad constante de antígeno marcado radioactivamente y una cantidad constante de un anticuerpo para ese antígeno se agrega la muestra que contiene la hormona no radioactiva a medirse, que compite con la radioactiva por el sitio de unión del Anticuerpo (Ac). Se produce la reacción entre antígeno (Ag) y anticuerpo (Ac) se separa la fracción de antígeno que se ha unido de la que permanece libre.

Los métodos de separación del Ag libre y unido pueden agruparse en tres tipos:

a) Método de adsorción

En este método el Ag libre se retiene superficialmente en un material insoluble adecuado (carbón activo, silicato magnésico, resinas de intercambio iónico). La posterior centrifugación deja en el sobrenadante la fracción unida y lleva al sedimento la fracción libre.

b) Método de precipitación

El Ag unido se separa del libre precipitando el Ag unido con compuestos precipitantes, de proteínas como el sulfato amónico, etanol, ácido perclórico. Tras centrifugar, el Ag unido queda en el sedimento y el libre en el sobrenadante.

c) Método de doble anticuerpo

El Ag unido puede precipitarse con un segundo Ac levantado contra él. Después de centrifugar, el Ag unido queda en el sedimento y el libre en el sobrenadante.

Dado que la técnica utiliza radioactividad es muy sensible logrando detectar cantidades muy pequeñas de la muestra.

Finalmente se determina la radioactividad.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En la literatura científica internacional, existe abundante información sobre aspectos reproductivos de los elefantes asiáticos (*Elephas maximus*) y africanos (*Loxodonta africana*) adultos. Sin embargo, es muy escasa la información referente al proceso de maduración sexual de los elefantes en general y de los elefantes africanos en particular. La llegada de un grupo de nueve elefantes africanos huérfanos de corta edad al Parque de conservación de vida silvestre Africam Safari, fue una oportunidad única de conocer aspectos relacionados a la pubertad en esta especie. Por esto se propuso un estudio multidisciplinario que permitirá conocer el proceso fisiológico de maduración sexual peripuberal de estos animales.

Esta información será además de utilidad para instituciones zoológicas y conservacionistas porque aportará elementos científicos que podrán ser utilizados por las mismas, para detectar la maduración sexual de esta especie.

9 HIPÓTESIS

La concentración de testosterona sérica en los machos y de progesterona en las hembras de elefantes africanos (*Loxodonta africana*) aumentará a medida que se acercan a la pubertad y estos cambios se acompañarán de variaciones en la concentración de gonadotropinas, en el tamaño y desarrollo de los órganos sexuales y en la expresión de conductas sexuales propias de cada género.

OBJETIVOS

a) Objetivo general

Identificar cambios hormonales, morfológicos y de conducta sexual asociados al desarrollo de la pubertad en elefantes africanos (*Loxodonta africana*) machos y hembras que habitan el Parque de conservación de vida silvestre Africam Safari de Puebla.

b) Objetivos Específicos

- Conocer las concentraciones séricas de testosterona en machos de elefantes africanos (*Loxodonta africana*) durante doce meses y compararlas entre ellos para determinar la etapa reproductiva en la que se encuentran.
- Conocer las concentraciones séricas progesterona en las hembras de elefantes africanos (*Loxodonta africana*) durante doce meses y compararlas entre ellos para determinar la etapa reproductiva en la que se encuentran.
- Conocer las concentraciones séricas de gonadotropinas en machos y hembras de elefantes africanos (*Loxodonta africana*) para determinar la etapa reproductiva en la que se encuentran.
- Conocer los cambios zoométricos en los machos y hembras de elefantes africanos (*Loxodonta africana*) como son largo y grosor de colmillos, altura, y largo del ejemplar, en el periodo de estudio.
- Estudiar mediante ultrasonografía tamaño de gónadas, y glándulas accesorias en ambos sexos.
- Estudiar la evolución de las conductas sexuales como indicadores de la etapa reproductiva en la que se encuentren los machos y hembras de elefantes africanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

A) Localización

a) Lugar de origen de los ejemplares

Los ejemplares involucrados en este estudio fueron rescatados por el Parque de conservación de vida silvestre Africom Safari, ya que estaban destinados a ser sacrificados en el área de la Republica de Namibia (R. Herbold, 2015).

Esta región tiene una altura de entre -1563 m en su punto más bajo ubicado en la Fosa Kongrascheeg's alcanzando una altura de 2606 msnm en su punto más alto, el monte Brandberg, en la zona central la altura es de entre 975 m a 1980 m sobre el nivel del mar.

La precipitación anual en el desierto de Namibia es de hasta 50 mm al año, puede alcanzar hasta 250 mm en zonas no desérticas en época de lluvias, la temperatura oscila entre los 10°C y los 30 °C.

Se compone de una gran variedad de ecosistemas como son sabana arbolada, sabana xerófila y desierto.



Figura 13. Lugar de procedencia de los elefantes de este estudio (Namibia África).

b) Localización Actual

El estudio se realizó dentro de las instalaciones de Africam Safari, ubicado en el Blvd. Capitán Carlos Camacho Km 16.5, Oasis, 72960 Zaragoza, Puebla. La supervisión y el entrenamiento de los animales están a cargo del MVZ Gerardo E. Martínez del Castillo, Jefe del Departamento de Bienestar Anima del Zoológico.



Figura 14. Localización actual del hábitat de los elefantes (Africam Safari).

El Zoológico se encuentra a una altura de 2100 msnm.

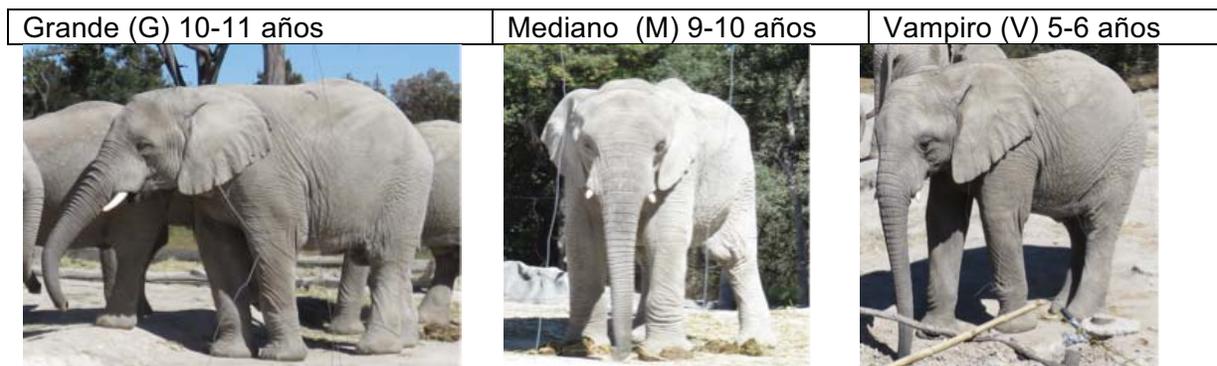
Coordenadas:

18° 56' 13.63" N, 98° 8' 12.14" W

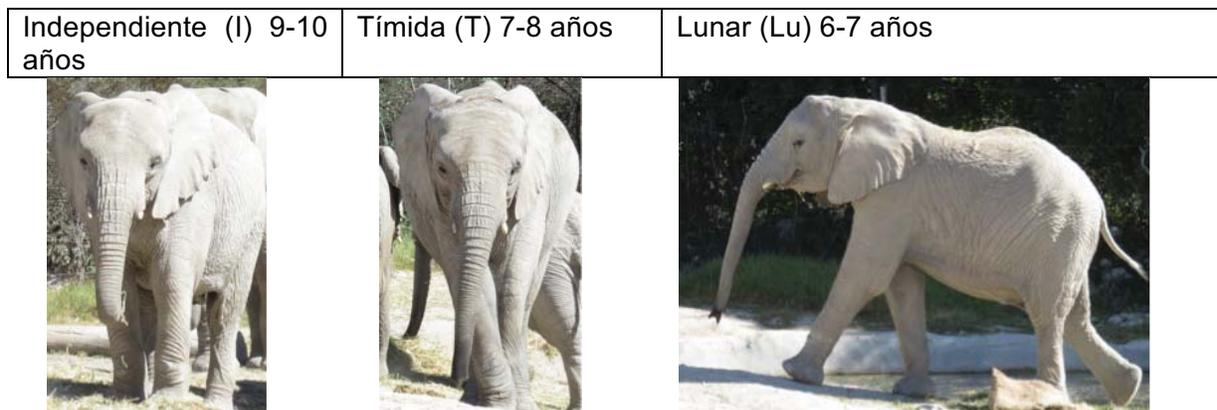
Las condiciones climatológicas del área varían de subhúmedo, cálido húmedo, árido y semiárido, con variaciones de temperaturas a lo largo del año entre 6.5°C hasta 28.5°C aunque se pueden presentar temperaturas más bajas y más altas. La precipitación anual en el estado alcanza hasta 1270 mm anuales.

B) Ejemplares

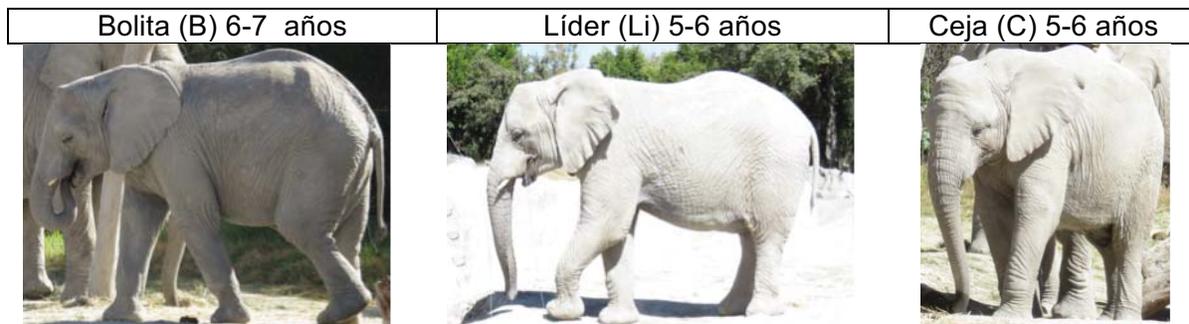
El estudio se realizó con nueve individuos de elefante africano (*Loxodonta africana*), tres machos y seis hembras.



Figuras 15, 16, 17. Individuos machos del grupo de estudio.



Figuras 18, 19, 20. Individuos Hembras de mayor edad.



Figuras 21, 22, 23. Individuos Hembras de menor edad.

C) Muestreo Sanguíneo

Las muestras de sangre se obtuvieron de venas auriculares y safenas (entre 5 a 8 mL), cada quince días a partir de las 9:00 am durante el manejo de rutina por condicionamiento operante por refuerzo positivo a través de contacto protegido, durante un periodo de doce meses. El muestreo se realizó de tal forma que el manejo permitía obtener las muestras de manera segura y eficaz, tanto para los ejemplares como para el personal involucrado, siguiendo los protocolos de seguridad establecidos por la institución.

Las muestras se colectaron cada 15 días con “Mariposa Vacutainer”® múltiple Safety Lok, estéril, calibre 23G x 3/4” x 12” y se colectaron en tubos de plástico para serología Vacutainer® sin anticoagulante, con gel separador-activador de coágulo de 8.5mL, de 16x100mm.

Dichas muestras se identificaron con el nombre de los ejemplares, sexo, hora y fecha en la que se tomó la muestra y se almacenaron a -4°C.



Figura 24. Toma de muestra de sangre de venas auriculares.

D) Obtención de Suero y Almacenamiento

Posteriormente las muestras se centrifugaron a 2500 rpm por 15 min, para obtener el suero que se colocó en tubos Eppendorf de 2 mL que se conservaron en un congelador a -15°C hasta su procesamiento por el método de RIA.

E) Estudio ultrasonográfico (US)

Se realizaron estudios de imagenología por el método de ultrasonido con la finalidad de medir en las hembras tamaño de gónadas y cuernos uterinos, cuerpo uterino, cérvix y vagina, y glándulas accesorias en los machos (epidídimo, próstata y vesículas seminales) en tres diferentes momentos del estudio.

Se utilizó un equipo Mindray DP50® y se contó con la colaboración de la Dra. Mariana Pedernera Romano del Depto. de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Morelos y del MVZ Enrique Olloqui.

Procedimiento:

1. Por medio de condicionamiento operante por refuerzo positivo se logró que cada individuo tomara una posición adecuada para realizar el estudio US.
2. Se realizó palpación transrectal para evacuar todo el contenido de heces y así obtener una vía de acceso para el transductor.
3. Se procedió a introducir el transductor (3.5 MHz en machos y 7.5 MHz en hembras) para realizar el estudio de US a cada animal, manteniendo lubricada el área así como el transductor y los aditamentos a empleados.

Durante el estudio US se ubicaron las estructuras de interés antes mencionadas, y se tomaron las medidas de estas estructuras en las imágenes obtenidas.

F) Procesamiento por Técnica de Radioinmunoanálisis (RIA)

Las muestras de suero se sometieron a un proceso de extracción con la finalidad de obtener las hormonas esteroides sexuales contenidas en cada muestra y posteriormente fueron analizadas por el método de Radioinmunoanálisis (RIA):

Tabla 2: Determinaciones Hormonales para cada Sexo

Machos.	Hembras.
Testosterona.	Progesterona.
LH y FSH en ambos sexos.	

Para la determinación de testosterona se empleó como marca radioactiva: testosterona tritiada. Se utilizaron kits comerciales para medir la concentración sérica de Progesterona, (P4) la hormona fue el analito marcado. Para medir la concentración de las gonadotropinas LH y FSH se utilizaron también kits comerciales en los cuales el anticuerpo estaba marcado con Iodo¹²⁵, y en ambos casos se utilizaron anticuerpos monoclonales adheridos a la pared del tubo.

a) Proceso de Extracción de Esteroides Sexuales

La extracción es un procedimiento que tiene como objetivo separar hormonas de una manera eficaz de la matriz biológica de origen (suero) (Rodas-Martínez A.Z.), que consiste en lo siguiente:

1. En un vial se toma la muestra de suero y se agrega éter anhidro en una proporción 1:5, 1 mL de suero por 5 mL de éter anhidro.
2. Se agita la solución en un vórtex durante un minuto posteriormente se deja reposar durante 10 a 15 min hasta la separación de fases (fase acuosa y fase etérea).
3. Se congela en una solución de acetona con hielo seco durante 15-20 min.
4. Se decanta la fase etérea a un vial nuevo.
5. Se coloca para su evaporación en baño maría a 37-38°C.
6. Se etiqueta para su uso inmediato o de ser necesario se sella con parafilm y se almacena en refrigeración a 4°C hasta la determinación hormonal por el método de RIA.

b) Radioinmunoanálisis Utilizando 3H-Testosterona

Las muestras extraídas son re-suspendidas en 125 ml buffer RIA diluido (BRD) y se procede a realizar el RIA como lo reporta Rodas-Martínez (2013). La radioactividad se mide en un contador de centelleo líquido BECKMAN ® modelo LS 6000TA. El resultado del análisis es inversamente proporcional, en este caso, podemos inferir que a mayor cantidad de Cuentas Radioactivas (CPM's) hay una menor concentración de la hormona blanco.

c) Radioinmunoanálisis (RIA) de Progesterona (P4) y Gonadotropinas (LH, FSH)

1) RIA para Gonadotropinas

El procedimiento se realiza de acuerdo al manual de instrucciones del kit comercial adquirido. Beckman Coulter ® RIA Kit para LH y FSH, en el que se realiza un proceso no competitivo tipo sándwich en el cual los tubos provistos por el kit se encuentra Ab adherido a las paredes de los tubos, la hormona de las muestras se une a estos Ab's, y se agrega Ab's marcados con I¹²⁵. La radioactividad se mide en un contador de centelleo líquido PACKARD ®, modelo COBRA II AUTO-GAMA DS002, el resultado es directamente proporcional, es decir que a mayor cantidad de Cuentas Radioactivas (CPM's) hay una mayor cantidad de hormona blanco.

2) RIA Progesterona (P4)

El procedimiento se realiza de acuerdo al manual de instrucciones del Kit comercial adquirido.

Este proceso de RIA es evaluado mediante el proceso competitivo en el cual en los tubos provistos por el kit Bekman Coulter ® se encuentra Ab adherido a las paredes de los tubos, la hormona que hay en las muestras compite con la Hormona marcada con el isotopo radioactivo I¹²⁵ por el sitio de unión de los Ab's adheridos al tubo, el cual es medido por el contador de radioactividad de centelleo líquido PACKARD ®, modelo COBRA II AUTO-GAMA DS002, el resultado del análisis es inversamente proporcional, en este caso, podemos inferir que a mayor cantidad de Cuentas Radioactivas (CPM's) hay una menor concentración de la hormona blanco.

G) Zoometría

Durante el manejo de los individuos se realizó el registro y medición directa del desarrollo físico estos (longitud total, circunferencia, altura a la cruz) para determinar su desarrollo tomando en cuenta datos desde su llegada y durante el periodo del estudio.

La toma de medidas se realizó en la prensa localizada en el área de manejo, el cual tiene grabado en la estructura la escala en metros para altura y la longitud, la circunferencia se tomó con una cuerda y posteriormente fue medida con un flexómetro. Las estructuras anatómicas tomadas como referencia son la altura a la cruz, el largo, total el borde caudal del cuerpo a la altura de la cola y la parte rostral de la cabeza; para medir la circunferencia, se mide a la altura del xifoides del esternón, donde termina el borde del codo del ejemplar.

H) Evaluación de la conducta de los individuos

Se establecieron etogramas y formatos de registro con el fin de obtener información sobre parámetros conductuales normales para el grupo de estudio, dando prioridad al comportamiento sexual. Para obtener información sobre conductas individuales e interactivas, se aplicaron observaciones conductuales y de barrido.

Tabla 3. Etograma

Conducta	Descripción
Conductas de estado	
Mantenimiento	
Comer	El individuo consume el alimento disponible en el área, manipulándolo con la trompa lo introduce a la boca y lo deglute.
Cuidado corporal	
Baño de Tierra	El individuo toma tierra o lodo con la trompa y se lo tira al cuerpo.
Baño de Agua	El individuo se succiona agua con la trompa y se la tira al cuerpo (en el lago o fuera).

Descanso Total	
Descanso de Pie	El individuo permanece inmóvil en cuadrípedación, sin interactuar e incluso duerme.
Descanso echado	El individuo permanece echado de costado el alguno de los flancos sin actividad e incluso duerme.
Interactivas	
Juego en grupo (Rey del castillo)	Al permanecer un individuo recostado en alguno de sus flancos, algún otro individuo o varios se acercan a este y se frotan contra él en algún área del cuerpo.
Conductas de evento	
Eliminativo	
Orinar	El individuo evacua, orina separando miembros posteriores en el caso de las hembras, el macho desenvaina pene.
Defecar	El individuo se encorva ligeramente y evacúa materia fecal.
Locomoción	
Caminar	El individuo se desplaza lentamente por el área coordinando sus 4 miembros.
Correr	El individuo se desplaza en trote leve y /o en aceleración rápida por el área.
Afiliativas	
Caricia	Un individuo toca distintas áreas del cuerpo de otro ejemplar, gentilmente.
Entrelazar trompas	Una pareja de individuos entrelazan las trompas entre sí, de manera vertical.
Agonísticas	
Agresión	Un individuo golpea con la trompa, cabeza o colmillos en cualquier a otro.
Enfrentamiento	Un individuo agrede a posible competencia, en interacción recíproca hasta que uno cede y se retira.

Conducta sexual	
Marcaje	Un individuo marca frotando los colmillos y/o cuerpo contra superficies y objetos.
Rumbling	La hembra en estro emite un retumbar que dura hasta 30 min, puede ser de alta o baja frecuencia en pulsos prolongados, de 18 a 35 Hz.
Extensión Horizontal	Un individuo extiende su trompa hacia otro con la punta abierta en forma de campana, para percibir olores.
Oler orina/heces	El macho se acerca al área donde orina una hembra y la olfatea para percibir si esta en musth.
Probar orina/heces	Un individuo toma orina con la trompa se la mete a la boca y la ingiere
Flehmen	El individuo olfatea orina o el área genital de otro individuo, enrosca la trompa, la introduce a la boca y sopla hacia el órgano vomeronasal por un momento.
Olfatear genitales	Un individuo toca el área genital y perianal a otro en repetidas ocasiones, lo olfatea.
Empujón	Un elefante se acerca a otro y gentilmente tiene contacto con él otro.
Masturbación	Un individuo que frota su área genital contra un objeto inanimado o algún elefante.
Monta	Un individuo (macho o hembra) monta a una hembra.
Prueba de Cabalgue (Machos) /Ofrecimiento (Hembras)	Un macho coloca la trompa o la quijada sobre la grupa de una hembra. La hembra se acerca al macho teniendo contacto con su grupa, colocándola debajo de la cabeza del macho.
Cópula	Hay monta del macho con penetración de al menos 15 segundos.

Los datos obtenidos fueron evaluados mediante las siguientes fórmulas:

Tabla 4. Fórmulas de cálculos de proporción del tiempo de estados y frecuencia de eventos.

	Eventos		Estados
Frecuencia/Hora	FT/TO	Porcentaje	#BC/TB
FT= Frecuencia total (# de veces que realizó la conducta durante el día de muestreo) TO= Tiempo total de observación por día de muestreo.		#BC= Número de barridos que realiza la conducta. TB= Total de Barridos.	

Por otra parte se desarrollaron matrices de dominancia (Martin y Bateson 1993, Evans y Harris, 2007). Se calcularon los índices de desplazamiento, tomando en cuenta las interacciones agonísticas en las que un individuo desplaza a los demás miembros del grupo, entre el total de interacciones agonísticas que se presentaron entre ellos cada día de muestreo, utilizando la siguiente fórmula (Martin y Bateson 1993).

Tabla 5. Fórmula de cálculo de índice de desplazamiento.

<p># de veces que un individuo desplaza a los otros individuos del grupo. # de veces que un individuo desplaza a los otros individuos del grupo + # de veces que es desplazado por otros.</p>
--

El periodo de observación fue de 1 vez cada 15 días durante un lapso de 12-meses. El rango de tiempo de observación fue de 4 a 6 horas para todo el grupo, según lo permitieron las condiciones climáticas.

Tabla 6: Cronograma de Toma de Muestras y Observaciones Conductuales

Periodo de Muestreo de Septiembre del 2014 a Septiembre del 2015									
1	1-Sep-14	6	11-Nov-14	11	27-Ene-15	16	21-Abr-15	21	7-Jul-15
2	18-Sep-14	7	2-Dic-14	12	18-Feb15	17	5-May-15	22	21-Jul-15
3	29-Sep-14	8	16-Dic-14	13	11-Mar-15	18	19-May-15	23	4-Ago-15
4	14-Oct-14	9	30-Dic-14	14	26-Mar-15	19	2-Jun-15	24	19-Ago-15
5	28-Oct-14	10	14-Ene-15	15	7-Abr-15	20	17-Jun-15	25	10-Sep-14

I) Análisis Estadístico

Se analizaron los resultados Hormonales y de Conducta con dos software estadísticos Prisma Graphpad ® versión 6.0 y JMP ® por las pruebas estadísticas Shapiro Wilk (SW) y Kolmogorov-Smirnov (KS). Los resultados de concentraciones hormonales se emplearon pruebas no paramétricas o paramétricas según la distribución de las muestras.

Se aplicaron pruebas de normalidad de las variables conductuales mediante el empleo de las pruebas de normalidad de Shapiro Wilk (SW) y Kolmogorov-Smirnov (KS). A través de la prueba de correlación de Spearman se relacionaron variables de la frecuencia / hora de eventos conductuales y % del tiempo en estados conductuales con los niveles hormonales de testosterona en machos y P4 en hembras. Mientras que los valores individuales de dominancia fueron evaluados por los índices de desplazamiento.

Cuando los resultados obtenidos no fueron normales, para compararlos se utilizaron pruebas no paramétricas como son los métodos de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney. Se utilizó la correlación de Spearman para determinar la relación entre los patrones hormonales y conductuales. Los resultados de LH que sí fueron normales, se analizaron por medio de las pruebas estadísticas de Análisis de varianza (ANOVA) de una vía y “t” de Student para cada individuo.

Resultados

A) Determinaciones hormonales en machos y hembras.

a) MACHOS

En la figura 25 se muestra el patrón de secreción de testosterona, en cada macho de elefante africano (*Loxodonta africana*). Se ve claramente la diferencia en la concentración de testosterona entre los ejemplares de mayor edad que están entre 4 y 5 ng/mL y los del más pequeño que mayormente están entre 1 y 2 ng/mL. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($P < 0.05$ Tabla 20 en anexo).

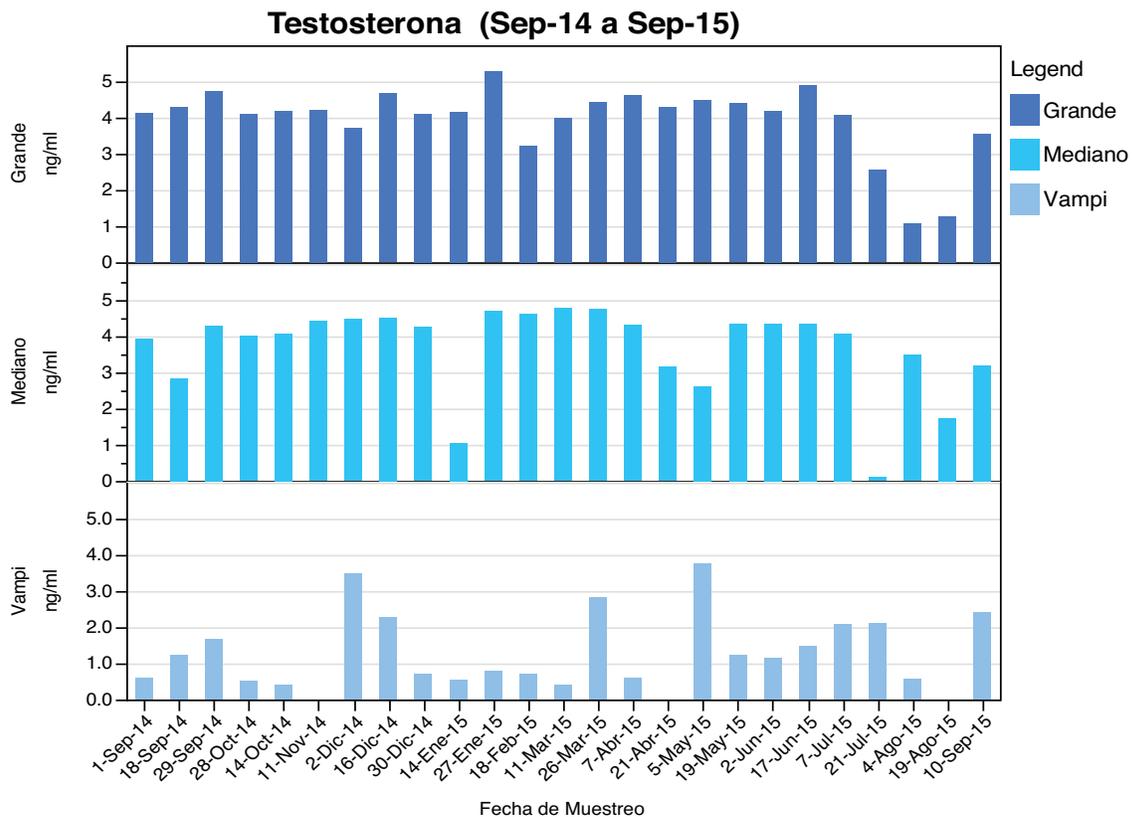


Figura 25. Concentración sérica de testosterona en tres elefantes machos (ng/mL). Las muestras se obtuvieron a lo largo de un año.

En la figura 26 se muestra el patrón de secreción de FSH de los 3 machos en 6 muestras seleccionadas durante el periodo de estudio. La concentración de FSH es menor significativamente ($P < 0.05$ Tabla 22 anexo) en los dos animales de más edad, comparada con el que tenía 5-6 años en el estudio. En este último se observaron asimismo mayores concentraciones en los primeros meses de muestreo.

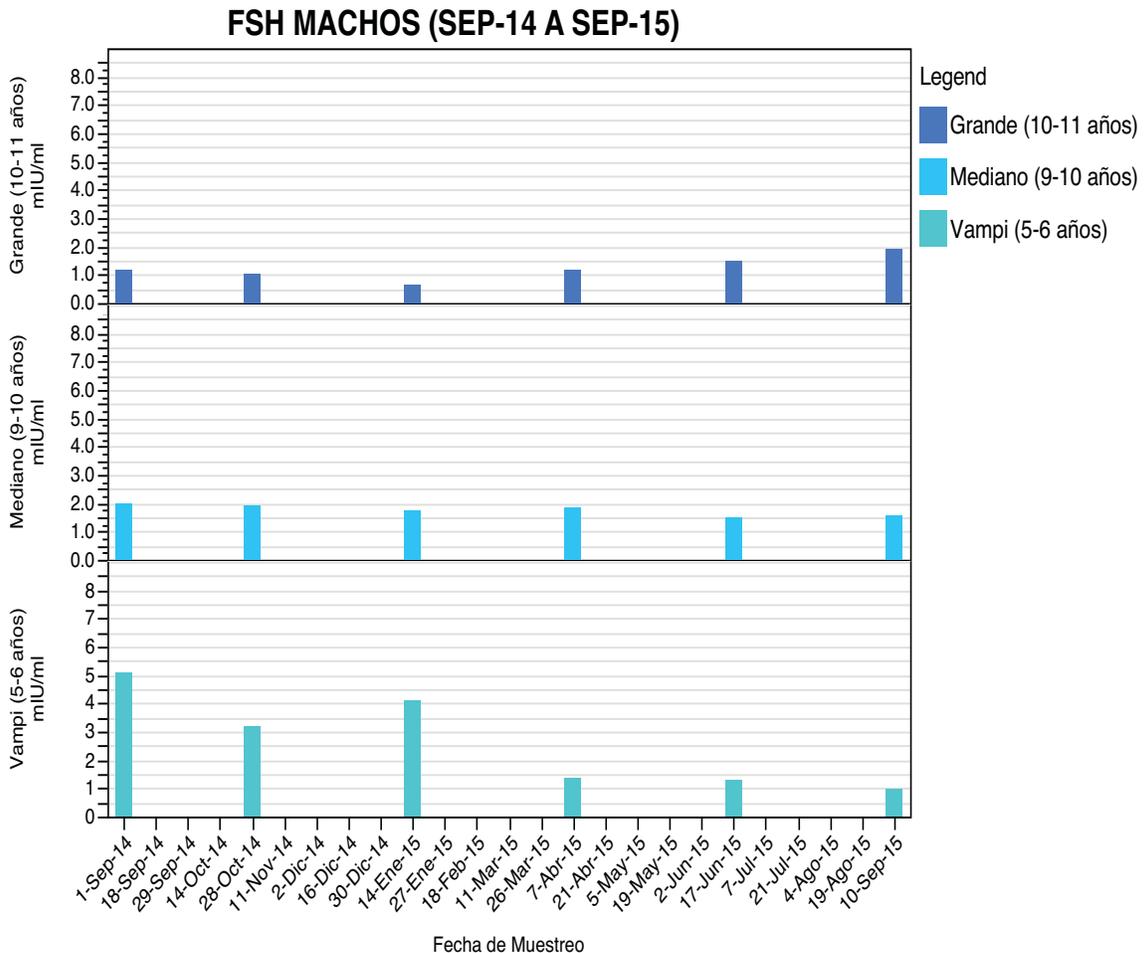


Figura 26. Concentración sérica de FSH de tres elefantes machos. Se seleccionaron 6 muestras espaciadas cada 2 a 2.5 meses en función de la disponibilidad de las mismas. Los datos indican ng/mL de suero.

En la figura 27 se muestra el patrón de secreción de LH de los 3 machos en 9 muestras seleccionadas durante el periodo de estudio. No se observan diferencias significativas ($P > 0.05$ tabla 23 anexo) en la concentración de esta gonadotropina entre los tres machos estudiados.

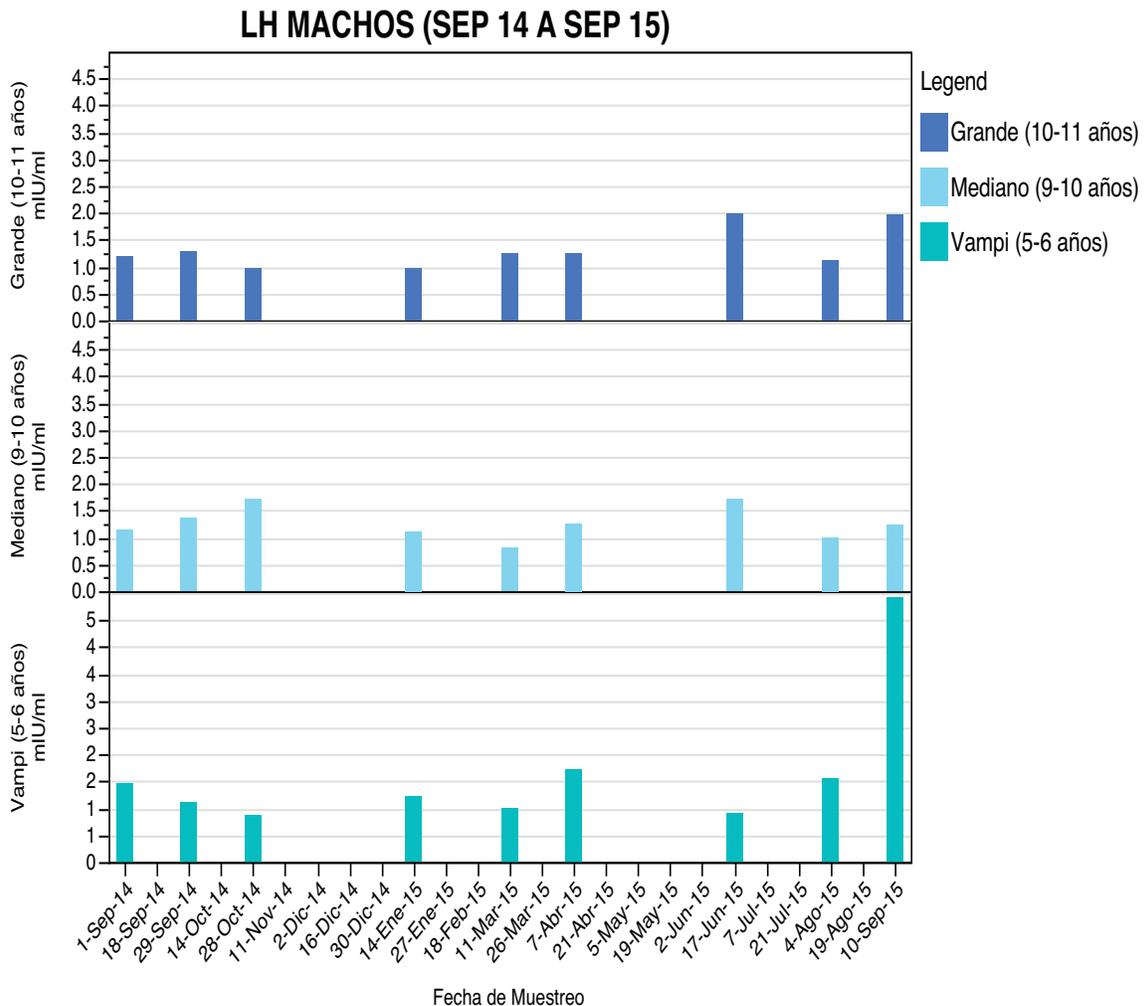


Figura 27. Se muestran los niveles de LH de los 3 machos y se aprecia claramente la diferencia entre los ejemplares de mayor y menor edad.

b) HEMBRAS

La Figura 28 muestra el patrón de secreción de progesterona de las 6 hembras incluidas en este estudio, durante el periodo que duró el mismo. Se puede observar claramente que Tímida (7-8 años) y Bolita (6-7 años) presentaron un pico de progesterona con una concentración cercana a los 200 pg/mL, que son valores reportados para fase lútea por otros autores (Plotka 1988, Kapustin 1996, Carden 1998, Brown 1999, Fowler 2006, Oliveira 2008 Hildebrandt 2011).

La hembra identificada como Líder presentó un patrón que supera los valores más bajos reportados durante la fase folicular por otros autores (Plotka 1988, Kapustin 1996, Carden 1998, Brown 1999, Fowler 2006, Oliveira 2008 Hildebrandt 2011). Asimismo en esta hembra se encontraron dos muestras que superaron los 1500 pg/mL, valor semejante al presentado por hembras gestantes y 2500 pg/mL valor superior a los reportados en hembras gestantes por Brown (2000), Fowler (2006) y Oliveira (2008). Llama la atención que la concentración de progesterona en la hembra de 5-6 años de edad (Líder) fue la más abundante (Tabla 21 anexo).

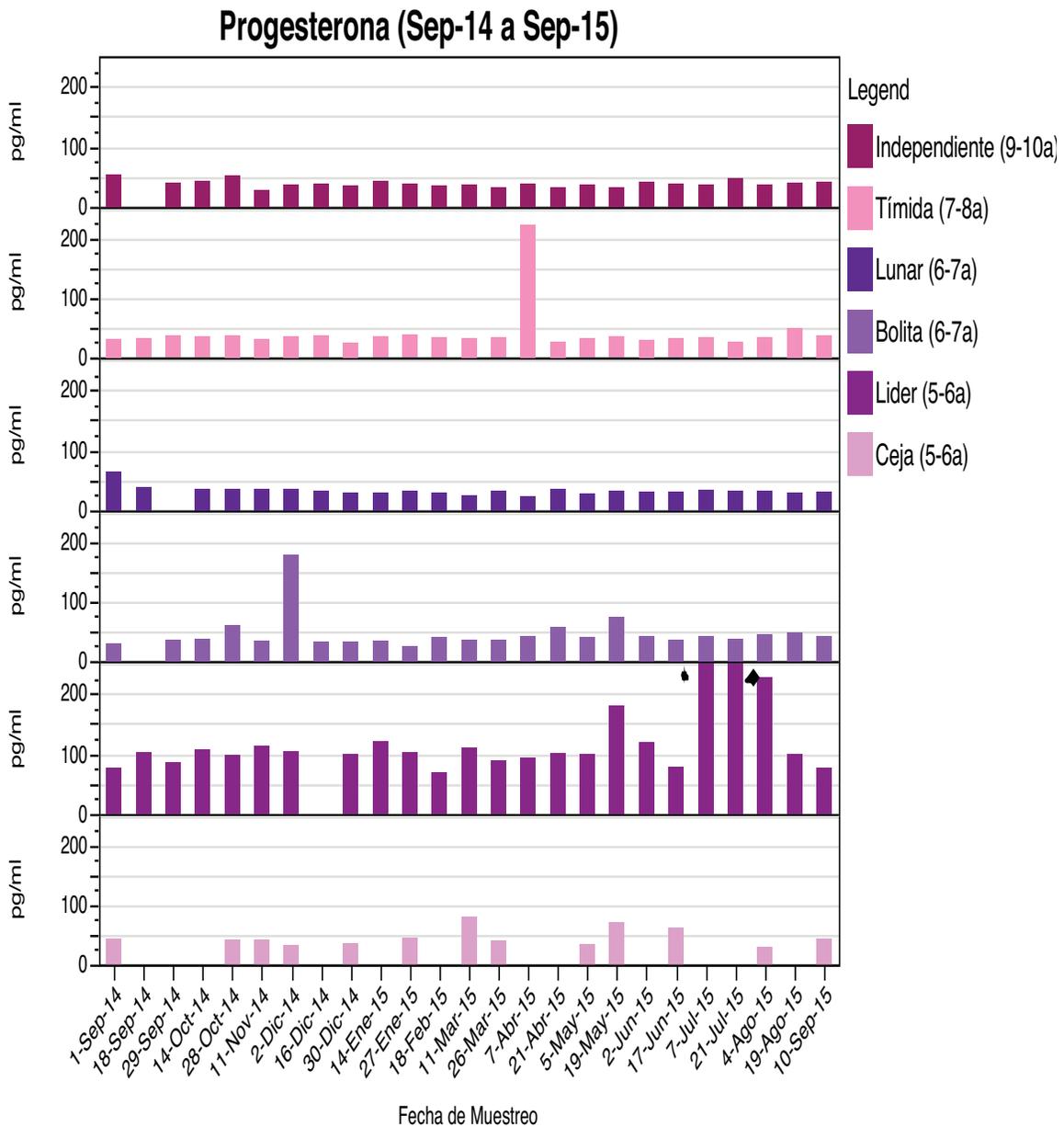


Figura 28. Concentración de progesterona en el suero de seis elefantes hembras. Los datos se expresan en pg/mL. Se aprecia claramente que los niveles se mantienen entre los 30 a los 150 pg/mL en la gran mayoría de las hembras, con excepción de las que superan estos valores, como Líder que muestra 2 valores superiores de 2,522(+) y 1618 (♦) pg/mL respectivamente.

En la Figura 29 se puede observar el patrón de secreción sérica de FSH para las 6 hembras involucradas en el presente estudio. Se puede apreciar que la mayor concentración de esta gonadotropina se encontró en las hembras de mayor edad, y que hay diferencia significativa en la mayoría del grupo ($P < 0.05$), con excepción de Bolita vs Independiente, Lunar y Ceja; y Lunar vs Ceja ($P > 0.05$; Tabla 22 anexo).

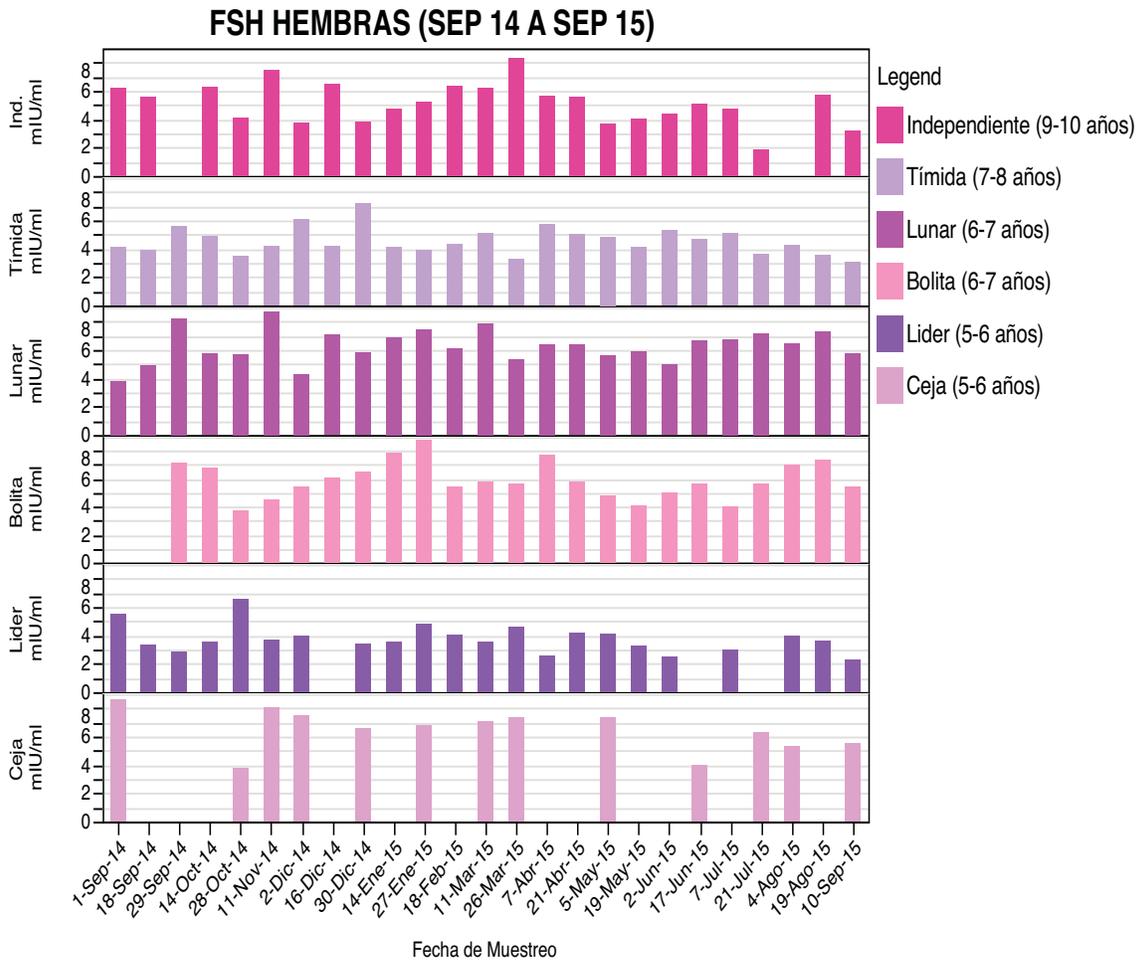


Figura 29. Concentración de FSH en el suero de seis elefantes hembra. Los datos se expresan como mIU/mL de suero.

En la Figura 30 se muestra el patrón de secreción sérica de LH que presentaron las 6 hembras involucradas en el presente estudio. Las dos hembras mayores se diferenciaron estadísticamente de las demás y la hembra 6-7 años se diferenció de las de menor edad. Entre las hembras de menor edad no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$). No se observaron picos que pudieran relacionarse claramente con ovulación (Tabla 23 anexo).

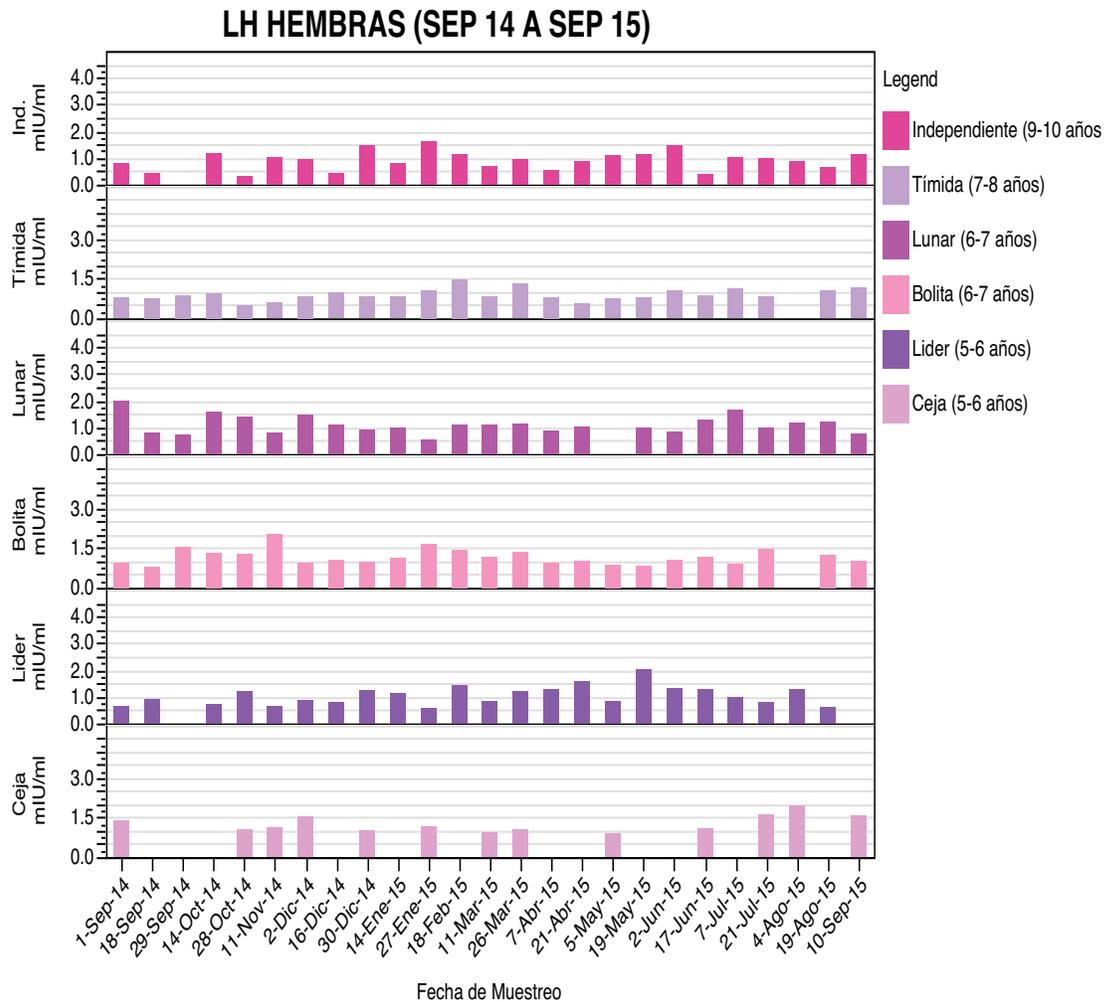


Figura 30. Concentración de LH en el suero de seis elefantes hembra. Los datos se expresan como mIU/mL de suero.

B) Resultados Zoométricos

En las Figuras 31 a 36 se presentan los datos obtenidos del desarrollo zoométrico del grupo de estudio. Los parámetros anatómicos medidos fueron: circunferencia abdominal, altura a la cruz y largo total.

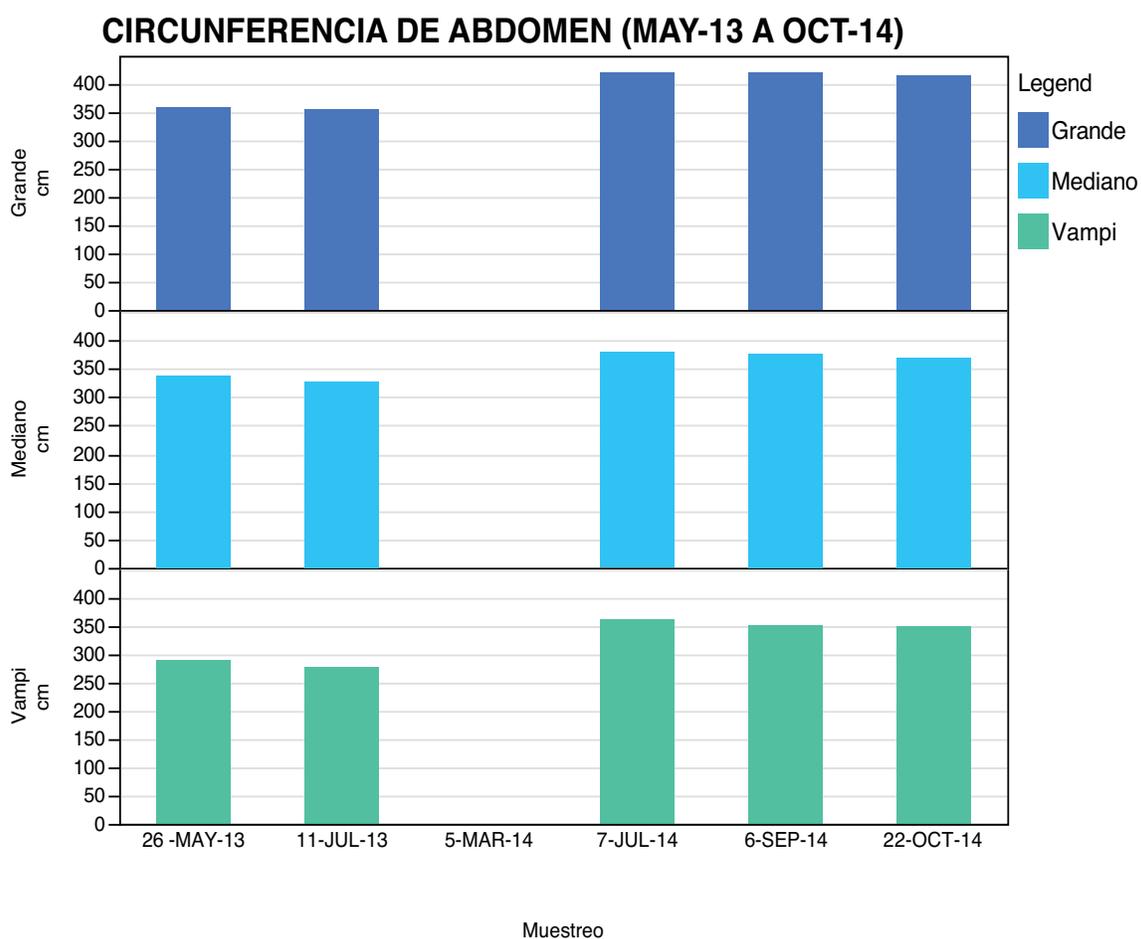


Figura 31. Crecimiento en circunferencia de los machos. Se realizaron cinco mediciones en los tres machos.

CIRCUNFERENCIA DE ABDOMEN (MAY-13 A OCT-14)

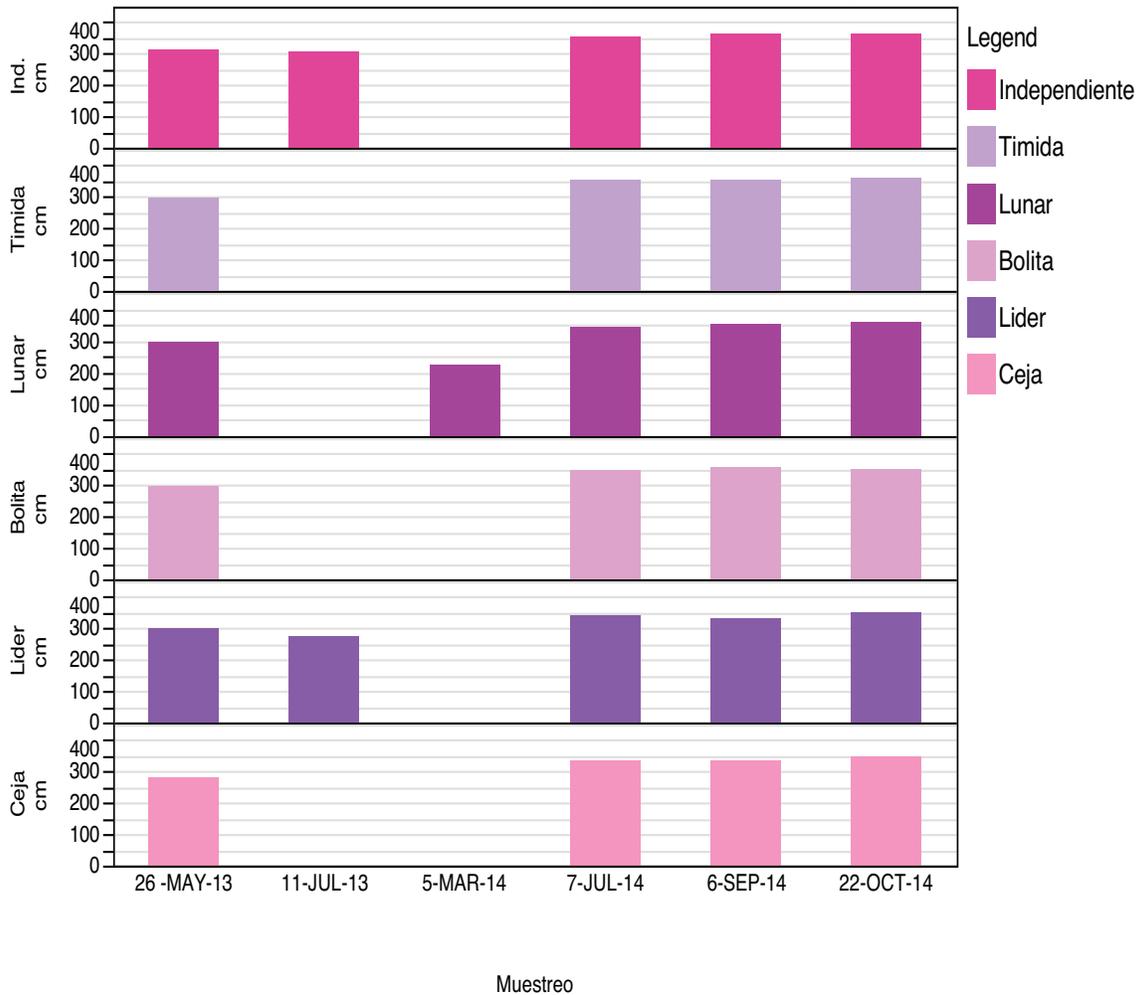


Figura 32. Crecimiento en circunferencia de hembras. Se realizaron mediciones conforme cada individuo lo permitió, cinco para Independiente, Lunar y Líder, y cuatro para Tímida, Bolita y Ceja.

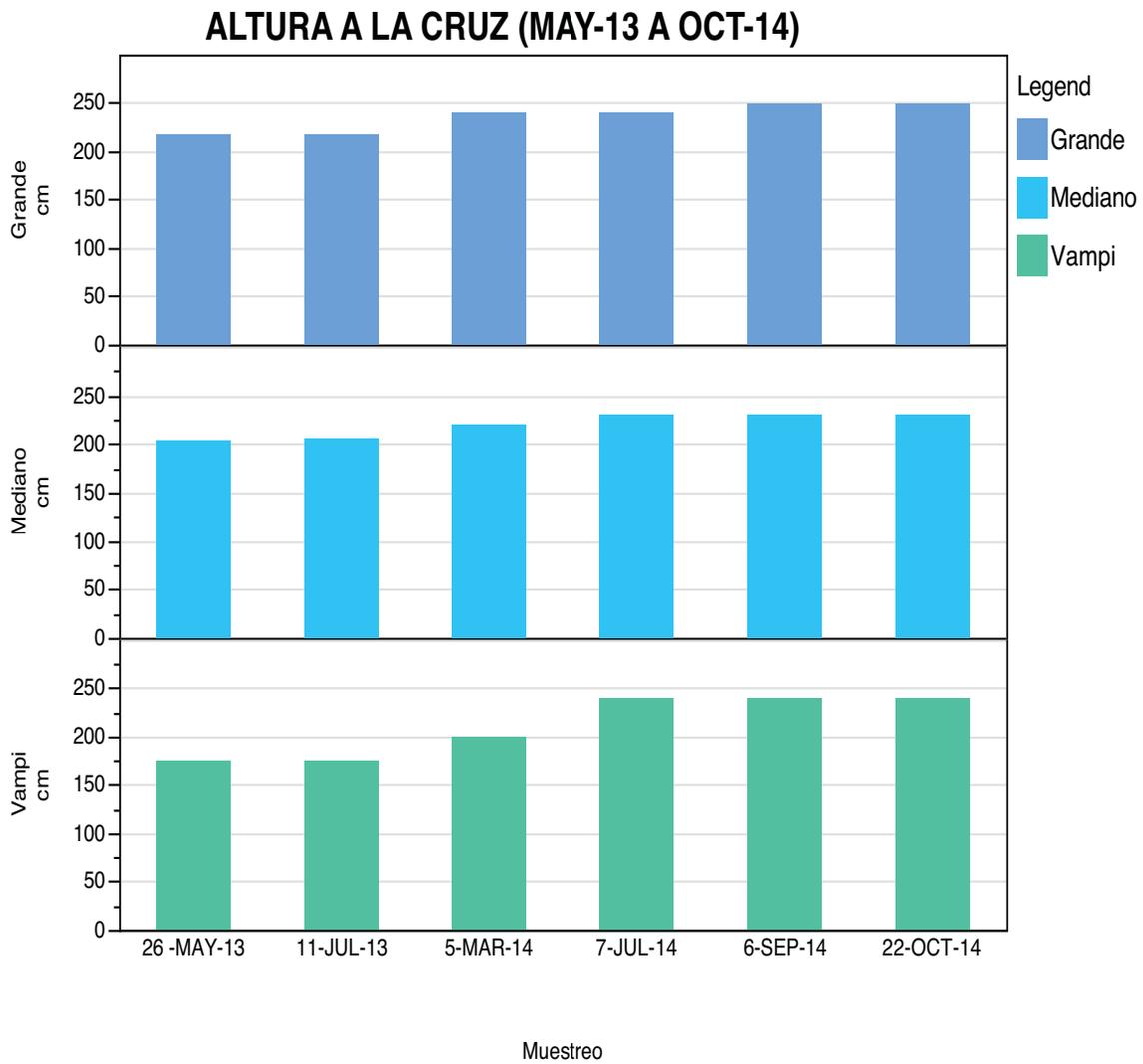


Figura 33. Desarrollo de la altura de los machos. Los machos permitieron una medición por cada muestreo.

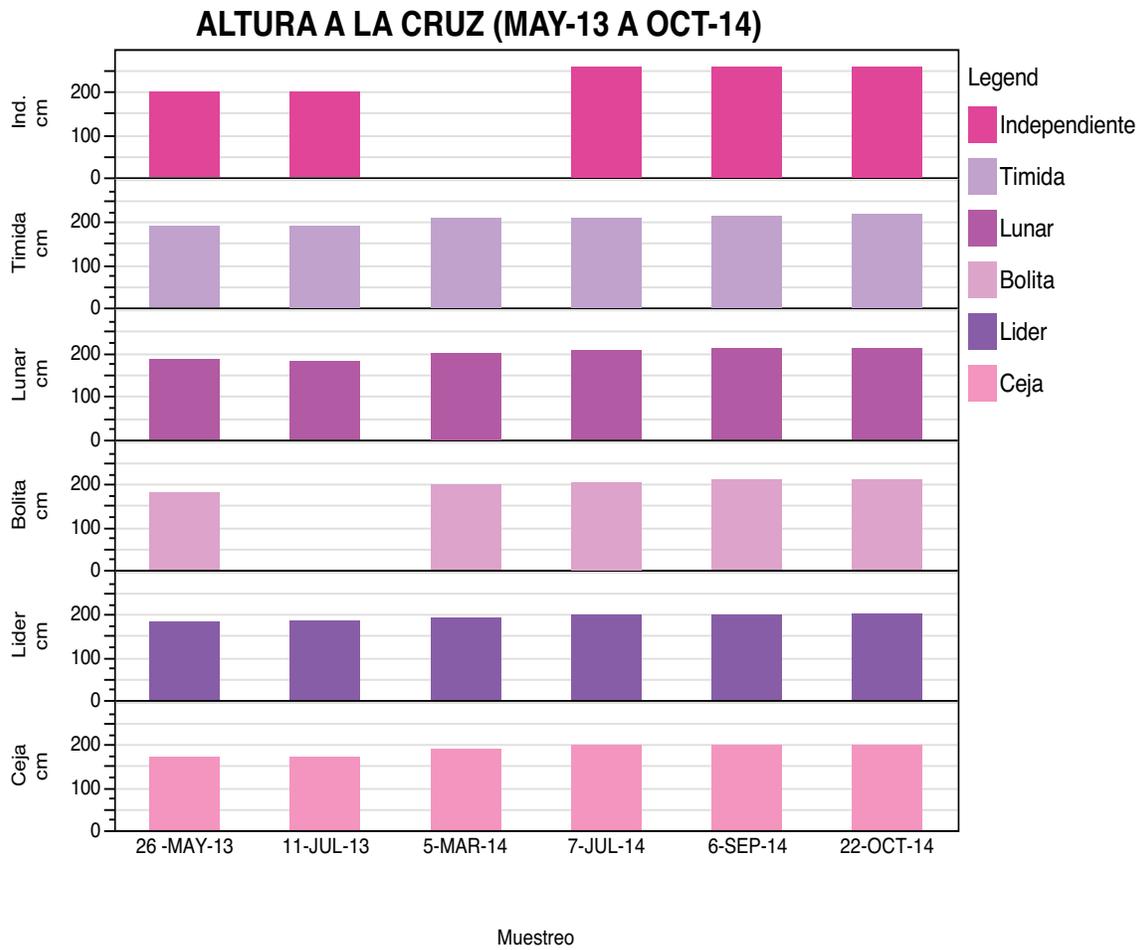


Figura 34. Desarrollo de la altura de las hembras. Las hembras permitieron una medición por cada muestreo.

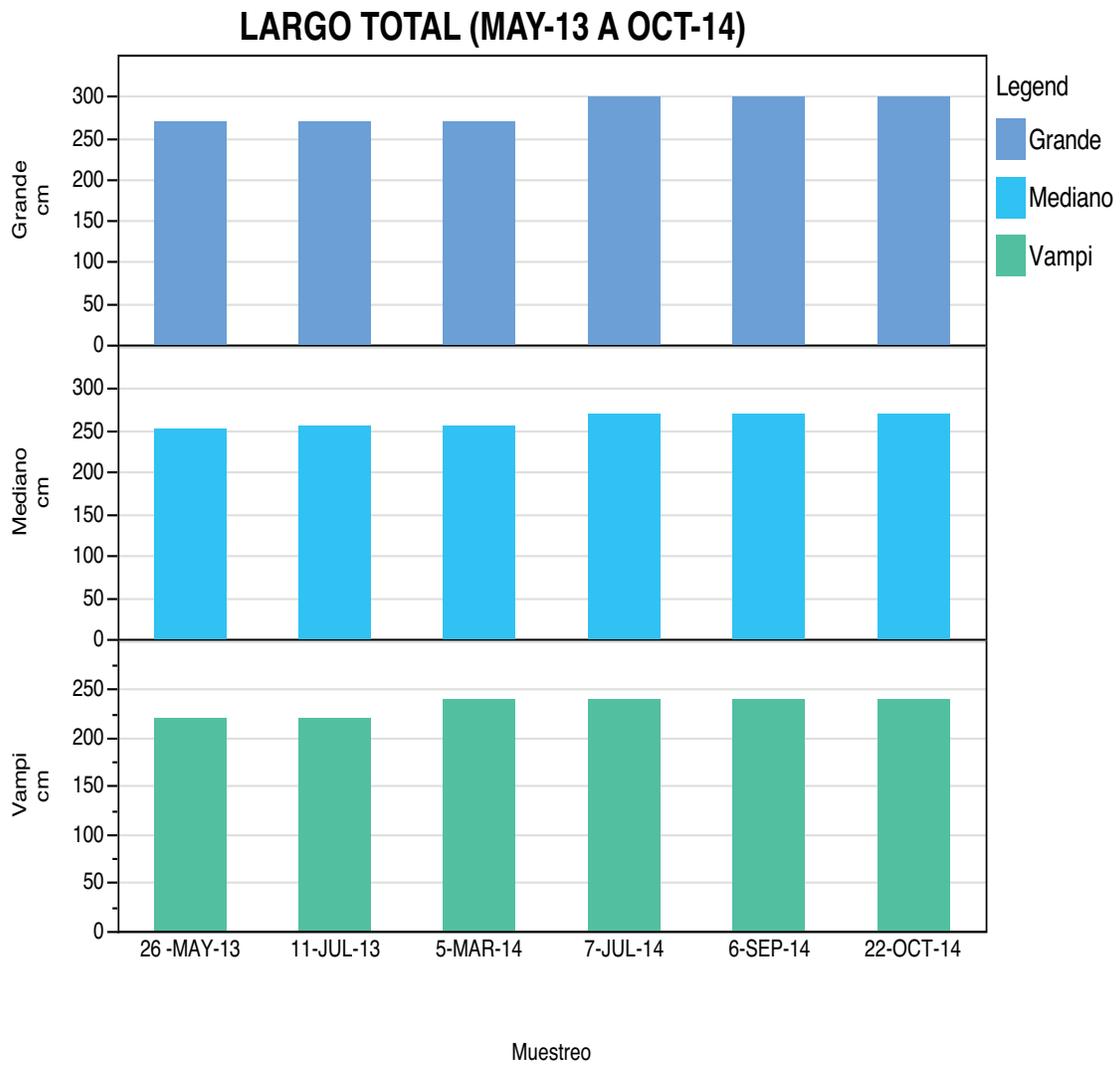


Figura 35, Crecimiento en largo de los machos. Los machos permitieron una medición por cada muestreo.

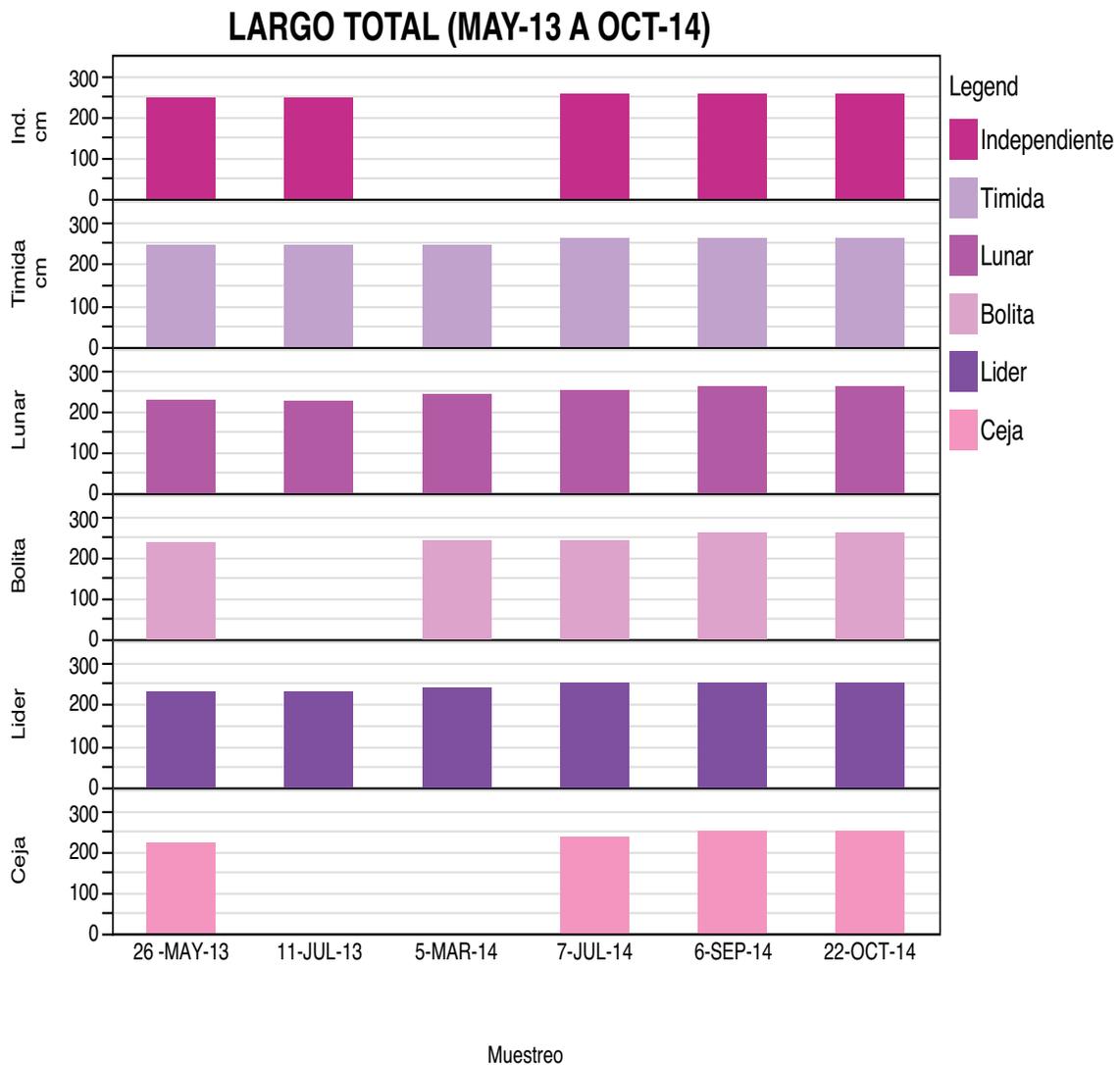


Figura 36. Crecimiento en largo de las hembras. Las hembras permitieron una medición por cada muestreo con excepción de Independiente, Bolita y Ceja.

Tabla 7. Tasa de crecimiento anual y mensual de los nueve ejemplares de elefantes africanos, de mayo de 2013 a octubre de 2014.

	Circunferencia Abdomen		Altura a la cruz		Largo total	
	Mensual	Anual	Mensual	Anual	Mensual	Anual
Grande	3.65 cm	62 cm	1.88 cm	32 cm	1.76 cm	30 cm
Mediano	2.41 cm	41 cm	1.53 cm	26 cm	1.06 cm	18 cm
Vampi	4.24 cm	72 cm	3.82 cm	65 cm	4.71 cm	80 cm
Independiente	2.94 cm	50 cm	3.53 cm	60 cm	0.24 cm	4 cm
Tímida	3.82 cm	65 cm	1.76 cm	30 cm	0.88 cm	15 cm
Lunar	3.59 cm	61 cm	1.47 cm	25 cm	1.94 cm	33 cm
Bolita	3.41 cm	58 cm	1.76 cm	30 cm	1.41 cm	24 cm
Líder	3.12 cm	53 cm	1.12 cm	19 cm	1.18 cm	20 cm
Ceja	3.88 cm	66 cm	1.76 cm	30 cm	1.76 cm	30 cm

La tasa de crecimiento anual se obtuvo restando el primer muestreo del último, la tasa de crecimiento mensual se obtuvo dividiendo la tasa anual entre el número de meses .

Las Figuras 37 a 44 representan la longitud de los colmillos en **cm** de los ejemplares involucrados en este estudio, entre mayo del 2013 y octubre del 2014.

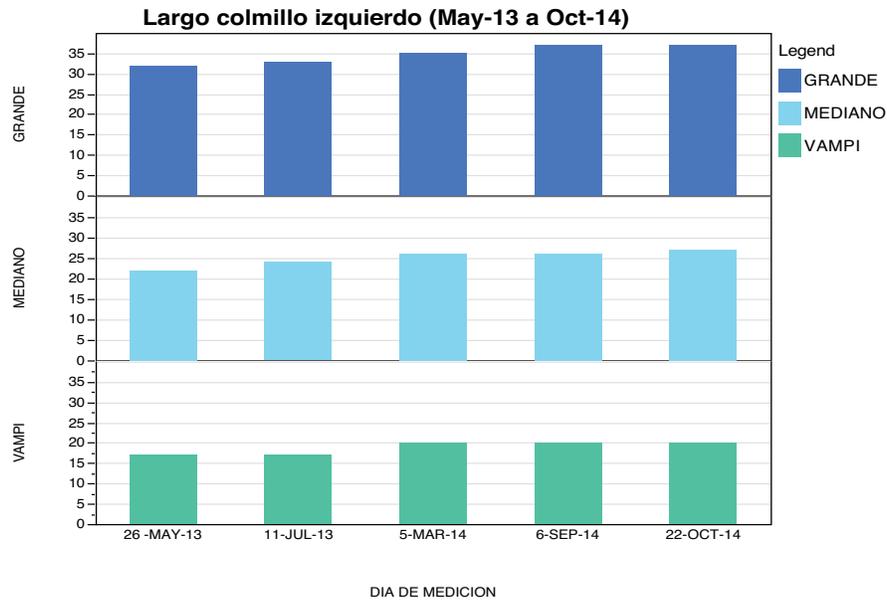


Figura 37. Longitud del colmillo izquierdo de los tres machos de mayo del 2013 a octubre del 2014.

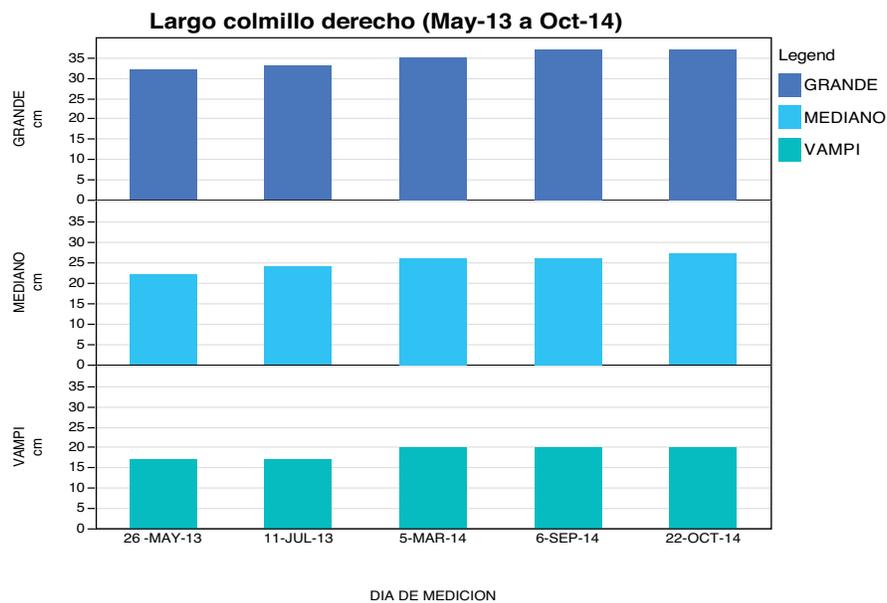


Figura 38. Longitud del colmillo derecho de los tres machos de mayo del 2013 a octubre del 2014.

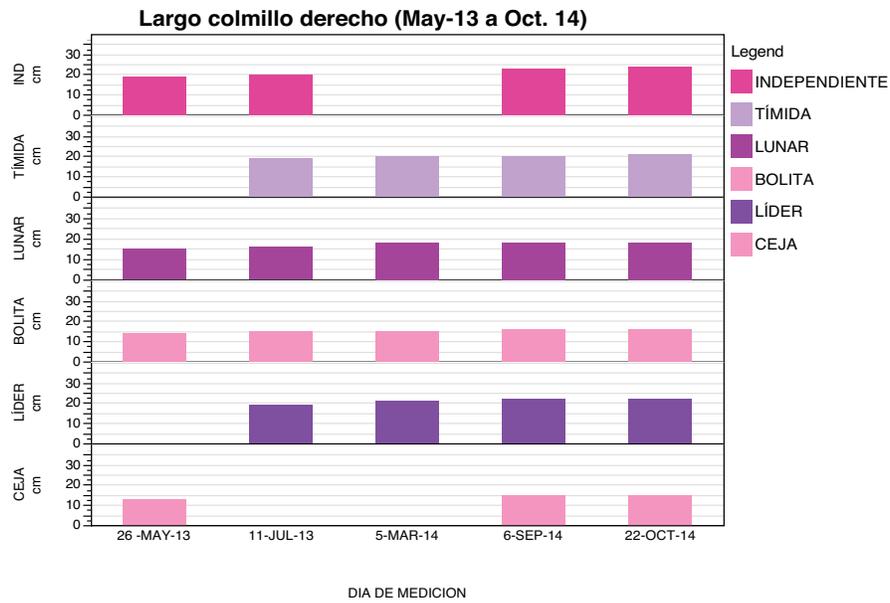


Figura 39. Longitud del colmillo derecho de las seis hembras de mayo del 2013 a octubre del 2014.

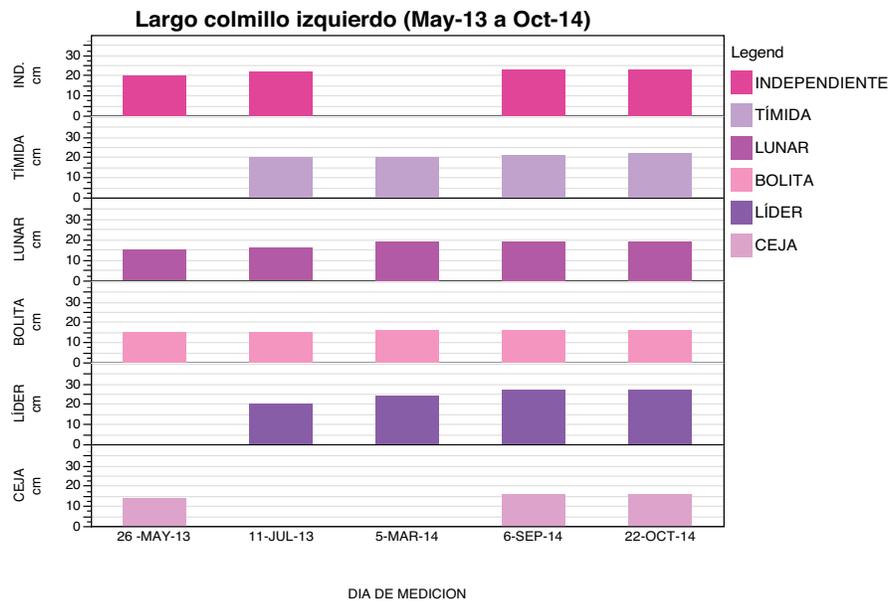


Figura 40. Longitud del colmillo izquierdo de las seis hembras de mayo del 2013 a octubre del 2014.

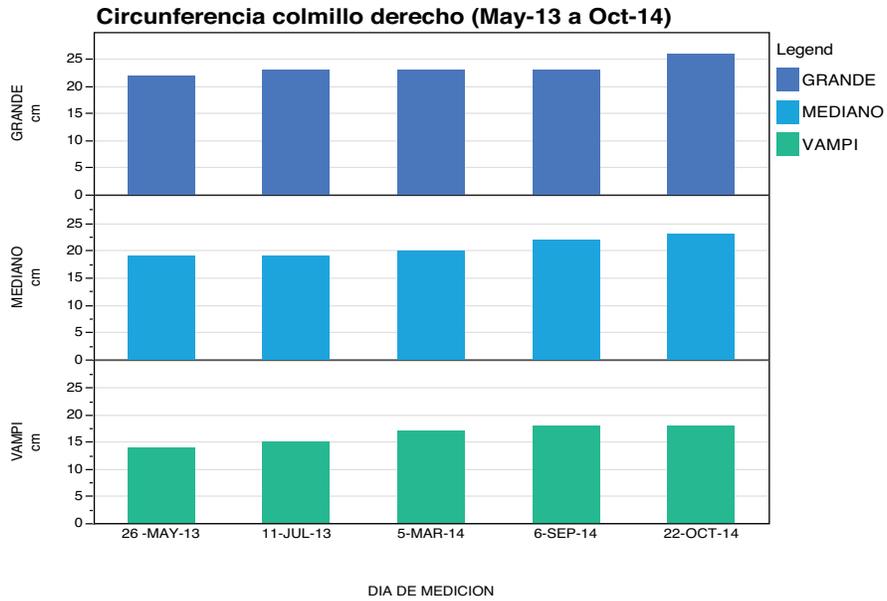


Figura 41. Circunferencia de colmillo derecho de los tres machos de mayo del 2013 a octubre del 2014.

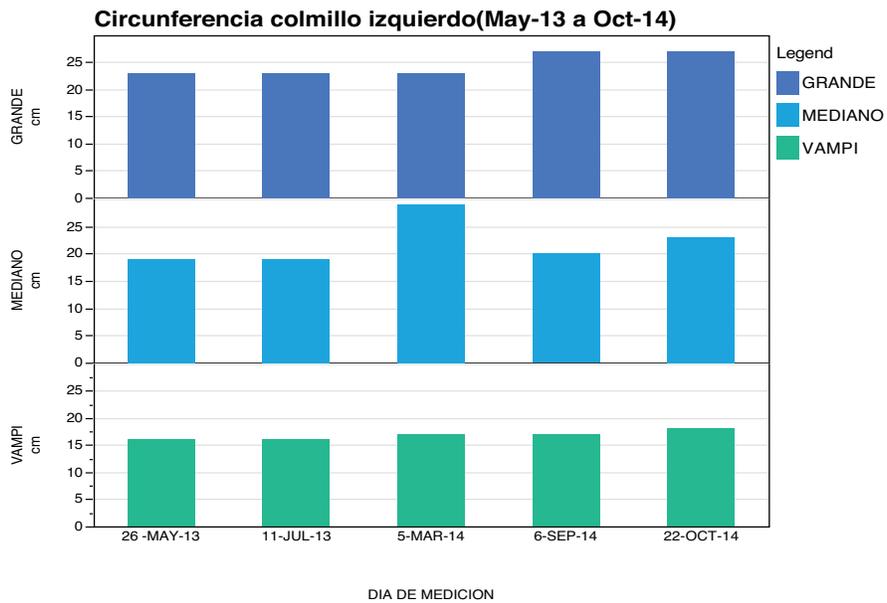


Figura 42. Circunferencia de colmillo izquierdo de los tres machos de mayo del 2013 a octubre del 2014.

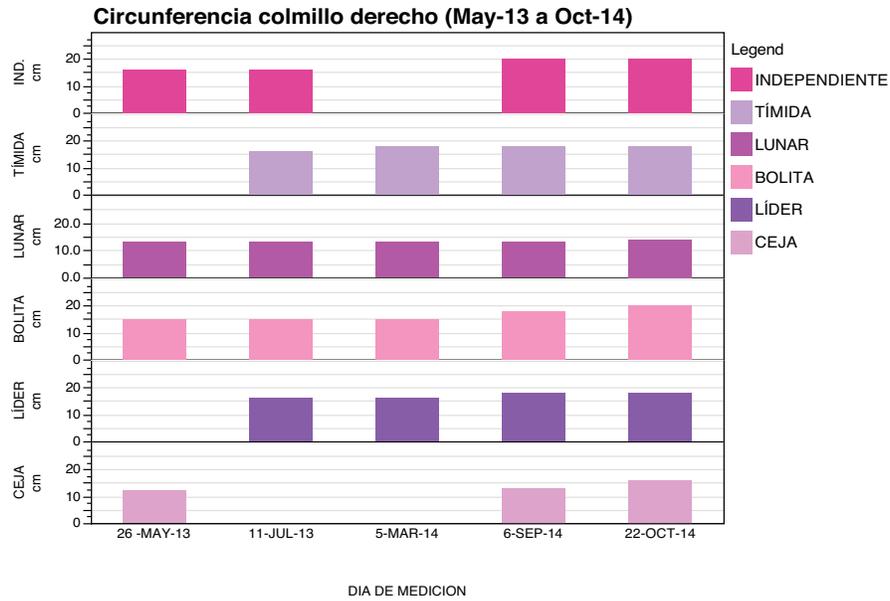


Figura 43. Circunferencia de colmillo derecho de las seis hembras de mayo del 2013 a octubre del 2014.

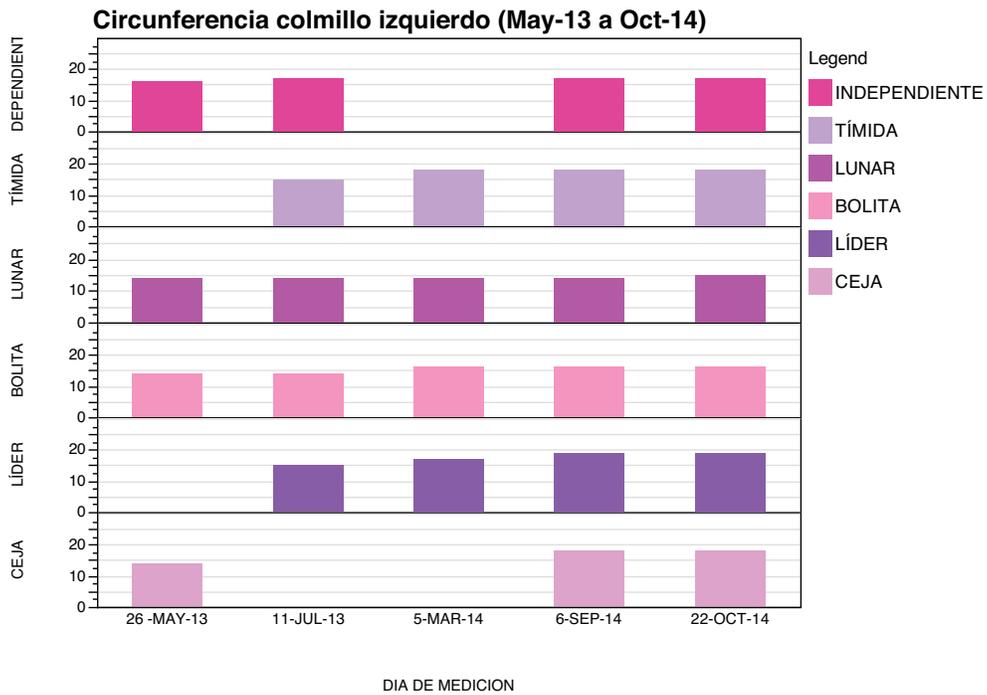


Figura 44. Circunferencia de colmillo izquierdo de las seis hembras de mayo del 2013 a octubre del 2014.

C) Ultrasonografía

Este estudio realizado en Africam Safari es pionero en México y América latina por implementar estudios de imagenología por ultrasonido mediante CO-RP a través de contacto protegido en los nueve individuos de elefantes africanos (*Loxodonta africana*).

Los estudios de ultrasonografía muestran los siguientes datos que se presentan en las tablas en los cuales se identificaron algunas estructuras pertenecientes al aparato reproductor y urinario.

En el primer estudio se visualizaron 8 folículos en líder y 18 folículos en independiente, lo que podría sugerir la existencia de dos oleadas foliculares.

Tabla 8: Resultados del primer estudio de ultrasonografía en Machos

1er Estudio ultrasonográfico 14 de Noviembre del 2014							
ID	Edad (Años)	Testículos	Conducto Deferente	Próstata	Vesículas seminales	Ámpulas	Otros
Grande	10-11	No	Si	No	Si	Si	Vejiga
Mediano	9-10	*	No	No	Si	Si	Vejiga
Vampi	5-6	*	No	No	Si	Si	Vejiga
*se pudo observar una estructura que podría ser parénquima testicular							

Tabla 9: Resultados del primer estudio de ultrasonografía en Hembras

1er Estudio ultrasonográfico 14 de Noviembre del 2014									
ID	Edad (años)	Ovarios	Útero	Cérvix	Vagina	Oviductos	Cuernos uterinos	Folículos	Otros
Ind.	9-10	Si	No	No	No	No	No	18	
Tímida	7-8	Si	Si	No	Si	No	No	-----	Vejiga
Lunar	6-7	Si	Si	No	Si	No	No	----	Vejiga
Bolita	6-7	Derecho	Si	No	Si	No	No	-----	
Líder	5-6	Si	Si	No	No	No	No	8	
Ceja	5-6	X	X	X	X	X	X	X	X

En la Tabla 10 se detalla el tamaño de los folículos ováricos hallados en dos de las hembras de mayor edad.

Tabla 10: Resultados estudio de ultrasonografía primer estudio Hallazgos

Hallazgos relevantes en machos						
ID	Edad					
Mediano	9-10	Se localizó un tejido de consistencia parenquimatosa debido a que el individuo no permitió mayor tiempo de manejo no se pudo confirmar				
Hallazgos relevantes en hembras						
Independiente	9-10	Ovario derecho	Folículos		1.4 a 6 mm	
		Ovario izquierdo	Folículos		1.6 a 4.9 mm	
Líder	5-6	Ovario derecho	Largo	3.17 cm	Folículos	1.4 a 5 mm
			Ancho	1.94 cm		

En el segundo estudio se visualizaron 23 folículos en Independiente lo que nuevamente sugiere presencia de dos oleadas foliculares. Además se observaron por primera vez ámpulas y vesículas seminales en los machos.

Tabla 11: Resultados estudio de ultrasonografía segundo estudio Machos

2º Estudio ultrasonográfico 16 de enero del 2015							
ID	Edad (Años)	Testículos	Conducto Deferente	Próstata	Vesículas Seminales	Ámpulas	Otros
Grande	10-11	No	No	No	Si	Si	Vejiga
Mediano	9-10	No	No	No	No	Si	Vejiga
Vampi	5-6	No	Si	No	Si	Si	-----

Tabla 12: Resultados estudio de ultrasonografía segundo estudio Hembras

2° Estudio ultrasonográfico 16 de enero del 2015									
ID	Edad (años)	Ovarios	Útero	Cérvix	Vagina	Oviductos	Cuernos uterinos	Folículos	Otros
Ind.	9-10	Si	Si	No	No	No	No	23	X
Tímida	7-8	Derecho	Si	No	No	No	No	-----	Vejiga
Lunar	6-7	Derecho	No	No	No	No	No	----	X
Bolita	6-7	Derecho	Si	No	No	No	No	-----	X
Líder	5-6	Si	Si	No	No	No	No	_____	X
Ceja	5-6	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabla 13: Resultados estudio de ultrasonografía segundo estudio Hallazgos

Hallazgos relevantes en Machos				
ID	Edad			
Grande	10-11	Ámpula derecha	Largo Órgano	4.21 cm
		Ámpula izquierda	Largo Órgano	4.53 cm
Mediano	9-10	Ámpula derecha	Largo Órgano	4.96 cm
		Ámpula izquierda	Largo Órgano	5.22 cm
Vampi	5-6	Ducto deferente	Diámetro	0.87 cm
Hallazgos relevantes en Hembras				
ID	Edad			
Independiente	9-10	Ovario derecho	Largo	2.84 cm
			Ancho	1.10 cm
		Folículos	1.8 a 4.3 mm	
		Ovario izquierdo	Largo	2.82 cm
			Ancho	1.02 cm
Folículos	1.9 a 7.3 mm			
Lunar	6-7	Ovario derecho	Largo en cm	6.8 cm
			Ancho en cm	1.7 cm
		Folículos	Se encontraron 23 de 1.7 mm a 6.8 mm	

En el tercer estudio, se visualizó la próstata por primera vez en Grande.

Asimismo se realizó el primer intento de estudio por ultrasonido en la hembra más joven del grupo. Además, se localizó un cuerpo lúteo en Independiente.

Tabla 14: Resultados estudio de ultrasonografía tercer estudio Machos

3° Estudio ultrasonográfico 5 de junio del 2015							
ID	Edad (Años)	Testículos	Conducto Deferente	Próstata	Vesículas Seminales	Ámpulas	Otros
Grande	10-11	No	Si	Si	Si	Si	-----
Mediano	9-10	No	No	No	Si	Si	Uretra
Vampi	5-6	No	Si	No	Si	Si	-----

Tabla 15: Resultados estudio de ultrasonografía tercer estudio Hembras

3° estudio ultrasonográfico 5 de junio del 2015									
ID	Edad (años)	Ovarios	Útero	Cérvix	Vagina	Oviductos	Cuernos uterinos	Folículos	Otros
Ind.	9-10	Si	Si	No	No	No	No	14	CL
Tímida	7-8	Si	Si	Si	No	No	No	5	----
Lunar	6-7	Si	Si	No	No	No	No	----	---
Bolita	6-7	Si	Si	No	No	No	No	-----	---
Líder	5-6	Si	Si	Si	No	No	No	12	---
Ceja	5-6	No	No	No	No	No	No	No	---

En este tercer estudio se detectó un aumento en el largo de las ámpulas de los machos de mayor edad.

En la hembra de mayor edad se destaca el hallazgo de una estructura similar a un cuerpo lúteo en regresión. En la hembra de 7-8 años se visualizó un folículo de aproximadamente 16 mm que podría catalogarse como dominante.

Tabla 16: Resultados del tercer estudio de ultrasonografía en machos y hembras.

Hallazgos relevantes en machos					
ID	Edad				
Grande	10-11	Ámpulas			
		Derecha	Largo Órgano	5.31 cm	
			Ancho Órgano	1.91 cm	
		Izquierda	Largo Órgano	6.9 cm	
		Vesículas seminales			
		Izquierda	Largo Órgano	11.72 cm	
		Derecha	Largo Órgano	10.75 cm	
			Largo Luz	11.32 cm	
Mediano	9-10	Ámpulas			
		Derecha	Largo Órgano	5.36 cm	
			Ancho Órgano	3.03 cm	
			Largo Luz	3.09 cm	
			Ancho Luz	1.26 cm	
		Uretra	Largo	1.43 cm	
Ancho	1.41 cm				
Hallazgos relevantes en hembras					
ID	Edad				
Independiente	9-10	Cuerpo del útero	Diámetro cm	0.79 cm	
		Ovario derecho Folículos mm	2.5 cm a 9.3 cm y un cuerpo lúteo de 7.8 posiblemente en regresión.		
Lunar	6-7	Ovario derecho	Largo	1.59 cm	
			Ancho	0.95 cm	
Bolita	6-7	Útero	Diámetro	0.68 cm	
Líder	5-6	Útero	Diámetros	0.97 cm en su parte mas ancha, 0.58 cm en la mas delgada	
		Ovario derecho	Largo	3.13 cm	
			Ancho	2.17 cm	
		Folículos	3.8 a 16 mm, se encontró solo un folículo que mide 16 mm probablemente es un folículo dominante		
		Ovario izquierdo	Largo	2.29 cm	
			Ancho	1.44 cm	
Folículos	1.7 a 5.3 mm				

En el cuarto estudio se visualizaron próstata y glándulas accesorias en los tres machos. Por otra parte se localizó el cérvix en Lunar y ambos ovarios por primera vez en Ceja.

Tabla 17: Resultados del cuarto estudio de ultrasonografía en Machos.

4º estudio ultrasonográfico 6 de agosto del 2015							
ID	Edad (Años)	Testículos	Conducto Deferente	Próstata	Vesículas Seminales	Ámpulas	Otros
Grande	10-11	No	Si	Si	Si	Si	-----
Mediano	9-10	No	Si	Si	Si	Si	Vejiga
Vampi	5-6	No	No	Si	Si	Si	*
Se observan 2 estructuras que se cree son glándulas bulbo-uretrales							

Tabla 18: Resultados del cuarto estudio de ultrasonografía en Hembras.

4º estudio ultrasonográfico 6 de agosto del 2015									
ID	Edad (años)	Ovarios	Útero	Cérvix	Vagina	Oviductos	Cuernos uterinos	Folículos	Otros
Ind.	9-10	Derecho	No	No	No	No	No	-----	-----
Tímida	7-8	Derecho	No	No	No	No	No	5	----
Lunar	6-7	Si	Si	Si	No	No	No	8	---
Bolita	6-7	No	No	No	No	No	No	-----	---
Líder	5-6	No	No	No	No	No	No	-----	---
Ceja	5-6	Si	Si	No	No	No	No	No	---

Tabla 19: Resultados del cuarto estudio de ultrasonografía en machos y hembras.

Hallazgos relevantes				
ID	Edad			
Grande	10-11	Ámpulas		
		Derecha	Largo Órgano	4.17 cm
			Ancho Órgano	1.78 cm
		Próstata	Ancho Órgano cm	1.31 cm
		Vesículas seminales		
		Izquierda	Largo Órgano	7.18 cm
		Derecha	Largo Órgano	4.26 cm
			Ancho órgano	
			Largo Luz	5.72 cm
			Ancho Luz	3.68 cm
Mediano	9-10	Conducto deferente	Diámetro	1.43 cm
		Vesícula Seminal	Derecha Largo	12.52 cm
		Ámpula derecha	Largo	4.61 cm
			Ancho	1.9 cm
		Próstata	Largo	7.61 cm
			Ancho	3.91 cm
Vampi	5-6	Próstata	Ancho	1.31 cm
		Vesícula seminal derecha	Largo Luz	12.73 cm
		Ámpula derecha	Largo órgano	5.88 cm
			Ancho órgano	2.33 cm
		Gls. Bulbo-uretrales*	Derecha	2.43
			Izquierda	3.51
Tímida	6-7	Ovario derecho	Largo	2.68 cm
			Ancho	1.76 cm
			3.8 a 9.2 mm	
Lunar	6-7	Folículos	Diámetro	0.56 cm
		Cérvix	Diámetro	0.65 cm
		Ovario derecho	Largo	2.31 cm
			Ancho	1.29 cm
		Folículos	2.5 a 7.1 mm	
		Ovario izquierdo	Largo	2.35 cm
			Ancho	1.51 cm
		Folículos	3.7 a 9.5	
Ceja	5-6	Ovario derecho	Largo	1.78 cm
			Ancho	0.91 cm
		Folículos	3 a 9.3 mm	
		Ovario izquierdo	Largo	1.39 cm
			Ancho	0.66 cm

La Figura 45 y 46 muestra la imagen ultrasonográfica de las glándulas accesorias del individuo identificado como Grande, de dimensiones similares a las reportadas en ejemplares adultos(10 cm; Fowler, 2006).

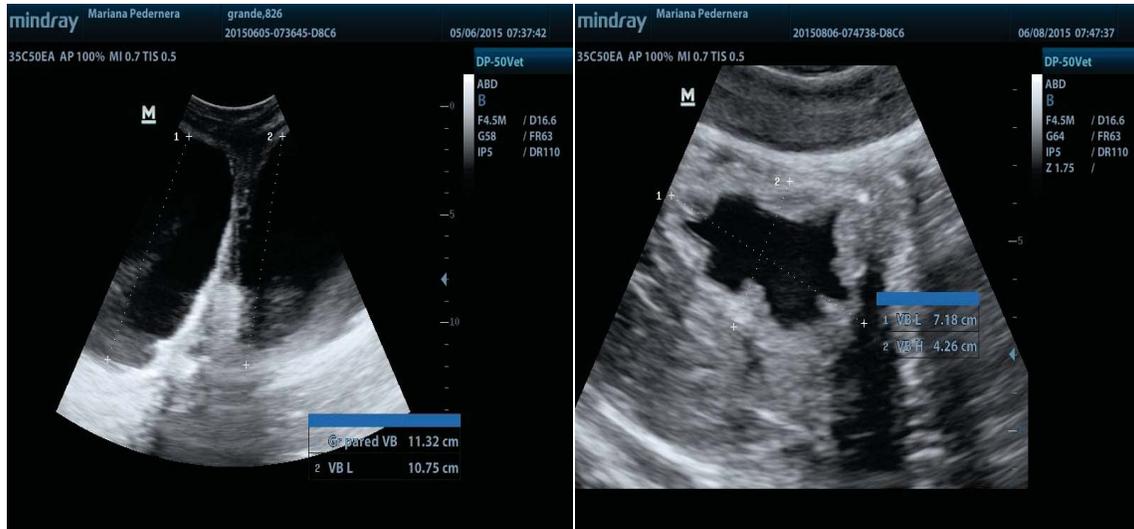


Figura 45. Se observan las vesículas seminales de Grande (10-11 años) plétoras en la imagen de la izquierda y vacías en la imagen derecha.

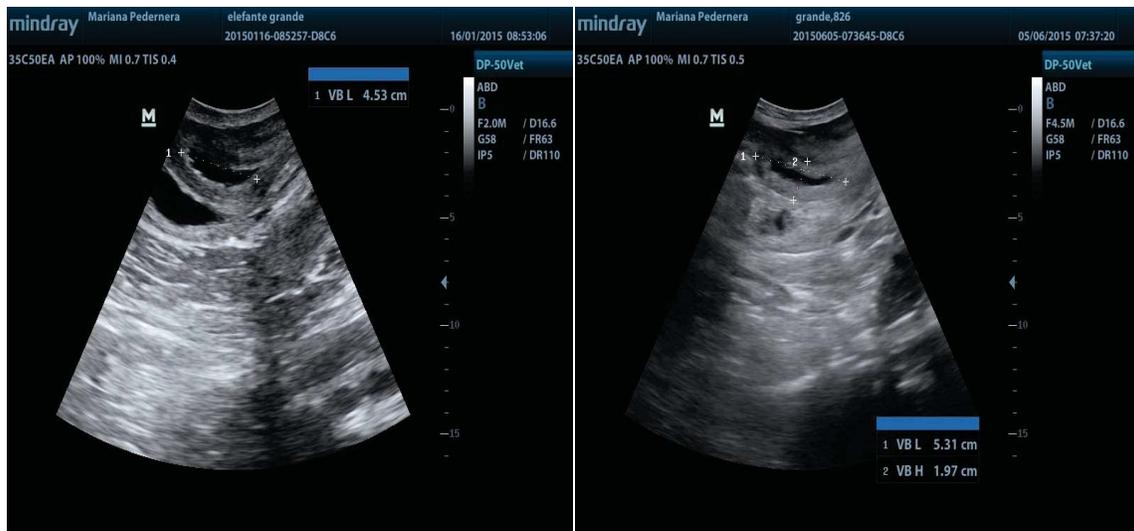


Figura 46. Se aprecian las ámpulas de Grande (10-11 años)

En la Figura 47 y 48 se observan glándulas accesorias del individuo identificado como Mediano, que también tiene dimensiones similares a las reportadas en machos adultos.

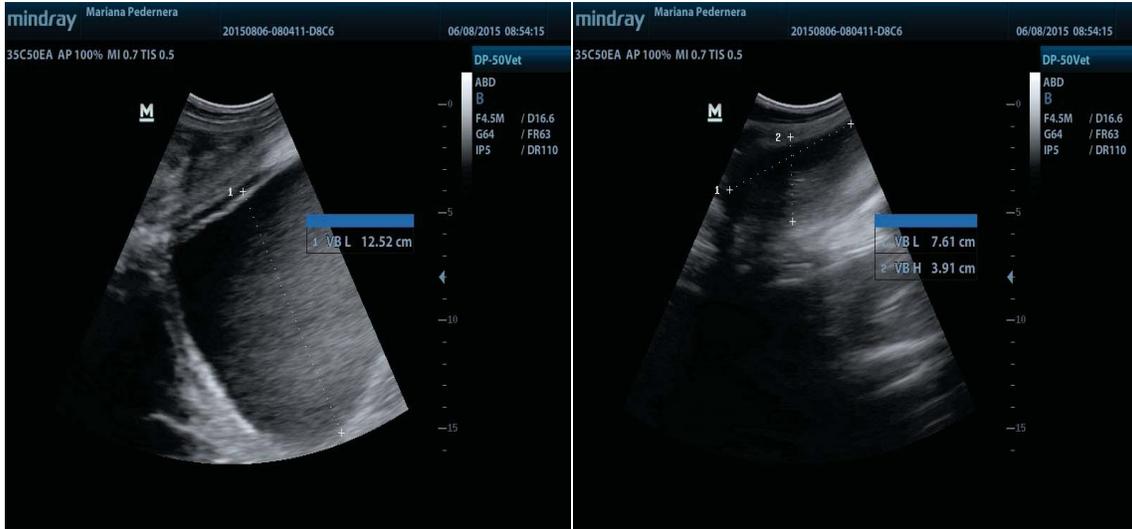


Figura 47. Se puede apreciar la vesícula seminal plétora en la imagen de la izquierda y próstata de Mediano (9-10 años) en la imagen de la derecha



Figura 48. Se observa en la imagen de la izquierda el conducto deferente y ámpulas de Mediano (9-10 años) en la imagen de la derecha

En la Figura 49 se observan glándulas accesorias del individuo identificado como Vampi, que también tiene un desarrollo similar al de machos adultos. Sin embargo la próstata es más pequeña que la de los machos de mayor edad.



Figura 49. Se puede apreciar en la imagen de la izquierda la próstata y ámpula, en la imagen del centro vesículas seminales, así como las glándulas bulbo-uretrales de Vampi (5-6 años) en la imagen de la derecha.

Las figuras 50 y 51 muestran las imágenes obtenidas de las hembras de 9-10 años y de 7-8 años respectivamente adonde se puede identificar el tracto reproductor. Se destaca la presencia de un cuerpo lúteo en la mayor de ellas.



Figura 50. Tracto reproductor de la hembra de 9-10 años. Se aprecia el útero en la imagen de la izquierda, ovario, folículo y cuerpo lúteo de Independiente en la imagen de la derecha.



Figura 51. Tracto reproductor de la hembra de 7-8 años Se visualiza el útero en la imagen de la izquierda, y ovario y folículos de Tímida (7-8 años) en la de la derecha.

Las figuras 52 y 53 muestran el tracto reproductivo de la hembra de 6-7 años llamada Lunar y permite apreciar parte del útero y el cérvix. Se observa además el ovario con folículos.



Figura 52. Tracto reproductor de la hembra de 7-8 años. Se aprecia útero en la imagen de la izquierda y cérvix en la imagen de la derecha de Lunar.

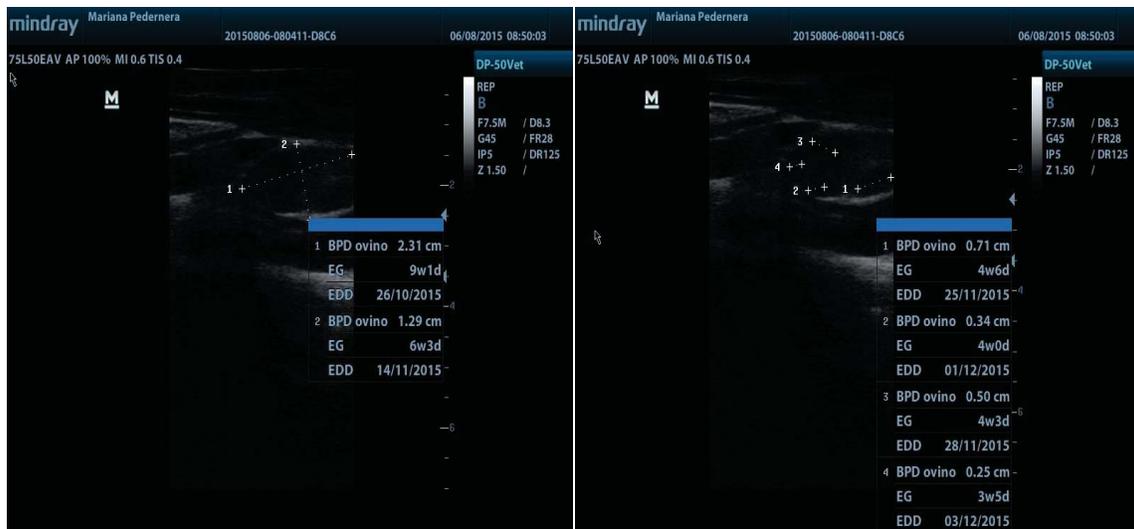


Figura53. Tracto reproductor de la hembra de 7-8 años. Se puede apreciar ovario en la imagen de la izquierda y folículos de Lunar, con sus respectivas medidas en la imagen de la derecha.

En la Figura 54 se muestra el tracto reproductor de otra hembra de 6-7 años llamada Bolita.



Figura 54. Tracto reproductor de la hembra de 7-8 años. Se muestra la medición del diámetro del cuerpo del útero de Bolita.

Las Figuras 55 y 56 presentan las imágenes correspondientes al tracto reproductor de otra hembra de 5-6 años llamada Líder. Llama la atención una imagen sugerente de la presencia de un cuerpo lúteo.

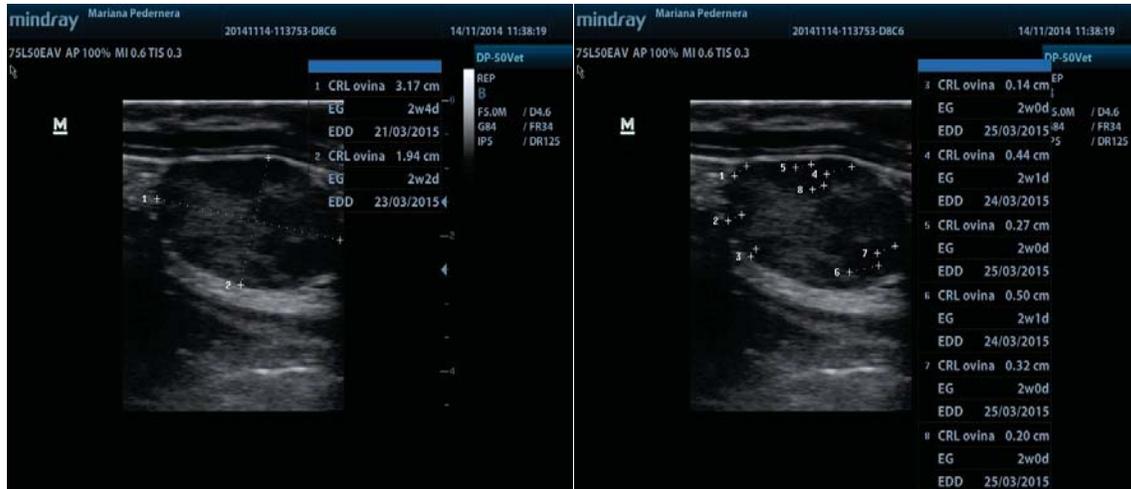


Figura 55: Imagen del ovario derecho de la hembra de 5-6 años. Se muestran las mediciones del ovario derecho y folículos de Líder en la imagen de la derecha.

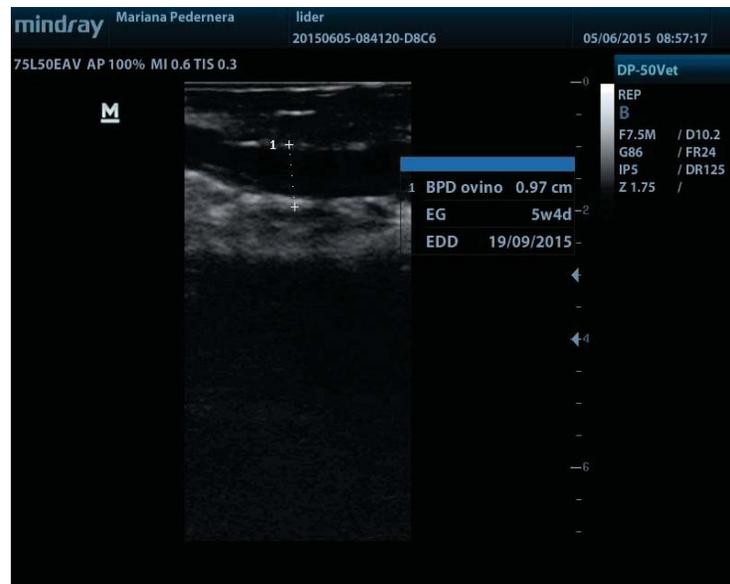


Figura 56: Cuerpo lúteo en el ovario de la hembra de 5-6 años. Se muestra la medición del diámetro del cuerpo del útero de Líder.

Por último, la figura 57 muestra la imagen del ovario que contiene folículos, de la otra hembra de 5-6 años llamada Ceja.

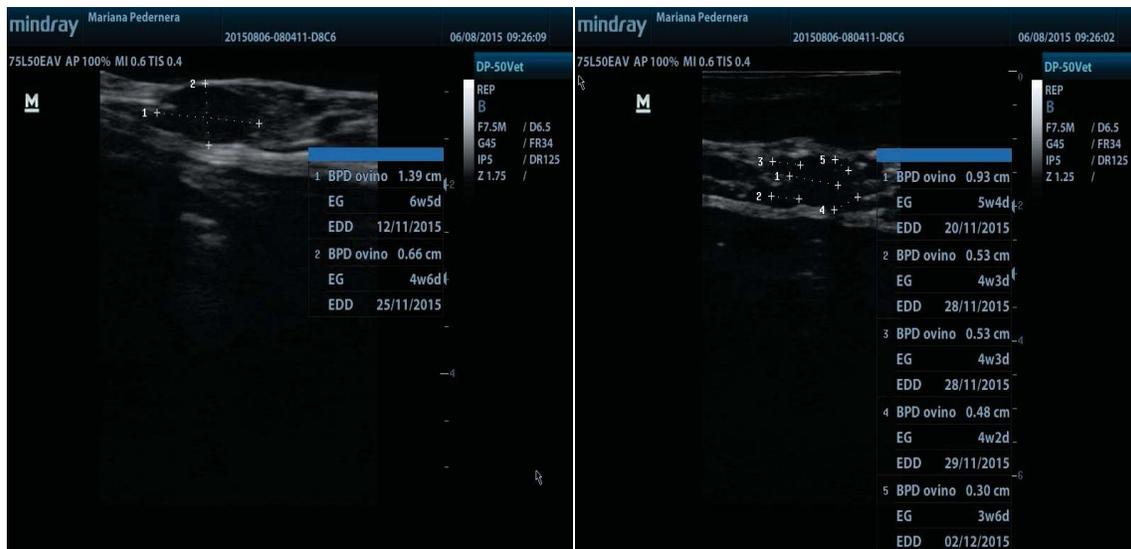


Figura 57: Imagen del ovario de la hembra de 5-6 años llamada Ceja. Se puede apreciar el ovario en la imagen de la izquierda y folículos en la imagen de la derecha.

D) Mediciones Conductuales

a) Proporción del tiempo en conductas de mantenimiento

La Figura 58 muestra los resultados para las conductas catalogadas como estados obtenidas mediante mediciones de Barrido. No se encontraron diferencias significativas entre los machos y entre las hembras con respecto a una conducta trófica, como: comer, en la que el porcentaje de todo el grupo es cercano al 70%.

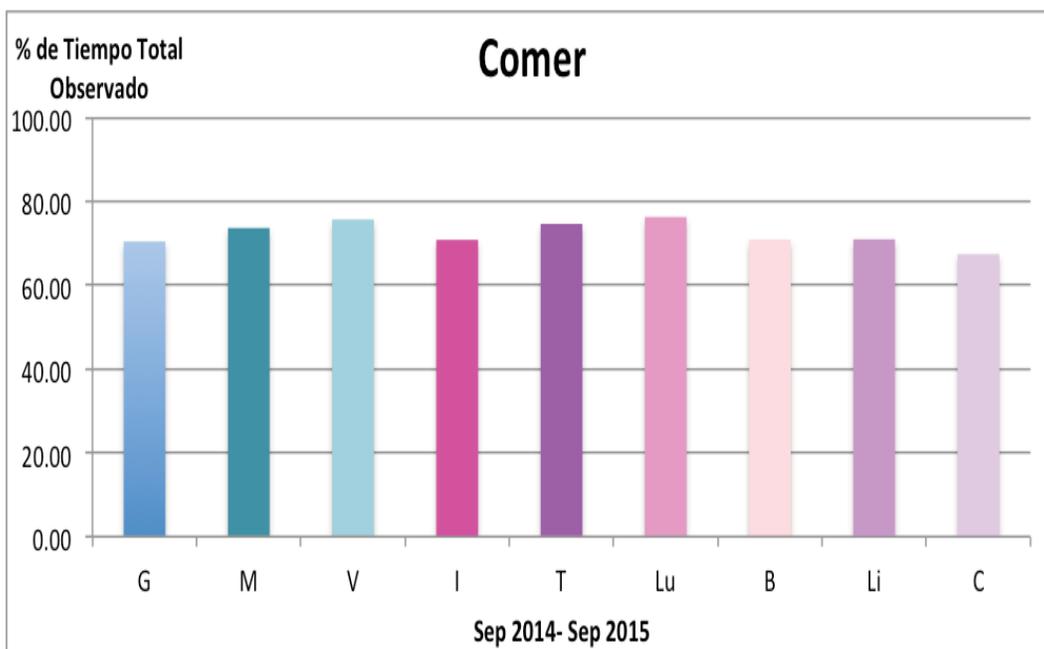


Figura 58. Porcentaje de tiempo total de observación desarrollando conducta trófica (Comer) catalogada como estados de conducta. Las barras de tonos azules indican a los tres machos y las de tonos rosa indican a las seis hembras.

En la Figuras 59 a 67 se muestran los porcentajes de tiempo para las conductas catalogadas como “estados” obtenidas en los muestreos de barrido para los machos y hembras del este estudio.

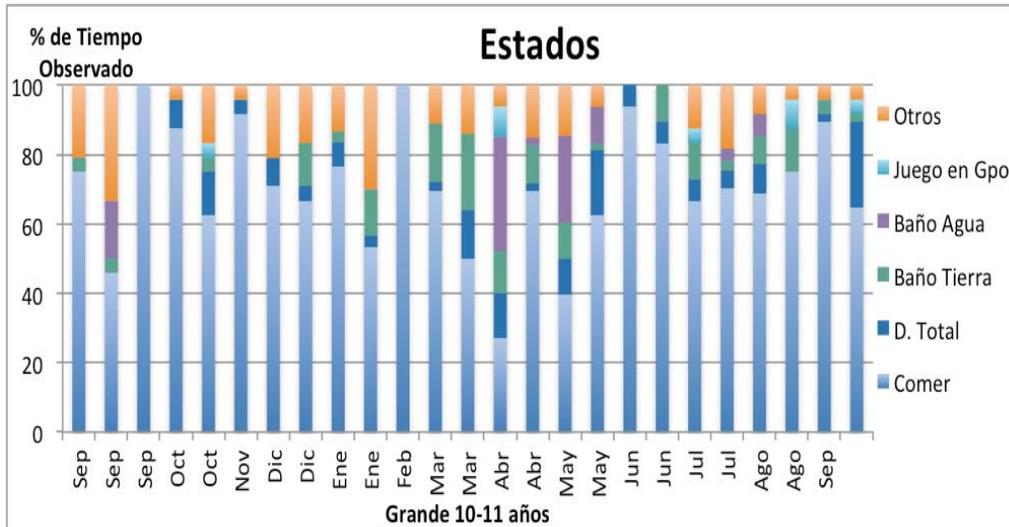


Figura 59. Porcentaje de tiempo que invierte Grande (10-11 años) realizando estados de conductas.

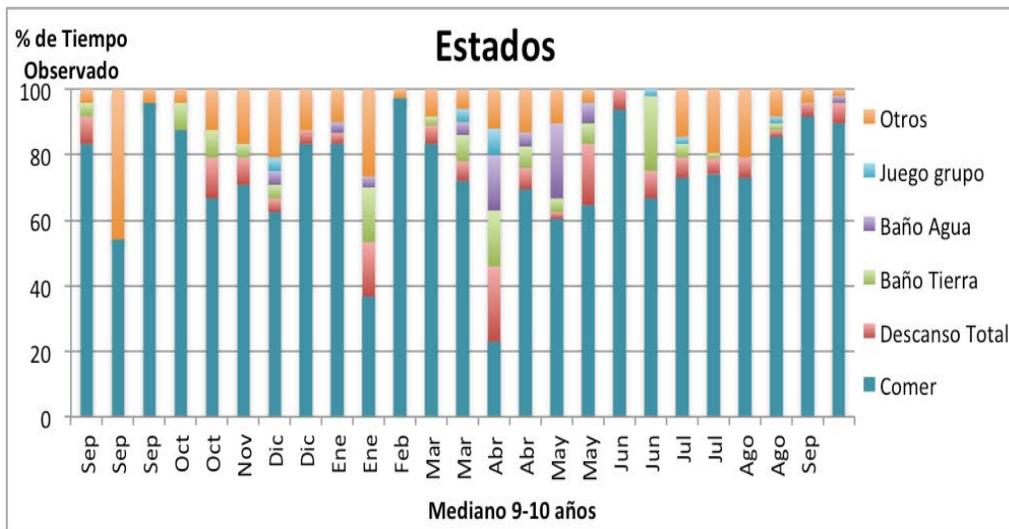


Figura 60. Porcentaje de tiempo que invierte Mediano (9-10 años) realizando estados de conductas.

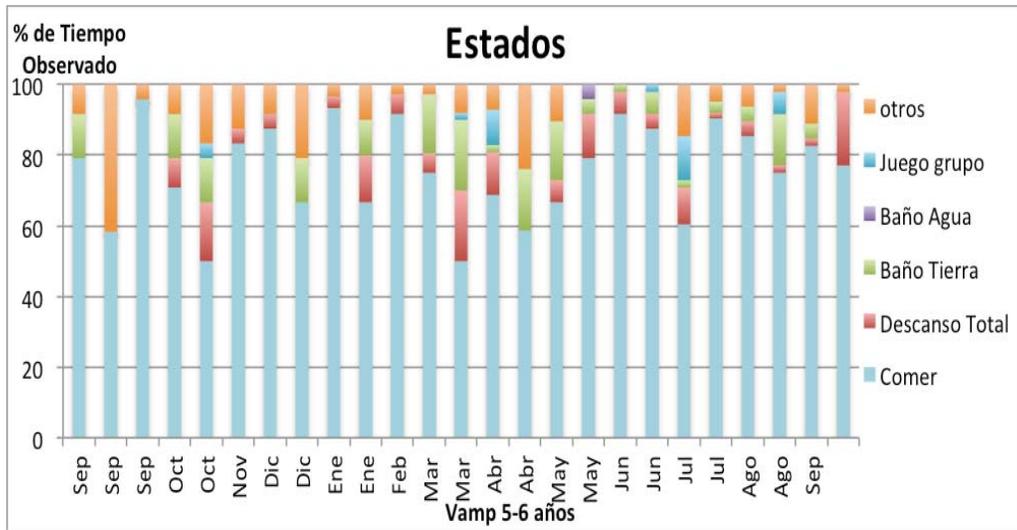


Figura 61. Porcentaje de tiempo que invierte Vampi (5-6 años) realizando estados de conductas.

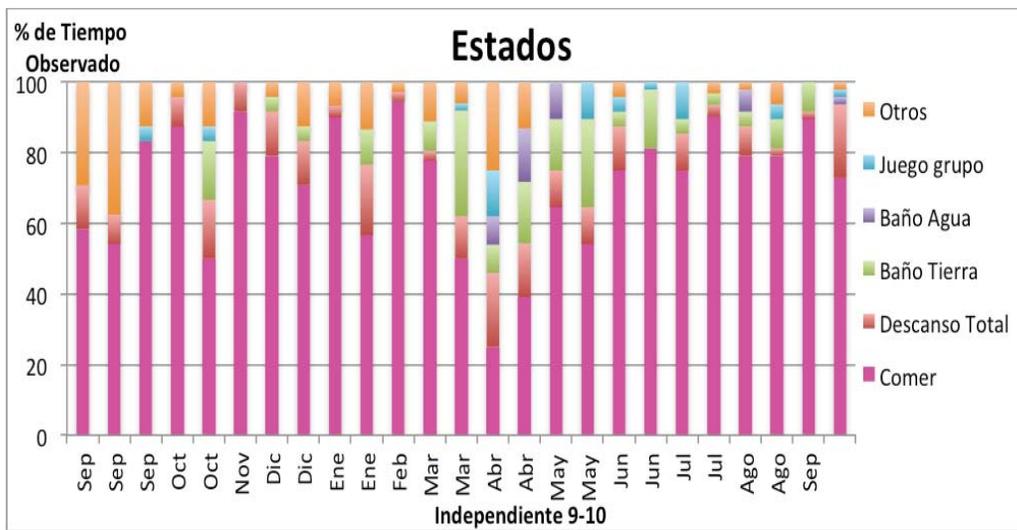


Figura 62. Porcentaje de tiempo que invierte Independiente (9-10 años) realizando estados de conductas.

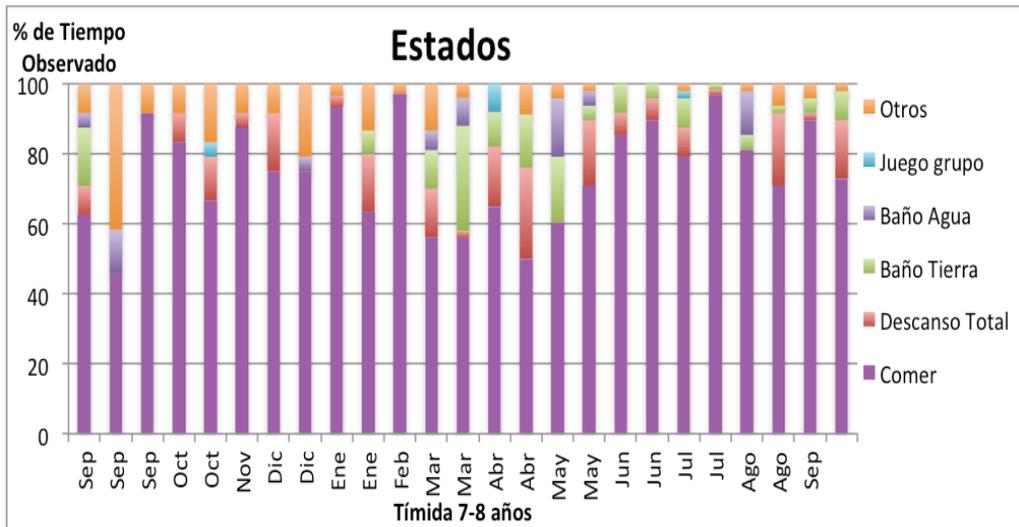


Figura 63. Porcentaje de tiempo que invierte Tímida (7-8 años) realizando estados de conductas.

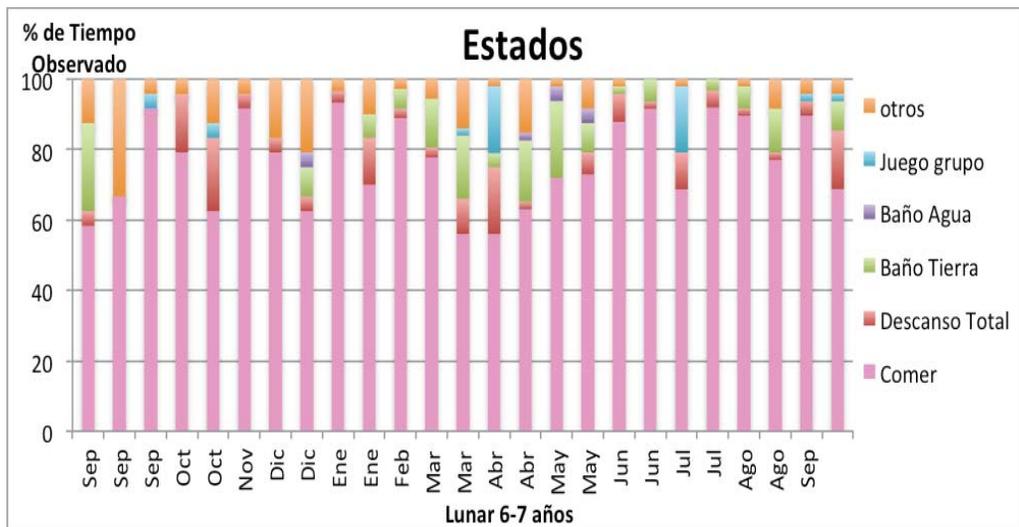


Figura 64. Porcentaje de tiempo que invierte Lunar (6-7 años) realizando estados de conductas.

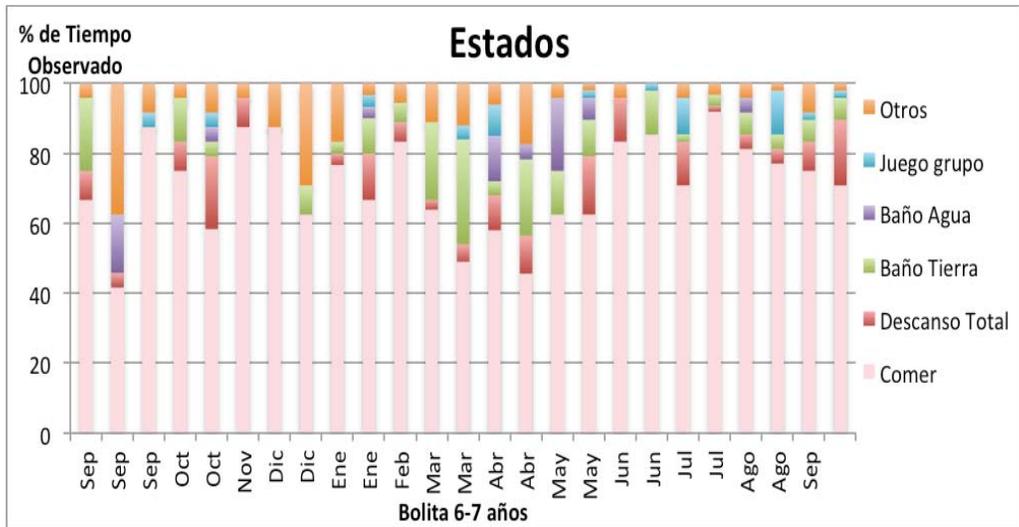


Figura 65. Porcentaje de tiempo que invierte Bolita (6-7 años) realizando estados de conductas.

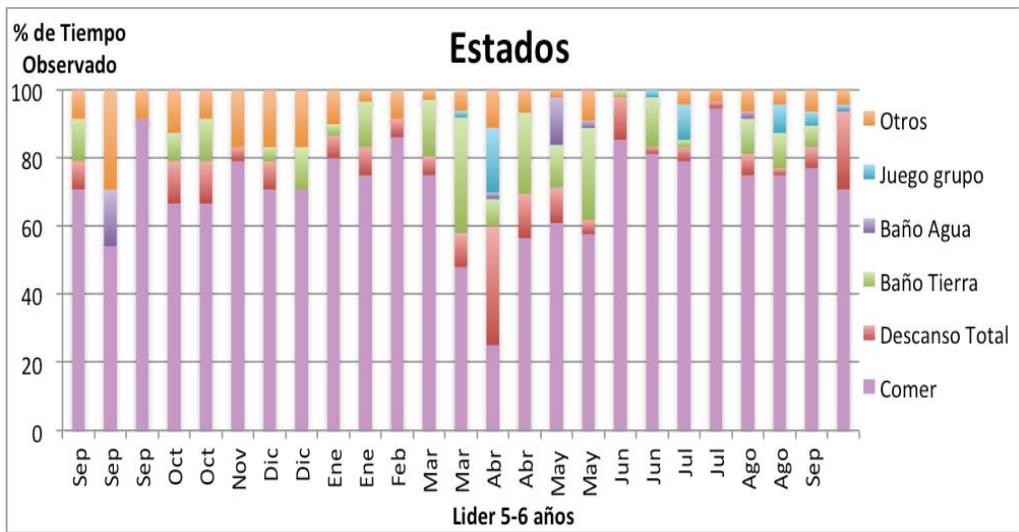


Figura 66. Porcentaje de tiempo que invierte Líder (5-6 años) realizando estados de conductas.

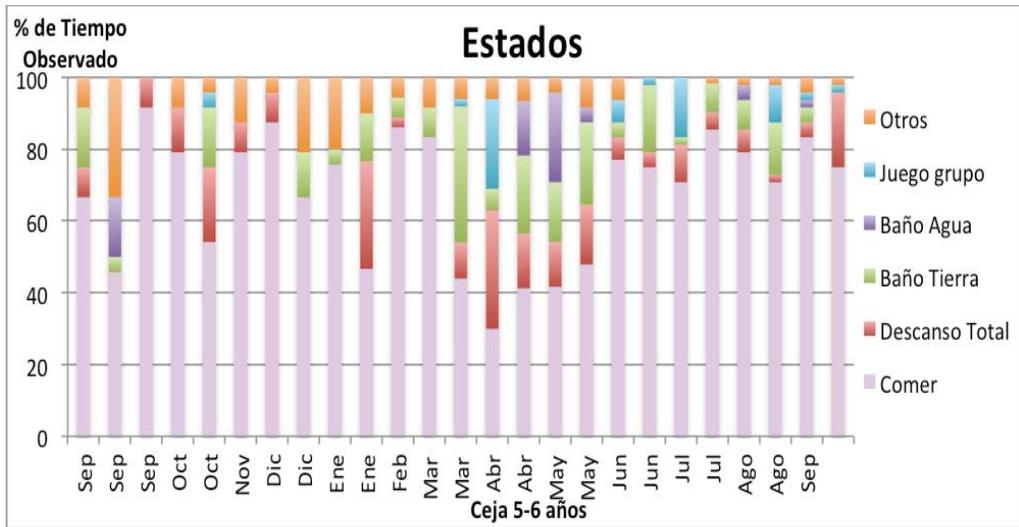


Figura 67. Porcentaje de tiempo que invierte Ceja (5-6 años) realizando distintos estados de conducta..

Las siguientes Figuras (68 a 80) muestran los resultados relevantes para las conductas asociadas al comportamiento sexual catalogadas como eventos, calculados a través de muestreo conductual, realizadas por los machos y hembras de este estudio.

Como se observa en las Figuras 68 y 69, en el caso de Grande aumenta el patrón de locomoción, enfrentamiento, olfatear genitales y prueba de cabalque al final del estudio. La Figura 70 muestra que en Mediano hubo un aumento en el patrón de todas las conductas al final del periodo de estudio y sólo para olfatear genitales en la Figura 71. Se observó que Vampi aumentó todas las conductas al final del periodo de estudio (Fig. 72); asimismo presentó conductas sexuales durante el periodo de estudio, probablemente por imitación (Fig. 73). En la Figura 74 se puede ver que Independiente aumentó el patrón de locomoción al final del periodo de estudio. Bolita presentó aumento en el patrón de locomoción al final del periodo de estudio (Fig. 77). Como se muestra en la Figura 78 Líder presentó aumento en los patrones de locomoción y en las conductas eliminativas al final del periodo de estudio. La Figura 80 demuestra que Ceja presentó aumento en la locomoción al final del periodo de estudio, y también conductas sexuales probablemente por imitación. Independiente y Líder son las únicas hembras que presentaron conductas sexuales como el ofrecimiento. En los demás ejemplares no se observaron cambios relevantes de los patrones conductuales.

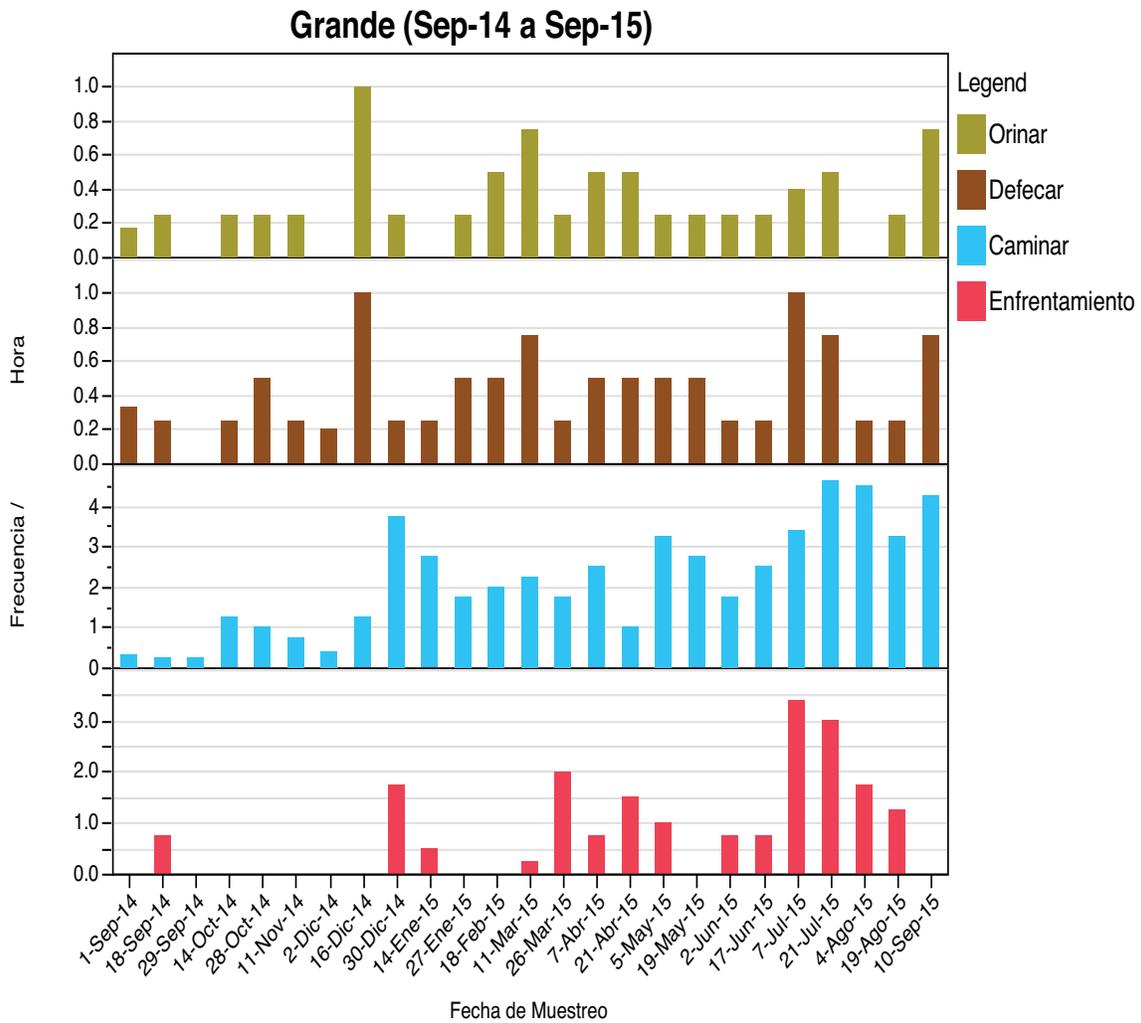


Figura 68. Resultados de conductas eliminativas y de locomoción de Grande. Se muestra el número de veces que realiza la conducta por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

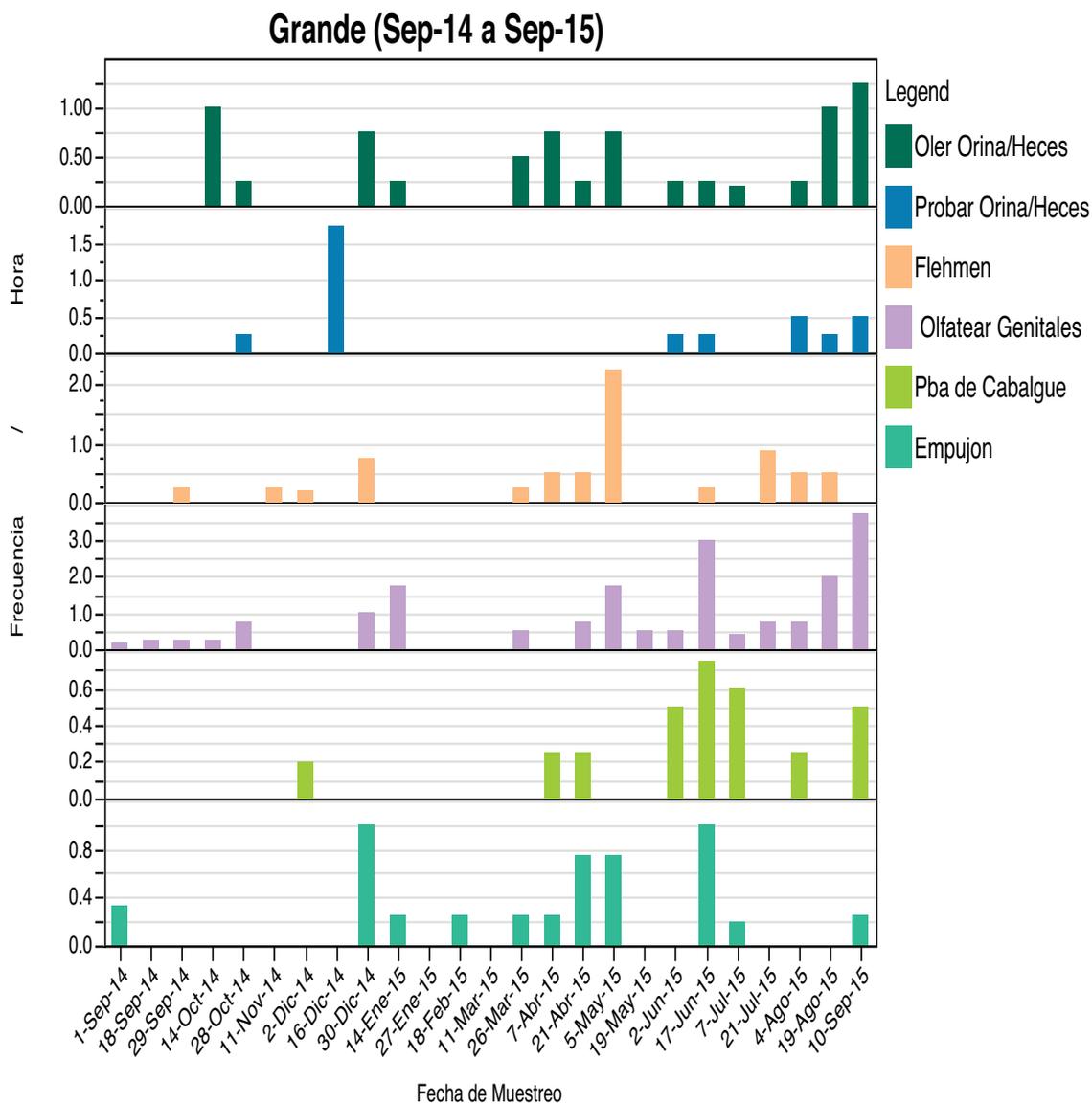


Figura 69. Conducta sexual de Grande. Se muestran los resultados de conductas sexuales de Grande, en función del número de veces que presentan las conductas clasificadas como eventos por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

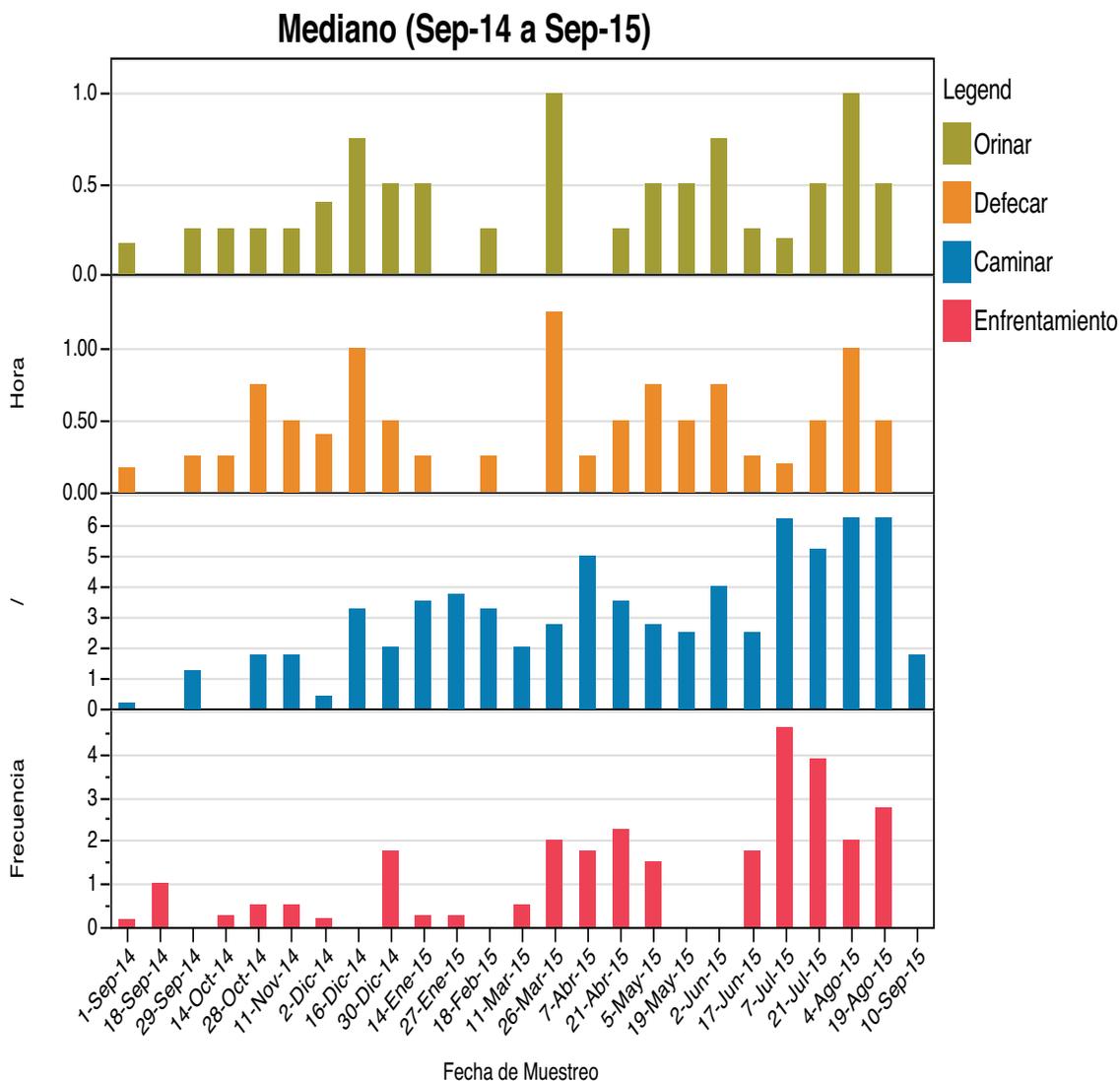


Figura 70. Conducta sexual de Mediano. Se muestran los resultados de conductas sexuales en función del número de veces que presentan las conductas clasificadas como eventos por hora de observación, de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

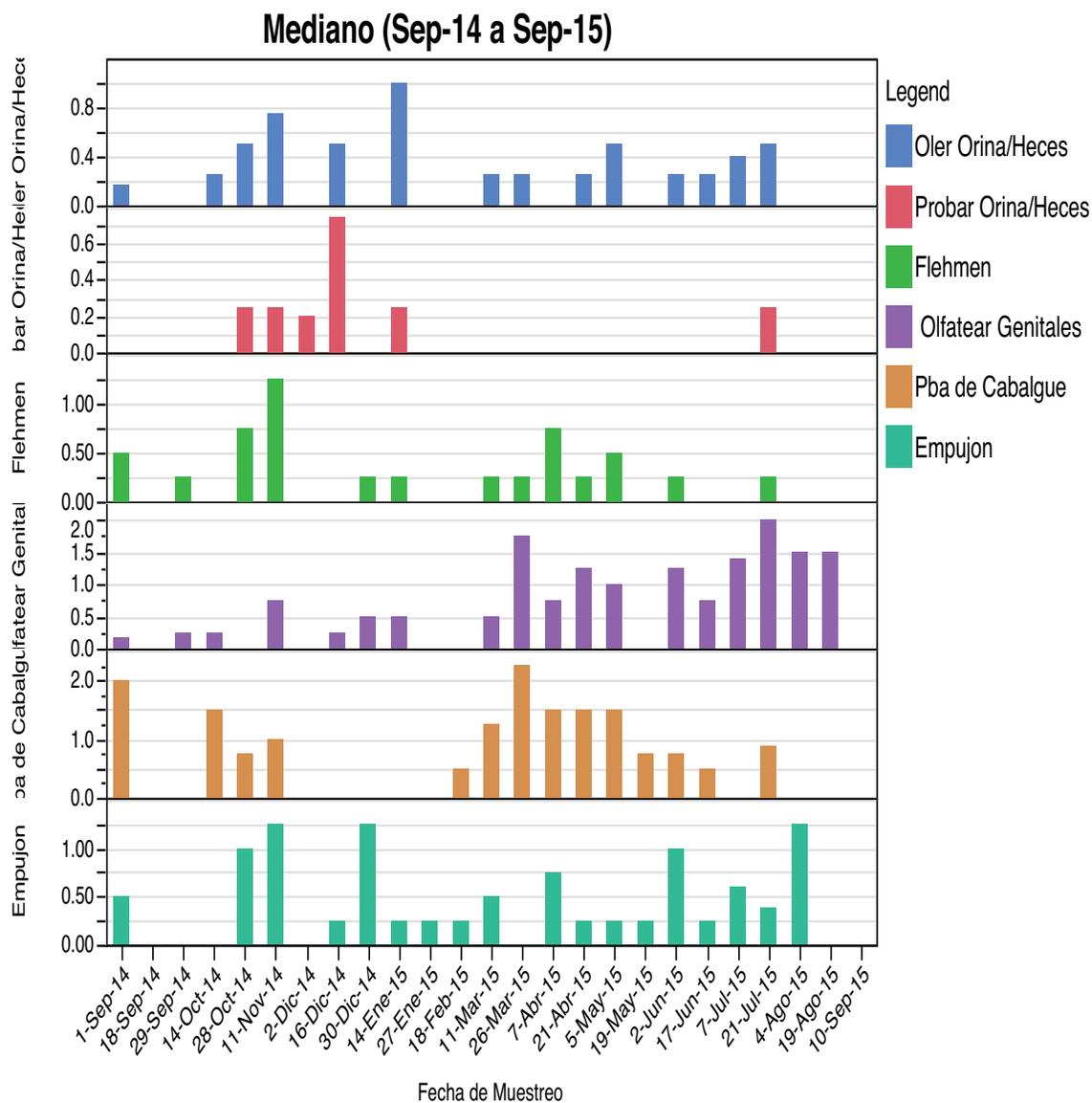


Figura 71. Conducta sexual de Mediano. Se muestran los resultados en función de frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

Se observó que Mediano (macho de 10 años) presentó el patrón completo de cortejo, que culminó en la única cópula que pudo registrarse durante el periodo de estudio.

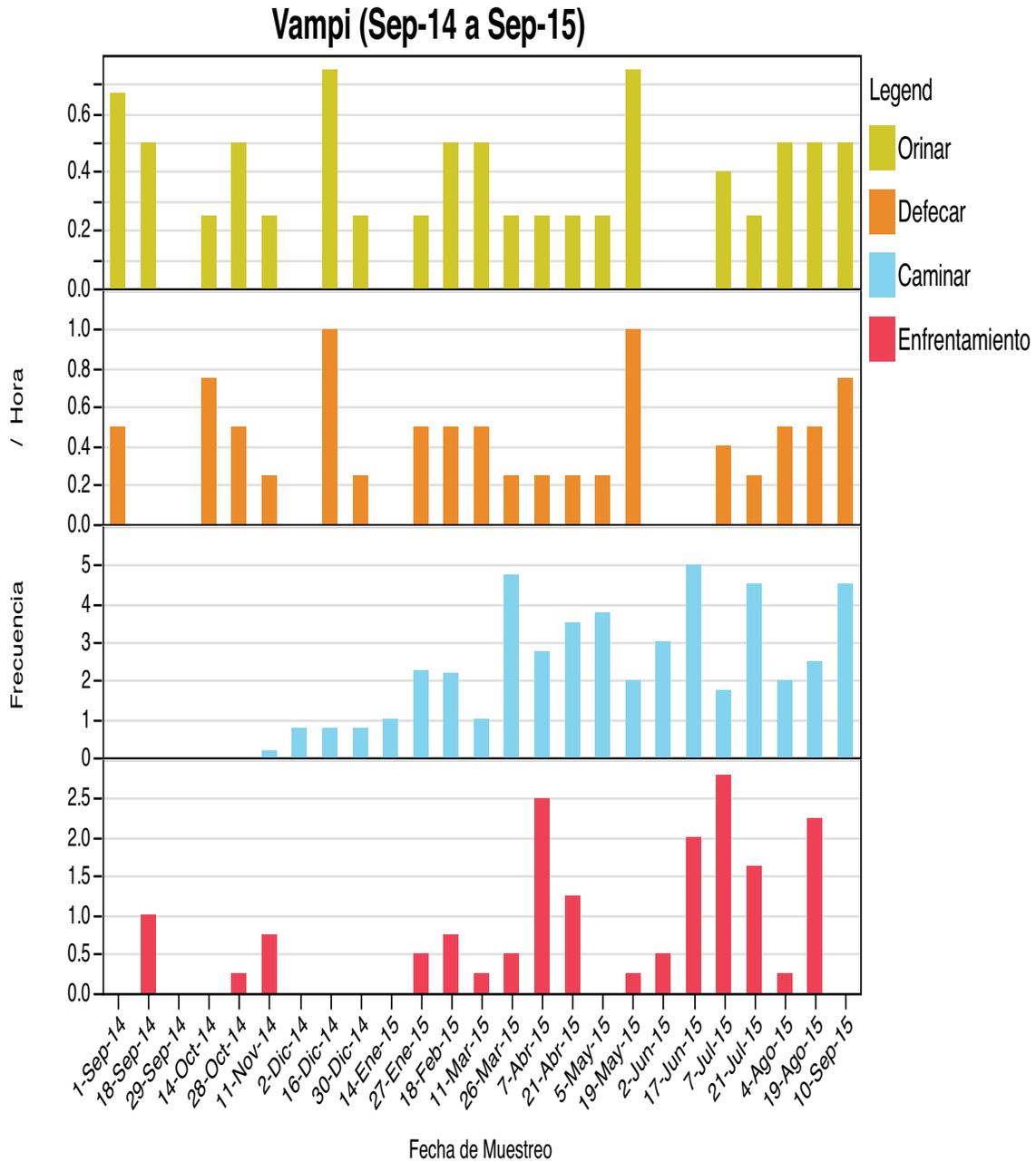


Figura 72: Conducta sexual de Vampi. Se muestran los resultados en función de frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

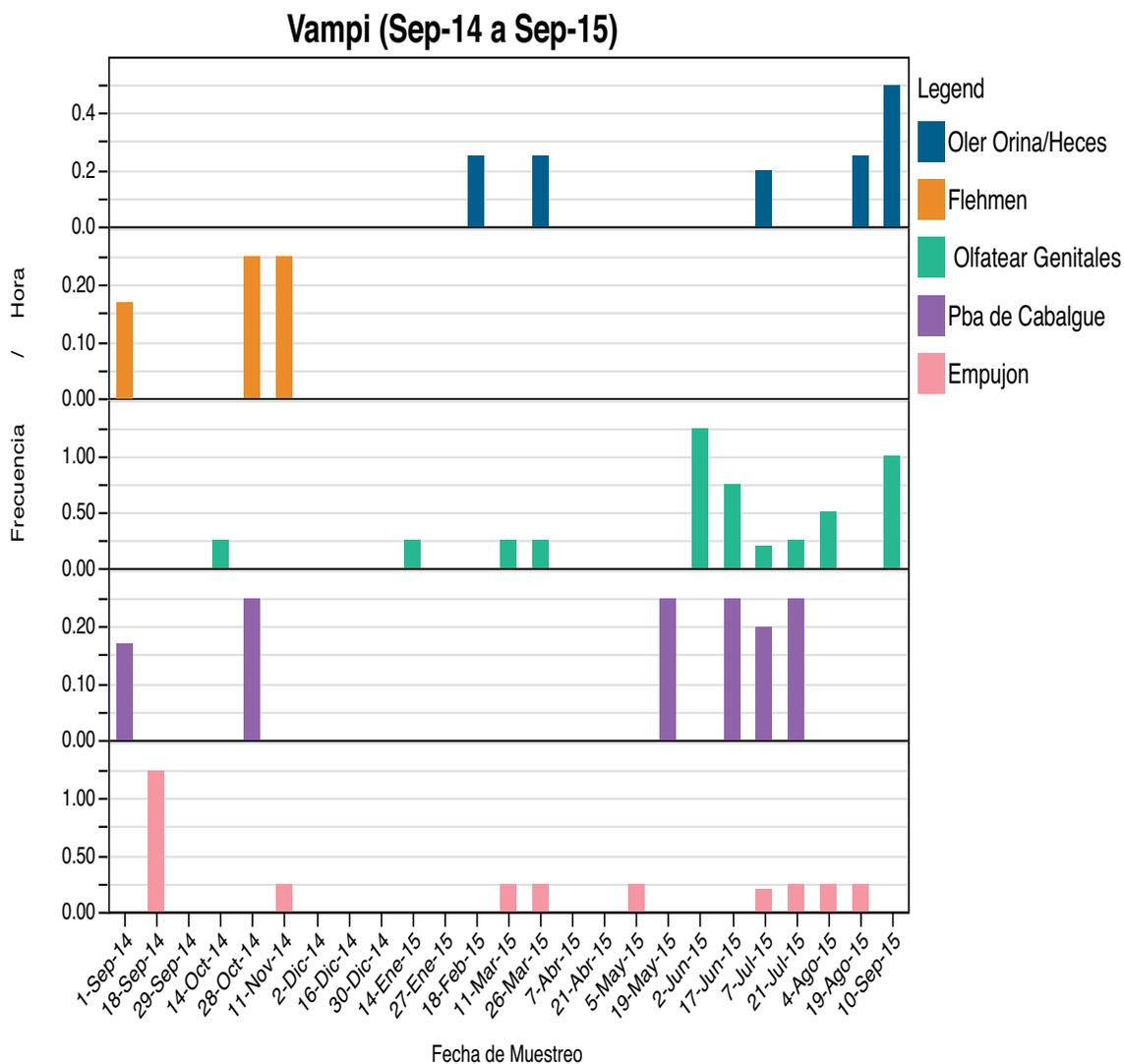


Figura 73. Conducta sexual de Vampi. Se muestran los resultados de conductas sexuales de Vampi, en frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

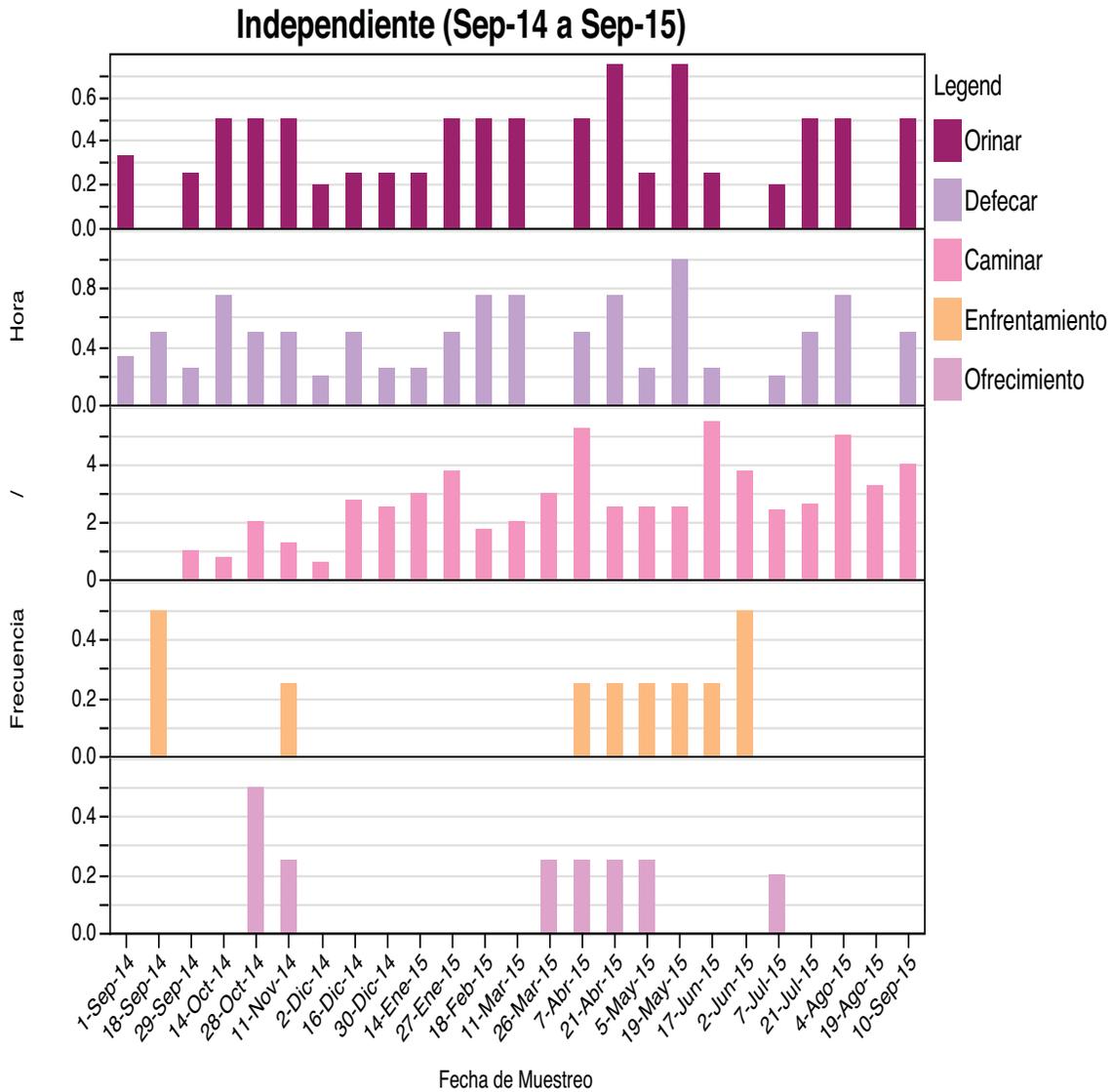


Figura 74: Conducta sexual de Independiente. Se muestran los resultados de conductas de Independiente, estimados como frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015

Asimismo se observó que Independiente, la hembra de mayor edad, presentó el patrón completo de cortejo, que culminó en la única copula que pudo registrarse durante el periodo de estudio.

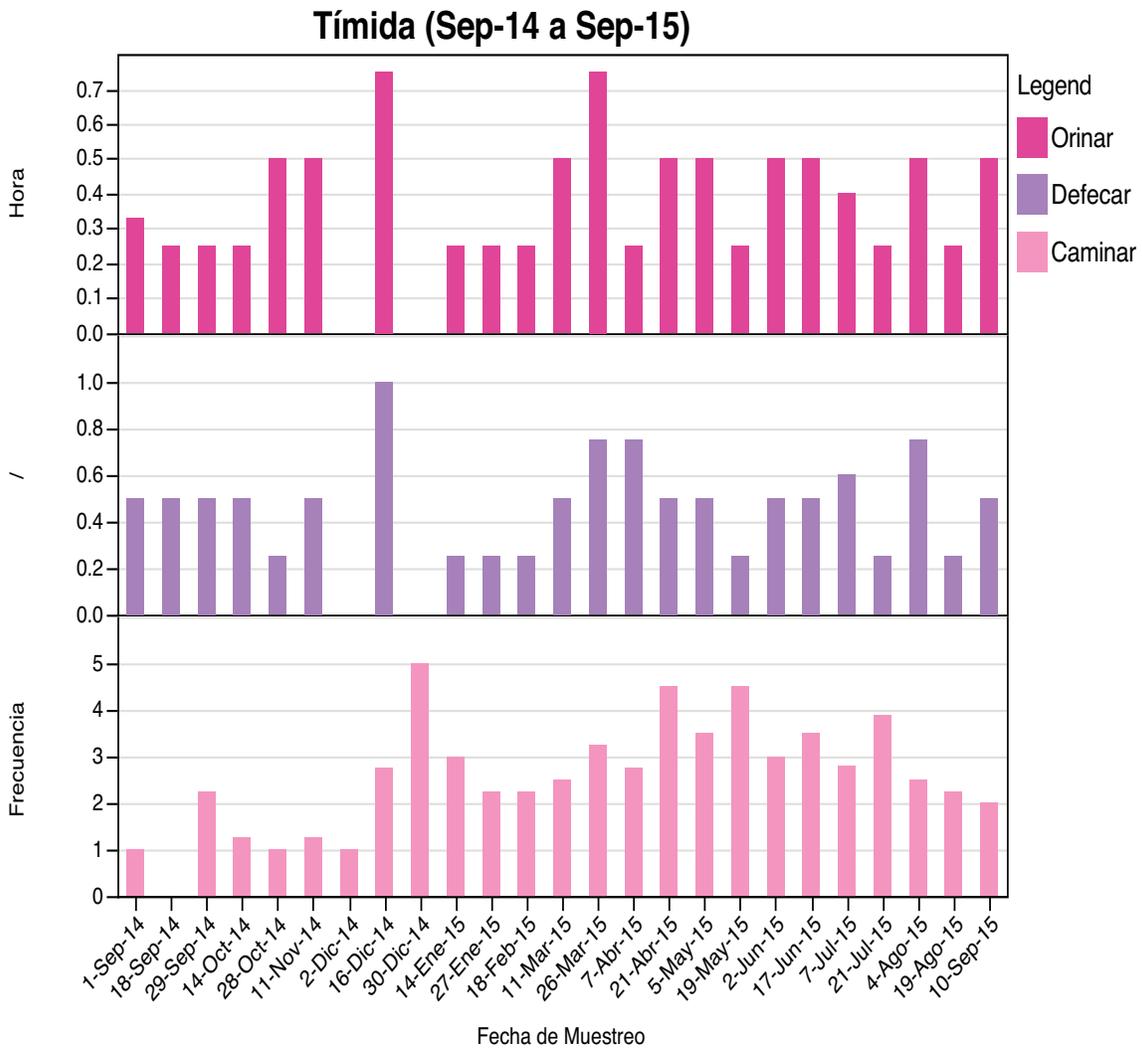


Figura 75: Conducta sexual de Tímida. Se muestran los resultados de conductas estimados como frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

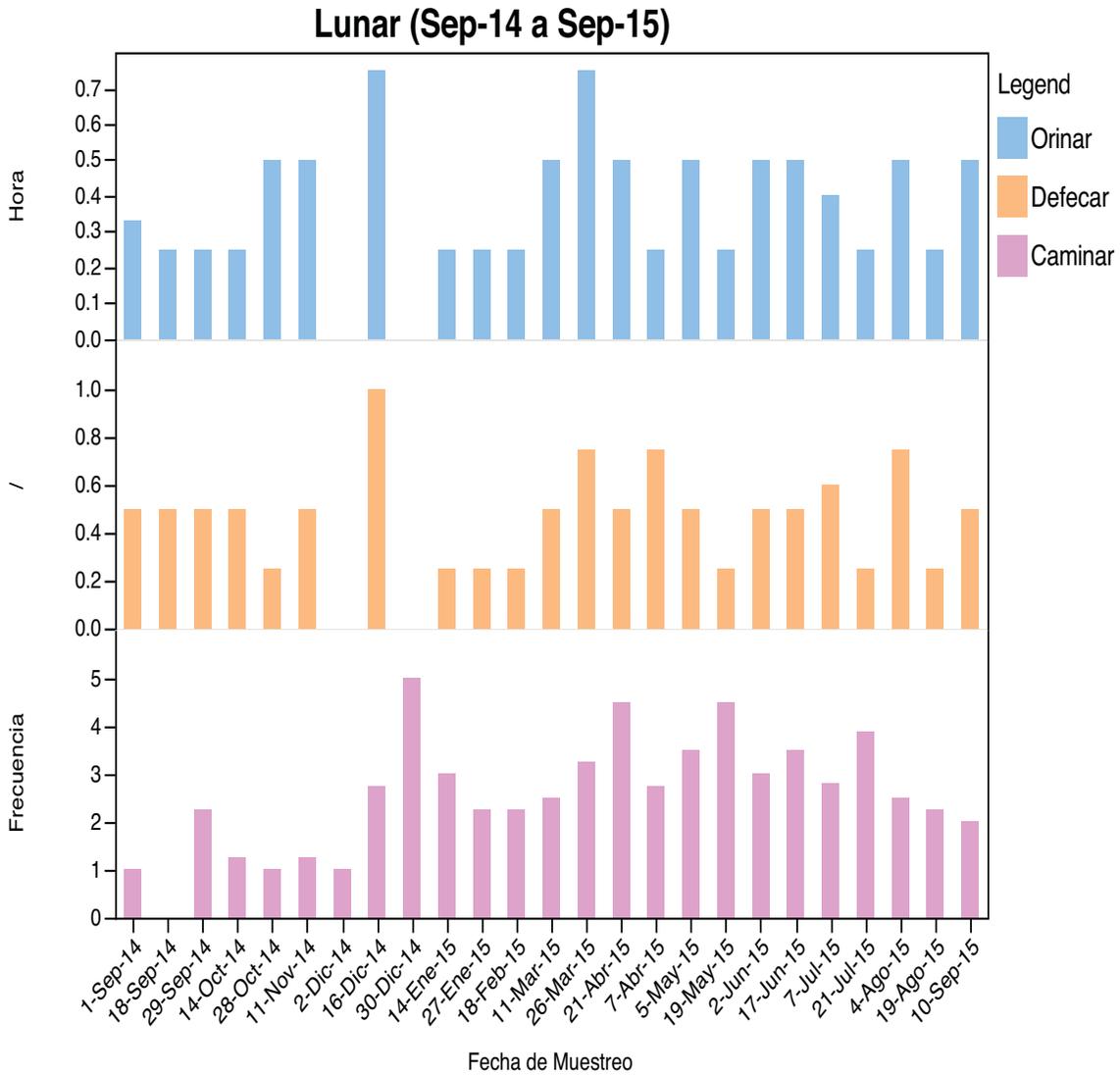
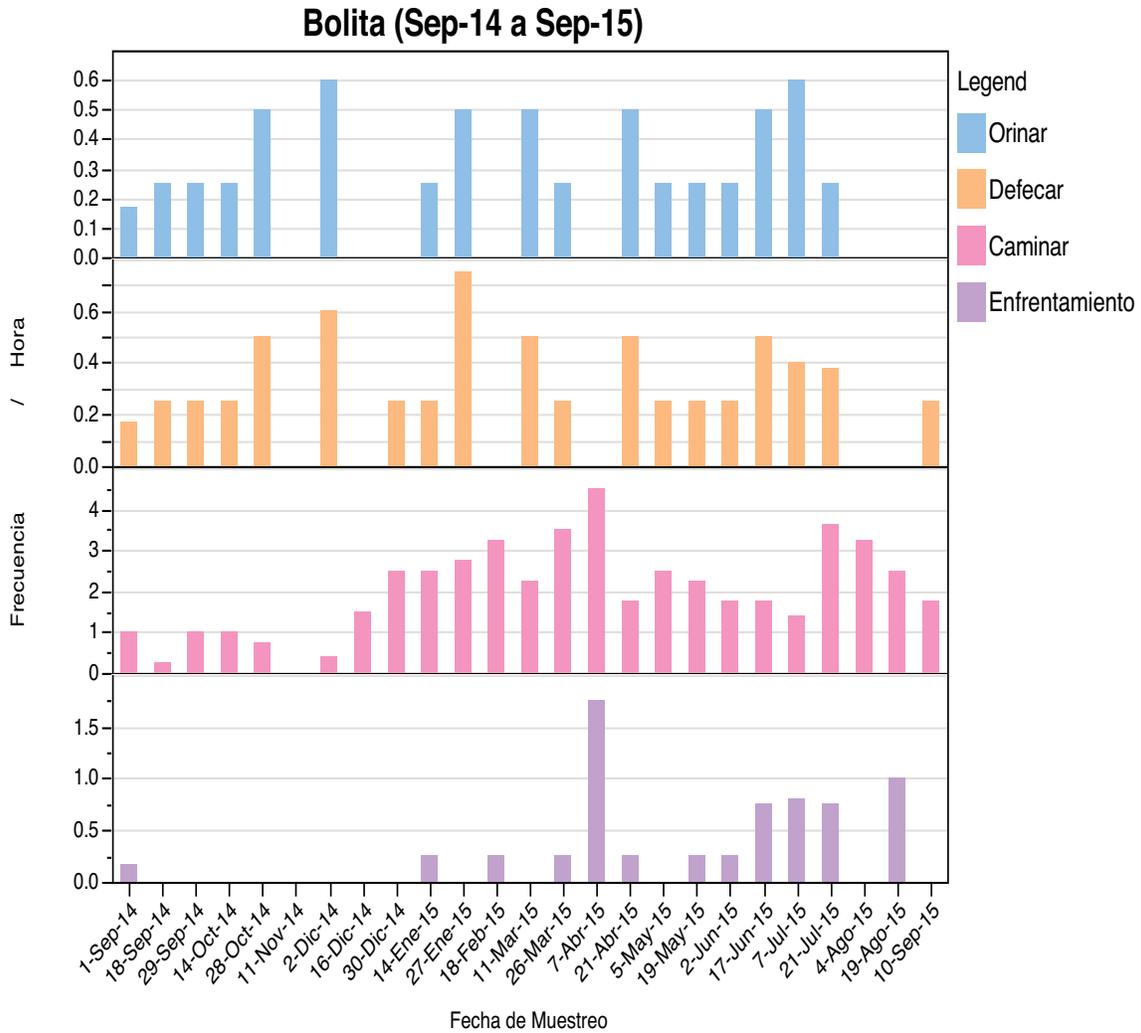


Figura 76: Conducta sexual de Lunar. Se muestran los resultados de conductas estimados como frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.



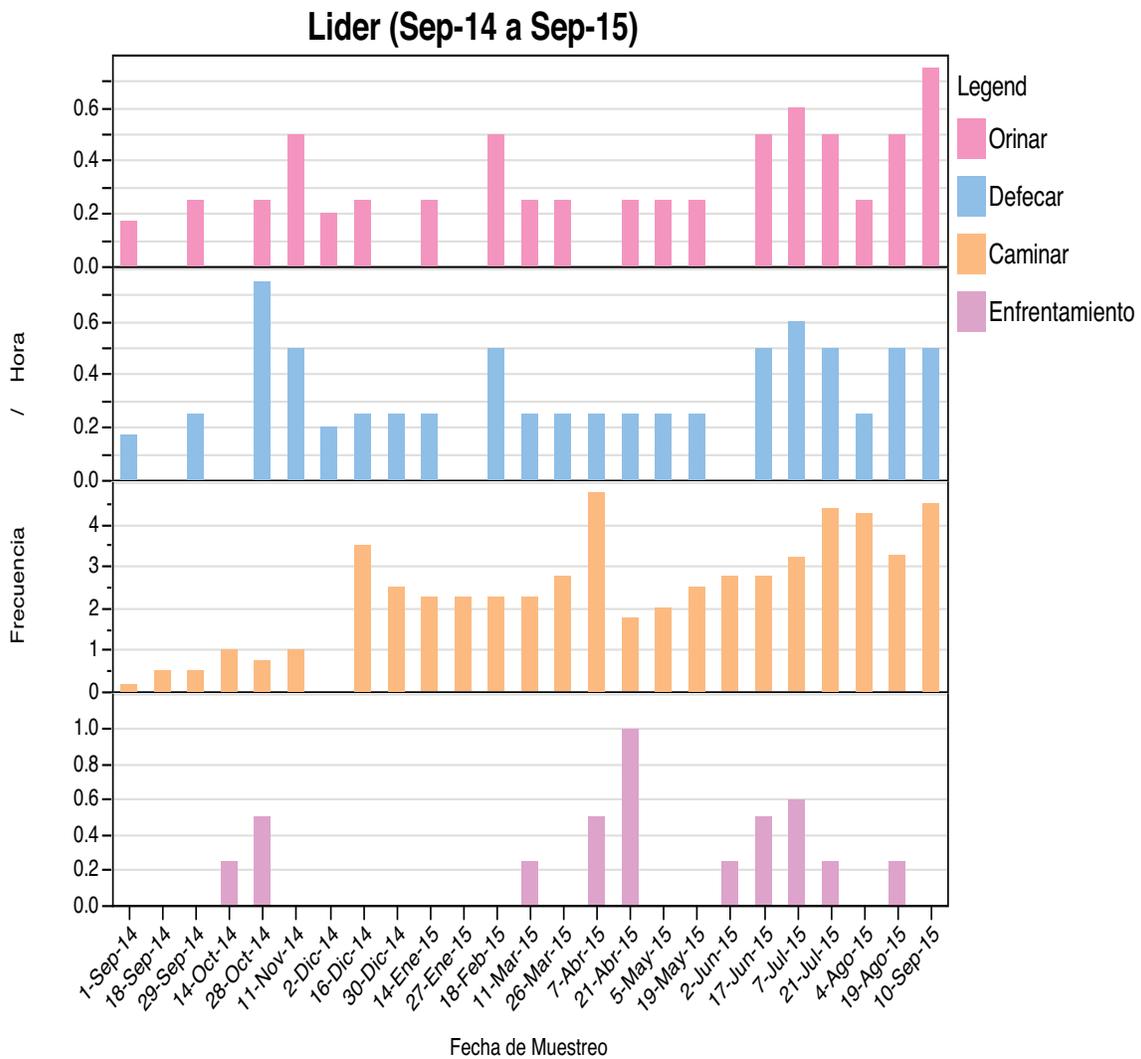


Figura 78: Conducta sexual de Líder. Se muestran los resultados de conductas estimadas como frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

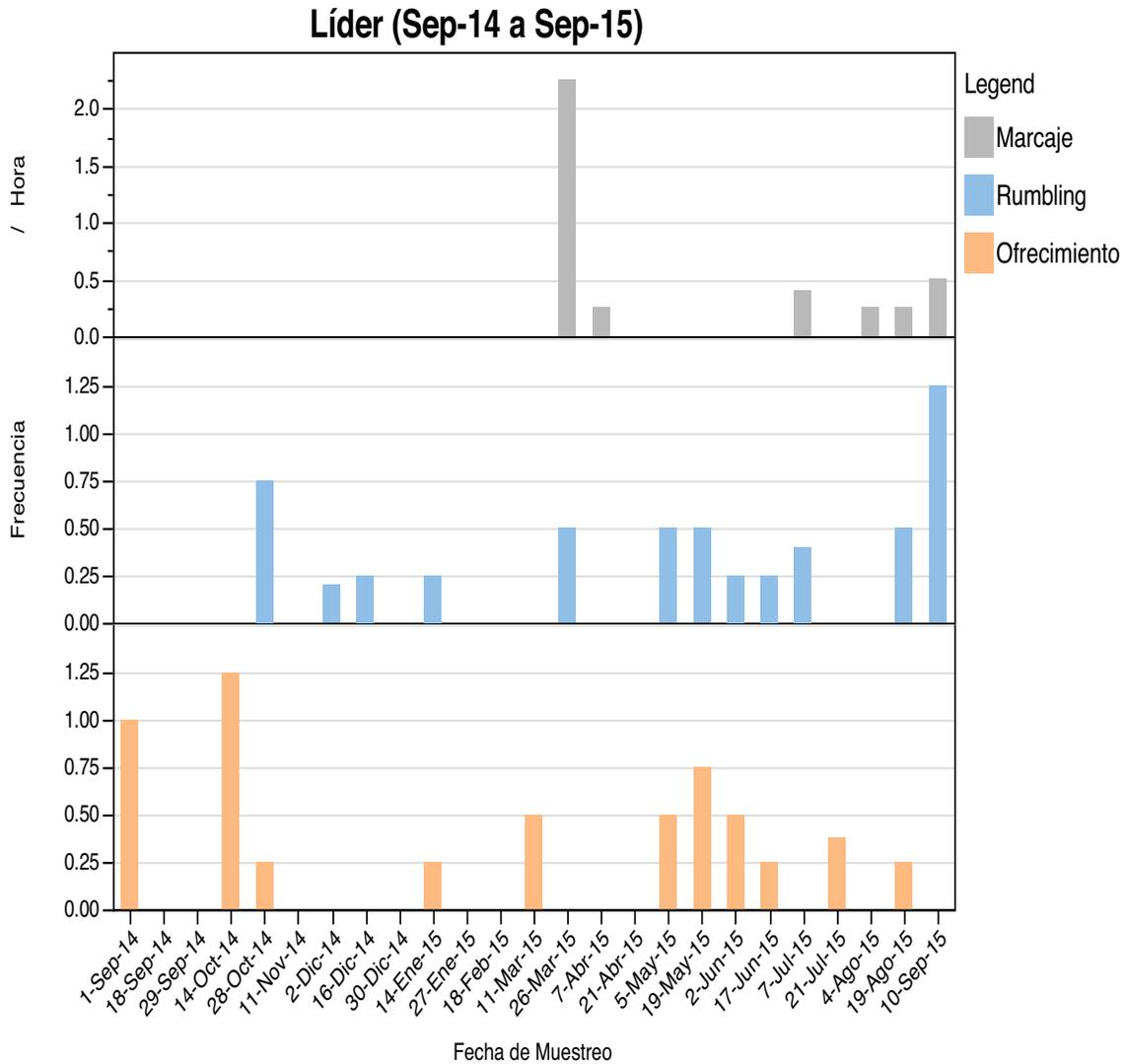


Figura 79. : Conducta sexual de Líder. Se muestran los resultados de conductas estimados como frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

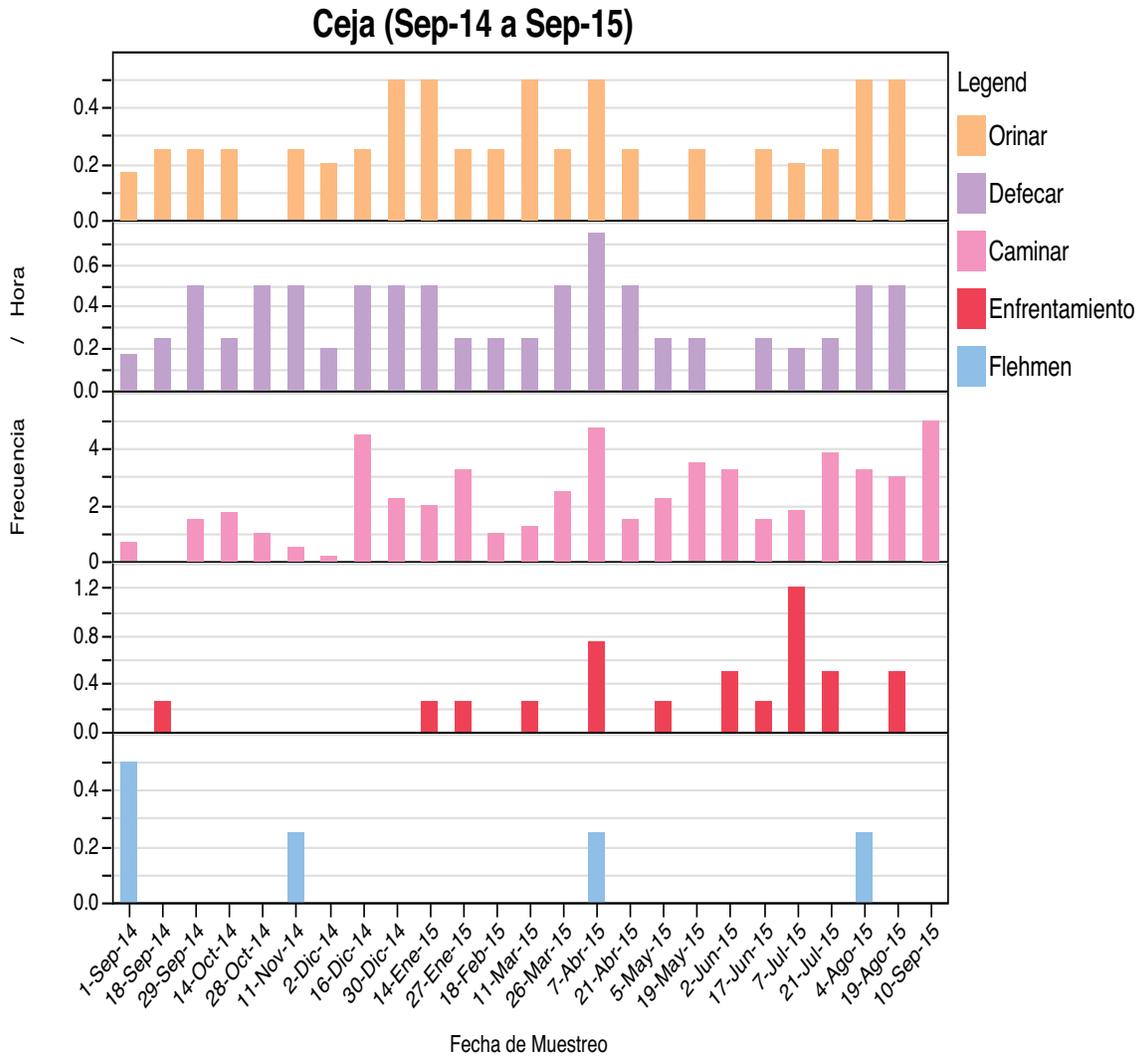


Figura 80. Conducta sexual de Ceja. Se muestran los resultados de conductas estimadas como frecuencia por hora de observación de septiembre del 2014 a septiembre del 2015.

b) Resultados índice de desplazamiento

Las Figuras 81 y 82 muestran el índice de desplazamiento de los machos y hembras en el grupo. Se nota en los machos la influencia de factores como el tamaño, peso y fuerza del animal. Se puede observar que el elefante de mayor edad es el que mostró el mayor índice de desplazamiento.

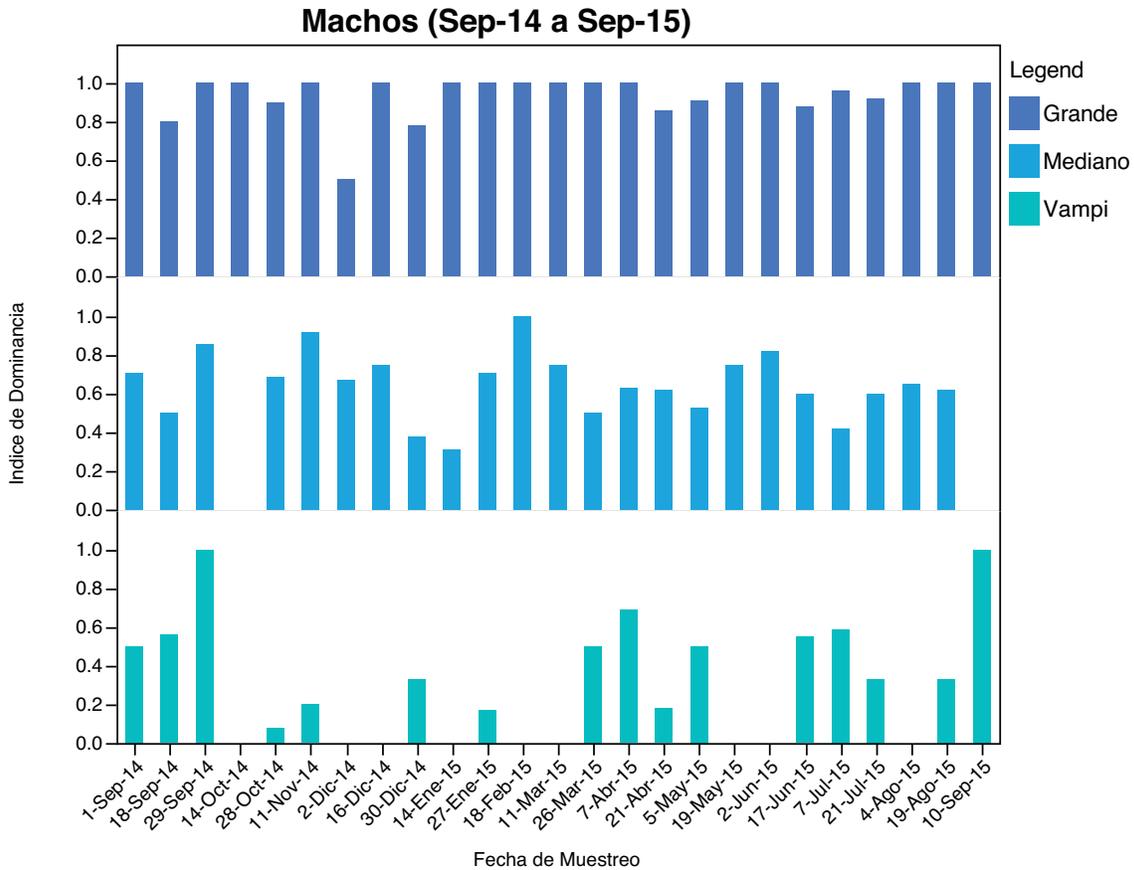


Figura 81. Índice de desplazamiento de los 3 elefantes machos. La frecuencia de desplazamientos se calculó por el número de veces que el individuo desplazó a los demás elefantes del grupo por día de muestreo. Se grafica el índice de desplazamiento de cada macho a lo largo de 12 meses.

En cuanto al índice de desplazamiento de las hembras se notó la influencia de factores como posición jerárquica, asociación en grupos, el tamaño, peso y fuerza del animal. Se puede observar que el elefante de mayor edad y las que están asociadas a ella mostraron el mayor índice de desplazamiento.

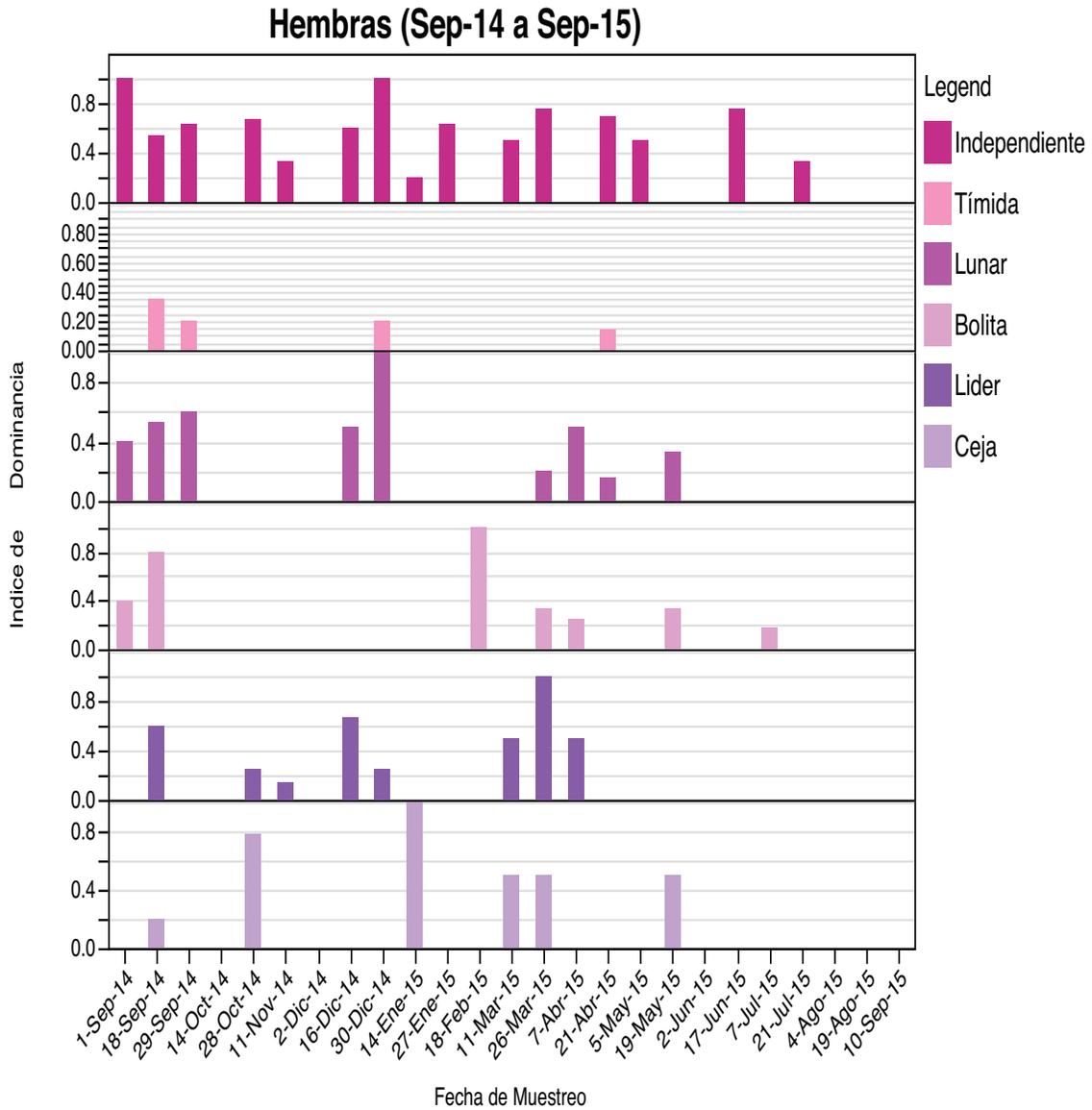


Figura 82. Índice de desplazamiento de las 6 elefantes hembras. Se observaron por 12 meses. No se apreciaron cambios significativos entre estos ejemplares.

E) Correlaciones de hormonas sexuales con diferentes conductas en los elefantes hembras y machos del estudio.

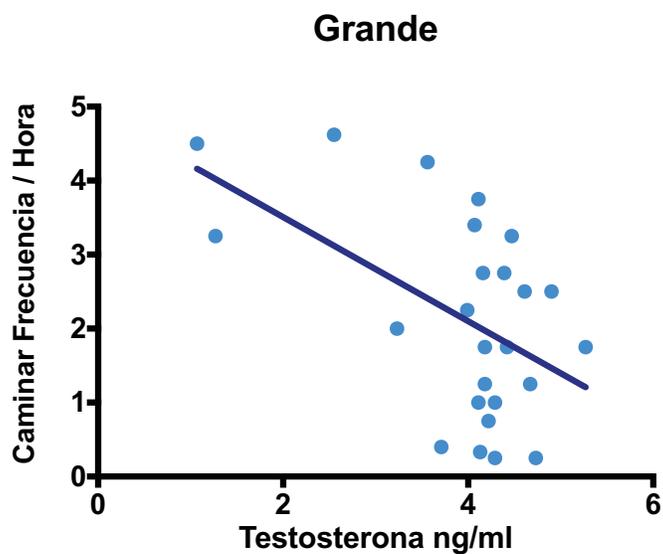


Figura 83. Correlación de Testosterona (ng/mL) vs veces que se observó caminando por hora en Grande.

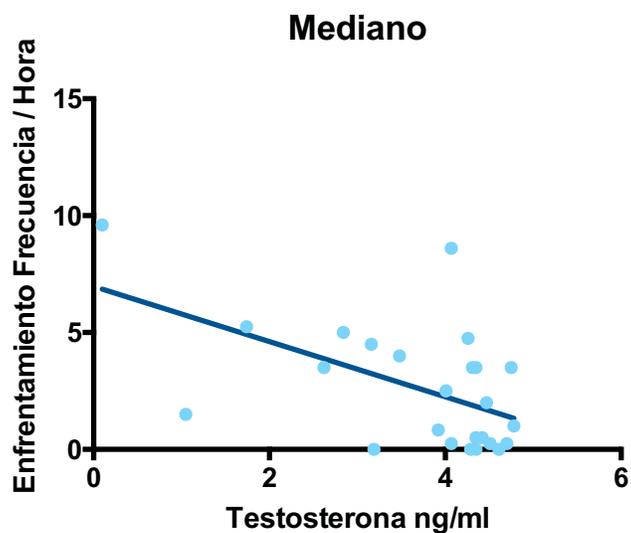


Figura 84. Correlación de Testosterona (ng/mL) vs veces que se observó en conducta de enfrentamiento por hora en Mediano.

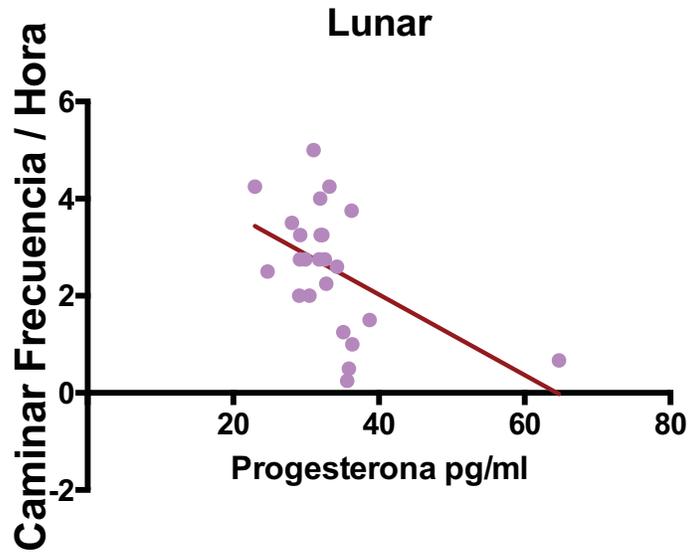


Figura 87. Correlación de Progesterona (pg/mL) vs veces que se observó caminando por hora en Lunar.

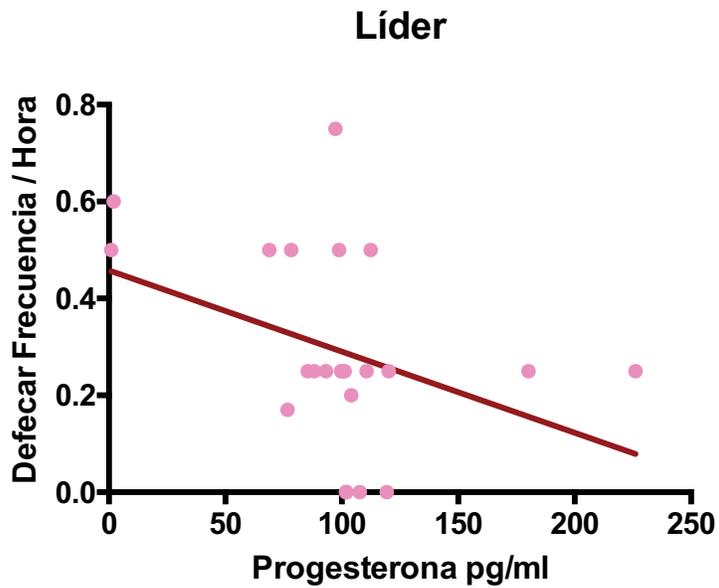


Figura 88. Correlación de Progesterona (pg/mL) vs veces que se observó defecando por hora en Líder.

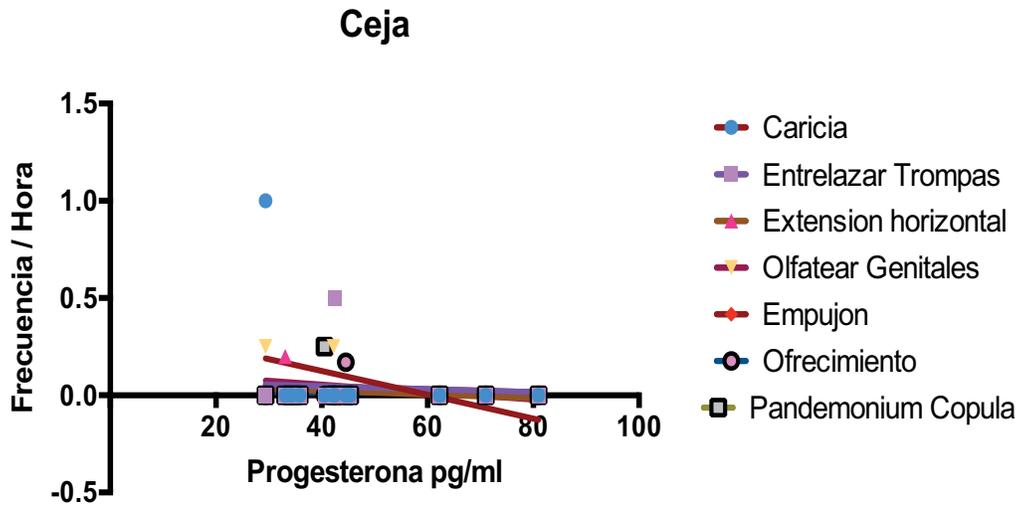


Figura 89. Correlaciones de progesterona (pg/mL) vs veces que realizó alguna conducta sexual por hora, en ceja.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio nos proporcionan información específica de los patrones de secreción de hormonas esteroides sexuales (Testosterona y Progesterona), así como de gonadotropinas (LH y FSH) del grupo estudiado de elefantes africanos (*Loxodonta africana*) durante el periodo de 12 meses de septiembre de 2014 al 10 de septiembre del 2015.

Este estudio demuestra que los machos de mayor edad (Grande y Mediano) tienen un patrón de secreción semejante al de elefantes machos adultos asiáticos y africanos durante el periodo en el que no presentan “musth” (impulso sexual) como lo mencionan Bagley (2006), Evans (2008), Rasmussen (2008). Dado que en el periodo estudiado no se encontraron concentraciones de testosterona compatibles con las de “musth” reportadas en otros estudios (Jainudeen 1972; Yon, 2007; Brown, 2007), podríamos concluir que los elefantes no se encuentran en madurez sexual. Sin embargo, el periodo de “musth” (impulso sexual) se presenta anualmente variando su duración dependiendo la edad, desde unos cuantos días hasta 6 meses por lo que probablemente no ocurrió en ninguno de los ejemplares durante el tiempo en el que se realizó este estudio. Se ha reportado que en vida libre, el elefante africano presenta el periodo de “musth” hasta los 25 años ya que por la presencia de machos adultos (35-50 años) se inhibe este proceso en machos más jóvenes (12-25 años); en cautiverio se puede presentar antes (12-16 años) debido a que no existe esta inhibición por competencia (Poole 1989; Rasmussen 1998; Brown 2006, Yon 2007, Brown 2007, Hildebrand 2011).

Los datos conductuales de los elefantes de mayor edad Grande y Mediano, sugieren fuertemente que sí han alcanzado la madurez sexual o que se encuentran ya en periodo peripuberal avanzado. Por otra parte, los valores bajos de concentración de testosterona coinciden con la ausencia de conducta sexual en el macho más pequeño de este grupo, lo que sugiere que este animal no ha alcanzado la pubertad. De igual forma se evaluó el índice de desplazamiento de los 3 machos, el que se encontró relacionado con el tamaño y edad del individuo, por lo que los machos de mayor edad son los que tienen un mayor valor de testosterona (Rasmussen 1998, Hildebrand 2011). Es importante hacer mención de que el único que presentó una correlación positiva entre testosterona y dicho índice fue Mediano.

Es importante mencionar que en los tres machos hubo varios momentos en los que los ejemplares presentaron valores muy bajos en la secreción de testosterona. Dichos niveles podrían deberse a que los ejemplares fueron sometidos a situaciones estresantes, dado que por momentos el individuo identificado como Mediano buscaba con mucha insistencia a las hembras, lo que provocó que Grande lo agrediera constantemente, provocando estrés en todo el grupo. Al respecto se sabe, que en muchos mamíferos la secreción de testosterona puede ser afectada por el estrés (Álvarez, 2008, Justel *et al.* 2009).

El estudio multidisciplinario que se llevó a cabo en esta tesis (Testosterona, conducta y ultrasonido) permite afirmar que Mediano está transitando por la etapa puberal. Es importante resaltar que durante el periodo de estudio Mediano fue el único ejemplar que copuló, en este caso con Independiente, la hembra más grande, desarrollando todo el complejo patrón de cortejo (Olson *et al.* 2004; Fowler *et al.* 2006). Estos datos permiten afirmar que los elefantes africanos en cautiverio alcanzan la pubertad alrededor de los 9 años.

En cuanto a la correlación estadística del patrón de secreción de testosterona con las conductas sexuales para los machos, no se encontró en el caso del individuo más joven y sí de los ejemplares más grandes, como es la locomoción (caminar) para Grande y enfrentamiento para Mediano.

Es importante destacar que en la hembra más grande se encontró en el ultrasonido un cuerpo lúteo que indica presencia de ovulación y extrañamente no se detectaron picos de progesterona. En apoyo al dato de la presencia de cuerpo lúteo, la observación de la conducta sexual de esta hembra, permitió detectar un patrón de cortejo completo que finalizó con la cópula. Es importante mencionar que en esta hembra se detectaron los mayores valores de FSH. La ausencia de picos de LH podría explicarse por la frecuencia del muestreo, debido al largo periodo de tiempo que separa a ambos picos entre sí, que es de 3 semanas, por lo que sería necesario un muestreo más frecuente (J. Brown et al 2004; C.Thitaram et. al, 2008).

Respecto al patrón de secreción de progesterona en las hembras se esperaría que a lo largo de un año se pudieran observar entre 2 y 4 ciclos como se ha reportado en animales sexualmente maduros para esta especie. Se ha reportado asimismo que las hembras tienen sus primeros partos entre los 8 y los 12 años en vida libre o más jóvenes en cautiverio (Fowler, 2006; Hildebrand, 2011). Sin embargo en este estudio sólo se observó un pico, lo que ocurrió en dos de las hembras. Llama la atención que se encontraron dos picos de progesterona de 1500 y 2500 pg/mL en una de las hembras (Líder) más jóvenes. Tres de las hembras de este estudio (Independiente, Lunar y Ceja) no rebasaron los niveles basales reportados en estudios en ejemplares adultos, por lo que estos resultados permiten inferir que durante el periodo de estudio, estos individuos no presentaron datos que permitan afirmar con certeza que están ciclando y/u ovulando (Hodges, 1998; Brown, 2004 y 2014; Fowler, 2006; Hildebrand, 2011). Sin embargo los datos de conducta sexual y ultrasonido sugieren que se están acercando a la pubertad.

Además, Schulte (2000) en elefantes africanos y asiáticos adultos, y Brown (2004) en elefantes africanos reportaron en periodos de inactividad ovárica, valores de P4 similares a los observados en las hembras de este estudio. Sin embargo, Plotka (1988), Carden (1998), Brown (1999), Fowler (2006), Kapustin (1996), Oliveira en (2008), Hildebrandt (2011) encontraron valores similares a los anteriormente mencionados en ejemplares con actividad ovárica durante la fase folicular. Por todo lo anterior existe una gran discrepancia en la bibliografía acerca de la concentración de P4. Los valores del presente estudio son similares a los reportados más arriba en animales en inactividad ovárica por lo que los bajos niveles de P4 hallados en este estudio sugieren una baja actividad ovárica.

Respecto a los patrones de secreción de gonadotropinas únicamente podemos cotejarlos contra individuos involucrados en este estudio, ya que no deberían compararse con los reportados en ejemplares adultos. En las hembras se encontró que en el caso de la FSH la mayoría de los ejemplares mantuvieron niveles similares. No obstante las de menor edad (Líder y Ceja 5-6 años) mostraron concentraciones ligeramente menores a las de las demás hembras. Sin embargo no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las concentraciones de FSH de Bolita vs Independiente, Lunar y Ceja; ni tampoco entre Lunar vs Ceja. En el caso de LH en ninguna de las hembras se encontró un pico como los 2 reportados en elefantas asiáticas y africanas adultas por Brown (1999) y Kapustin (1996). Por lo tanto, ni los datos obtenidos ni la bibliografía disponible nos permiten afirmar con certeza que las elefantas del presente estudio estén ovulando.

Respecto a la correlación entre el patrón de secreción de progesterona y las conductas sexuales, únicamente se encontró correlación estadísticamente significativa en el caso de “defecar” para Líder, así como de locomoción (conducta caminar) para Tímida y Lunar. Estos datos sugieren que estas hembras están transitando a la pubertad pero no están todavía sexualmente maduras. Las correlaciones halladas en el caso de la hembra más pequeña del grupo (Ceja) pueden ser producto de un fenómeno conductual que se presenta en especies gregarias conocido como “aprendizaje por imitación”. Asimismo se evaluó el índice de desplazamiento, el que permitió deducir que es un grupo de 6 hembras en el que está bien establecida la jerarquía. En dicho grupo, Independiente que es la hembra de mayor edad defiende y protege a las 2 más pequeñas, mientras que éstas a su vez se protegen mutuamente, además Líder es la que trata de controlar al grupo cuando algún elefante es muy insistente en agresiones hacia algún otro; junto con Ceja son las únicas con la confianza para enfrentar y apaciguar a los machos de mayor edad.

Los datos zoométricos indican, como es de esperarse que la tasa de crecimiento de los ejemplares más jóvenes es mayor, comparada con los de mayor edad, lo que está directamente influenciado por el rango social y edad que tienen los individuos dentro del grupo, ya que los más pequeños al estar asociados con los más imponentes ejemplares del grupo, tienen acceso inmediato y libre a los recursos. Además de que los más jóvenes por el arribo al Zoológico recibieron una mejor nutrición a una edad más temprana que los de mayor edad, lo que tuvo influencia directa sobre la tasa crecimiento de los mismos.

Los ultrasonidos demuestran que las estructuras sexuales de los machos como vesículas seminales, ámpulas y próstata de cada ejemplar tienen tamaños similares a los reportados en elefantes adultos sexualmente activos (Fowler *et al.* 2006). En el caso de los dos animales más grandes se encontraron glándulas accesorias pleométricas, lo que sugiere que existe actividad gonadal.

En el caso de las hembras encontramos que las gónadas tienen un tamaño inferior al reportado por Fowler *et al.* (2006), y Hildebrand *et al.* (2011) en elefantas adultas, lo que se explicaría por la edad de los ejemplares de nuestro estudio. Por otra parte la presencia del cuerpo lúteo en la de mayor edad, Independiente, sugiere fuertemente la presentación de ciclos ováricos completos con ovulación desde los 9 años. En la hembra llamada Líder, de alrededor de 5-6 años, se observó una estructura ovárica compatible con la de un cuerpo lúteo aunque no tan clara como la de Independiente; este hecho sumado a que en esta hembra se encontraron los valores más altos de progesterona, sugiere que la pubertad de las hembras podría ocurrir desde edades más tempranas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio indican que los dos elefantes machos de más edad tienen valores hormonales cercanos a los de adultos sexualmente activos, más no presentaron aun el periodo de ímpetu sexual conocido como “musth”. Se concluye que el macho más pequeño es pre-púber ya que sus patrones hormonales difieren estadísticamente de los de los machos más grandes. En el caso de Grande, de 11 años y Mediano de 10 años que fueron estadísticamente semejantes en los valores de testosterona sérica, los datos de conducta sugieren fuertemente que se encontraban próximos a la pubertad o incluso que ya están cursando este proceso.

En el caso de las hembras podemos concluir que cinco de ellas son pre-púberes al momento del estudio, y que la mayor de edad identificada como Independiente es la única que de acuerdo a los resultados obtenidos estaría en período puberal o próxima a entrar a la etapa de pubertad.

Los datos obtenidos sugieren fuertemente que los machos de elefantes africanos (*Loxodonta africana*) en cautiverio están cercanos a la madurez sexual entre los 10 y 11 años. Las hembras en cautiverio alcanzarían la madurez sexual alrededor de los 10 años.

REFERENCIAS.

Adams J., Berg J.K. Behavior of female african elephants (*Loxodonta africana*) in captivity. Applied Animal Ethology. Vol.6 1980 pp. 257-276.

Álvarez L. Efectos Negativos del Estrés Sobre la Reproducción en Animales Domésticos. Archivos de Zootecnia. 2008: Vol. 57 pp. 39-59.

Archie E. A. et al. Dominance Rank Relationships Among Wild Female African Elephants, *Loxodonta africana*. Animal Behavior. 2006: Vol. 71, pp. 117-127.

Barnes R.F.W. Mate Searching Behaviour of Elephant Bulls in a Semi-arid Environment. Animal Behaviour. 1982 Vol 30 pp. 1217-1223.

Bagley K. R. et al. Male African Elephants, *Loxodonta africana*, can Distinguish Oestrus Status Via Urinary Signals. Animal Behavior. 2006: Vol. 71, pp. 1439-1445.

Brown J.L. Hormone Secretion in the Asian Elephant (*Elephas maximus*): Characterization of Ovulatory and Anovulatory Luteinizing Hormone Surges. Biology of Reproduction. 1999 Vol. 61 pp.1294-1299.

Brown J.L. Reproductive Endocrine Monitoring of Elephants: An Essential Tool or Assisting Captive Management. Zoo Biology. 2000 Vol. 19 pp. 347-367.

Brown J.L. et al. Comparative Endocrinology of Cycling and Non-Cycling Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) Elephants. General and Comparative Endocrinology. 2004: Vol. 136, pp, 360-370.

Brown J.L. Comparative endocrinology of testicular adrenal and thyroid function in captive Asian and African elephant bulls. General and Comparative Endocrinology. 2007 Vol. 151 pp. 153-162.

Brown J. L. et al. Comparative Reproductive Biology of Elephants. Adv. Exp. Med. Biol. 2014: Vol 753, pp. 69-135.

Bechert U.S *et al.* Serum Prolactin Concentrations in the Captive Female African Elephant (*Loxodonta africana*): Potential Effects of Season and Steroid Hormone Interactions. *General and Comparative Endocrinology*. 1999 Vol. 114 pp. 269-278.

Campos-Arceiz A. & Blake S. Megagardeners of the Forest – the Role of Elephant in Seed Dispersal. *Acta Oecologica*. 2011: Vol. 37, pp. 542-553.

Carden M. Et al. Utility of Serum Progesterone and Prolactin Analysis for Assessing Reproductive Status in the Asian Elephant (*Elephas maximus*). *Animal Reproduction Science*. 1998: Vol. 53, pp. 133-142.

Clubb R. & Mason G. A Review of the Welfare of Zoo Elephants in Europe. Oxfordshire Inglaterra, University of Oxford: Department of Zoology. 2002.

Chelliah K. et al. The role of tusks, musth and body size in male-male competition among Asian elephants, *Elephas maximus*. *Animal Behaviour*. 2013 Vol. 86 pp. 1207-1214.

Evans K. E. & Harris S. Adolescence in Male African Elephants, *Loxodonta africana*, and the importance of sociality. *Animal Behaviour*, 2008: Vol. 76, pp. 779-787.

FieB M. et al. Patterns of urinary and Fecal steroid excretion during the ovarian cycle and pregnancy in the African elephant (*Loxodonta africana*). *General Comparative Endocrinology*. 1999 Vol 115 pp. 76-89.

Fishlock V., Lee P.C. Forest elephants: fission-fusion and social arenas. *Animal Behaviour*. 2013 Vol 85 pp.357-363.

Feeman E.W. Using a simplified field progestagen method to assess ovarian activity in female African elephants. *Biological Conservation*. 2011 Vol. 144 pp. 2105-2111.

Fowler M. E. & Mikota S. K. *Biology, Medicine, and Surgery of Elephants*. Iowa, USA: Blackwell Publishing, 1st edition, 2006.

Galanti V. et al. Space and Habitat Use of the African Elephant in the Tarangire-Manyara Ecosystem, Tanzania: Implications for Conservation. *Mammalian Biology*. 2006: Vol. 71, Num. 2, pp, 99-114.

Ganswindt A. et al. Non-invasive assessment of adrenocortical function in the male African elephant (*Loxodonta africana*) and its relation to musth. *General and Comparative Endocrinology*. 2003 Vol. 134 pp. 156.166.

Ganswindt A. et al. The sexually active states of free-ranging male African elephants (*Loxodonta africana*): defining musth and non-musth using endocrinology, Physical signals, and behavior. *Hormones and Behavior*. 2008 Vol. 47 pp. 83-91.

Ganswindt A. et al. Endocrine Correlates of Musth and the Impact of Ecological and Social Factors in Free-Ranging African Elephants (*Loxodonta Africana*). *Hormones and Behavior*. 2010: Vol. 57, pp, 506-514.

Gobush K. S. & Wasser S. K. Behavioural correlates of Low Relatedness in African Elephant Core Groups of a Poached Population. *Animal Behaviour*. 2009: Vol. 78 pp, 1079-1086.

González P. E. La Aparicion de la Pubertad en Vaquillas. *Ciencia Veterinaria*. 1978: Vol. 2 pp. 293 - 324

Herbold G. R., *Encyclopedia Britannica*. Disponible en linea en: [www. Britannica.com](http://www.Britannica.com), 2015.

Heistermann et al. Assessment of Ovarian Finction in the African Elephant (*Loxodonta africana*) by Mesurement of 5^a-Reduced Progesterone Metabolites in Serum and Urine. *Zoo Biology*. 1997 Vol. 16 pp. 273-284.

Hildebrand T. B. Et al . Reproductive Cycle of the Elephant. *Animal Reproduction Science*. 2011: Vol. 124, pp, 176-183.

Hodges J.K. et al. Concentrations of Progesterone and the 5^a-Reduced Progestins, 5^a-Pregnane-3,20-Dione and 3^a-Hydroxy-5^a-pregnan-20-One, in Luteal Tissue and Circulating Blood and Their Relationship to Luteal Function in the African Elephant, *Loxodonta africana*. *Biology of Reproduction*. 1997 Vol. 56 pp. 640-646.

Hodges J.K. Endocrinology of the Ovarian Cycle and Pregnancy in the Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) elephant. *Animal Reproduction Science*. 1998: vol. 53, pp, 3-18.

Hollister J.A. et al. . Age, Musth and paternity success in wild male African elephants, *Loxodonta africana*. *Animal Behaviour*. 2007 Vol. 74 pp. 287-296.

Jainudeen M.R. Plasma Testosterone Levels in Relation to Musth and Sexual Activity in the Male Asiatic Elephant, *Elephas maximus*. *Journal of Reproduction & Fertility*. 1972 Vol. 29 pp. 99-103.

Juárez F. D. L. Mecanismos neuroendocrinos al inicio de la pubertad. *Revista Mexicana de Pediatría*. 2013: Vol 80. Num. 6, pp. 240-246.

Justel N. R., Bentosela M., Mustaca A. E. Comportamiento Sexual y Ansiedad. *Revista Latinoamericana de Psicología*. 2009 Vol. 41, num. 3 pp.429-444.

Kapustin N. Nonluteal Estrous Cycles of 3-week duration Are Initiated by Anovulatory Luteinizing Hormone Peaks in African Elephants. *Biology of Reproduction*. 1996 Vol. 55 pp. 1147-1154. (13-27 años)

McFarlane J. R. et al. Elephant Pituitary Gonadotropins. *General and Comparative Endocrinology*. 1990: Vol. 79. Pp. 193-200.

Meyer J.M. et al. Intrasexual chemical communication and social responses of captive female African elephants, *Loxodonta africana*. *Animal Behaviour*. 2008 Vol. 76 pp.163-174.

Meyer J.M. et al. Species and fetal gender effects on the endocrinology of pregnancy in elephants. *General and Comparative Endocrinology*. 2004 Vol. 138 pp263-270.

Oliveira C.A. et al. Serum cortisol and progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant Asian elephants (*Elephas maximus*). *Research in Veterinary Science*. 2008 Vol.84 pp. 361-363

Olson D. Elephant Husbandry Resource Guide. The International Elephant Foundation. 2004.

Owens M.J., Owens D. Early age reproduction in female savanna elephants (*Loxodonta africana*) after severe poaching. *African Journal of Ecology*. 2009 Vol. 47 pp. 214-222.

Plotka E. D. Ovarian Function in the Elephant: Luteinizing Hormone and Progesterone Cycles in African and Asian Elephants. *Biology of Reproduction*. 1988: Vol. 38, pp, 309-314.

Poole J.H., Chapter 1: the African Elephant. *Studying Elephants*. AWF Technical Handbook Series

Poole J.H. et al. Musth and Urinary Testosterone Concentrations in the African Elephant (*Loxodonta africana*). *Journal of Reproduction and fertility*. 1984: Vol. 70, pp, 255-260.

Poole J.H. Mate Guarding, Reproductive Success and Female Choice in African Elephants. *Animal Behaviour*. 1989: Vol. 37, pp. 842-849.

Poole J.H. Announcing intent: the aggressive state of musth in African elephant. *Animal Behaviour*. 1989 Vol. 37 pp. 140-152.

Rasmussen L.E.L., Schulte B. A. Chemical signals in the reproduction of Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) elephants. *Animal Reproduction Science*. 1998 Vol. 53 pp. 19-34.

Rasmussen H.B. et al. Endocrine and Behavioral Changes in Male African Elephants: Linking Hormone Changes to Sexual State and Reproductive tactics. *Hormones and Behavior*. 2008: Vol. 54, pp. 539-548.

Rodas-Martínez A.Z. Assessment of Adrenocortical and Gonadal Hormones in Male Spider Monkeys (*Ateles geoffroyi*) Following Capture, Restraint and anesthesia. *Zoobiology*. 2013: pp.1-7

Romano M.C. et al. Stress in Wild Life Species: Noninvasive Monitoring of Glucocorticoids. *Neuro Immuno Modulation*. 2010: Vol17, pp.209-212.

Schulte B.A. et al. Temporary ovarian inactivity in elephants: relationship to status and time outside. *Physiology & Behavior*. 2000 Vol 71 pp. 123-131.

Stanfield F.J. et al. The distribution of small preantral follicles within the ovaries of prepubertal African elephants (*Loxodonta africana*). *Animal Reproduction Science*. 2011 Vol 129 pp. 96-103

Schwarzenberger F. et al. Evaluation of Progesterone and 20-oxo-Progestagens in the Plasma of Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) Elephants. *Zoo Biology*. 1997 Vol. 16 pp. 403-413

Thitaram C. et al. Seasonal effects on the endocrine pattern of semi-captive female Asian elephants (*Elephas maximus*): Timing of the anovulatory luteinizing hormone surge determines the length of the estrous cycle. *Therogenology*. 2008 Vol. 69 pp. 237-244.

Valeix M. et al. Elephant- Induced Structural Changes in the Vegetation and Habitat Selection by Large Herbivores in an African Savanna. *Biological Conservation*. 2011: Vol. 144, pp. 902-912.

Wasser S.K. et al. Excretory fate of Estradiol and Progesterone in the African Elephant (*Loxodonta africana*) and Patterns of Fecal Steroid Concentrations throughout the Estrus Cycle. *General and Comparative Endocrinology*. 1996 Vol. 102 pp.255-262.

Weissenböck N.M. Estrous synchrony in a group of African elephants (*Loxodonta africana*) under humancare. *Animal Reproduction Science*, 2009 Vol. 113 pp. 322-327.

Wittemyer G. et al. The socioecology of elephants: analysis of the processes creating multitiered social structures. *Animal Behaviour*. 2005 Vol 69 pp.1357-1371.

Wittemyer G. et al. The Impact of Ecological Variability on the Reproductive Endocrinology of Wild Female African Elephant. *Hormones & Behavior*. 2007: Vol. 51, pp. 346-354.

Wittemyer G. & Getz W. M.. Hierarchical Dominance Structure and Social Organization in African Elephants, *Loxodonta africana*. *Animal Behaviour*. 2007: Vol. 73, pp. 671-681.

Yon L. et al. A longitudinal study of LH, gonadal and adrenal steroids in four intact Asian bull elephants (*Elephas maximus*) and one castrate African bull (*Loxodonta africana*) during musth and non-musth periods. *General and Comparative Endocrinology*. 2007 Vol. 151 pp. 241-245.

Anexo I

Resultados Análisis Estadístico

Las pruebas de normalidad demuestran que los datos obtenidos en este estudio no tienen un comportamiento normal por lo que se determina realizar análisis complementarios por pruebas estadísticas no paramétricas.

Los resultados obtenidos al no ser normales se analizaron mediante pruebas no paramétricas como Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para hacer comparación entre ellos y la correlación de Spearman para determinar la relación entre los patrones hormonales y conductuales. Los resultados de LH que sí fueron normales se analizaron por medio de las pruebas estadísticas de Análisis de varianza (ANOVA) de una vía y "t" de student para ser comparados entre sí para cada individuo.

Tabla 20: Resultados Pruebas Comparativas Testosterona en Machos

Prueba estadística	Kruskal-Wallis		
Grande vs Mediano vs Vampi	P<0.0001		
Prueba estadística	Mann-Whitney		
	Grande	Mediano	Vampi
Grande		P=0.69	P<0.0001
Mediano	P=0.69		P<0.0001
Vampi	P<0.0001	P<0.0001	

Tabla 21: Resultados pruebas comparativas progesterona en hembras

Prueba estadística	Kruskal-Wallis					
Independiente vs Tímida vs Lunar vs Bolita vs Líder vs Ceja	P<0.0001					
Prueba estadística	Mann-Whitney					
	Independiente	Tímida	Lunar	Bolita	Líder	Ceja
Independiente		P=0.001	P<0.0001	P=0.61	P<0.0001	P=0.22
Tímida	P=0.001		P=0.12	P=0.002	P<0.0001	P=0.01
Lunar	P<0.0001	P=0.12		P<0.0001	P<0.0001	P=0.001
Bolita	P=0.61	P=0.002	P<0.0001		P<0.0001	P=0.57
Líder	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001		P<0.0001
Ceja	P=0.22	P=0.01	P=0.001	P=0.57	P<0.0001	

Tabla 22: Resultados Pruebas Comparativas FSH en Machos y Hembras

Machos						
Prueba estadística	Kruskal-Wallis					
Grande vs Mediano vs Vampi	P=0.1					
Prueba estadística	Mann-Whitney					
	Grande	Mediano	Vampi			
Grande		P=0.02	P=0.17			
Mediano	P=0.02		P=0.99			
Vampi	P=0.17	P=0.99				
Hembras						
Prueba estadística	Kruskal-Wallis					
Independiente vs Tímida vs Lunar vs Bolita vs Líder vs Ceja	P<0.0001					
Prueba estadística	Mann-Whitney					
	Independiente	Tímida	Lunar	Bolita	Líder	Ceja
Independiente		P=0.04	P=0.02	P=0.2	P=0.0002	P=0.022
Tímida	P=0.04		P<0.0001	P<0.0001	P=0.003	P<0.0001
Lunar	P=0.02	P<0.0001		P=0.32	P<0.0001	P=0.31
Bolita	P=0.2	P<0.0001	P=0.32		P<0.0001	P=0.14
Líder	P=0.0002	P=0.003	P<0.0001	P<0.0001		P<0.0001
Ceja	P=0.22	P<0.0001	P=0.31	P=0.14	P<0.0001	

Tabla 23: Resultados Pruebas Comparativas LH en Hembras

Machos						
Prueba estadística	Kruskal-Wallis					
Grande vs Mediano vs Vampi	P=0.88					
Prueba estadística	Mann-Whitney					
	Grande	Mediano	Vampi			
Grande		P= 0.88	P=0.59			
Mediano	P=0.88		P=0.86			
Vampi	P=0.59	P=0.86				
Hembras						
Prueba estadística	ANOVA (una vía)					
Independiente vs Tímida vs Lunar vs Bolita vs Líder vs Ceja	P=0.005					
Prueba estadística	“t” de Student					
	Independiente	Tímida	Lunar	Bolita	Líder	Ceja
Independiente		P=0.88	P=0.06	P=0.009	P=0.18	P=0.01
Tímida	P=0.88		P=0.02	P=0.001	P=0.08	P=0.001
Lunar	P=0.06	P=0.02		P=0.47	P=0.63	P=0.26
Bolita	P=0.009	P=0.001	P=0.47		P=0.23	P=0.54
Líder	P=0.18	P=0.08	P=0.63	P=0.23		P=0.15
Ceja	P=0.01	P=0.001	P=0.26	P=0.54	P=0.15	

Tabla 24: Resultados Correlaciones de Testosterona vs Conductas en Machos

Prueba estadística	Correlación de Spearman	
Grande	Testosterona (T)	
Caminar	P=0.04	r= -0.4
Mediano	Testosterona (T)	
Enfrentamiento	P=0.01	r= -0.49
Índice de Desplazamiento	P=0.0052	r= 0.54

Tabla 25: Resultados Correlaciones de Progesterona vs Conductas en Hembras

Prueba estadística	Correlación de Spearman	
Tímida	Progesterona (P4)	
Caminar	P=0.03	r = -0.4
Lunar	Progesterona (P4)	
Caminar	P= 0.01	
Líder	Progesterona (P4)	
Defecar	P= 0.03	r = -0.45
Ceja	Progesterona (P4)	
Caricia	P<0.0001	r = 0.7
Enfrentamiento	P= 0.01	r = -0.5
Entrelazar Trompa	P<0.0001	r = 0.04
Extensión Horizontal	P<0.0001	r = -0.4
Olfatear Genitales	P<0.0001	r = -0.4
Empujar	P<0.0001	r = 0.04
Ofrecimiento	P<0.0001	r = 0.13
Pandemónium Cópula	P<0.0001	r = -0.13
*Independiente y Bolita no presentaron correlación		