

01674
15



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**MEDICIONES DE CONDUCTA Y CORTISOL FECAL COMO
INDICADORES NO INVASIVOS DE BIENESTAR EN
JAGUARES (*Panthera onca*) CAUTIVOS Y SILVESTRES**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION
Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTADA POR

JAVIER LOJEDA CHAVEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. FRANCISCO GALINDO MALDONADO
DR. GERARDO CEBALLOS GONZALEZ
DR. GUILLERMO SALGADO MALDONADO



MEXICO, D.F.

2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

DECLARACIÓN

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Javier Ojeda Chávez

FECHA: 21/Noviembre/07

FIRMA: [Firma]

Como autor, doy mi consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

MVZ. Javier Ojeda Chávez

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A la Dra Dulce Brousset, por toda su ayuda durante la realización del proyecto.

A la Dra Marta Romano, al Biol Ricardo Valdés y al resto del equipo de investigadores del laboratorio de Fisiología, Biología y Neurociencia del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV).

Al personal del zoológico de Chapultepec "Alfonso L. Herrera", en la Cd, de México y del zoológico Miguel Alvarez del Toro (ZOOMAT), en Tuxtla Gutiérrez, por su cooperación e interés en el bienestar animal

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONTENIDO

DECLARACIÓN	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
SUMMARY	IV
CONTENIDO	V
LISTA DE TABLAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
INTRODUCCIÓN	1
Situación actual del jaguar	1
Estrés y bienestar	2
Hormonas adrenales, activación y función	4
Relación entre hormonas glucocorticoides y comportamiento	5
Medición de glucocorticoides	6
Medición de la conducta	9
Enriquecimiento del comportamiento.	10
JUSTIFICACIÓN	12
HIPÓTESIS	12
OBJETIVOS	12
MATERIAL Y MÉTODOS	13
Estudio 1	13
Localización y sujetos	13
Animales en cautiverio	13
Animales silvestres	15
Procedimientos de obtención de datos	16
Medición de conducta	16
Evaluación de la actividad adrenal	17
Mediciones de corticosterona fecal	17
Etanol	17
Análisis Estadístico	18
Estudio 2	18



Localización y sujetos	19
Procedimientos de obtención de datos	19
Medición de conducta	19
Evaluación de la actividad adrenal	21
Mediciones de cortisol fecal	21
Eter	21
Etanol	22
Análisis estadístico	23
RESULTADOS	24
Estudio 1	24
Comparación de patrones de conducta entre poblaciones en cautiverio	24
Comparación de niveles promedio de corticosterona fecal entre poblaciones en cautiverio	25
Relación entre conducta y promedio de corticosterona fecal	25
Comparación de niveles de corticosterona fecal entre las poblaciones cautivas y silvestre	25
Estudio 2	26
Comparación de conducta de una población en cautiverio, antes, durante y después de un enriquecimiento del comportamiento	26
Relación entre los estados y eventos de la conducta individual y social de una población en cautiverio y la conducta dirigida hacia los objetos de enriquecimiento	27
Comparación del nivel promedio de cortisol fecal de una población en cautiverio, antes, durante y después de un enriquecimiento del comportamiento	28
Relación entre conducta y promedio general de cortisol fecal	30
Comparación de niveles de cortisol fecal entre las poblaciones cautivas y silvestre	30
CONCLUSIONES	31
Evaluación del comportamiento de jaguares en cautiverio	31
Evaluación de la actividad adrenal de jaguares en cautiverio	36
LITERATURA CITADA	42
APÉNDICES	52
APÉNDICE 1	52



APÉNDICE 2	54
APÉNDICE 3	55
APÉNDICE 4	56
APÉNDICE 5	57
TABLAS	58
FIGURAS	61

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Población A Jaguares cautivos mantenidos en un ambiente complejo	58
Tabla 2 Población B Jaguares cautivos mantenidos en un ambiente simple	58
Tabla 3. Jaguares de vida libre.	58
Tabla 4 Población B Datos individuales de los jaguares cautivos	59
Tabla 5 Población B Calendario de salidas de los jaguares a exhibidor	59
Tabla 6 Valores promedio de corticosterona fecal (ng/g de heces secas) de dos poblaciones de jaguares cautivos	59
Tabla 7 Valores promedio de cortisol fecal (ng/gramo de heces secas) de una población de jaguares cautivos, según etapas experimentales	60

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estudio 1 Comparación de conductas de descanso entre poblaciones de jaguares cautivos	61
Figura 2 Estudio 1. Promedio de corticosterona fecal de dos poblaciones de jaguares cautivos	61
Figura 3 Estudio 1 Población A Corticosterona fecal individual Narda	62
Figura 4 Estudio 1. Población A Corticosterona fecal individual Sambo	62
Figura 5 Estudio 1 Población A Corticosterona fecal individual Lotario	63
Figura 6 Estudio 1 Población B Corticosterona fecal individual Leopoldina	63
Figura 7 Estudio 1. Población B Corticosterona fecal individual Michelle	64
Figura 8. Estudio 1 Población B Corticosterona fecal individual Babas	64
Figura 9 Estudio 1. Población B Corticosterona fecal individual Pablo	65
Figura 10. Estudio 1 Población B Corticosterona fecal individual Pedro	65
Figura 11 Estudio 1. Población B Corticosterona fecal individual Tereso	66
Figura 12. Estudio 2 Comparación general de conductas de descanso por etapa	66
Figura 13 Estudio 2. Comparación general de conductas de actividad por etapa	67
Figura 14. Estudio 2. Cortisol fecal individual. Ikbal	67
Figura 15 Estudio 2. Cortisol fecal individual Babas	68
Figura 16. Estudio 2. Cortisol fecal individual Tereso	68
Figura 17. Estudio 2. Cortisol fecal individual Africam	69
Figura 18 Estudio 2. Cortisol fecal individual Pedro	69
Figura 19. Estudio 2. Cortisol fecal individual Pablo	70
Figura 20. Estudio 2. Cortisol fecal individual Yumka	70
Figura 21 Estudio 2. Cortisol fecal individual Mayambé	71
Figura 22 Estudio 2. Cortisol fecal individual Chac	71
Figura 23. Estudio 2. Cortisol fecal individual Mérida	72
Figura 24. Niveles de cortisol fecal en jaguares silvestres	72



RESUMEN

El jaguar (*Panthera onca*) es uno de los grandes felinos de América, actualmente considerado como especie en peligro de extinción, por lo que se consideran prioritarias las acciones encaminadas para su conservación. La presente investigación se basó en el uso de dos técnicas no invasivas como indicadores de bienestar en jaguares: la identificación de patrones de comportamiento y la determinación de corticosterona y cortisol en heces por radioinmunoanálisis (RIA). Con este fin, se llevaron a cabo dos estudios: 1) comparación de dos poblaciones cautivas mantenidas bajo diferentes condiciones ambientales y una población silvestre y 2) una población en cautiverio sometida a la manipulación de su entorno mediante un programa de enriquecimiento del comportamiento. La comparación entre poblaciones cautivas mostró mayor proporción del tiempo en descanso y un menor nivel de corticosterona fecal en los jaguares mantenidos en albergues complejos ($p < 0.05$), con una correlación negativa entre la conducta y los valores de corticosterona. En la población cautiva sometida a una manipulación, se encontraron diferencias en la proporción del tiempo en locomoción durante la etapa de enriquecimiento, comparado con las etapas anterior y posterior ($p < 0.05$). No se encontró ninguna correlación entre los estados y eventos de conducta con los niveles de cortisol fecal ($p > 0.05$). No hubo diferencias entre los promedios de cortisol fecal en las etapas antes, durante y después del enriquecimiento ambiental ($p > 0.05$). La comparación de los valores de cortisol fecal de las poblaciones cautivas con la silvestre no fue posible debido al pequeño tamaño de muestra de ésta última. La investigación muestra los primeros valores de corticosterona y cortisol fecal en jaguares cautivos y silvestres, así como su relación con la conducta. Las técnicas descritas y los resultados obtenidos pueden aplicarse como métodos no invasivos para la evaluación del bienestar de esta especie, tanto en cautiverio como en vida libre.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SUMMARY

The jaguar (*Panthera onca*) is one of the endangered large felids of America, and the actions directed for its conservation are priority. The present investigation was based on the use of two non-invasive techniques as indicators of welfare in jaguars: the identification of behavior patterns and the determination of fecal glucocorticoids (corticosterone and cortisol) by radioimmunoanalysis (RIA). To fulfill this point, two studies were carried out: 1) comparison of two captive populations maintained under different environmental conditions and a wild population and 2) a captive population submitted to the manipulation of its environment using a behavioral enrichment program. The comparison among captive populations showed greater proportion of the time in rest and a smaller level of fecal corticosterone in the jaguars maintained in complex environments ($p < 0.05$), with a negative relation between behavior and corticosterone values. The comparison of fecal cortisol values between captive and wild populations was not possible, due to the small size of sample of the last. In the captive population submitted to an environmental manipulation, there were differences in the proportion of time used in the locomotion behavior during the phase of environmental enrichment, compared with the subsequent and previous phases ($p < 0.05$). There were no correlation between the fecal cortisol levels and any of the behavioral ranks and events ($p > 0.05$). There were no differences among the fecal cortisol average value in the phases before, during and after the environmental enrichment ($p > 0.05$). The present investigation shows the first values of fecal corticosterone and cortisol in jaguars, as well as its relationship with behavior patterns. The described techniques and the obtained results show their efficacy as non-invasive techniques that can be applied in the evaluation of welfare of jaguars, in captivity and in free life.



INTRODUCCIÓN

Situación actual del jaguar

El jaguar (*Panthera onca*) es el felino silvestre de mayor tamaño en América, y el menos estudiado de los llamados grandes felinos. Su área de distribución a principios de siglo abarcaba desde Arizona, Nuevo México y Texas en el sur de los Estados Unidos hasta el sur de Argentina, rango que se ha reducido drásticamente en la actualidad debido a la deforestación, la ganadería extensiva y la cacería. Su territorio original ha disminuido un 67% en el norte del continente y un 38% en el sur, desapareciendo de Estados Unidos, El Salvador, Uruguay, Chile y Nicaragua (Seymour 1989, Nowell y Jackson 1996). En México se le encontraba en los bosques tropicales del sureste a lo largo de los planos costeros, hasta la desembocadura del Río Bravo y las serranías de Sonora de la Sierra Madre Occidental de la costa del Pacífico (Leopold 1959). No obstante, a finales de los años ochenta solamente se reportaron poblaciones en los estados de Jalisco, Chiapas y en la península de Yucatán (López et al. 2000). Aunque todavía no se conoce con certeza el número de jaguares en México, resultados preliminares de algunos estudios regionales realizados en el sureste del país, estiman una población de 181-482 individuos para el total de la Reserva de la Biósfera de Calakmul en Campeche y 465-550 jaguares en un área adyacente de 15000 km² perteneciente a Petén, dentro de la Reserva de la Biósfera Maya (Ceballos et al. 1999). En el estado de Chiapas se estima una población de 350-410 animales, concentradas en cuatro poblaciones principales que ocupan un territorio total de 8800 km² (Nowell y Jackson 1996). En el norte, se tienen datos recientes sobre la presencia de jaguares en los estados de Nuevo León, Sonora y Chihuahua, pero todavía sin un estimado de su número (López et al. 2000).

En esta situación, la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994 clasifica al jaguar como una especie en peligro de extinción, cuya conservación es prioritaria

(Sánchez et al 1998,^v,^x) Sucede lo mismo con organismos internacionales como la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) que lo considera como una especie en poco riesgo/próximamente amenazado (local y regionalmente) o vulnerable en la mayor parte de su distribución (Nowell y Jackson 1996,^z) y la CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres) que lo clasifica dentro del apéndice I como especie en peligro de extinción (^y) Estas acciones están encaminadas a la protección de la especie por medio de la eliminación del comercio ilegal y a la cacería furtiva

A pesar del marco legal y de contar con la información recabada por los estudios que están en proceso, el futuro del jaguar es incierto, necesitándose de más proyectos de investigación que respondan a las interrogantes existentes sobre sus aspectos biológicos. Con la información generada, podrán formarse estrategias de conservación funcionales y eficaces, que incluyan la protección de su hábitat y la reproducción natural o asistida para los animales en cautiverio, acciones que serán críticas para el mantenimiento de las poblaciones, tanto en número de individuos como en variabilidad genética.

Estrés y bienestar

La conservación de especies animales en peligro de extinción o amenazadas, es uno de los objetivos primordiales de una colección zoológica moderna. Por desgracia, el cautiverio al que son sometidos los animales, les impone un medio ambiente que en la mayoría de las ocasiones, difiere ampliamente del cual ellos han evolucionado, situación que generalmente provoca estrés. Este término fue usado por Hans Selye (1936) para referirse a un síndrome inespecífico de respuestas fisiológicas hacia agentes nocivos como frío, calor, o dolor físico. Este concepto se considera abstracto aún en la actualidad, sin

^v Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Guía de identificación para las aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la CITES, Carnívora Felidae *Panthera* (*Panthera onca*) <http://www.conabio.gob.mx> 2001.

^x Instituto Nacional de Ecología (INE). Especies prioritarias Jaguar (*Panthera onca*), <http://www.ine.gob.mx> 2001.

^z International Union for Conservation of nature and Natural Resources, IUCN Species Survival Commission, Red List <http://iucn.org/themes/ssc>, 1995-2001.

una definición clínica establecida (Moberg 1987) Sin embargo, el estrés puede definirse como una condición fisiológica que resulta de una excesiva presión ambiental o fisiológica (Mc Farland 1981), iniciándose un cambio adaptativo en el individuo (Brazile 1987, Broom y Johnson 1993) Este cambio consiste en comportamientos defensivos, cambios internos en la homeostasis de tipo fisiológico o psicogenético y habituación o aclimatación (Fowler 1986, Nogueira y Silva 1997) Así, es posible identificar una de las razones por las que el término estrés sigue siendo difícil de definir, ya que las diferentes variables medio ambientales provocan respuestas neuroendócrinas y autónomas no específicas, en diferentes lapsos de tiempo y con diferentes respuestas en el comportamiento Estas respuestas pueden alterar algunos aspectos de la estimulación medio ambiental que provocaron el cambio adaptativo, iniciándose entonces una nueva reacción fisiológica o conductual (Carlstead 1998)

En vida silvestre, los animales se han adaptado para explotar condiciones ambientales específicas, o tienen la posibilidad de modificar su comportamiento según las diferentes condiciones de tipo estacional, social o biológico predominantes (Carlstead 1996) Aún así, deben enfrentarse a condiciones adversas, como cambios en el clima, búsqueda de alimento y agua, evitar los encuentros con depredadores o posibles competidores, contaminación, deforestación y parásitos introducidos Estos factores pueden clasificarse como estresantes, o como condiciones que induzcan al estrés (Wingfield et al 1997)

A diferencia de los individuos silvestres, los animales en cautiverio tienen una capacidad limitada para alterar los estímulos externos a los que son expuestos; en vida libre serían capaces de controlar la cantidad de estimulación que reciben al realizar comportamientos de tipo regulatorio, como son el aproximarse, explorar, atacar, perseguir, escapar o esconderse El comportamiento continuará realizándose hasta que la estimulación se encuentre en un nivel aceptable por el animal, o cuando se cumplan sus expectativas, como sucedería en los casos de querer controlar su microclima moviéndose de la sombra hacia el sol, o si está en la búsqueda de comida, refugio o pareja. Por esta

¹ CITES, <http://www.wcmc.org.uk/> CITES, 2000

razón, los zoológicos son criticados comúnmente por mantener a los animales "prisioneros" y de negarles la oportunidad de poder expresar sus patrones de conducta naturales (Carlstead 1996, Poole 1998)

El estado de un individuo con relación a sus intentos por enfrentar cambios del ambiente se define como bienestar animal (Broom 1986). Para determinar el grado de bienestar bajo condiciones de estrés, (que va de bueno a malo), es necesario identificar y cuantificar un amplio rango de variables a corto y a largo plazo (Huntingford 1984, Broom y Johnson 1993) Dentro de las primeras, se puede considerar si el individuo es confiado, se mueve sin mostrar miedo y si es capaz de descansar de manera relajada sin signos constantes de vigilancia (Carlstead 1998), mientras que a largo plazo, se examinan aquellas que disminuyen las condiciones individuales de buena salud y por lo tanto, afectan la reproducción y la expectativa de vida, variables fisiológicas que incluyen cambios en la función cardiovascular y en los parámetros sanguíneos, con un cierto grado de inmunosupresión y por lo tanto mayor incidencia de enfermedad (Huntingford 1984, Broom y Johnson 1993, Lyles y Dobson 1993), determinación de los niveles de hormonas adrenales y mediciones de la conducta, al observar comportamientos anormales como agresión excesiva, estereotipias, apatía e indiferencia (Broom y Johnson 1993).

Hormonas adrenales, activación y función

Al enfrentarse a factores de estrés, un animal cuenta con tres sistemas biológicos principales para lidiar con ellos: alteraciones en su comportamiento, estimulación del sistema nervioso autónomo o simpático o activación del sistema neuroendócrino con el eje hipotálamo - hipófisis- corteza adrenal (Fowler 1986, Moberg 1987). En esta tercera y última opción, el individuo entra en un patrón pasivo caracterizado por una alteración de la secreción de hormonas hipofisarias, principalmente de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH), que estimula la síntesis y liberación de los mineralocorticoides, (desoxicorticosterona y aldosterona) y de los glucocorticoides (cortisol y corticosterona). Los glucocorticoides tienen un papel importante en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas, al promover la transformación de los aminoácidos a partir de la

degradación de proteínas del músculo esquelético para almacenarlos en forma de glucógeno hepático, e incrementar la velocidad de la lipólisis mientras se inhibe la lipogénesis y la síntesis de proteínas. Sólo dos tejidos se encuentran libres de tales efectos: el cardíaco y el cerebral (Hsu y Crump 1989, Chastain y Ganjam 1990, Reece 1991). Además, tienen un marcado efecto antiinflamatorio (García 1998). Las funciones normales de las glándulas adrenales promueven la supervivencia del animal mientras el estrés desaparece, pero pueden ser deteriorantes si se activan repetidamente, como en el caso de disturbios prolongados o de gran intensidad (Mc Farland 1981, Wingfield et al. 1997). Un incremento en la secreción y actividad de los glucocorticoides producen alteraciones en el metabolismo. Entre otros desórdenes orgánicos se encuentran el aumento en la susceptibilidad a infecciones al promover una lisis de los leucocitos sanguíneos, particularmente los linfocitos T, monocitos y eosinófilos (Golub y Gershwin 1985, Endrőczy 1997), modificaciones en las acciones antiinflamatorias y en el comportamiento alimenticio, disminución en la cicatrización de heridas y en la masa muscular, hipertensión, ineficacia en la reproducción o en la conversión alimenticia, úlceras gástricas e intestinales y desbalance electrolítico, (Breazile 1987, Rivier y Rivest 1991)

Relación entre hormonas glucocorticoides y comportamiento

En diversas especies animales, silvestres y domésticas, se han llevado a cabo diferentes investigaciones para poder demostrar esta relación (Gregory y Wood 1999, De Jong et al. 2000, Rodarte 2001).

En el caso de primates, individuos jóvenes de mono capuchino (*Cebus apella*) al ser separados de su grupo social, registraron un incremento en sus niveles de cortisol en suero, aumentando al mismo tiempo la presentación de los comportamientos de pasividad, locomoción y vocalización, mientras que los comportamientos redirigidos y de exploración, disminuían (Byrne y Suomi 1999). Aunque en esta ocasión, la correlación entre el cortisol y el comportamiento durante las separaciones no fue significativa (Byrne y Suomi 1999), en lemures de cola anillada (*Lemur catta*) estudiados en vida libre, los comportamientos que

tuvieron relación con un nivel alto de cortisol fecal, fueron los de vigilancia y defensa contra depredadores y los alimenticios (Cavigelli 1999). También se encontró una correlación importante entre los índices de dominancia y el cortisol fecal: los individuos con un alto índice de dominancia mantenían niveles mayores de cortisol fecal, en contraste con los ejemplares con un nivel bajo (Cavigelli 1999).

Esta relación, no siempre se mantiene en todas las especies y varía dependiendo de su comportamiento característico. Las tuzas (*Microtus socialis*) expuestas a llamados grabados de buho leonado (*Strix aluco*), uno de sus múltiples depredadores, todas mostraban comportamientos de huida o de escondite, junto con un aumento en los niveles de corticosterona. Sin embargo, cuando ratones espinosos (*Acomys cahirinus*), eran expuestos a ese mismo estímulo, no se detectó ningún cambio en su comportamiento, pero sí un aumento en los niveles de cortisol (Eilam et al. 1999).

En el caso específico de felinos, gatos domésticos (*Felis catus*) y gatos leopardo (*F. bengalensis*) mantenidos en cautiverio, fueron expuestos a eventos estresantes como traslocación y rutinas imprevistas de cuidados y manejo. Durante los periodos en que se proporcionaban estos eventos estresantes, los animales disminuían el tiempo empleado en comportamientos de exploración y aumentaban el tiempo de inactividad, al mantenerse escondidos y con una actitud de alerta general hacia su entorno (Carlstead et al. 1993, Carlstead et al. 1993b, Graham y Brown 1996) mientras que al mismo tiempo, los niveles de cortisol aumentaban, mostrando una relación positiva entre comportamiento y estrés.

Medición de glucocorticoides

Dependiendo de la intensidad del estímulo, será el incremento en la producción de ACTH por la adenohipófisis y el posterior aumento en los niveles de hormonas glucocorticoides. La respuesta es inmediata y puede observarse que las concentraciones de cortisol aumentan con rapidez para llegar a valores varias veces arriba de lo normal, unos cuantos minutos después de iniciado el estímulo estresante (Huntingford 1984, Chastain y Ganjam 1990, Cunningham 1994). El eje hipotálamo-hipófisis-corteza adrenal

es particularmente sensitivo a estresores psicológicos (Breazile 1987, Moberg 1987), como resultado de las percepciones del animal a amenazas, novedad o desconocimiento de su medio ambiente. Los cambios hormonales que ocurren en un individuo bajo estrés, dependen de una experiencia emocional subjetiva, por lo que animales de la misma especie, sexo y edad, pueden diferir en sus respuestas a un mismo estímulo ambiental (Wingfield et al. 1997).

Generalmente, la medición de los niveles de cortisol y demás hormonas adrenales, se realiza en el plasma a partir de la toma de una muestra de sangre. Este método tiene la desventaja de que en condiciones normales, la variación en los niveles de glucocorticoides circulantes depende del ritmo circadiano del individuo (Chastain y Ganjam 1990, Cunningham 1994), por lo que solo se obtendrá información de un lapso de tiempo cercano al momento del muestreo. Por otra parte, el procedimiento de sujeción física y muestreo puede ser considerado por sí mismo, como un factor estresante, sobre todo en especies silvestres. Esto se demuestra en una investigación realizada con guepardos (*Acinonyx jubatus*), donde un estrés agudo provocó un aumento del cortisol plasmático en menos de 30 minutos (Wildt et al. 1984). En el caso de utilizar métodos de contención química, las drogas empleadas pueden influir en la liberación de hormonas que no están directamente relacionadas con la respuesta al estrés, afectando la veracidad de la prueba (Morton et al. 1995).

La alternativa se presenta entonces en los métodos de monitoreo hormonal no invasivos, basados en la medición de los metabolitos del cortisol o corticosterona que son excretados en la orina o en las heces. Estos métodos cuentan con la ventaja de que los animales no tienen que capturarse, se pueden obtener varias muestras de un mismo individuo con facilidad, y han demostrado su efectividad en diversas especies animales domésticas y silvestres (Schwarzenberger et al. 1996, Wasser et al. 2000), utilizando técnicas inmunológicas como inmunoanálisis enzimático (IAE), o radioinmunoanálisis (RIA), ya sea validando las técnicas aceptadas para su utilización en otras especies o con la utilización de kits comerciales (De Villiers et al. 1997, Monfort et al. 1998, Palme et al. 1998, Goymann et al. 1999, Wasser et al. 2000).



Para la utilización de los métodos no invasivos en el estudio de los felinos silvestres, la medición de los metabolitos en la orina se ve limitada por la forma en que los animales miccionan, (rociando la orina), impidiendo la obtención de buena parte del volumen producido durante las 24 horas (Carlstead et al 1992). Además, estudios realizados en gatos domésticos se encontró que sólo un pequeño porcentaje de los metabolitos era excretado por esa vía y que casi la totalidad era excretado junto con la bilis por las heces, (más del 80 % de los metabolitos del cortisol, principalmente como formas no hidrolizables solubles en agua), así que ésta última opción no sólo es más práctica, sino que es la más apropiada (Chastain y Ganjam 1990, Brown et al. 1994, Graham y Brown 1996, Jurke et al 1997). Conjuntamente, en el caso de las heces, los metabolitos representan el conjunto de las fracciones plasmáticas, donde las variaciones debidas a los patrones de secreción se encuentran atenuadas, proveyendo entonces una medición integral del estado y funcionamiento de la glándula adrenal (Goymann et al. 1999). En el guepardo, se demostró una elevación máxima del cortisol fecal 24 horas después de haberse presentado el factor estresante en forma de una contención física (Jurke et al. 1997). En el caso de jaguares, únicamente existe un reporte de los niveles de cortisol en plasma durante un proceso de contención química (Nogueira y Silva 1997), con las desventajas que este método puede acarrear y no hay reportes de los niveles de cortisol u otras hormonas glucocorticoides obtenidas a partir de orina o heces.

Cualquier tipo de técnica de medición de hormonas glucocorticoides, puede proveer información única y valiosa para el monitoreo de poblaciones animales. En el caso de animales cautivos, estas pruebas son esenciales para evaluar y tomar decisiones sobre prácticas de manejo y bienestar, sobre todo para aquellas especies en las que su reproducción en los zoológicos juega un papel primordial en su conservación, ya que niveles elevados de cortisol están implicados directamente en la supresión de síntesis de testosterona y en la inhibición de la espermatogénesis (Graham y Brown 1996, Rivier y Rivest 1991). La información obtenida a partir de poblaciones silvestres puede determinar si la población de estudio es estable y saludable, si es vulnerable a factores modificantes o si actualmente se encuentra en problemas y posiblemente esté estresada crónicamente

(Wingfield et al 1997), factores que deben ser tomados en cuenta para la correcta planeación de cualquier programa y proyecto de conservación *in situ*.

Medición de la conducta

En cautiverio, la vida de un animal se ve afectada por factores físicos y biológicos, como restricciones de espacio, el traslado a un ambiente desconocido, algún cambio en la rutina de manejo, tensión social o aislamiento, la presencia de otras especies incluyendo a los humanos y la disponibilidad del estímulo apropiado para el desarrollo y la expresión de los comportamientos naturales. Estos factores tienen diferentes grados de influencia sobre el comportamiento, ya sea en el desarrollo del mismo, a niveles genéticos o en la psicología de los animales cautivos (Carlstead 1996)

Si las condiciones del entorno se mantienen sin variación, el comportamiento, el bienestar psicológico y la salud de un animal se verán afectados al presentarse una disminución en el comportamiento exploratorio o al incrementarse de manera antinatural los intentos del animal por obtener alguna clase de estimulación (Newberry 1995, Carlstead 1996, Poole 1998). En los felinos, los problemas asociados con el confinamiento y con un entorno pobre, incluyen aburrimiento, apatía o indiferencia, agresión hacia los humanos y coespecíficos, miedo, poco éxito reproductivo, anorexia, estereotipias, apetito aberrante y automutilación por un acicalamiento excesivo, principalmente desencadenando un arrancado del pelo y lesiones en las patas y/o cola (Broom y Johnson 1993, McCune 1995, Carlstead 1996). La presencia de cualquiera de éstos u otro comportamiento anormal, se toma como el indicador principal de un bienestar pobre, siendo el estereotipado el más mencionado. Una estereotipia es cualquier patrón de movimiento que se realiza repetidamente, sin variación en su forma y no tiene una función o fin aparentes (Mason 1991). Las estereotipias se originan a partir de diversos comportamientos que representan esfuerzos del animal para controlar su medio ambiente; si éstas acciones fallan, como generalmente sucede en condiciones de cautiverio, el animal empieza a organizar un número reducido de comportamientos en secuencias que se vuelven rígidas, repetidas, rápidas e influenciadas internamente. Con dicha acción, el

individuo presenta conductas que sólo proveen percepciones de control, como resultado de un interés emocional que no tiene una salida apropiada y es dirigido hacia otros objetos o individuos (Carlstead 1998)

Por lo tanto, el registro del comportamiento es de utilidad para reconocer e identificar las necesidades básicas de un individuo, si están presentes en el entorno y sobre todo si se están cumpliendo, para determinar si las actividades que realice significan bienestar o en caso contrario poder evaluar el grado de estrés. Si además, el comportamiento puede correlacionarse con los signos fisiológicos de estrés, se justifica de gran manera el uso de esta herramienta de evaluación (Huntingford 1984).

Enriquecimiento del comportamiento

Con la finalidad de mantener en las mejores condiciones posibles a los animales que componen sus colecciones y poder cumplir con los objetivos de reproducción, investigación y educación al público, los zoológicos deben de ser capaces de confinar a los animales dentro de un ambiente natural o naturalista, sin signos o comportamientos que los muestren estresados o bajo tensión (Seidensticker y Doherty 1996). Estos cambios han dado lugar a la creación del término de enriquecimiento del comportamiento, que se define como el mejoramiento en las funciones biológicas de los animales en cautiverio, al presentar comportamientos apropiados o naturales, como resultado de modificaciones en su entorno. El enriquecimiento del comportamiento debe proveer un medio ambiente complejo y diverso que incremente la posibilidad de que el propio comportamiento del animal cautivo pueda cumplir con sus necesidades, lo que es esencial para su bienestar psicológico y para la presentación de comportamientos ecológicamente válidos (Poole 1998). En este punto, es de gran relevancia el estudio de los patrones de actividad de los animales silvestres, para poder compararlos con los de sus semejantes en cautiverio y determinar adecuadamente si el ambiente en cautiverio conduce a la expresión del comportamiento típico de las especies (Carlstead 1996, Poole 1998). Un buen ejemplo lo tenemos en el caso de los comportamientos orientados hacia la búsqueda de alimento, que en la naturaleza se considera como una tarea que consume mucho tiempo y energía,

mientras que en cautiverio, el alimento se proporciona de manera rutinaria y listo para ser consumido. Si se pueden crear las condiciones en las que un animal cautivo tenga que esforzarse para encontrar su comida, como consecuencia de un comportamiento de exploración natural, se cumplirá con una función natural y por lo tanto se producirá bienestar.

El implementar mejoras en la calidad del espacio dentro del cual vive un animal, es la mejor opción para evitar estrés y la aparición de comportamientos anormales. Esta mayor calidad se puede ofrecer al incrementar la complejidad del albergue cambiando frecuentemente sus estructuras internas y su contenido, para evitar habituación (McCune 1995), ofreciendo áreas verticales o elevadas, aun en el caso de especies terrestres (Maple y Perkins 1996), y considerando no sólo el ambiente interno, sino también el área que rodea al animal y que todavía está dentro de su rango sensorial (Newberry 1995). Realmente no es necesario que el entorno en cautiverio se parezca al medio silvestre, lo que importa es el tipo y naturaleza de los retos u objetivos a cumplir (Poole 1998). El incremento en los estímulos que reciben los animales en cautiverio por medio de las diferentes estrategias de enriquecimiento del comportamiento, tienen un efecto positivo en la *aparición, disminución o erradicación de conductas indeseadas, y aún pueden tener un efecto de mejora parcial sobre las deficiencias provocadas por el crecimiento en un medio ambiente pobre* (Carlstead 1996). Finalmente, es necesario mencionar que aunque ciertos comportamientos que se muestran en cautiverio puedan parecer dañinos, son en realidad adaptaciones del individuo a su ambiente, por lo que primero es necesaria una evaluación para cuantificar los costos y beneficios que conlleva el efectuarlos, antes de concluir que no existe bienestar y se establezcan acciones de enriquecimiento del comportamiento para que dejen de presentarse (Newberry 1995).

JUSTIFICACIÓN

La importancia de la presente investigación radica en la generación de información nueva entre la relación de conducta y actividad adrenal en jaguares mantenidos en cautiverio. Los métodos no invasivos de evaluación como la medición de los niveles en heces de hormonas adrenales y la identificación de los patrones de conducta, servirán como herramientas útiles para determinar el bienestar y estrés de los individuos, con la finalidad de implementar mejoras en el manejo e incrementar el éxito reproductivo.

HIPÓTESIS

- Los niveles de cortisol fecal son menores en los jaguares cautivos en un ambiente complejo y dentro del rango geográfico de la especie y serán mayores en individuos cautivos en ambientes simples y fuera de ese rango geográfico.
- Los niveles de cortisol fecal serán menores a medida de que aumenta la diversidad conductual de exploración.
- Una mayor incidencia de conductas anormales estereotipadas y de agresión, se relaciona con un aumento en los niveles de cortisol fecal.
- Los individuos silvestres tendrán un rango menor en sus niveles de cortisol fecal con respecto a los individuos cautivos

OBJETIVOS

- Comparar los niveles de cortisol fecal en dos poblaciones de jaguares cautivos mantenidos en diferentes condiciones medioambientales y una población de jaguares silvestres
- Relacionar los niveles de cortisol fecal con las proporciones de tiempo y las frecuencias de conductas individuales y sociales
- Evaluar el efecto de la manipulación del comportamiento sobre la conducta y los niveles de cortisol fecal en una población de jaguares cautivos.

JUSTIFICACIÓN

La importancia de la presente investigación radica en la generación de información nueva entre la relación de conducta y actividad adrenal en jaguares mantenidos en cautiverio. Los métodos no invasivos de evaluación como la medición de los niveles en heces de hormonas adrenales y la identificación de los patrones de conducta, servirán como herramientas útiles para determinar el bienestar y estrés de los individuos, con la finalidad de implementar mejoras en el manejo e incrementar el éxito reproductivo.

HIPÓTESIS

- Los niveles de cortisol fecal son menores en los jaguares cautivos en un ambiente complejo y dentro del rango geográfico de la especie y serán mayores en individuos cautivos en ambientes simples y fuera de ese rango geográfico.
- Los niveles de cortisol fecal serán menores a medida de que aumenta la diversidad conductual de exploración.
- Una mayor incidencia de conductas anormales estereotipadas y de agresión, se relaciona con un aumento en los niveles de cortisol fecal.
- Los individuos silvestres tendrán un rango menor en sus niveles de cortisol fecal con respecto a los individuos cautivos

OBJETIVOS

- Comparar los niveles de cortisol fecal en dos poblaciones de jaguares cautivos mantenidos en diferentes condiciones medioambientales y una población de jaguares silvestres
- Relacionar los niveles de cortisol fecal con las proporciones de tiempo y las frecuencias de conductas individuales y sociales
- Evaluar el efecto de la manipulación del comportamiento sobre la conducta y los niveles de cortisol fecal en una población de jaguares cautivos.

JUSTIFICACIÓN

La importancia de la presente investigación radica en la generación de información nueva entre la relación de conducta y actividad adrenal en jaguares mantenidos en cautiverio. Los métodos no invasivos de evaluación como la medición de los niveles en heces de hormonas adrenales y la identificación de los patrones de conducta, servirán como herramientas útiles para determinar el bienestar y estrés de los individuos, con la finalidad de implementar mejoras en el manejo e incrementar el éxito reproductivo.

HIPÓTESIS

- Los niveles de cortisol fecal son menores en los jaguares cautivos en un ambiente complejo y dentro del rango geográfico de la especie y serán mayores en individuos cautivos en ambientes simples y fuera de ese rango geográfico.
- Los niveles de cortisol fecal serán menores a medida de que aumenta la diversidad conductual de exploración.
- Una mayor incidencia de conductas anormales estereotipadas y de agresión, se relaciona con un aumento en los niveles de cortisol fecal.
- Los individuos silvestres tendrán un rango menor en sus niveles de cortisol fecal con respecto a los individuos cautivos

OBJETIVOS

- Comparar los niveles de cortisol fecal en dos poblaciones de jaguares cautivos mantenidos en diferentes condiciones medioambientales y una población de jaguares silvestres
- Relacionar los niveles de cortisol fecal con las proporciones de tiempo y las frecuencias de conductas individuales y sociales
- Evaluar el efecto de la manipulación del comportamiento sobre la conducta y los niveles de cortisol fecal en una población de jaguares cautivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El proyecto de investigación se dividió en dos estudios: en el primero se compararon poblaciones de jaguares enfrentados a ambientes y estímulos sensoriales diferentes, mientras que en el segundo estudio se evaluó el efecto causado por una manipulación del comportamiento sobre una población con estímulos sensoriales simples.

Estudio 1

Comparación entre patrones de conducta y niveles de cortisol fecal en diferentes poblaciones de jaguares en cautiverio y comparación de niveles de cortisol fecal de una población silvestre.

LOCALIZACIÓN Y SUJETOS

Animales en cautiverio

Población A.- Jaguares mantenidos en un ambiente enriquecido. La población consiste en 3 animales adultos: 2 machos y una hembra. Sus datos se encuentran en la Tabla 1

El macho y la hembra amarillos se alojan en un exhibidor de poco más de 2000 m², delimitado por paredes de piedra de 10m de alto y sin techo. Los visitantes pueden observar a los animales por la parte superior del albergue. Dentro del mismo se encuentra una gran variedad de flora nativa del estado, con una zona arbolada en el centro que rodea una pequeña poza de agua y una plataforma de cemento. Esta construcción, hecha con la finalidad de proveer sombra y refugio, es utilizada por los animales como sitio elevado de observación. No se cuenta con un albergue nocturno, solamente con una pequeña jaula donde se les alimenta y encierran por aproximadamente 30 minutos diarios, mientras el personal de limpieza realiza su labor en el albergue. El macho de color negro se encuentra alojado en un exhibidor individual, más pequeño y rodeado por tela de alambre, con diversa vegetación y el mismo tipo de manejo, totalmente alejado de la

pareja de jaguares. La dieta de estos felinos se basa en carne de equino diariamente, excepto por los días miércoles y sábado, en los que se proporciona carne de pollo. La alimentación se realiza a las 11:00 hrs, todos los días. Los tres animales se encuentran en buen estado de salud, sin signos aparentes de enfermedad.

En su conjunto, los encierros presentan una gran complejidad en cuanto a su área y a la estimulación sensorial, debido a que fueron construidos tratando de modificar lo menos posible el entorno natural de la zona.

Población B.- Jaguares mantenidos en un ambiente simple. La población consiste en 6 animales adultos: 4 machos y 2 hembras. Sus datos se encuentran en la Tabla 2.

Los felinos se encuentran alojados en un complejo de albergues, subdividido a su vez en dos áreas: jaguares amarillos y jaguares negros. Cada área consiste de un exhibidor exterior en forma de 1/4 de círculo, con el lado recto más largo formado de una pared de vidrio para que el público pueda observar a los animales. Rocas artificiales forman las paredes trasera y lateral, parte de la pared trasera y el techo están hechos de malla de alambre. Las medidas son: pared de vidrio frontal: 16 m, pared lateral: 11 m, pared semicircular trasera: 27 m de largo. El exhibidor tiene piso de tierra, plantas naturales, troncos artificiales y un pequeño estanque. En el interior del complejo, se encuentran alojamientos individuales o casas de noche, construidas de cemento y rejas, de 2.40m x 2.10m, cada uno con una tarima de madera de 1.40m x 2.10m y un bebedero. Los dormitorios están dispuestos en dos filas de 4 albergues cada una, divididas por un pasillo central de 1.90m de ancho en el área de los jaguares amarillos y en una sola fila en el área de jaguares negros. Cada dormitorio puede comunicarse con los demás a través de un pasillo trasero o bien por medio de puertas de metal de tipo guillotina y corredizas. Solo existe comunicación visual y auditiva entre los animales de cada área, excepto en el caso de Pedro y Pablo que son hermanos y en todo momento comparten el espacio. La iluminación se provee por tragaluces y focos infrarrojos en cada dormitorio y focos de luz blanca en los pasillos.

Como rutina diaria, el exhibidor y los albergues nocturnos se barren y lavan, desinfectándose una vez a la semana. A los jaguares se alimenta en sus albergues nocturnos, con 6 a 8 kg de carne de equino en trozos, entre las 13:00 hrs y las 16:30 hrs. Los lunes no se alimentan como parte del plan nutricional del zoológico.

El exhibidor exterior es usado de las 8:30 a las 16:30 hrs. Pedro y Pablo, salen todos los días en el área de jaguares amarillos, mientras que la pareja de Tereso y Leopoldina, alternan días con Babas, en el área de jaguares negros. Michelle únicamente está en el área exterior los días lunes, debido a que ocasionalmente sufre de convulsiones, provocadas por un cuadro de encefalopatía hepática idiopática e insuficiencia renal, desde el 31/septiembre/1998. Con excepción de Michelle, el resto de los jaguares cuenta con buena salud, sin signos de enfermedad.

Animales silvestres

El estudio se desarrolló en la Reserva de Calakmul localizada en el sureste del estado de Campeche, ubicándose en el límite con el estado de Quintana Roo al este y con la República de Guatemala al sur. Sus coordenadas extremas son: 17° 45', 19° 15' latitud norte 89° 08', 90° 08' longitud oeste. La superficie total de la reserva es de 723,185 ha, divididas entre dos zonas núcleo, una de 147,915 ha y otra de 100,345 ha, y una zona de amortiguamiento de 474,924 ha. La fauna que la habita corresponde a la región neotropical en la que se incluyen especies raras, endémicas, amenazadas y en peligro de extinción (Aranda 1993, Ceballos et al. 1999). Los jaguares fueron localizados en su hábitat natural con ayuda de perros entrenados (Ceballos et al. 1999) y se inmovilizaron usando ketamina como anestésico disociativo, a dosis de 10-12 mg/kg IM (Deem y Karesh 2000). Se logró la captura de dos animales, cuyos datos se muestran en la Tabla 3.

PROCEDIMIENTOS DE OBTENCIÓN DE DATOS

Medición de conducta

Se realizaron 48 horas de observaciones piloto divididas de la siguiente manera: 7 días de observaciones directas en cada población cautiva, con 2 horas diarias alrededor del mediodía, utilizando una combinación de métodos de muestreo focal y conductual, a fin de obtener información acerca de los eventos y estados de conducta social e individual. Se observó a los tres animales de la población A y a cuatro individuos de la población B: dos machos juntos (Pedro y Pablo), y macho y hembra juntos (Tereso y Leopoldina).

Estas observaciones sirvieron de base, junto información proveniente de trabajos anteriores (Ibarra y Ojeda 1988, Castillo 1993) para diseñar un catálogo de comportamientos. Se agruparon estados de conducta individual (descanso, locomoción, acicalamiento y alimentación), eventos de conducta individual (conductas eliminativas, beber, afilado de garras, vocalización), eventos sociales agonistas (agresión y amenaza), eventos sociales afiliativos (frotamiento y conductas sexuales) y estados y eventos de conducta anormales (estereotípias y conductas redirigidas). Cada conducta del catálogo se describe en el Apéndice 1.

Para registrar las conductas, se utilizaron formatos para conductas individuales y para conductas sociales. Ambos se encuentran en los Apéndices 2 y 3, respectivamente.

De los registros continuos en el exterior, se realizó un muestreo de barrido con un intervalo de 10 minutos, con lo que se pudo calcular la duración de estados y la frecuencia de eventos conductuales, según las siguientes fórmulas:

$$\text{Proporción de tiempo} = \frac{\text{Nº de barridos de la conducta}}{\text{Total de barridos}}$$

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{Nº de eventos de la conducta}}{\text{Total de horas observadas}}$$

Evaluación de la actividad adrenal

Mediciones de corticosterona fecal

Se colectaron diariamente muestras de excremento de todos los jaguares en cautiverio durante el transcurso de un mes. Para la correcta identificación de las muestras de aquellos individuos que en todo momento se encontraban juntos, se le adicionó a la dieta de uno de ellos colorante vegetal en polvo. En el caso de los animales silvestres, las muestras se obtuvieron directamente del recto durante la inmovilización química. El excremento se mantuvo en congelación a -20°C dentro de bolsas de plástico, hasta su procesamiento en el laboratorio. Cada muestra de excremento de los animales cautivos se trabajó utilizando el siguiente protocolo:

Etanol

Las heces se desecaron a temperatura de 40-60°C durante 24 a 48 hrs, de 0.18 a 0.20 g de heces en polvo se colocaron en tubos de vidrio, a los que se añadió 0.5 ml de agua destilada y 4.5 ml de etanol. Los tubos hirvieron en baño maría a 95-100 °C durante 20 minutos, agregando etanol según era necesario para evitar el secado total de las muestras. Se agregó etanol a cada tubo lo suficiente para alcanzar un volumen aproximado al de inicio y se centrifugaron a 1500 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante se decantó a un segundo juego de tubos y se repitió el proceso, agregando el segundo sobrenadante al primero. El extracto final se dejó secar completamente al aire, con ayuda de un baño maría a 36 °C. La dilución final se preparó agregando 1.0 ml de etanol, que después de agitado se mezcló con PBS (solución amortiguadora de fosfatos) en una dilución 2:1, la cual se analizó con un kit comercial de radioinmunoensayo (RIA) de fase sólida (*Coat-A-Count® Rat Corticosterone*)[∇], altamente específico para la detección de corticosterona en suero de rata y con poca reacción cruzada con otras hormonas (100% de reactividad para corticosterona, 0.18-0.35% de reactividad para cortisol)

[∇] Diagnostic Products Corporation 5700 West 96th Street Los Angeles, CA 90045-5597, EU

Análisis Estadístico

El análisis de los datos obtenidos, se realizó utilizando el programa de cómputo STATISTICA[®]

La prueba de T para muestras independientes se aplicó en las dos poblaciones cautivas para comparar los promedios de corticosterona fecal.

La prueba de Mann-Whitney se utilizó para comparar entre poblaciones cautivas la proporción de tiempo para cada estado conductual de los jaguares

La prueba de Spearman se usó para relacionar la proporción del tiempo de los estados de conducta en los animales en cautiverio con los niveles promedio de corticosterona fecal.

El tamaño de muestra de ambas poblaciones no permitió la comparación estadística entre los animales alojados en grupo o aislados. No fue posible la comparación entre individuos capturados de vida libre y aquellos nacidos en cautiverio, ya que todos los jaguares de la población A provenían del estado silvestre, mientras que la mayoría de los animales de la población B, habían nacido en cautiverio. Tampoco la comparación por edad fue posible, al tener los animales casi la misma edad.

Debido a que se aplicó un método de cuantificación de cortisol fecal diferente para las muestras de jaguares silvestres y a los pocos individuos capturados, no fue posible realizar comparaciones estadísticas con los datos obtenidos de las poblaciones en cautiverio

Estudio 2

Evaluación del efecto de la manipulación del comportamiento sobre la conducta y los niveles de cortisol fecal en una población de jaguares cautivos.

[®] Statistica '98 edition. StatSoft Inc. 2300 East 14th Street Tulsa, OK, EU

LOCALIZACIÓN Y SUJETOS

Para esta etapa de la investigación, se trabajó únicamente con los felinos mantenidos en un ambiente simple (población B del estudio 1). Al momento de iniciar este estudio, la institución alojaba a 10 animales: con el fallecimiento de las 2 hembras, se integraron a la colección un cachorro macho, dos machos adultos y tres hembras adultas provenientes de otros parques zoológicos. Los datos de todos los individuos se encuentran en la Tabla 4.

Los jaguares se alojaban y compartían los exhibidores de acuerdo con el calendario mostrado en la Tabla 5.

Se trabajó con cuatro animales del área de jaguares amarillos (Africam, Yumka, Pedro y Pablo) y con dos del área de jaguares negros (Tereso y Babas), para contar la mayor gama de posibilidades de alojamiento que el zoológico podía ofrecer: hembra sola (Africam), machos solos (Tereso y Babas), machos juntos (Pedro y Pablo) y macho con hembra (Yumka y Mayambé que eran reunidos en el exhibidor).

PROCEDIMIENTOS DE OBTENCIÓN DE DATOS

Medición de conducta

Al catálogo de comportamientos utilizado en el estudio 1, se le agregó la conducta de manipulación, para poder determinar la proporción de tiempo empleado por los animales con los objetos empleados como parte del enriquecimiento del comportamiento.

Se observó a los jaguares en el exhibidor durante 4 horas consecutivas, realizando observación directa y registro continuo, de las 9:00 hrs a las 13:00 hrs, o de las 13:00 a las 16:00 hrs, de tal manera de que se registraran las 8 horas que pasa cada animal en el exterior. En los albergues interiores, se instalaron cámaras de video y equipo de videograbación para registrar la conducta durante 24 horas continuas. De los registros continuos en el exterior y de las videograbaciones, se realizó un muestreo de barrido con

un intervalo de 10 minutos, para calcular la duración de estados y la frecuencia de eventos conductuales, aplicando las mismas fórmulas usadas en el estudio 1. Las 24 horas continuas de videograbación fueron divididas en dos bloques de 12 horas cada uno: el día iniciaba desde las 7:00 horas, con la presencia de luz natural y la realización de las actividades de limpieza por parte de los trabajadores y terminaba hasta las 19:00 horas, cuando empezaba a oscurecer e iniciaba la noche.

Este estudio se dividió en tres etapas consecutivas:

- Sin manipulación del comportamiento.- Observaciones directas y videograbación con una duración de 15 días para los jaguares amarillos y 7 días para los jaguares negros
- Manipulación del comportamiento (Enriquecimiento).- Observaciones directas y videograbación con una duración de 15 días para los jaguares amarillos y 7 días para los jaguares negros.
- Posterior a la manipulación del comportamiento.- Observaciones directas y videograbación con una duración de 7 días para ambos grupos de jaguares.

Durante la primera etapa, no se modificó en ningún aspecto la rutina diaria de manejo de los jaguares y se identificaron algunos patrones de comportamiento que fueran factibles de modificarse en la segunda etapa, donde se aplicó un programa de enriquecimiento del comportamiento, mientras que la tercera etapa consistió en el regreso a la rutina normal de la etapa uno.

El programa de enriquecimiento del comportamiento, involucró diferentes presentaciones del alimento normal, alimentos nuevos, presas enteras, substratos y esencias de olores atractivos, y objetos manipulables que no tuvieran relación con la conducta de alimentación. Se utilizaron métodos aplicados en otras especies de carnívoros, con especial atención en aquellas probadas en felinos silvestres, e ideas nuevas o modificaciones de las técnicas ya descritas con el fin de evaluar su aceptación. Dentro de éstas técnicas, se utilizaron las siguientes: alimento puesto dentro de costales o cajas (Cheney 1978, Hare y Jarand 1998), alimento congelado dentro de bloques de hielo

(Hare et al. 1996), presas enteras (Myers 1978, Ziegler 1995, Hare et al. 1996, Houts 1999), objetos no comestibles colgados y con movimiento (Jennett 1994, Poulsen y Miller 1996, Testa 1997), materiales vegetales (Knights 1995) y esencias olorosas (Lewis 1992, Law 1993) Estas modificaciones de la rutina se proporcionaron a los jaguares dos veces al día: a las 9:00 hrs y a las 20:00 hrs (inicio de cada bloque de doce horas de observación) En la mañana se utilizaron aquellas ideas que incluyeran alimento, colocadas tanto en el exhibidor como en las casas nocturnas; mientras que en la noche solamente se utilizaron objetos manipulables no comestibles o substratos, colocados en cada dormitorio individual. Así, todos los sujetos recibían los mismos estímulos independientemente de la rotación semanal para exhibición. Los calendarios de enriquecimiento se muestran en los Apéndices 4 y 5.

Evaluación de la actividad adrenal

Mediciones de cortisol fecal

Diariamente y durante todo el tiempo de estudio, se obtuvieran muestras de excremento de todos los animales, que fueron colocadas dentro de bolsas de plástico e identificadas. Como cada animal se alojaba individualmente, sólo en el caso de los dos machos que vivían juntos, fue necesario adicionar colorante vegetal en polvo a la ración de carne de uno de ellos, para realizar una identificación adecuada. El excremento se mantuvo en congelación a -20°C, hasta su análisis en el laboratorio. Se probaron dos procedimientos diferentes para realizar el extracto de excremento: con éter y con etanol. Por medio de pruebas comparativas, se determinó que el método de extracción con etanol proporcionaba valores mayores de cortisol fecal, por lo que el protocolo que implicaba el uso de éter fue descartado. Cada procedimiento se explica a continuación:

Eter

Las heces se desecaron por medio de centrifugación al vacío. Una muestra de 0.18 a 0.20 g de peso se colocó en tubos de vidrio a los que añadió 5 ml de éter. Después de agitar se dejó reposar por 5 minutos. La mezcla se congeló dentro de hielo seco con

acetona por 10 a 15 minutos y el extracto se decantó en un segundo juego de tubos de vidrio. Este extracto se evaporó en baño maría a 30-40 °C por 20 a 30 minutos. Una vez seco, se agregaron 500µl de solución buffer RIA, se agitó por 3 minutos y se decantó a un nuevo juego de tubos para RIA. Después de una centrifugación a 3000 rpm por 15 minutos, el sobrenadante se decantó en un segundo juego de tubos para RIA. Este extracto final se mantuvo en congelación hasta su análisis.

Etanol

Las heces se desecaron por medio de centrifugación al vacío. En tubos de vidrio se agregaron 0.18 a 0.20 g de muestra, 1 ml de agua destilada y 4 ml de etanol. Los tubos se hirvieron en baño maría a 95-100 °C durante 20 minutos agregando etanol según fuera necesario para evitar el secado total. Terminado el hervido, se agregó etanol a cada tubo, lo suficiente para alcanzar un volumen aproximado de inicio y se centrifugaron a 1500 rpm durante 20 minutos. El extracto obtenido se decantó en un segundo juego de tubos de vidrio, que fueron secados completamente mediante el uso de un baño maría a 36 °C y aire a presión. Al tubo de extracto seco se le agregó 1 ml de etanol absoluto y se agitó por 1 minuto para posteriormente, después de un reposo de 30 minutos, ser centrifugado a 1500 rpm durante 20 minutos. El extracto final se decantó a tubos RIA y se mantuvo en congelación hasta su análisis.

A diferencia del estudio 1, en el estudio 2 no se utilizaron kits comerciales, sino que se modificó la técnica de RIA descrita para la determinación de cortisol salival en cerdos, desarrollado por la Dra. Marta Romano, del departamento de Fisiología, Biología y Neurociencia del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV). El anticuerpo contra cortisol utilizado fue el producido por laboratorios Chemicon^o, con el propósito de identificar específicamente a la hormona o alguno de sus metabolitos.

^o Rabbit anti-cortisol (3-CM0) Chemicon International, Inc. 28835 Single Oak Drive, Temecula, CA 92590, EU.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de los datos obtenidos, se realizó utilizando el programa de cómputo STATISTICA.

Por medio de la prueba de Friedman se comparó el comportamiento de los felinos entre las tres etapas en que se dividió el estudio, tomando en cuenta la proporción del tiempo invertida en cada uno de los estados de conducta y la frecuencia relativa para los eventos de conducta, tanto para el día como para la noche, así como los promedios de cortisol fecal por etapa. En los casos en que existió una diferencia significativa ($p < 0.05$), se realizó la prueba de Wilcoxon para la comparación entre etapas, por separado. La prueba de Spearman se usó para evaluar la asociación entre los diferentes estados y eventos de la conducta, con la manipulación y el uso de objetos que se proporcionaron como parte del programa de enriquecimiento del comportamiento. También por medio de una prueba de Spearman, se relacionaron los niveles de cortisol fecal promedio con los estados y eventos conductuales de cada una de las tres etapas. Los promedios individuales de cortisol fecal se compararon entre etapas utilizando una prueba de ANDEVA y *para aquellos resultados significativos, se realizó entonces una prueba de Duncan*.

El tamaño de muestra de los animales silvestres fue muy pequeño, por lo que no se incluyeron esos datos en el análisis estadístico.

RESULTADOS

Estudio 1

COMPARACIÓN DE PATRONES DE CONDUCTA ENTRE POBLACIONES EN CAUTIVERIO

Se comparó la proporción de tiempo de los estados de conducta individual entre las dos poblaciones de jaguares cautivos. Fueron considerados los tiempos promedio de las conductas de descanso, locomoción y acicalamiento. La conducta de alimentación no fue tomada en cuenta, puesto que no se registró. Se encontraron diferencias significativas en la proporción de tiempo en descanso ($U= 0$, $p<0.05$; Figura 1) con mayor proporción en la población A. El tiempo promedio acostado también fue mayor en la población A ($U= 0$, $p< 0.05$; Figura 1), pero no hubo diferencias cuando se comparó el promedio de tiempo parado ($U= 5.5$, $p>0.05$; Figura 1). No se encontraron diferencias entre poblaciones para el promedio de tiempo empleado en locomoción ($U= 3$, $p>0.05$). La conducta de estereotipia no se presentó en ningún jaguar durante el transcurso de las observaciones directas, por lo que la totalidad de proporción del tiempo en locomoción corresponde a la conducta de exploración. Tampoco hubo diferencias entre poblaciones al comparar el tiempo empleado en acicalamiento ($U= 3.5$, $p>0.05$).

En cuanto a la comparación de los eventos de conducta, se encontraron diferencias en la conducta afiliativa de frotamiento ($U= 0$, $p<0.05$), con una mayor frecuencia de presentación en la población B. No se encontraron diferencias en las conductas individuales de beber ($U= 4$, $p>0.05$), eliminativas ($U= 4$, $p>0.05$), vocalización ($U= 2$, $p>0.05$), juego ($U= 3$, $p>0.05$), o conducta sexual ($U= 3$, $p>0.05$). Ninguna población presentó conducta de agresión.

Al comparar ambas poblaciones por sexo, la única conducta con una diferencia significativa en su proporción de tiempo promedio fue el estar parado, con un mayor tiempo en machos en relación con las hembras ($U= 0$, $p<0.05$).

COMPARACIÓN DE NIVELES PROMEDIO DE CORTICOSTERONA FECAL ENTRE POBLACIONES EN CAUTIVERIO

Los promedios de corticosterona fecal fueron diferentes entre ambas poblaciones de jaguares en cautiverio, ($U= 2$, $p= 0.07$; Figura 2). La población A, tuvo un promedio menor de corticosterona fecal (0.294 ± 0.03 ng/g de heces), que la población B (0.497 ± 0.24 ng/g de heces). De manera individual, todos los jaguares cautivos en un albergue complejo, tuvieron niveles menores de corticosterona fecal, que los animales mantenidos en un ambiente simple, con excepción de un ejemplar (Pablo).

Los promedios de corticosterona fecal, se muestran en la Tabla 6, los valores individuales diarios, se muestran de las Figuras 3 a la 11

RELACIÓN ENTRE CONDUCTA Y PROMEDIO DE CORTICOSTERONA FECAL

Para ambas poblaciones, se encontró una relación negativa significativa entre el promedio de corticosterona fecal y la proporción de tiempo promedio para el estado de descanso ($R_s = -0.78$, $p < 0.05$). Para la conducta acostado, también se encontró una relación significativa ($R_s = -0.71$, $p = 0.07$). No hubo relación entre los valores promedio de corticosterona fecal y los tiempos promedio para los estados de conducta parado, locomoción, acicalamiento y el resto de los eventos conductuales individuales y sociales ($p > 0.05$).

COMPARACIÓN DE NIVELES DE CORTICOSTERONA FECAL ENTRE LAS POBLACIONES CAUTIVAS Y SILVESTRE

No fue posible realizar las comparaciones de corticosterona fecal entre de las poblaciones de jaguares cautivos con la población de felinos silvestres, debido a que las muestras obtenidas de ésta última, se analizaron para obtener datos de cortisol fecal.

Estudio 2

COMPARACIÓN DE CONDUCTA DE UNA POBLACIÓN EN CAUTIVERIO, ANTES, DURANTE Y DESPUÉS DE UN ENRIQUECIMIENTO DEL COMPORTAMIENTO

En la comparación entre etapas, se encontró que los jaguares descansaban menos tiempo y aumentaban su actividad de locomoción durante la noche. La disminución significativa en el tiempo de descanso durante la noche, fue mayor en la etapa 1 y menor en la 3, sin embargo, no hubo diferencias entre las etapas al comparar la proporción de tiempo durante el día ($p > 0.05$), ni en la proporción de tiempo total ($F = 3$, $p > 0.05$). La diferencia en el tiempo en descanso durante la noche ($F = 9$, $p < 0.05$), se mostró con una proporción promedio más alta en la etapa 1 (0.961 ± 0.02), que en las etapas 2 (0.943 ± 0.03) y 3 (0.937 ± 0.04). Las comparaciones por separado muestran diferencias significativas entre la etapa 1 con la 2 ($Z = 2.2$, $p < 0.05$) y la etapa 1 con la etapa 3 ($Z = 2.2$, $p < 0.05$). La comparación entre etapas de las conductas de acostado y parado, mostraron diferencias significativas en la proporción de tiempo total ($F = 7$, $p < 0.05$) y durante la noche ($F = 9$, $p < 0.05$). No se observaron diferencias durante el día ($p > 0.05$). Durante la etapa 2, con respecto a la etapa 1, el tiempo dedicado por los jaguares al estar acostado disminuyó, mientras aumentaba el tiempo al estar parados ($Z = 2.2$, $p < 0.05$; Figura 12).

En cuanto al promedio de la proporción de tiempo en locomoción durante la noche, se encontró una diferencia significativa entre etapas ($F = 6.3$, $p < 0.05$). La etapa 1 (0.025 ± 0.02) mostró diferencias con la etapa 2 (0.034 ± 0.03) ($Z = 2.2$, $p < 0.05$) y con la etapa 3 (0.047 ± 0.04) ($Z = 2.2$, $p < 0.05$). Durante el día no se encontraron diferencias en locomoción ($p > 0.05$), pero al comparar la proporción de tiempo total, se encontró una diferencia significativa entre la etapa 1 (0.14 ± 0.04) y la etapa 3 (0.17 ± 0.07) ($Z = 2.2$, $p < 0.05$). No se encontraron diferencias en el tiempo dedicado a de la conducta de exploración, durante la noche y el día ($p > 0.05$). Sin embargo, la proporción de tiempo total, mostró diferencias significativas ($F = 5.3$, $p < 0.05$), ($Z = 2.2$, $p < 0.05$), al ser mayor

durante la etapa 2 (0.031 ± 0.01) que en las etapas 1 (0.024 ± 0.01) y 3 (0.027 ± 0.01); (Figura 13)

En todos los jaguares observados se presentaron estereotipias de locomoción, y una conducta redirigida en sólo en un animal. Estas conductas se presentaban únicamente cuando los animales se encontraban confinados en sus dormitorios y nunca cuando se encontraban en el albergue exterior. La proporción del tiempo total en estereotipias fue menor en la etapa 1 (0.117 ± 0.03), que en las etapas 2 (0.123 ± 0.06) y 3 (0.143 ± 0.07), siendo significativa la comparación entre la primera y la última etapa experimental ($Z = 1.99$, $p < 0.05$). No hubo diferencias significativas entre etapas en la proporción de tiempo en estereotipias, por día o noche ($p > 0.05$). El jaguar Yumka fue el único individuo que presentó una conducta redirigida, al lamer la puerta de metal de su albergue nocturno. La comparación entre etapas de la proporción de tiempo para esta conducta, no mostró diferencias ($p > 0.05$), en ningún promedio de tiempo en el día, la noche y total (Figura 13).

No se encontraron diferencias entre etapas en la proporción de tiempo dedicado a la alimentación ($p > 0.05$)

Para la conducta de acicalamiento, no se encontraron diferencias en las proporciones de tiempo promedio durante el día y la noche ($p > 0.05$), aunque el promedio total fue significativamente menor en la etapa 1 (0.034 ± 0.02) que en la etapa 2 (0.042 ± 0.02), ($Z = 1.99$, $p < 0.05$)

En los eventos individuales y sociales, no hubo diferencias significativas entre etapas ($p > 0.05$).

RELACIÓN ENTRE LOS ESTADOS Y EVENTOS DE LA CONDUCTA INDIVIDUAL Y SOCIAL DE UNA POBLACIÓN EN CAUTIVERIO Y LA CONDUCTA DIRIGIDA HACIA LOS OBJETOS DE ENRIQUECIMIENTO

El promedio de la proporción y frecuencia de tiempo de cada estado y evento conductual, individual y social, se relacionó con la proporción de tiempo promedio que cada jaguar dedicó a la manipulación de los objetos proporcionados como enriquecimiento del comportamiento. Excepto por la conducta de descanso durante el día, con una relación negativa ($R_s = -0.77$, $p = 0.07$), ninguna otra presentó alguna relación significativa ($p > 0.05$). Para esta conducta de descanso diurno, la relación negativa se debió a la disminución del tiempo dedicado a estar acostado ($R_s = -0.77$, $p = 0.07$), sin observarse ningún cambio en el tiempo promedio dedicado a la conducta de estar de pie y los promedios durante la noche y totales ($p > 0.05$).

El resto de los estados y eventos conductuales, no presentaron ninguna relación con la proporción de tiempo destinado a la manipulación de objetos ($p > 0.05$)

COMPARACIÓN DEL NIVEL PROMEDIO DE CORTISOL FECAL DE UNA POBLACIÓN EN CAUTIVERIO, ANTES, DURANTE Y DESPUÉS DE UN ENRIQUECIMIENTO DEL COMPORTAMIENTO

Al comparar los promedios de cortisol fecal entre etapas de estudio, se encontraron diferencias significativas entre los promedios de la etapa 1 y la etapa 3 ($p = 0.05$). No hubo diferencias en ninguna otra comparación ($p > 0.05$). Los promedios de cortisol fecal aumentaron conforme transcurrían las etapas del estudio: etapa 1.- 15.59 ± 1.63 ng/g de heces, etapa 2.- 16.52 ± 1.6 ng/g de heces, etapa 3.- 18.85 ± 2.09 ng/g de heces (Tabla 7).

En el caso de las comparaciones individuales, sólo en un jaguar se encontró una diferencia significativa ("Babas", $F = 8.5$, $p < 0.05$). Los demás animales no presentaron diferencias ($p > 0.05$). En las comparaciones de las etapas por separado, cinco ejemplares mostraron diferencias en sus promedios de cortisol fecal ($p < 0.05$), mientras que los cinco jaguares restantes, no tuvieron resultados significativos ($p > 0.05$; Tabla 7).

Los resultados se detallan a continuación:



Un jaguar (Babas), aumentó su promedio de cortisol fecal durante la etapa de enriquecimiento, regresando a su nivel basal en la etapa 3, mientras que otro (Pedro), aumentó su promedio de cortisol durante la etapa 2, manteniéndolo durante la etapa 3, uno más (Ikbai) mostró una disminución continua en el cortisol fecal según avanzaban las etapas de estudio, y por último, en dos ejemplares (Mérida y Chac), su cortisol fecal aumentó en la etapa posterior al enriquecimiento.

Un jaguar (Babas), presentó un aumento en el promedio de cortisol fecal durante la etapa de enriquecimiento del comportamiento. La comparación fue significativa entre los promedios de cortisol fecal de la etapa 2, con los de las etapas 1 y 3 ($p < 0.05$).

En otro ejemplar (Pedro), el promedio de cortisol de la etapa 1, fue significativamente menor que los promedios de las etapas 2 y 3 ($p < 0.05$ y $p = 0.06$, respectivamente).

Con el ejemplar más joven (Ikbai), la comparación del promedio de cortisol fecal de la etapa 1, que fue menor que en las otras dos etapas, con resultados significativos ($p < 0.05$).

Para otros dos jaguares (Mayambé y Chac), el cortisol fecal aumentó en la etapa posterior al enriquecimiento ($p < 0.05$).

La comparación entre etapas de los niveles promedio de cortisol fecal del resto de los jaguares, no tuvo resultados significativos. Los valores diarios individuales de cortisol fecal por etapa, se muestran en las Figuras 14 a la 24.

RELACIÓN ENTRE CONDUCTA Y PROMEDIO GENERAL DE CORTISOL FECAL

El análisis se llevó a cabo relacionando el promedio general de cortisol fecal por cada etapa de estudio, con la proporción de tiempo promedio total de los estados y eventos conductuales de la etapa correspondiente.

En la etapa 1, se encontró una correlación significativa en la conducta de acostado y el promedio de cortisol fecal ($R_s = 0.83$, $p < 0.05$). En la etapa 2, se encontró una correlación entre el evento individual parado y el promedio de cortisol fecal ($R_s = 0.83$, $p < 0.05$). En la etapa 3, la conducta de exploración, fue el evento conductual con una correlación significativa ($R_s = 0.83$, $p < 0.05$). Los demás eventos individuales no mostraron ninguna relación estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

De los eventos de conducta individuales y sociales, el total de la frecuencia de los comportamientos afiliativos, tuvo una correlación positiva con los niveles de cortisol fecal durante la etapa 3 ($R_s = 0.88$, $p < 0.05$). La misma relación se encontró en la frecuencia de eventos de tipo sexual ($R_s = 0.88$, $p < 0.05$). En el resto de los eventos individuales y sociales no se encontró ninguna relación significativa ($p > 0.05$).

COMPARACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL FECAL ENTRE LAS POBLACIONES CAUTIVAS Y SILVESTRE

Debido al tamaño de muestra de animales silvestres ($n=2$), los valores de cortisol fecal no pudieron ser comparados estadísticamente con las poblaciones en cautiverio. Sin embargo, es posible observar que estos valores se encuentran dentro del rango de los niveles de cortisol fecal encontrados en la población de jaguares cautivos, aunque cerca de los valores más bajos. El promedio de cortisol fecal de los animales silvestres fue de 11.77 ± 4.57 ng/g de heces, con un valor de 8.54 ng/g para el jaguar macho Pancho, y un valor de 15.01 ng/g para la hembra denominada como JH423 (Figura 24).

CONCLUSIONES

La información generada en este estudio, complementa el conocimiento de las relaciones entre el comportamiento y la actividad adrenal en jaguares, además de reportar por primera vez, niveles de corticosterona y cortisol fecal en esta especie.

Evaluación del comportamiento de jaguares en cautiverio

Entre los carnívoros, los felinos son de las especies a las que es más difícil proporcionarles un ambiente en cautiverio que les permita expresar los comportamientos y actividades característicos de su especie (Mellen et al 1998); situación que predispone al desarrollo de alteraciones y anomalías conductuales provocado por un estado de estrés crónico (Mason 1991, Sheperdson et al., 1993). Como ya se comentó en la introducción, el comportamiento estereotipado puede considerarse como un indicador de bajos niveles de bienestar y por lo tanto del fracaso del individuo en enfrentar cambios en el ambiente (Broom 1986).

En el Estudio 1, donde se comparó la conducta de dos grupos de jaguares cautivos, se observó que ningún animal presentó estereotipias, independientemente del tipo de entorno en el que se encontraban. En la población A, además de que se esperaba que las estereotipias estuvieran ausentes o se presentaran en una menor proporción que en la población B, las conductas de exploración y de locomoción deberían ser las predominantes. Sin embargo, se presentó una mayor proporción de tiempo empleado para la conducta de descanso. Este hecho, probablemente se deba a que las horas de observación no correspondieron a los picos de mayor actividad, los cuáles se presentan alrededor del amanecer y anoecer (Seymour 1989, Nowell y Jackson 1996), siendo alrededor de estas horas, que las estereotipias tendrían mayor posibilidad de presentarse, como respuesta a un comportamiento de búsqueda de alimento o de delimitación y marcaje de su territorio (Freeman 1983, Mellen et al. 1998)

De igual forma, la ausencia de estereotipias en la población B, se debe a que las observaciones se realizaron durante el día y en el exhibidor (como se pudo comprobar durante la realización del Estudio 2). El poco tiempo que pasaban los animales en el exterior, era ocupado para conductas exploratorias, de descanso o de tipo social; las conductas anormales se manifestaban cuando estos estímulos sensoriales disminuían o eran eliminados (Mason 1991), al estar los jaguares confinados en sus albergues nocturnos. Todos los ejemplares mostraron estereotipias, las cuáles consistían en un caminar continuo de un extremo al otro del dormitorio y un individuo (Yumka), presentó además un comportamiento redirigido, al lamer la puerta de metal que separaba a su dormitorio de otro. Estas conductas se presentaron durante el transcurso de las tres etapas experimentales, tanto en el día como en la noche.

Contrario a lo esperado, la proporción de tiempo dedicado a las estereotipias aumentó durante la etapa de manipulación ambiental, con respecto a la etapa 1 considerada como basal. A pesar de que esta diferencia no fue estadísticamente significativa, el hecho posiblemente tenga su explicación si se considera que los objetos y el calendario de enriquecimiento, fueron modificaciones al ambiente de los animales al presentar varios estímulos diferentes que alteraron y proporcionaron una mayor complejidad al entorno, por lo que la conducta debía modificarse en consecuencia (Breazile 1987, Moberg 1987, McCune 1995, Newberry 1995). En varias especies animales mantenidas en cautiverio, se han registrado aumentos en la proporción del tiempo y en la frecuencia de presentación de comportamientos estereotipados, como respuesta a objetos y ruidos desconocidos o a la presencia de seres humanos (Mason 1991).

Esto último puede explicar el hecho de que se haya encontrado una disminución en la proporción del tiempo durante la noche a la conducta de acostado, aumentando la proporción del tiempo dedicado a estar parado. Los cambios en horario de manejo normal interrumpieron el tiempo normal de descanso durante la noche, provocando un estado de vigilancia como efecto de la adaptación del animal a su nuevo ambiente. Al mantenerse confinados, los jaguares no tenían la oportunidad de controlar los estímulos novedosos, que recibían en la forma de un cambio en la rutina y como objetos de enriquecimiento,

propiciando la aparición de diversos comportamientos como respuesta al estrés, en un intento de lidiar con los cambios (Carlstead 1998)

Cuando terminó la etapa de enriquecimiento, se presentó un aumento significativo en la presentación de estereotipias. Posiblemente los jaguares habían empezado a adaptarse a la nueva rutina y cuando los estímulos fueron eliminados, se produjo frustración como respuesta, lo que se traducía en comportamientos anormales (Mason 1991).

El presentar objetos manipulables, también influyó de manera significativa en un aumento de la conducta de exploración, disminuyendo al mismo tiempo la conducta de descanso durante el día. Este resultado coincide con otras investigaciones en las que se menciona una disminución en el tiempo que los animales pasan inactivos, al aumentar de manera proporcional la actividad que dirigen hacia los objetos novedosos o en la presentación de otras conductas derivadas de la misma actividad (Carlstead et al. 1993, Newberry 1995). Aunque no en todos los individuos funcionaron con la misma intensidad, los objetos proporcionados como parte del calendario de enriquecimiento conductual, provocaron que los jaguares interactuaran con ellos y recorrieran el albergue exterior. Aunque la exploración se presentaba con mayor intensidad en el exhibidor, los animales que permanecían en sus dormitorios, también mostraban estos cambios pero perdían el interés rápidamente, posiblemente debido a que el espacio reducido no ofrecía mayores oportunidades para continuar con la búsqueda de otros estímulos.

El desarrollo de nuevos métodos y objetos para enriquecimiento del comportamiento de los jaguares fue también parte de la investigación. El tipo de objetos y la manera de presentación, fue basado principalmente en aquellos métodos que ya habían demostrado su eficacia en otras especies de carnívoros (Cheney 1978, Myers 1978, Lewis 1992, Law 1993, Jennett 1994, Knights 1995, Ziegler 1995, Hare et al. 1996, Poulsen y Miller 1996, Testa 1997, Hare y Jarand 1998, Houts 1999). El programa de enriquecimiento fue diseñado tomando siempre en cuenta que los animales confinados en su dormitorio no tenían la oportunidad de mostrar algún comportamiento de huida si el

objeto presentado les parecía ofensivo. Por esta razón no se abusó del uso de otros olores ni esencias, limitándose a probar únicamente el efecto de la esencia de valeriana y también se prescindió del uso de excremento de especies identificadas como presas potenciales del jaguar en estado silvestre, a pesar de que este procedimiento ha demostrado ser una buena herramienta de enriquecimiento del comportamiento para felinos (Baker et al. 1997)

Durante la etapa de manipulación ambiental, se les presentó a los jaguares, sustratos y alimentos novedosos a los que no estaban acostumbrados. Cada sustrato fue utilizado de diversas maneras: 1) como cama, 2) para cubrir sus excrementos o el alimento no consumido, o 3) como fuente de fibra en la dieta, ya que se observó que si se les presentaba la oportunidad, todos los jaguares ingerían materia vegetal. Estos materiales, junto con las diferentes presentaciones del alimento ya conocido (como el estar congelado dentro de bloques de hielo) o de alimentos novedosos (presas enteras, pollo o hígado de res), se proporcionaron con el objeto de cubrir las necesidades de curiosidad, exploración y manipulación en el entorno de los felinos (Maple y Perkins 1996).

El éxito del programa de enriquecimiento fue variable para cada individuo, pero de manera general todos los objetos, sustratos y alimentos, tuvieron buena aceptación. Los carnívoros y principalmente las especies pequeñas de felinos silvestres, se benefician si su alimento es proporcionado en diferentes horarios durante el día de manera que no puedan predecir el momento de alimentación y si éste es presentado de alguna manera en que tengan que trabajar para obtenerlo (Bacon 1992, Shepherdson 1993, Lyons et al. 1997). El utilizar presas enteras también beneficia a los depredadores, tanto en el aspecto físico (al obtener la mayor cantidad de nutrientes en una comida y al permitirles utilizar sus herramientas naturales para morder, desgarrar y procesar el alimento), como en el psicológico, (al mantenerlo ocupado en su consumo durante mayor tiempo y con una mayor estimulación sensorial) (Bond y Lindburg 1990, Young 1997). Los materiales de los objetos manipulables o que contenían al alimento fueron de material no tóxico, minimizando el daño que ocasionarían en caso de ser ingeridos.

El comportamiento de atención, pudo notarse de manera general en los jaguares durante la etapa de estimulación del comportamiento del estudio 2. Como se mencionó antes, no todos los animales respondieron de la misma manera hacia los diferentes objetos de enriquecimiento, sin embargo el efecto mayor se encontró al utilizar alimento en sus diferentes presentaciones, resultados que coinciden en que la presentación, sabor, textura del mismo, además del momento y la forma en que se ofrezca, tiene un gran papel dentro de los programas de enriquecimiento (Mellen et al 1998). La respuesta de los animales hacia los objetos manipulables que no tienen relación con la actividad de alimentación, varió mucho entre individuos. El que estos objetos sean investigados, o que los individuos muestren cambios en su comportamiento cuando les son proporcionados, no necesariamente significa que hayan tenido un efecto enriquecedor, ya que pueden ser interpretados de varias maneras (distracción, interés, novedad, molestia, amenaza) (Newberry 1995). Por lo tanto, un programa de enriquecimiento conductual, no necesariamente será exitoso en todo momento y lugar, teniéndose que evaluar en su efecto en cada situación individual.

Durante el transcurso de esta investigación, fue posible identificar patrones conductuales que se han relacionado con anterioridad a factores y situaciones estresantes (Broom y Johnson 1993, McCune 1995, Carlstead 1996). La conducta de descanso, que fue predominante en los jaguares durante el estudio 1, puede interpretarse como aburrimiento, apatía o indiferencia, siendo entonces un comportamiento anormal e indicador de un pobre bienestar en situaciones de estrés crónico. Lo mismo sucede en el caso del estudio 2, con los comportamientos estereotipados. Las estereotipias son comportamientos que tienen su origen en la necesidad del individuo de ejercer cierto grado de control sobre su entorno, pero además se menciona que pueden reducir las respuestas fisiológicas relacionadas con el estrés (Rushen 1993).

Por lo que se ha mencionado con anterioridad, la ausencia de conductas estereotipadas y la mayor proporción de las conductas de descanso, no confirman el hecho de que los jaguares en cautiverio no presenten un nivel de estrés crónico. Dependiendo de su entorno, los individuos no manifiestan comportamientos relacionados

con condiciones estresantes, pero su nivel de hormonas glucocorticoides se encuentra aumentado (Carlstead 1996). De nueva cuenta, la individualidad debe ser un factor importante a considerar en cada evaluación del comportamiento y según se puede desprender de esta investigación, un mayor tiempo de observación proporcionará un mejor panorama del catálogo conductual de la especie sujeta a estudio.

La manera en que cada animal lidia individualmente con su ambiente, tiene un papel importante en la presentación y expresión de estereotipias, sin indicar necesariamente un mejor o peor bienestar (Ladewig et al 1993, Carlstead 1996). Un cierto grado de estereotipias, muestra el hecho de que ese animal en ese momento en particular, está lidiando contra los factores estresantes de su medio ambiente de una manera activa, en lugar de utilizar una conducta pasiva (Mason 1991b). Individuos que son sometidos a situaciones de estrés, dentro de un medio ambiente conocido, pueden mostrar comportamientos diferentes a los que mostrarían si estuvieran bajo la misma situación, pero en un ambiente desconocido (Haemisch 1990, Kalin et al. 1998).

No fue posible relacionar algún patrón de conducta en las dos poblaciones cautivas, que fuera indicativo de condiciones de estrés. Trabajos futuros podrán orientarse a encontrar esta relación o a confirmar que en los jaguares cautivos, no existe ningún comportamiento que sea característico de estas situaciones.

El haber realizado estas evaluaciones conductuales, proporciona a las instituciones que mantengan a estos felinos, mayor información de las actividades diarias, reacciones a los estímulos novedosos y comportamientos anormales, todo con la finalidad de poder implementar mejoras en el entorno que promuevan el bienestar de los individuos cautivos.

Evaluación de la actividad adrenal de jaguares en cautiverio

Además de la observación de la conducta, la determinación de glucocorticoides en heces, es otro método no invasivo que proporciona una fuente valiosa de información para

poder determinar la actividad adrenal y el estrés al que se encuentran sometidos los individuos. Esta técnica de determinación de metabolitos hormonales, por medio de RIA, ELISA e IAE, se ha utilizado en varias especies de animales domésticos y silvestres, no solo para glucocorticoides (De Villiers et al. 1997, Monfort et al. 1998, Whitten et al. 1998, Cavigelli 1999, Goymann et al. 1999, Terio et al. 1999, Wallner 1999, Wasser et al. 2000), sino también para hormonas sexuales (Shideler 1993, Schwarzenberger et al. 1996, Velloso 1998, Fieß 1999).

Sin embargo, aunque el excremento es la mejor vía para detectar los metabolitos hormonales en el caso de felinos, la técnica cuenta con ciertas limitantes: la hormona a medir, puede encontrarse tanto en forma libre o en metabolitos, por lo que las técnicas de medición pueden detectar a la hormona libre, a un conjunto de metabolitos o solamente a uno de ellos, y la cantidad total de hormona excretada se encuentra repartida en toda la materia fecal producida en el transcurso del día, o desde la última vez que el animal defecó (Carlstead et al. 1993, Graham y Brown 1996).

Durante el estudio 1, se utilizó el kit comercial *Coat-A-Count*® con ^{125}I , para la determinación de corticosterona, glucocorticoide principal en grandes mamíferos. El uso de kits comerciales de RIA para la detección de hormonas glucocorticoides, se ha usado con anterioridad en varias especies animales (De Villiers et al. 1997, Monfort et al. 1998, Palme et al. 1998, Goymann et al. 1999, Wasser et al. 2000), y también en otras especies de felinos silvestres (Stillwell et al. 1996) con buenos resultados. Sin embargo, debido a los costos y a la posibilidad de utilizar el método de RIA desarrollado en el laboratorio del CINVESTAV, orientado a la detección de cortisol, se modificó el protocolo de extracción y se utilizó ^3H como marcador, para determinar exclusivamente el glucocorticoide considerado como el más específico para la evaluación de estrés, o en yodo caso, a alguno de sus metabolitos.

No fue posible relacionar un mismo estado o evento de conducta con los niveles de corticosterona, entre ambas poblaciones. En otras especies de felinos domésticos y silvestres mantenidos bajo condiciones de laboratorio, se ha demostrado una relación

entre comportamiento y estrés (Carlstead et al. 1993, Carlstead et al 1993b), a partir de un aumento en las hormonas glucocorticoides medidas en orina. Lo mismo se ha encontrado en especies pequeñas de felinos silvestres mantenidas en cautiverio en zoológicos, pero con mediciones hechas en excremento (Brousset 2002)

En el caso de la población mantenida en un ambiente enriquecido, si se presentó esta relación entre conducta y corticosterona, ya que entre mayor tiempo dedicaban los jaguares al descanso, los niveles de corticosterona fecal eran menores. Esta situación puede explicarse al considerar la actividad de las hormonas glucocorticoides, las cuales se encargan de regular el metabolismo de las proteínas en el organismo. Un individuo que mantenga una vida sedentaria y tranquila, tendrá menores niveles de producción de éstas hormonas (Hsu y Crump 1989, Chastain y Ganjam 1990, Reece 1991). Con menor actividad, la demanda energética y las necesidades de glucosa serán menores y por lo tanto, se secretará menos cortisol (Nelson 2000). Además, las características del albergue de la población A, facilita la adaptación de los animales al cautiverio (Seidensticker y Doherty 1996), donde uno de los indicadores de bienestar, es la capacidad de los animales para poder descansar sin signos constantes de vigilancia (Carlstead 1998). Sin embargo, la conducta de descanso o inactividad, puede considerarse también como indicador de un pobre bienestar y estrés crónico (Carlstead et al 1993b), por lo que el apoyo de las técnicas de detección de glucocorticoides, toma una mayor relevancia.

Como resultado de la investigación, fue posible determinar que los jaguares cautivos mantenidos en un ambiente enriquecido, presentaban niveles de corticosterona fecales menores que los animales mantenidos en ambientes simples. Todos los animales de la población A presentaron un menor nivel de corticosterona que los jaguares de la población B, (con excepción del jaguar Pablo). Como se mencionó con anterioridad, el aumento en la secreción de glucocorticoides, es resultado de un incremento en los factores estresantes, por lo tanto, si éstos factores se encuentran disminuidos o no están presentes, las hormonas glucocorticoides se secretaran en menor cantidad. De esta manera, se puede inferir que los jaguares mantenidos en ambientes enriquecidos, tienen un menor grado de estrés que los mantenidos en ambientes simples.

Con relación a la manipulación del ambiente, durante el desarrollo del estudio 2, no se encontraron cambios significativos en el promedio de cortisol fecal por etapas, aunque de manera individual en la comparación entre etapas, los cambios si fueron significativos en 5 de los 10 jaguares evaluados, en los niveles de cortisol fecal durante la etapa de manipulación del entorno, o en la etapa posterior al programa de enriquecimiento (ya sea aumentando, disminuyendo o manteniendo sin cambio estos niveles).

Dos animales (Babas y Pedro) presentaron un aumento de cortisol fecal durante la etapa de enriquecimiento con relación a la etapa 1, considerada como basal. Este efecto pudo deberse al hecho de que los objetos de enriquecimiento fueron percibidos como un factor de estrés, al cambiar su rutina diaria de actividad y la manera de presentación de alimento (Newberry 1995, McCune 1995, Breazile 1987, Moberg 1987), aunque el aumento de los niveles de cortisol puede deberse al aumento de la actividad en sí. Ambos jaguares eran adultos y habían pasado toda su vida en cautiverio, factores importantes a tomar en cuenta. Es importante mencionar que aunque Pedro convivía continuamente con su hermano Pablo, este último no presentó el mismo efecto, lo que apoya el hecho de tener que considerar la individualidad en todas las respuestas del organismo (Wingfield et al. 1997).

Ikbal, el jaguar más joven, presentó una disminución en sus niveles de cortisol fecal durante la etapa 2 de enriquecimiento, probablemente debido a que como individuo joven, la adaptación a un medio ambiente cambiante, es mayor si se compara con animales adultos (Wingfield et al. 1997).

Tereso mantuvo un nivel de cortisol fecal constante durante las tres etapas experimentales, sin responder a los cambios del ambiente. Posiblemente, el tipo y presentación de los objetos, no fueron los apropiados para este ejemplar (Newberry 1995), ratificando el hecho de la necesidad de una evaluación para cada situación particular. Es importante notar que terminando el estudio, al jaguar se le diagnosticó una

insuficiencia renal, por lo que esta falta de respuesta puede deberse a problemas de salud, lo que propone una nueva línea de investigación

Mayambé, Chac y Pablo, presentaron una elevación significativa en sus niveles de cortisol una semana después de terminada la etapa 2. La respuesta que presentaron al aumentar sus niveles de cortisol fecal en la etapa posterior al enriquecimiento, se puede relacionar con los resultados anteriores que mostraban una tendencia al aumento de estereotipias, como resultado de una frustración al no encontrar nuevos objetos de enriquecimiento diariamente (Mason 1991). Aquí también influye la percepción individual hacia el ambiente, y posiblemente algún factor externo (como ruidos o trabajadores en un área contigua) pudo haber ocasionado estrés agudo a estos jaguares sin afectar al resto de la población (Mason 1991). Es notorio que ninguno de los tres animales considerados dentro del plan de enriquecimiento de los jaguares negros presentó picos de aumento de cortisol en la etapa 3, posiblemente porque en su caso, la etapa 2 tuvo una duración menor y no le fue tan difícil lidiar con el cambio en la rutina de enriquecimiento (Seidensticker y Doherty 1996).

Las conductas que mostraron algún cambio en su proporción de presentación durante las tres etapas de la manipulación ambiental, también mostraron una correlación significativa con el cortisol fecal. En la etapa 1 fue la conducta de acostado, en la etapa 2 la conducta de parado y en la etapa 3, la conducta de exploración. Como se mencionó en la discusión sobre el comportamiento, la inactividad (el estar acostado) y la vigilancia (el estar de pie) pueden ser conductas relacionadas con estados de estrés, explicando así, el aumento en los niveles de cortisol fecal. Además, la variación en el resultado con respecto al estudio 1, puede deberse a las diferencias en el protocolo de extracción y en la detección de otro glucocorticoide en las heces. La detección de mayores niveles de cortisol que de corticosterona en las heces, posiblemente indica que los jaguares producen una mayor cantidad de cortisol que de corticosterona en situaciones de estrés, pero esta suposición necesitará de otros estudios para su confirmación.

Entre los resultados de la investigación, se obtuvieron los primeros valores de corticosterona y cortisol fecal en jaguares, además de probar una técnica de RIA para la extracción y medición de cortisol. Estos métodos tienen las ventajas de no ser invasivos, de fácil interpretación y de resultados relativamente rápidos, por lo que pueden usarse para monitorear continuamente las poblaciones en cautiverio y detectar rápidamente las condiciones de estrés, antes de que estos factores afecten gravemente su conservación y reproducción. La disminución de las poblaciones silvestres, enfatiza la necesidad de crear un ambiente cautivo adecuado, en el que los animales puedan desarrollar un comportamiento óptimo (Carlstead et al. 1992), objetivo que se puede lograr con la integración de los métodos de diagnóstico propuestos (detección hormonal, evaluación de la conducta y del ambiente). Un ambiente enriquecimiento para animales en cautiverio, facilita los esfuerzos para la reintroducción de las especies, al parecerse al entorno natural donde los individuos están destinados a ser liberados (Newberry 1995).

El análisis de las muestras fecales obtenidas en la Reserva de Calakmul, mostró los primeros valores de cortisol fecal en jaguares de vida libre. Por tratarse de una muestra pequeña, estos valores no pudieron ser comparados estadísticamente con las poblaciones de jaguares cautivos, sin embargo es notorio que sus valores no difieren grandemente del promedio obtenido en los animales en cautiverio. Es importante mencionar que en animales silvestres, existen varios factores que de manera natural, pueden influir en la mayor presentación de glucocorticoides en las heces, como el esfuerzo realizado durante la cacería, un enfrentamiento con un competidor, o la presencia de algún factor climático. Además, hay evidencia que en reptiles y en aves, normalmente se elevan los niveles de glucocorticoides en la época de apareamiento (Romero 2002). Por lo tanto, la recolección de una sola muestra, no es suficiente para evaluar el estado general del individuo, pero a partir de varias muestras obtenidas en diferentes zonas y épocas del año, se podrá tener un mejor panorama de las poblaciones silvestres, ya que a pesar de haberse desarrollado en animales cautivos, la información recabada por los métodos no invasivos de detección hormonal en heces, servirá para un mejor control de los programas de conservación, principalmente en aquellas poblaciones que se encuentran en hábitats fragmentados, con poca disponibilidad de sus recursos naturales y con gran influencia humana.

LITERATURA CITADA

- Aranda M. Hábitos alimentarios del jaguar (*Panthera onca*) en la reserva de la biósfera de Calakmul, Campeche. In: Medellín RA, Ceballos G, editores. Avances en el estudio de los mamíferos de México Asociación Mexicana de Mastozoología, A.C., publicaciones especiales, vol.1, 1993: 231-238
- Bacon RC N O A.H.(Naturalized operant animated habitat). The Shape of Enrichment 1992;1:6-7.
- Baker WK, Campbell R, Gilbert J *Enriching the pride: scents that make sense* The Shape of Enrichment 1997;6:1-3
- Bond JC, Lindburg DG Carcass feeding of captive cheetahs (*Acinonyx jubatus*): The effects of a naturalistic feeding program on oral health and psychological well-being. Applied Animal Behaviour Science 1990;26:373-382
- Breazile JE. Physiologic basis and consequences of distress in animals Journal of the American Veterinary Medical Association 1987;191:1212-1215
- Broom DM Indicators of poor welfare The British Veterinary Journal 1986; 142:524-526
- Broom DM, Johnson KG. Assesing welfare: long-term responses En: Stress and animal welfare. Chapman and Hall, 1993:111-144
- Brousset DM. Efecto del enriquecimiento ambiental sobre el bienestar de tres especies de felinos mexicanos en peligro de extinción (ocelote, margay y jaguarundi) mantenidos en cautiverio (tesis de doctorado). México (DF), México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 2002. En prensa



Brown JL, Wasser SK, Wildt DE, Graham LH. Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. *Biology of Reproduction* 1994;51:776-786.

Byrne G, Suoni SJ. Social separation in infants *Cebus apella*: patterns of behavioral and cortisol response. *International Journal Dev Neuroscience* 1999;17: 265-274.

Carlstead K, Brown JL, Monfort SL, Killens R, Wildt DE. Urinary monitoring of adrenal responses to psychological stressors in domestic and nondomestic felids. *Zoo Biology* 1992;11:165-176.

Carlstead K, Brown JL, Seidensticker J. Behavioral and adrenocortical responses to environmental changes in leopard cats (*Felis bengalensis*). *Zoo Biology* 1993;12:321-331.

Carlstead K, Brown JL, Strawn W. Behavioral and physiological correlates of stress in laboratory cats. *Applied Animal Behaviour Science* 1993;38:143-158.

Carlstead K. Effects of captivity on the behavior of wild mammals. En: Kleiman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editores. *Wild mammals in captivity, principles and techniques*. Chicago: The University of Chicago Press, 1996:317-333.

Carlstead K. Determining the causes of stereotypic behaviors in zoo carnivores, toward appropriate enrichment strategies. En: Sheperdson DJ, Mellen JD, Hutchins M, editores. *Second nature, environmental enrichment for captive animals*. Washington y Londres: Smithsonian Institution Press, 1998:172-183.

Castillo BA. Comparación de patrones de comportamiento en distintos sistemas sociales de jaguares (*Panthera onca*) en cautiverio (tesis de licenciatura). México, D.F. México: Facultad de Ciencias UNAM, 1993.

Cavigelli SA. Behavioural patterns associated with faecal cortisol levels in free-ranging female ring-tailed lemurs, *Lemur catta* Animal Behaviour 1999; 57: 935-944

Ceballos G, Chavez C, Rivera A, Manterola C. Population size and conservation of jaguars (*Panthera onca*) in the Calakmul Biosphere Reserve, Campeche, Mexico En: Medellin R, Chetkiewicz C, Rabinowitz A, Redford K, Robinson J, Sanders E, Taber A, editores Los jaguares en el nuevo milenio Un análisis de su estado, detección de prioridades y recomendaciones para la conservación del jaguar en América Instituto de Ecología, UNAM, Wildlife Conservation Society En prensa.

Cunningham JG. Fisiología veterinaria México, DF: Interamericana-McGraw Hill, 1994.

Chastain CB, Ganjam VK. Endocrinología clínica de los animales de compañía. Argentina: Inter-Vet, 1990.

Cheney CD. Predator -prey interactions. En: Markowitz H, Stevens VJ, editores. Behaviour of captive wild animals. Chicago: Nelson-Hall, EU, 1978:11-13

De Jong IC, Prella IT, van de Burgwal JA, Lamboojij E, Korte SM, Blokhuis HJ, *et al.* Effects of environmental enrichment on behavioral responses to novelty, learning, and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs Physiology and Behavior 2000;68:571-578

De Villiers MS, Van Jaarsveld AS, Meitzer DG, Richardson PR. Social dynamics and the cortisol response to immobilization stress of the african wild dog, *Lycaon pictus*. Hormones and Behavior 1997;31:3-14.

Deem SL, Karesh WB. The jaguar health program manual. Field veterinary program Wildlife Conservation Society 2000:9-10.

Eilam D, Dayan T, Ben-Eliyahu S, Schulman II, Shefer G, Hendrie CA. Differential behavioural and hormonal responses of voles and spiny mice to owl calls. *Animal Behaviour* 1999;58: 1085-1093.

Endrőczi E. Stress and adaptation. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1997

Fowler ME. Stress. In: Fowler ME editor. Zoo and wild animal medicine. 2nd ed. WB Saunders Company, 1986: 34-35

García J. Manual de endocrinología veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Fisiología y Farmacología, UNAM, México DF: Impresora Bravo, 1988

Goymann W, Möstl E, Van't Hof T, East ML, Hofer H. Noninvasive fecal monitoring of glucocorticoids in spotted hyenas, *Crocuta crocuta*. *General and Comparative Endocrinology* 1999;114:340-348

Golub MS, Gershwin ME. Stress-induced immunomodulation: What is it, if it is? En: Moberg GP editor. *Animal Stress*. American Physiological Society 1985: 177-192.

Graham LH, Brown JL. Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for non-invasive monitoring of adrenocortical function in endangered felids. *Zoo Biology* 1996;15:71-82.

Gregory TR, Wood CM. The effects of chronic plasma cortisol elevation on the feeding behaviour, growth, competitive ability, and swimming performance of juvenile rainbow trout. *Physiological and Biochemical Zoology* 1999;72:286-295.

Haemisch A. Coping with social conflict, and short-term changes of plasma cortisol titers in familiar and unfamiliar environments. *Physiology and Behavior* 1990;47:1265-1270.

Hare V, Herren R, Hawk K Quick and easy mammal enrichment at sun bear forest. The Shape of Enrichment 1996;5:3-6

Hare V, Jarand P Artificial prey that fights back (and other tales of tiger enrichment). The Shape of Enrichment 1998;7:1-4.

Houts L. Supplemental carcass feeding for zoo carnivores. The Shape of Enrichment 1999;8:1-3

Hsu WH, Crump MH Glándula adrenal. En: McDonald LE, editor. Endocrinología veterinaria y reproducción, 4ª edición, México DF: Interamericana-McGraw Hill, 1991: 195-221

Huntingford F. The study of animal behaviour Chapman and Hall, 1984

Ibarra GR, Ojeda CA. Estudio sobre los patrones básicos del comportamiento del jaguar (*Panthera onca*) en cautiverio (tesis de licenciatura). México, D.F México: Facultad de Ciencias UNAM, 1988.

Jennett D. Jennett rain ball. The Shape of Enrichment 1994;3:6-7

Jurke MH, Czekala NM, Lindburg DG, Millard SE. Fecal corticoid metabolite measurement in the cheetah (*Acinonyx jubatus*) Zoo Biology 1997;16:133-147.

Kalin NH, Shelton SE, Rickman M, Davidson RJ. Individual differences in freezing and cortisol in infant and mother rhesus monkeys. Behavioral Neuroscience 1998;112:251-254.

Knights E Vegetarian enrichment for carnivores! The Shape of Enrichment 1995;4:3-5.

Ladewig J, DePasillé AM, Rushen J, Schouten W, Terlouw EMC, von Borell E Stress and the physiological correlates of stereotypic behaviour En Lawrence AB, Rushen J, editores Stereotypic Behaviour , Wallingford, CAB International, 1993:97-118

Law G Cats: enrichment in every sense. The Shape of Enrichment 1993;2:3-4

Leopold AS. Fauna Silvestre de México México, D F: Editorial Pax- México, S A , 1982

Lewis C Cat nips The Shape of Enrichment 1992;1:1-2

López CA, Brown DE, Lorenzana G El jaguar en Sonora ¿desapareciendo o solamente desconocido? Naturalia 2000;9:19-23

Lyles AM, Dobson AP Infectious disease and intensive management: population dynamics, threatened hosts, and their parasites Journal of Zoo and Wildlife Medicine 1993; 24: 315-326

Lyons J, Young RJ, Deag JM. The effects of physical characteristics of the environment and feeding regime on the behavior of captive felids. Zoo Biology 1997;16:71-83.

Maple TL, Perkins LA. Enclosure furnishings and structural environmental enrichment En: Kleiman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editores Wild mammals in captivity, principles and techniques. Chicago: The University of Chicago Press, 1996: 212-222

Mason GJ. Stereotypies: a clinical review Animal Behaviour 1991;41:1015-1037.

Mason GJ Stereotypies and suffering Behavioural Processes 1991;25:103-115

Mc Farland, editor. The oxford companion to animal behaviour. Oxford: University Press, 1981

McCune S. Enrichment the environment of the laboratory cat. En: Smith CP, Taylor V, editores. Environmental enrichment information resources for laboratory animals: 1965-1995: birds, cats, dogs, farm animals, ferrets, rabbits and rodents.UK: Department of Agriculture, 1995:27-42

Mellen JD, Hayes MP, Shepherdson DJ. Captive environments for small felids. En: Shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M, editores. Second nature, environmental enrichment for captive animals. Washington y Londres: Smithsonian Institution Press, 1998.

Moberg GP. Problems in defining stress and distress in animals. Journal of the American Veterinary Medical Association 1987;191:1207-1211

Monfort SL, Mashburn KL, Brewer BA, Creel SR. Evaluating adrenal activity in african wild dogs (*Lycaon pictus*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine 1998;29:129-133.

Morton DJ, Anderson E, Foggin CM, Kock MD, Tiran EP. Plasma cortisol as an indicator of stress due to capture and translocation in wildlife species. Veterinary Record 1995;136:60-63.

Myers WA. Applying behavioral knowledge to the display of captive animals. En: Markowitz H, Stevens VJ, editores. Behaviour of captive wild animals. Chicago: Nelson-Hall, EU, 1978:136-139

Nelson RJ. An introduction to behavioral endocrinology. 2ª ed. Massachusetts, EU:Sinaver Associates Inc. Publishers, 2000.

Newberry RC. Environmental enrichment: increasing the biological relevance of captive environments. Applied Animal Behaviour Science 1995;44:229-243.



Nogueira GP, Silva JCR. Plasma cortisol levels in captive wild felines after chemical restraint. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1997;30:1359-1361.

Nowell K, Jackson P, editores. *Wild cats*. Suiza: International Union for Conservation of nature and Natural Resources IUCN/SSC Cat Specialist Group, 1996.

Palme R, Robia C, Messmann S, Möstl E. Measuring faecal cortisol metabolites: a non-invasive tool to evaluate adrenocortical activity in mammals. *Advance Ethology* 1998;33:27.

Poole TB. Meeting a mammal's psychological needs, basic principles. En: Sheperdson DJ, Mellen JD, Hutchins M, editores. *Second nature, environmental enrichment for captive animals*. Washington y Londres: Smithsonian Institution Press, 1998:83-94.

Poulsen E, Miller L. Got a tiger by the tug. *The Shape of Enrichment* 1996;5:1-2.

Reece WO. *Physiology of domestic animals*. EU: Lea & Febiger, 1991.

Rivier C, Rivest S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biology of Reproduction* 1991;45:523-532.

Rodarte CL. Efecto del enriquecimiento ambiental sobre el bienestar de lechones destetados a 14 días de edad (tesis de maestría) México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2001.

Romero ML. Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. *General and Comparative Endocrinology* 2002;1:128

Rushen J. The "coping" hypothesis of stereotypic behaviour. *Animal Behaviour* 1993;45:613-615.

Sánchez O, Pineda MA, Benítez H, González B y Berlanga H. Guía de identificación para las aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la CITES. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, D.F., 1998

Schwarzenberger F, Möstl E, Palme R, Bamberg E. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science* 1996;42:515-526

Seidensticker J, Doherty JG. Integrating animal behavior and exhibit design. En: Kleiman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editores. *Wild mammals in captivity, principles and techniques*. Chicago: The University of Chicago Press, 1996:180-190.

Selye H. A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature* 1936;138:32.

Seymour KL. *Panthera onca*. *Mammalian Species* 1989; 340: 1-9

Shepherdson DJ, Carlstead K, Mellen JD, Seidensticker J. The influence of food presentation on the behavior of small cats in confined environments. *Zoo Biology* 1993;12:203-216.

Stillwell HJ, Brown JL, Graham LH. Assessment of a commercially available radioimmunoassay for the detection of fecal cortisol metabolites in several non-domestic felid species. *AAZV Annual Proceedings*; 1996 noviembre 3-8; Puerto Vallarta (Jalisco) México: American Association of Zoo Veterinarians, 1996:582-583.

Terio KA, Citino SB, Brown JL. Fecal cortisol metabolite analysis for noninvasive monitoring of adrenocortical function in the cheetah (*Acinonyx jubatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1999;30:484-491.

Testa D. Paws to play: enrichment ideas for lynxes. *The Shape of Enrichment* 1997;6:1-2.

Wasser SK, Hunt KE, Brown JL, Cooper K, Crockett CM, Bechert U, *et al.* A generalized fecal glucocorticoid assay for use in a diverse array of nondomestic mammalian and avian species. *General and Comparative Endocrinology* 2000;120:260-275

Whitten PL, Stavisky R, Aureli F, Russell E. Response of fecal cortisol to stress in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*). *American Journal of Primatology*.1998;44:57-69.

Wildt DE, Meltzer D, Chakraborty PK, Bush M. Adrenal-testicular-pituitary relationships in the cheetah subjected to anesthesia/electroejaculation. *Biology of Reproduction* 1984;30:665-672

Wingfield JC, Hunt K, Breuner C, Dunlap K, Fowler GS, Freed L, *et al.* Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. En: Clemmons JR, Buchholz R, editores. *Behavioral approaches to conservation in the wild*. Cambridge University Press, 1997:95-131

Young RJ. The importance of food presentation for animal welfare and conservation. *Proceedings of the Nutrition Society* 1997;56:1095-1104

Ziegler G. An alternative to processed meat diets: carcass feeding at Wildlife Safari. *The Shape of Enrichment* 1995;4:1-5

APÉNDICES

APÉNDICE 1

Catálogo de conductas presentadas por jaguares en cautiverio

Estados de conducta individual

Acostado - El jaguar se encuentra en descansando sobre una superficie horizontal, con todo un costado del cuerpo en contacto con la superficie, las extremidades extendidas y orientadas en una misma dirección separadas de cuerpo

Parado - El jaguar permanece inmóvil, sobre sus extremidades y atento a su entorno

Estereotipia - Movimientos y/o conductas repetitivas, sin finalidad aparente

Conductas redirigidas - Conducta anormal dirigida a objetos

Exploración - Acciones que realiza el jaguar al moverse dentro de su albergue, encaminadas a explorar su entorno

Acicalamiento - Acciones que el jaguar realiza con la lengua y los miembros torácicos para obtener una limpieza corporal

Alimentación - Acción de ingerir comida

Manipulación de objetos.- Actividades presentes al momento de explorar o utilizar los objetos proporcionados como parte del programa de enriquecimiento ambiental

Eventos de conducta individual

Conductas eliminativas - Acción de orinar y/o defecar

Beber - Acción de ingerir líquido

Afilado de garras.- El jaguar afila sus garras en alguna superficie sólida

Vocalización - Sonidos vocales producidos por el jaguar

Eventos de conducta social

Agresión - Acciones violentas de un animal sobre otro, con contacto físico

Amenaza - Gestos y acciones violentas de un individuo a otro, para evitar el contacto físico o el acercamiento.

Frotamiento.- El jaguar frota su cabeza y lados de la cara sobre el cuerpo con un coespecífico

Sexual.- Monta, cópula y acciones para solicitarlas.

APÉNDICE 4

Programa de enriquecimiento ambiental para jaguares amarillos

Colgado
 En el suelo

FECHA	TIPO DE ENRIQUECIMIENTO	HORA
30/JUN/00	---	---
	Paja	16:00 hrs
1/JUL/00	Caja de cartón con trozos de carne adentro	9:00 hrs
	Costal de yute relleno de pasto	16:00 hrs
2/JUL/00	Bambú relleno de carne	9:00 hrs
	Hojas secas	16:00 hrs
3/JUL/00	Coco rellenos de atún	9:00 hrs
	Periódicos rociados con esencia de valeriana	16:00 hrs
4/JUL/00	Hígado de res en bloque de hielo	9:00 hrs
	Ramas	20:00 hrs
5/JUL/00	Trozos de carne	9:00 hrs
	Garrafón para agua con un limón adentro	20:00 hrs
6/JUL/00	Caja de cartón con trozos de carne y paja adentro	9:00 hrs
	Carnaza	20:00 hrs
7/JUL/00	Rata muerta	9:00 hrs
	Revistas rociados con esencia de valeriana	20:00 hrs
8/JUL/00	Piñatas	9:00 hrs
	Paja	20:00 hrs
9/JUL/00	Bolsa de papel con trozos de pollo adentro	9:00 hrs
	Hojas secas	20:00 hrs
10/JUL/00	Carnaza untada con alimento en lata para gato	9:00 hrs
	Directorio telefónico rociado con esencia de canela	20:00 hrs
11/JUL/00	Costal de yute con trozos de carne y paja adentro	9:00 hrs
	Garrafón para agua con un limón adentro	20:00 hrs
12/JUL/00	Pollo entero	9:00 hrs
	Ramas	20:00 hrs
13/JUL/00	Cuyo en bloque de hielo	9:00 hrs
	Troncos	20:00 hrs
14/JUL/00	Bolsa de papel con trozos de carne adentro	9:00 hrs
	---	---

**TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN**

APÉNDICE 5

Programa de enriquecimiento ambiental para jaguares negros

Colgado
 En el suelo

FECHA	TIPO DE ENRIQUECIMIENTO	HORA
3/AGO/00	Caja de cartón con trozos de carne adentro	---
	Directorio telefónico rociado con esencia de canela	16:00 hrs
4/AGO/00	Trozos de carne	9:00 hrs
	Garrafón para agua con un limón adentro	16:00 hrs
5/AGO/00	Costal de yute con trozos de carne y paja adentro	9:00 hrs
	Hojas secas	16:00 hrs
6/AGO/00	Rata muerta	9:00 hrs
	Carnaza	16:00 hrs
7/AGO/00	Bolsa de papel con trozos de carne adentro	9:00 hrs
	Paja	20:00 hrs
8/AGO/00	Cuyo en bloque de hielo	9:00 hrs
	Ramas	20:00 hrs
9/AGO/00	Pollo entero	9:00 hrs
	Costal de yute relleno de pasto	20:00 hrs

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

TABLAS

Tabla 1 Población A Jaguares cautivos mantenidos en un ambiente complejo.

Nombre	Sexo	Color	Edad aproximada al momento del estudio	Origen
Narda	Hembra	Amarillo	20 años	Capturado de vida libre como juvenil
Lotario	Macho	Amarillo	12 años	Capturado de vida libre como juvenil
Sambo	Macho	Negro	14 años	Donación como juvenil

Tabla 2 Población B Jaguares cautivos mantenidos en un ambiente simple

Nombre	Sexo	Color	Edad aproximada al momento del estudio	Origen
Leopoldina	Hembra	Negro	18 años	Nacimiento en cautiverio
Michelle	Hembra	Amarillo	12 años	Nacimiento en cautiverio
Babas	Macho	Negro	10 años	Donación como juvenil
Pablo	Macho	Amarillo	13 años	Nacimiento en cautiverio
Pedro	Macho	Amarillo	13 años	Nacimiento en cautiverio
Tereso	Macho	Negro	20 años	Nacimiento en cautiverio

Tabla 3 Jaguares de vida libre

Identificación	Sexo	Edad aproximada al momento del estudio
Pancho	Macho	Adulto
JH423	Hembra	Adulto

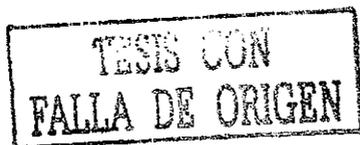

 TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4 Población B. Datos individuales de los jaguares cautivos

Nombre	Sexo	Color	Edad aproximada al momento del estudio	Origen
Africam	Hembra	Amarillo	11 años	Nacimiento en cautiverio
Mayambé	Hembra	Amarillo	18 años	Nacimiento en cautiverio
Mérida	Hembra	Amarillo	20 años	Nacimiento en cautiverio
Babas	Macho	Negro	10 años	Donación como juvenil
Chac	Macho	Amarillo	20 años	Nacimiento en cautiverio
Ikbal	Macho	Amarillo	2 años	Donación como cría
Pablo	Macho	Amarillo	13 años	Nacimiento en cautiverio
Pedro	Macho	Amarillo	13 años	Nacimiento en cautiverio
Tereso	Macho	Negro	20 años	Nacimiento en cautiverio
Yumka	Macho	Amarillo	20 años	Nacimiento en cautiverio

Tabla 5 Población B. Calendario de salidas de los jaguares a exhibidor

AREA	LUNES	MARTES	MIERCOLES	JUEVES	VIERNES	SABADO	DOMINGO
jaguares amarillos	Chac y Mérida	Africam	Chac y Mérida	Yumka y Mayambé	Yumka y Mayambé	Pedro y Pablo	Pedro y Pablo
jaguares negros	Ikbal	Tereso	Babas	Tereso	Babas	Tereso	Babas

Tabla 6. Valores promedio de corticosterona fecal (ng/g de heces secas) de dos poblaciones de jaguares cautivos

Población	Promedio de la población	Individuo	Promedio individual
Población A	0.294±0.03	Narda	0.303±0.11
		Lotario	0.260±0.13
		Sambo	0.318±0.09
		Leopoldina	0.360±0.24
		Michelle	0.466±0.29
Población B	0.497±0.24	Babas	0.943±0.89
		Pablo	0.269±0.08
		Pedro	0.400±0.321
		Tereso	0.547±0.58



Tabla 7 Valores promedio de cortisol fecal (ng/gramo de heces secas) de una población de jaguares cautivos, según etapas experimentales

Individuo	Etapas 1	Etapas 2	Etapas 3
Babas	11.86±1.46	35.21±1.41	12.09±1.39
Pedro	11.71±1.26	19.89±1.60	20.3±1.18
Ikbai	33.60±2.16	13.07±1.77	11.47±1.43
Mayambé	22.12±1.46	19.66±1.22	56.75±4.91
Chac	16.11±1.5	16.95±1.25	35.48±4.11
Tereso	17.07±1.12	13.20±1.35	11.68±1.35
Pablo	11.95±1.47	13.24±1.46	29.92±2.9
Yumka	15.83±1.73	10.04±1.21	18.9±1.8
Africam	10.82±1.21	14.0±1.36	16.13±1.39
Mérida	18.37±1.67	24.44±1.72	19.72±1.67
Población	15.59±1.63	16.52±1.60	18.85±2.09

Etapas 1 - anterior al enriquecimiento del comportamiento, Etapas 2 - durante el enriquecimiento del comportamiento, Etapas 3 - posterior al enriquecimiento del comportamiento

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIGURAS

Figura 1

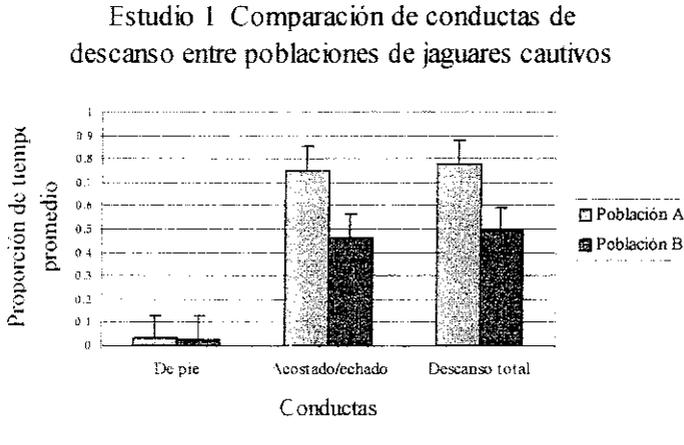
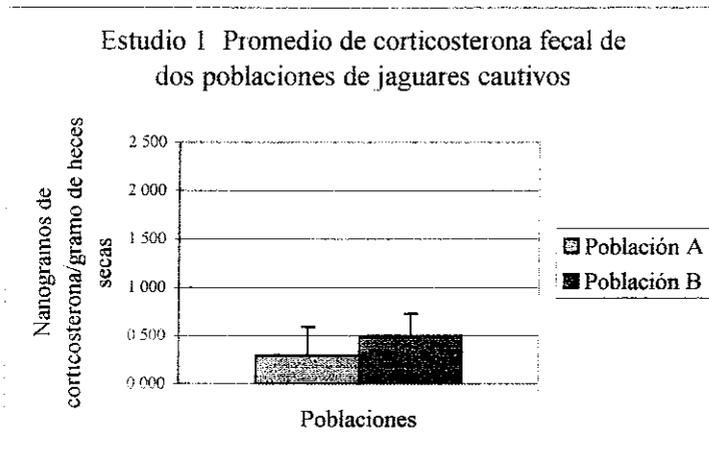


Figura 2



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 3

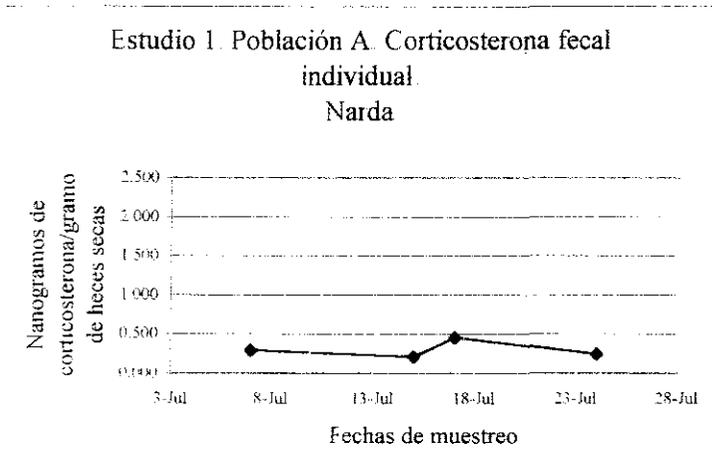
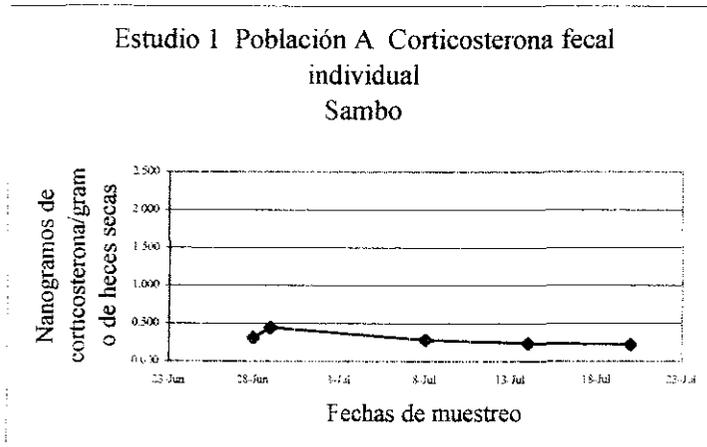


Figura 4



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 5

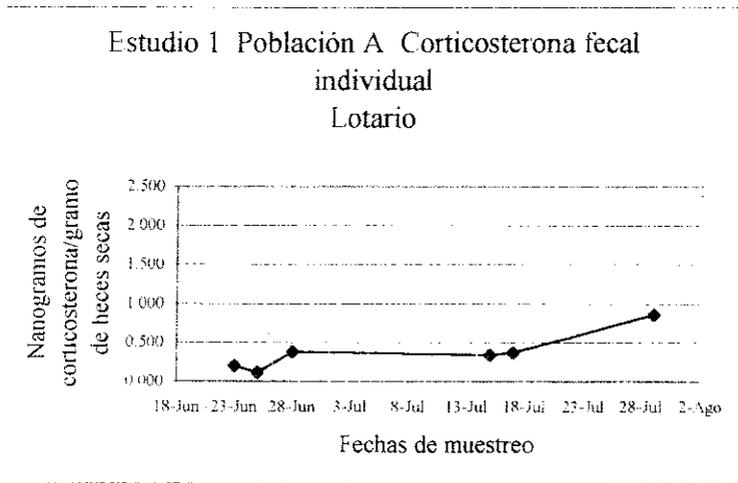
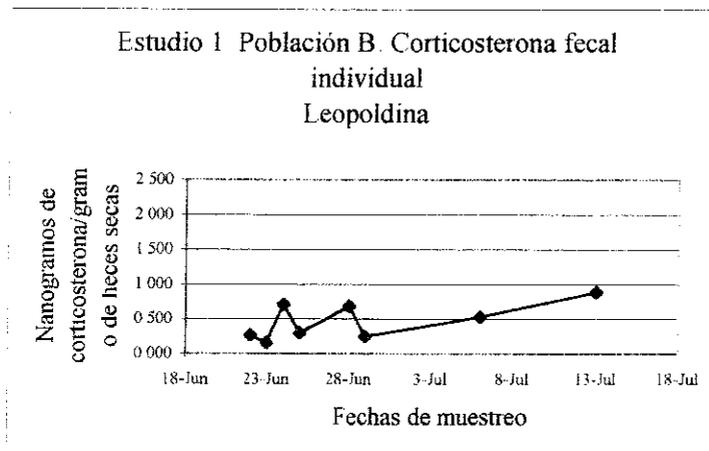


Figura 6



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 7

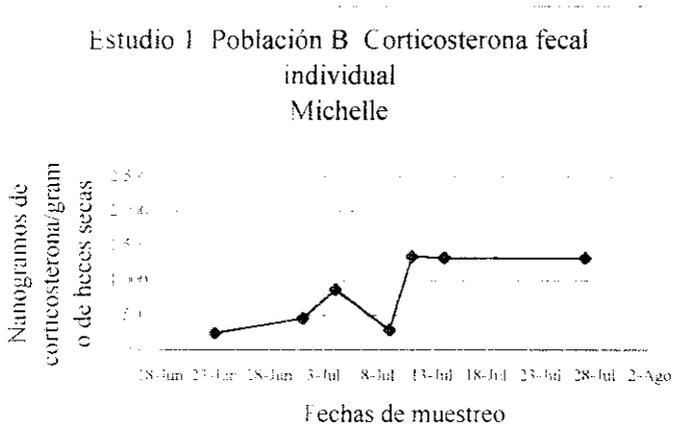
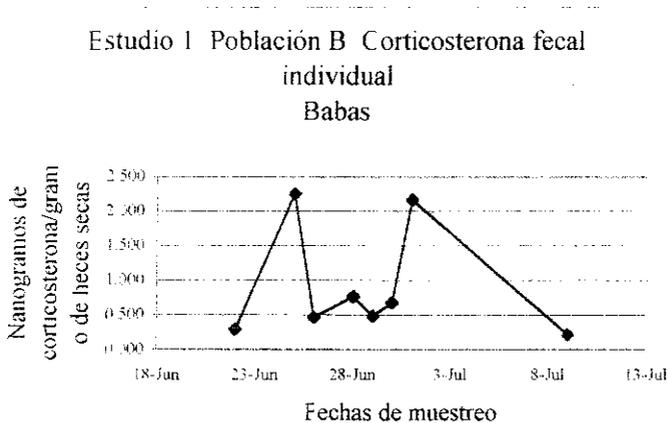


Figura 8



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 9

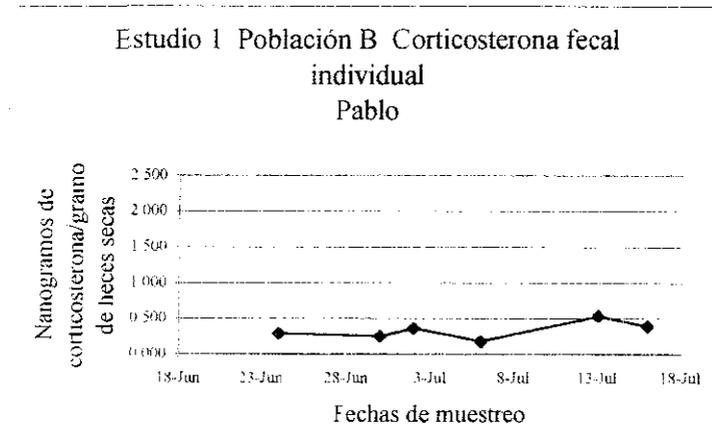
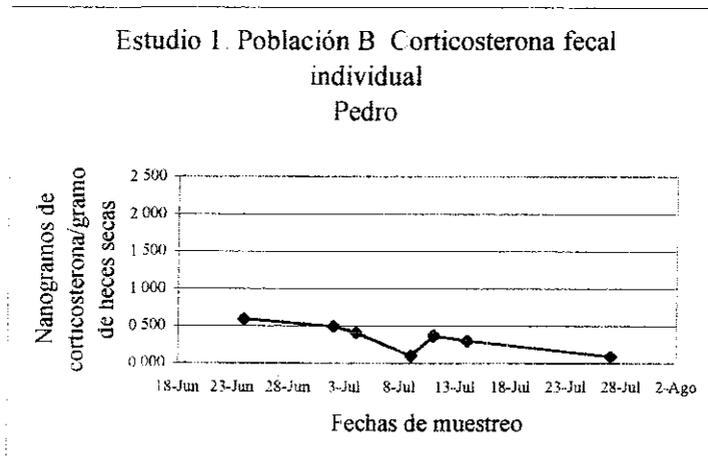


Figura 10



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 11

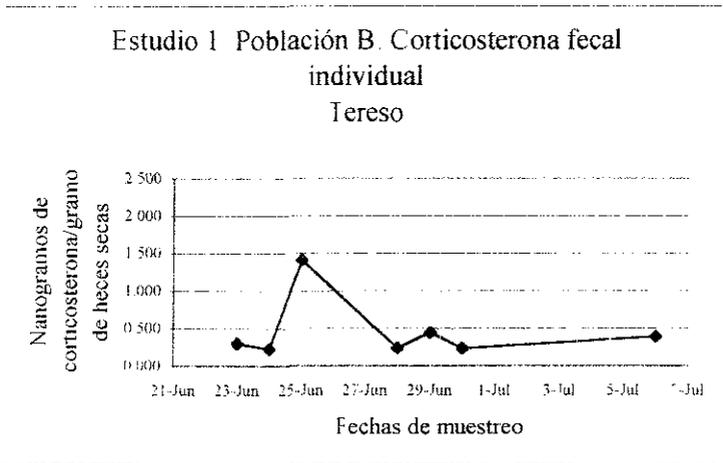
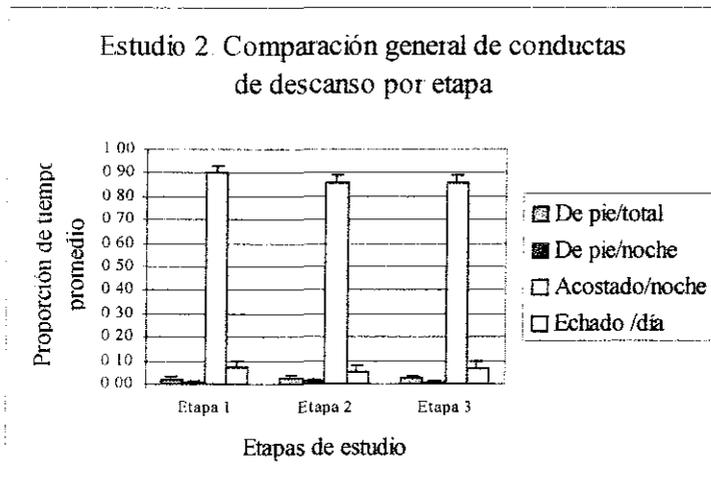


Figura 12



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 13

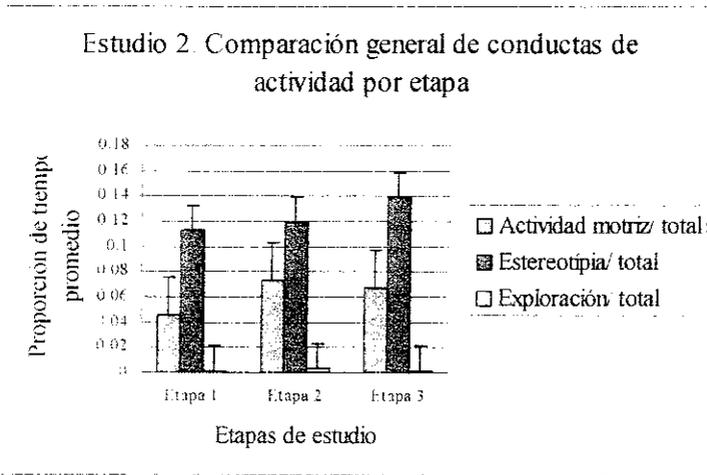
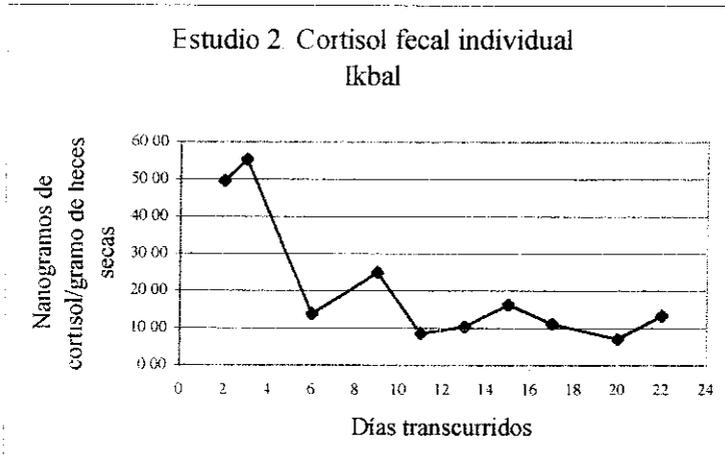


Figura 14



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 15

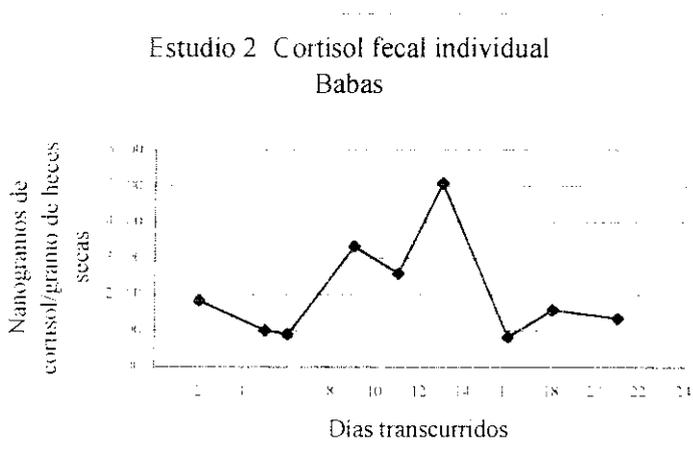
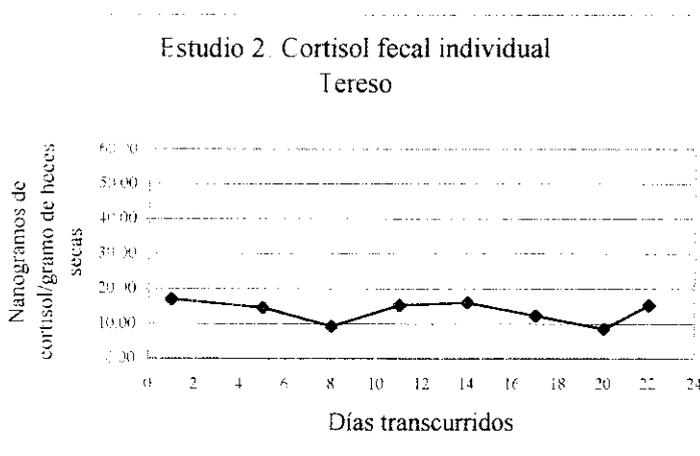


Figura 16



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 17

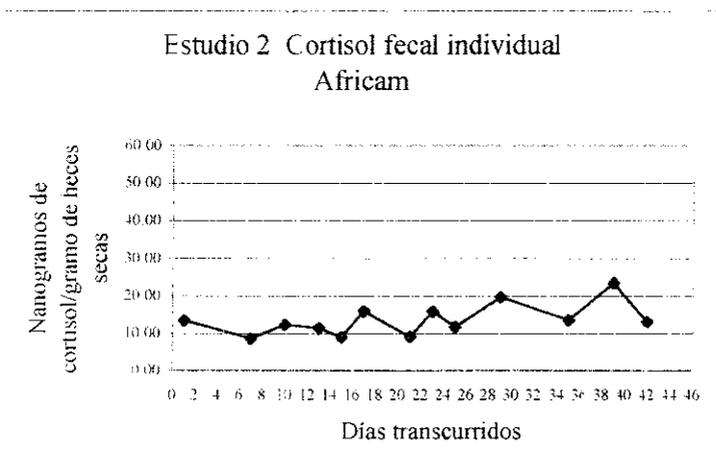
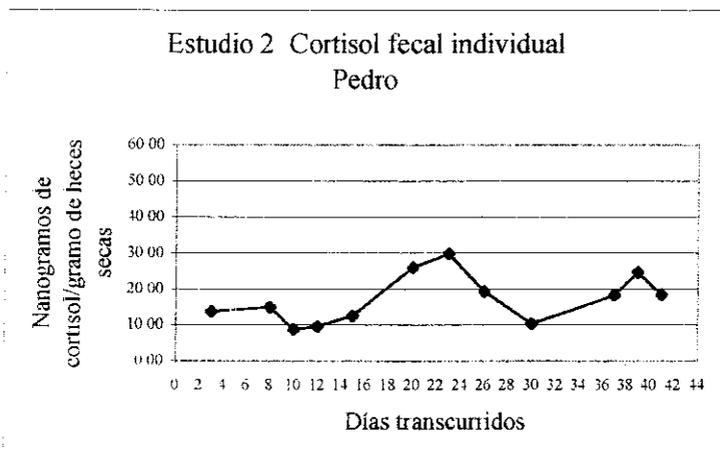


Figura 18



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Figura 19

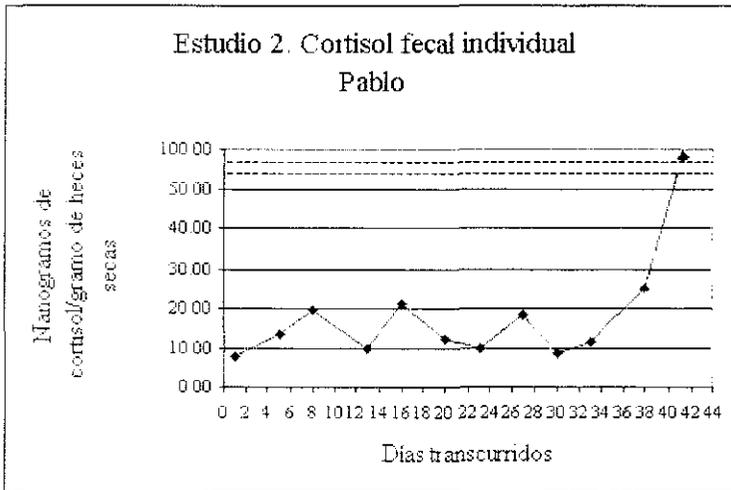
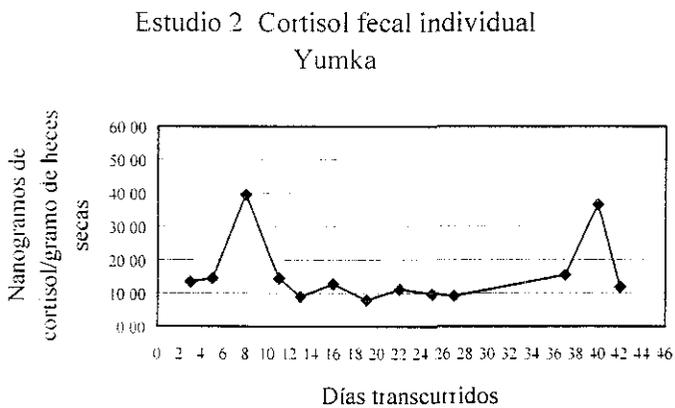


Figura 20



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 21

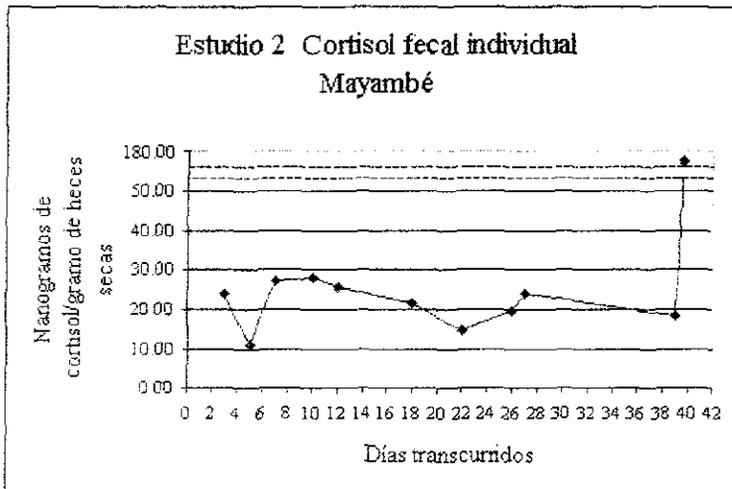
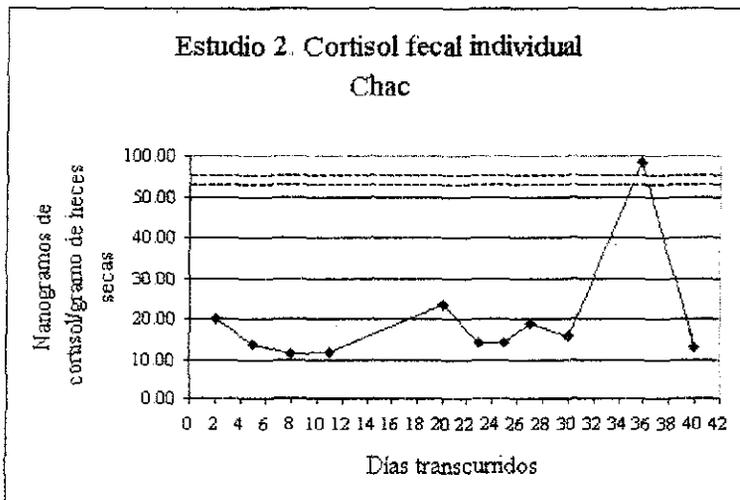


Figura 22



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Figura 23

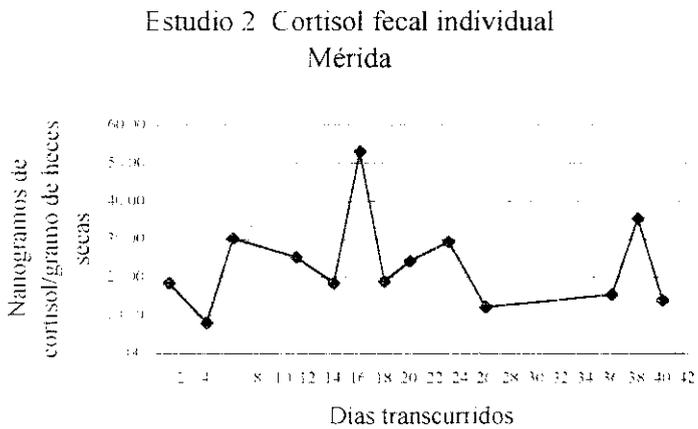
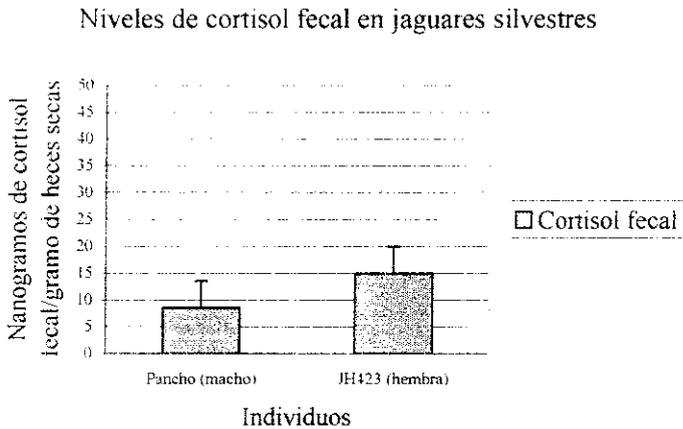


Figura 24



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN