

01674

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE
LA SALUD ANIMAL



MEDICIÓN DEL COMPORTAMIENTO Y CORTISOL
FECAL EN OSO NEGRO (*Ursus americanus*) BAJO
DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A :

MIRIAM GUTIÉRREZ DOMÍNGUEZ

TUTOR: DR. FRANCISCO GALINDO MALDONADO
COMITÉ TUTORIAL: DR. CARLOS GONZÁLEZ - REBELES ISLAS
DRA. MARTA ROMANO PARDO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a:

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a la Universidad Nacional Autónoma de México y al Centro de Investigaciones de Estudios Avanzados (Unidad Norte), por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios,

El zoológico de Chapultepec, al zoológico de San Juan de Aragón y al zoológico Africam Safari por permitirme trabajar con sus animales.

Al Centro de Investigaciones de Estudios Avanzados (Unidad Norte) por el apoyo brindado para la realización de esta tesis.

A la Dra. Marta Romano Pardo, al biólogo Ricardo Valdés y al personal del departamento de Fisiología del CINVESTAV por su apoyo en la realización de la fase experimental.

Al Dr. Francisco Galindo Maldonado, por la dirección de esta tesis y por sus enseñanzas.

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

NOMBRE: Miriam Gutiérrez

Dominguez

FECHA: 16 junio 2004

FIRMA: Miriam Gutiérrez

Quisiera dedicarle especialmente esta tesis a tres personas muy importantes en mi vida. A mi esposo por el amor y el apoyo incondicional que siempre me ha brindado y a mis padres antes que nada por haberme dado la vida por brindarme su amor y sobretodo por guiarme por el camino de la felicidad.

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | i |
| ÍNDICE DE CUADROS..... | ii |
| RESUMEN..... | iii |
| ABSTRACT..... | v |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| | |
| 1. MARCO TEÓRICO..... | 4 |
| 1.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL OSO NEGRO (<i>Ursus americanus</i>) EN MÉXICO Y SUS PERSPECTIVAS EN CAUTIVERIO PARA UNA ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN..... | 4 |
| 1.2. OSO NEGRO EN MÉXICO..... | 7 |
| 1.3. COMPORTAMIENTO, BIENESTAR ANIMAL Y ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL..... | 9 |
| 1.4. ESTRÉS Y CORTISOL..... | 14 |
| 1.5. MEDICIÓN DE HORMONAS COMO INDICADORES DEL ESTRÉS FISIOLÓGICO..... | 19 |
| 1.6. TÉCNICAS EMPLEADAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS ESTEROIDALES..... | 20 |
| 2. JUSTIFICACIÓN..... | 23 |
| 3. OBJETIVO GENERAL..... | 26 |
| 4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 27 |
| 5. HIPÓTESIS..... | 28 |
| 6. MATERIALES Y METODOS..... | 29 |
| 6.1. SUJETOS DE ESTUDIO..... | 29 |
| 6.2. EVALUACIÓN DE CONDUCTA..... | 30 |
| 6.2.1. Historiales Clínicos de cada individuo..... | 30 |
| 6.2.2. Elaboración del catálogo de comportamiento..... | 31 |
| 6.2.3. Elaboración hoja de registro, | 31 |

| | |
|--|----|
| 6.2.4. Observaciones | 31 |
| 6.2.5. Implementación de un programa de enriquecimiento..... | 32 |
| 6.3. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS..... | 34 |
| 6.4. EVALUACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL FECAL..... | 35 |
| 6.5 ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA EN EL LABORATORIO PARA LA MEDICIÓN DE CORTISOL FECAL..... | 36 |
| 6.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 36 |
| 7. RESULTADOS..... | 38 |
| 8. DISCUSIÓN..... | 46 |
| 9. REFERENCIAS..... | 58 |
| 10. APÉNDICES..... | 64 |
| 10.1. APÉNDICE I..... | 64 |
| 10.2. APÉNDICE II..... | 65 |
| 10.3. APÉNDICE III..... | 68 |
| 10.4. APÉNDICE IV..... | 71 |

INDICE DE FIGURAS

Fig.

| | |
|--|----|
| 1. Distribución histórica y actual del oso negro (<i>Ursus americanus</i>) en México | 6 |
| 2. Comparación de la proporción del tiempo promedio dedicado a las diferentes categorías de conducta individual..... | 37 |
| 3. Comparación de la proporción del tiempo promedio dedicado a las diferentes categorías de conducta social..... | 41 |

INDICE DE CUADROS

Cuadro

| | |
|--|----|
| 1. Características de los 9 ejemplares de oso negro (<i>Ursus americanus</i>) en los tres albergues..... | 29 |
| 2. Pautas de comportamiento que se midieron durante el estudio..... | 33 |
| 3. Comparación del promedio del tiempo destinado a los diferentes estados de comportamiento en las tres etapas de estudio..... | 39 |
| 4. Niveles promedio de cortisol encontrados en cada individuo..... | 45 |

RESUMEN

El oso negro (*Ursus americanus*) ha figurado en la mitología de muchos pueblos alrededor del mundo y ha sido, desde tiempos inmemoriales, venerado y respetado, debido a la creencia de que posee un espíritu poderoso y mágico.

Desde el periodo colonial en América, el oso negro fue objeto de una intensa cacería, lo que, aunado a la destrucción y degradación del hábitat, y al tráfico ilegal de sus partes corporales, lo ha colocado como una especie en peligro de extinción.

Debido a esto, los zoológicos se han convertido en centros de importancia para la reproducción de especies amenazadas. Éstos deben ser utilizados para programas de investigación que contribuyan al bienestar y conservación de la fauna silvestre, para lo cual es necesaria la implementación de un programa de enriquecimiento ambiental el cual ayude a mejorar la calidad de vida de estos ejemplares en cautiverio. El oso negro tiene que aprender a adaptarse a cambios bruscos en el medio en el que vive, lo cual compromete su salud y bienestar.

La medición del estrés fisiológico es de gran importancia con aplicaciones para la conservación, el manejo de fauna silvestre y el alojamiento animal. Adicionalmente, la medición de metabolitos de cortisol en heces, como indicador de la actividad de la corteza adrenal en relación con el estrés a través de una técnica no invasiva, es una práctica actual que provee información objetiva sobre la respuesta a los estímulos del ambiente relacionadas con el cautiverio.

Debido a lo anterior, el presente estudio se realizó a fin de generar información sobre el efecto del ambiente en el comportamiento animal y los niveles de cortisol fecal, mediante la investigación de la relación que existe entre un programa de enriquecimiento ambiental propuesto y el mejoramiento del comportamiento animal. Para ello se midió el comportamiento y los niveles de cortisol fecal de osos negros en tres zoológicos divididos en encierros simples y complejos antes, durante y después de la implementación de un programa de enriquecimiento ambiental. Simples cuando el espacio era reducido, los pisos eran

de concreto, paredes de malla ciclónica o cemento, un bebedero y una rama o tronco en su interior, o bien cuando una parte de éste era de concreto y la otra de pasto, presentaba ambientación artificial y no tenía contacto con otras especies; complejos cuando el espacio era mayor a 3 ha, tenían ambientación con vegetación natural, diversidad de espacios verticales y horizontales y compartían albergue con otras especies.

Se observó que los osos dedicaron mayor tiempo a alimentarse ($p < 0.01$) y presentaron más locomoción y menos estereotipias durante el periodo de enriquecimiento ambiental ($p < 0.05$). En éste periodo se presentaron más conductas sexuales y disminuyeron las agonísticas. Los niveles de cortisol fueron mayores para los machos en el periodo de enriquecimiento, mientras que para las hembras disminuyeron ($p < 0.05$). Así mismo, se observó que los osos de encierros complejos pasan mayor tiempo en actividad y permanecen fuera de vista del público con mayor frecuencia ($p < 0.05$).

Estos resultados indican que la implementación de un programa de enriquecimiento ambiental, puede favorecer la presencia de conductas deseadas en especies en cautiverio, así como disminuir los niveles de estrés y agresión entre individuos.

La información obtenida en el presente estudio sirve como punto de partida para profundizar en el conocimiento de la repercusión que tienen las condiciones ambientales de los encierros, en el comportamiento y en la actividad adrenal del oso negro en cautiverio.

Palabras clave: Oso negro, bienestar animal, cortisol fecal, comportamiento, zoológico, enriquecimiento ambiental.

ABSTRACT

Black bear (*Ursus americanus*) has been considered in the mythology of many countries around the world since immemorial times and has been honored because of the belief that it possesses a magic and powerful spirit.

Nevertheless, since colonial times in the Americas, Black Bear has also been object of extensive hunting, which together with the destruction and degradation of its habitat and the illegal traffic of its body parts, have conducted it to be an endangered specie.

Some zoos in Mexico have been considered as important centers of conservation of endangered species and they must be destined to develop programs that might contribute to welfare and conservation of wild life and include environmental enrichment programs to improve quality life of captive animals. Captive Black bears need to be adapted to drastic changes of the environment where they live and these changes affect their welfare and health.

Measurement of physiological stress is crucial as this information can be used to improve conservation, management of wild life and animal lodging. In addition, measurement of faecal cortisol metabolites, as an indicator of adrenal cortex activity and stress, constitutes a non-invasive technique that can provide objective information about the response of captive animals to environmental stimulus related to captivity.

The present study was developed in order to obtain information about the environment effect on animal behavior and on faecal cortisol levels, and to investigate the relationship existing between a proposed environmental enrichment program and the improvement of animal behavior. Animal behavior and faecal cortisol metabolites were measured in Black bears belonging to 3 different zoos, classified as simple and complex enclosures, before, during and after the implementation of an environmental enrichment program.

During the enrichment environmental program, it was observed that bears destined more time for feeding ($p < 0.01$), their locomotive activity was increased

and stereotypes decreased ($p < 0.05$). In this period, more sexual conducts appeared and agonistic conducts diminished. Cortisol levels were increased in male animals during the enrichment program, while they were lowered in female bears ($p < 0.05$). It was also observed that bears in complex enclosures spent more time in activity and out of public view more frequently ($p < 0.05$).

These results indicate that the implementation of an adequate enrichment environmental program can benefit the presence of desirable conducts in captive species and diminished stress levels and aggressiveness among individuals.

The information obtained in the present study can be used as a basis to continue the searching of knowledge of the impact that environmental conditions of lodgings may have on the behavior and the adrenal activity of captive Black bears.

Key words: Black bear, animal welfare, behavior, zoo, faecal cortisol, enrichment environmental

INTRODUCCION

México es el tercer país con mayor diversidad biológica, albergando entre el 10 y 12% de todas las especies de plantas y animales del planeta, lo que implica un gran compromiso: la conservación de éstas (CEMEX 1996). El incremento en el conocimiento e interés público del bienestar y la conservación de las especies, han ocasionado que los zoológicos redefinan sus funciones, logrando así que el principal objetivo de éstos sea la conservación de especies en peligro de extinción (Hosey 1997).

Desde hace ya varias décadas, se comenzó a poner mayor atención en las necesidades físicas, fisiológicas y psicológicas de los animales en cautiverio, gracias a los cual surge el concepto de bienestar animal, entendido como el estado de un individuo en relación con sus mecanismos para enfrentar cambios del ambiente (Broom 1986).

Uno de los retos de los individuos en cautiverio, es adaptarse al ambiente físico, que incluye las instalaciones, los equipos y la infraestructura. Es aquí donde el concepto enriquecimiento ambiental juega un mayor papel; entendido como una metodología de manipulación del ambiente, que toma en cuenta las necesidades físicas, sociales y del desarrollo de los animales. El diseño de espacios e instalaciones tomando en consideración tanto las necesidades animales como las de los seres humanos.

De esta manera el enriquecimiento ambiental nos plantea como puede ser modificado el medio ambiente en el que viven los animales en confinamiento (cautiverio) para su propio beneficio, logrando un incremento en las oportunidades de realizar conductas relacionadas con dicho enriquecimiento (descritos como enriquecimiento del comportamiento (Shepherson 1993). Por lo tanto, el objetivo

del enriquecimiento es proveer un alojamiento en el cual se minimicen los comportamientos anormales, y se reduzcan los niveles de estrés crónico (especialmente a estímulos nuevos), logrando finalmente que los patrones de comportamiento sean lo más cercano posible a los de sus congéneres en vida silvestre (Nicol 1992; Wemelsfelder 1991, Gilloux *et al* 1992, Duncan 1970, Calderón 2002).

Un incremento del nivel de bienestar por medio de enriquecimiento ambiental se puede evaluar por un aumento en las conductas típicas de la especie y un consecuente descenso de las anormales como estereotípa, conducta redirigida, inactividad o excitabilidad. Otra manera de medir el bienestar animal es a través de indicadores fisiológicos de estrés, principalmente a través de cambios en la actividad adrenal (Carlstead *et. al.* 1993). Así mismo, las técnicas de medición de hormonas glucocorticoides proveen información única y valiosa que puede ser de vital importancia para el monitoreo de poblaciones silvestres sobre todo de animales en peligro de extinción o amenazados (Wingfield *et al* 1998). Una alternativa es el uso de métodos de monitoreo no invasivo, midiendo los metabolitos de cortisol que son excretados en la saliva, orina y heces. En el caso de muchas especies silvestres, la viabilidad de la obtención de orina es limitada debido a la forma y lugar en la que los animales orinan, por lo que otro método alternativo es la medición de cortisol fecal debido a que los metabolitos de cortisol son excretados casi en su totalidad junto con la bilis por las heces (Graham y Brown 1996). Aquellos métodos no invasivos como es el caso de la medición de glucocorticoides en heces, son más apropiados, debido a que los animales no tienen que ser capturados, además de que gran cantidad de muestras pueden ser obtenidas de los individuos (Goyman *et al* 1999). El interés en el monitoreo de los esteroides fecales ha incrementado considerablemente. Estas técnicas no invasivas tienen varias aplicaciones permitiendo así, estudios experimentales en animales en cautiverio o en vida libre.

El conocimiento de los efectos que puede ejercer un programa de enriquecimiento ambiental sobre el comportamiento de los animales es una consideración importante que se debe tomar en cuenta al mantener animales en cautiverio en un zoológico. Es necesario generar información acerca de la forma en que un programa de enriquecimiento puede influir en el comportamiento y la actividad adrenal del oso negro en cautiverio. Esta información será de gran utilidad para mejorar las condiciones de manejo de los osos cautivos así como para crear antecedentes para el mantenimiento de cualquier especie que comparta una situación o característica similar (Pifarre 2004).

Si logramos un manejo adecuado de los factores que contribuyen al bienestar de especies de gran importancia y valor como son las prioritarias, entre las cuales se encuentra el oso negro (*Ursus americanus*), éstas podrían reproducirse satisfactoriamente, logrando su conservación y evitando así su extinción.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL OSO NEGRO (*URSUS AMERICANUS*) EN MÉXICO Y SUS PERSPECTIVAS EN CAUTIVERIO PARA UNA ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN.

Hoy en día un gran número de especies se encuentran amenazadas o en peligro de extinción, esto debido a los impactos relacionados con la explosión demográfica del hombre y al desconsiderado uso de que se hace de los recursos. Con ello estamos causando la acelerada desaparición de muchas especies. La destrucción acelerada y la fragmentación de ambientes, explotación incontrolada, uso de plaguicidas, tráfico de especies silvestres, tala clandestina y muchos otros factores inciden en la pérdida de la diversidad biológica que, junto con el calentamiento de la atmósfera, la destrucción de la capa de ozono, la contaminación y la lluvia ácida, son serios problemas ambientales en todo el mundo. Día a día, miles de hectáreas de selvas y bosques sufren el abuso indiscriminado del hombre. Algunas imágenes de satélite muestran la creciente fragmentación de bosques que antes eran continuos. Estudios realizados, demuestran que anualmente en México se desmontan alrededor de 500,000 hectáreas. Con su destrucción desaparecen algunos de los sistemas biológicos más productivos, y se pierden los sitios de reproducción de numerosas especies de importancia (CEMEX 1996).

A ciencia cierta no se sabe con exactitud cuantas especies de plantas y animales se encuentran en vías de extinción, pero se calcula que en el mundo cada año se extinguen probablemente unas 50,000 (CEMEX 1996). Por ello, es importante la elaboración de estrategias de conservación, con el fin de preservar a las especies, principalmente a aquellas que se han reducido en número, se encuentran amenazadas o en peligro de extinción y a las endémicas. Una alternativa de conservación de las especies se encuentra en los zoológicos, que no sólo deben ser un lugar de recreación familiar, también deben considerarse como

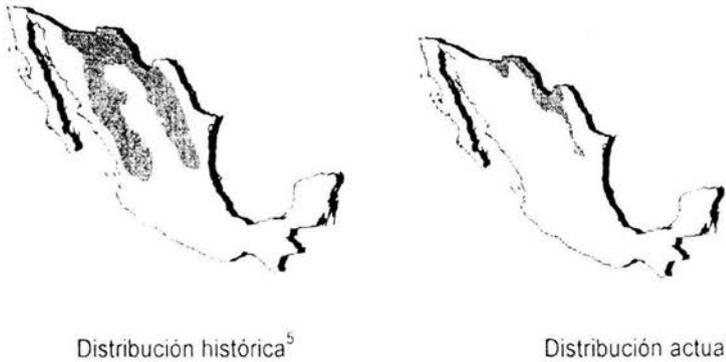
verdaderos centros científicos de investigación en la biología de los animales silvestres, desarrollando programas de reproducción de fauna silvestre poniendo especial atención en aquellas especies amenazadas o en peligro de extinción.

Dentro de las especies prioritarias más importantes, es decir, aquellas que han sido seleccionadas por estar incluidas en alguna categoría de riesgo reconocida internacionalmente, está el oso negro (*Ursus americanus*), mamífero terrestre de mayor talla en nuestro país, que se encuentra en el Apéndice II de la Convención Internacional para el Comercio de Especies Amenazadas, CITES (SEMARNAP 1999).

El conocimiento actual de los osos en México es muy escaso, y es muy difícil extrapolar los datos existentes en Estados Unidos de Norteamérica y Canadá, ya que las condiciones de las poblaciones y el hábitat son muy diferentes, y esto crea la necesidad urgente de realizar diversos trabajos para poder conocer más acerca de ellos (SEMARNAP 1999). El oso negro no solamente debe protegerse como parte de la fauna natural, también debe ponerse bajo una buena administración y manejo turístico. En los zoológicos los ejemplares deben ser utilizados para programas de reproducción y de investigación que contribuyan al bienestar de la especie. Beilharz 1992, mencionó que la mejor valoración para la medición de la adaptación a un ambiente es la reproducción. El oso negro, vive en bosques tanto de coníferas como de caducifolios, en una extensa área que tiene el norte de México como su límite meridional, para extenderse por el norte hasta Alaska. A lo largo de la historia, debido al uso indiscriminado de bosques, la distribución de éstos animales se ha visto afectada considerablemente. A continuación se muestra como se encontraba el oso negro distribuido en México en un inicio y como se encuentra a la fecha. (Figura 1)

Figura 1. Distribución histórica y actual del oso negro (*Ursus americanus*) en México (Hall 1981, IUCN 1999).

.....



De acuerdo a Hall (1981), el oso negro (*Ursus americanus*), pertenece al orden Carnívora y a la familia *Ursidae* que agrupa animales plantígrados. Existen tres subfamilias, los de Norte América se agrupan en una de ellas llamada *Ursinae*, con un solo género *Ursos* y tres especies *Ursus maritimus* (Oso polar), *Ursus arctos* (Oso pardo) y *Ursus americanus* (Oso negro). Hall marca 16 subespecies para Norte América, tres de ellas presentes en nuestro país. El *U. americanus amblyceps*, localizado en el noreste de Sonora, y norte y noroeste de Chihuahua y una franja en el noroeste de Coahuila. El *U. americanus machetes* en el sur y suroeste de Chihuahua, Durango, sur de Sinaloa y noroeste de Zacatecas y el *U. americanus eremicus* en Coahuila, norte y noreste de Zacatecas, oeste y sur de Nuevo León, suroeste de Tamaulipas, noreste de Durango y norte de San Luis Potosí (SEDUE 1983, Carrera 1985, Ramírez *et al* 1986).

1.2. OSO NEGRO EN MÉXICO

Son animales de aproximadamente 1.30 a 2.00 mts de largo y pesan entre 60 y 180 kilos, tienen ojos pequeños, orejas redondas, hocico largo con una fórmula dental de $3/3 \ 1/1 \ 4/4 \ 2/3 = 42$, cuerpo largo de color blanco hasta café chocolate pero más frecuentemente negro. Sus pies traseros son ligeramente más largos que los delanteros, cada pata tiene 5 uñas no retráctiles usadas para jalar, excavar y escalar. La vida media es de 20 años y su temperatura oscila entre 31 y 37.4°C, teniendo un latido de 40 a 50/min. Generalmente son de hábitos nocturnos o crepusculares. A pesar de su tamaño, son animales sumamente ágiles y cuidadosos en sus movimientos (SEDUE 1983, SEMARNAP 1999).

Son omnívoros pero prefieren alimentarse con frutas silvestres como la mora azul, nueces, pasto y otras plantas, también comen carroña, animales pequeños y pescado. Cuando se acerca el otoño los osos necesitan comer suficiente para alcanzar un peso adecuado para la hibernación (Leopold 1983, Powell y Zimmerman 1997).

Alcanzan su madurez sexual a los 2-3 años de edad los machos mientras que las hembras entre los 4-5 años, crían cada 2-3 años. El estro dura de 2-3 semanas con una ovulación de 2 días, la cópula dura entre 15 y 30 minutos, siendo el semen depositado intravaginalmente. Su gestación dura entre 210 y 215 días teniendo entre 2 y 3 crías por parto pudiendo llegar incluso hasta 5 crías. Gestan generalmente en mayo o junio pero los embriones no se empiezan a desarrollar hasta que la madre entra a la hibernación durante los meses de invierno. Las hembras cuentan con un mecanismo de "implantación retardada", ya que la implantación del óvulo fertilizado en la pared del útero depende de que la futura madre tenga suficientes reservas de grasa para afrontar la gestación, el parto y la alimentación de los cachorros durante la hibernación, sin embargo, si la comida es escasa y la mamá no ha ganado suficiente peso para sostener la gestación los embriones no se implantan ni desarrollan. Las crías normalmente

nacen en los meses de enero y febrero pesando entre 200 y 300 gramos. En primavera los osos comienzan a abandonar sus refugios junto con los cachorros. El destete se lleva en los meses de julio y septiembre a los 4 meses de edad pero se quedan con la madre durante el primer invierno, siendo independientes normalmente hasta el segundo invierno. La supervivencia de los cachorros depende de las enseñanzas de la madre para encontrar comida, donde refugiarse y cuando y donde buscar protección del peligro.

Los osos negros son animales solitarios con excepción de la época de crianza y enseñanza, evitan al ser humano y son considerados no agresivos excepto cuando la vida de sus crías está en peligro (SEDUE 1983, Ramsay y Dunbrack 1986).

Al mismo tiempo, nos encontramos con un vacío en lo que se refiere a la reproducción de la especie, si bien a través de la bibliografía sabemos la edad en la que alcanzan la madurez sexual es a los 3 años en los machos y entre los 4 y 5 en las hembras y que solo son capaces de procrear cada 3 años, esto nos da una idea general del escaso número de cachorros con que cuenta la población si la comparamos con especies de reproducción anual (SEMARNAP 1999).

La reproducción de una especie, sirve como barómetro del bienestar animal, ya que se presenta una relación entre el bienestar y el éxito reproductivo. Cuando un animal suspende su reproducción no solo pierde su potencial genético sino que la supervivencia de un grupo entero puede estar en riesgo (Powell y Zimmerman 1997). En el caso de especies prioritarias, como es el oso negro, especie de gran importancia por ser el mamífero de mayor tamaño en México, la implementación de un programa de conservación sería quizá la única forma de conservación y para ello los zoológicos son una opción donde se podría llevar a cabo un programa de este tipo, ya que los animales se encuentran protegidos de cualquier alteración o cambio en el medio en el que viven.

Existen dos opciones de conservación, en su ecosistema o *in-situ*, por ejemplo las llamadas UMAS (unidades de manejo), donde se promueven acciones específicas orientadas al cuidado y seguimiento espacio-temporal de las poblaciones y del hábitat, o bien fuera de éste en los zoológicos o *ex-situ*, éstas últimas de vital importancia dado que hay pocos ejemplares en libertad.

Cuando un animal se encuentra en cautiverio, se presentan tanto ventajas como desventajas, pero si se mantiene en condiciones adecuadas, lo mas parecidas a vida libre, los niveles de estrés serían casi nulos siendo así de gran ayuda ya que se podrían elaborar programas de preservación y conservación, teniendo un gran éxito y siendo así quizá la única opción de conservación de especies que en un futuro podrían desaparecer debido al uso indiscriminado del planeta por parte del ser humano.

1.3. COMPORTAMIENTO, BIENESTAR ANIMAL Y ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL

A lo largo de la historia, han surgido diferentes definiciones con respecto al bienestar animal, entre las cuales las más reconocidas internacionalmente son: "El estado del individuo en relación a sus mecanismos por sobrellevar los cambios del ambiente" (Broom 1988).

"El mantenimiento de normas apropiadas de alojamiento, alimentación y cuidado general, más la prevención y el tratamiento de enfermedades" (Blood y Studdert 1988). La American Veterinary Medical Association (AVMA) amplía este concepto para incluir que "todos los aspectos de bienestar animal, incluyendo el alojamiento apropiado, el manejo, la alimentación, el tratamiento y la prevención de enfermedades, el cuidado responsable, la manipulación humanitaria, y, cuando necesaria, la eutanasia humanitaria" (Anon 1990).

Fraser (1989) dice que el bienestar animal comprende ambos, tanto el bienestar físico como el psicológico. El bienestar físico se manifiesta por un buen estado de salud. El bienestar psicológico se refleja, por su parte, en el bienestar del comportamiento.

Hurnik (1988) define el bienestar animal como "un estado o condición de armonía física y psicológica entre el organismo y su medio."

Dresser (1988) indica que el bienestar de un animal "no significa solamente la ausencia de dolor y de angustia. Implica también que las necesidades fisiológicas, de seguridad y de comportamiento de un individuo están satisfechas". Sin embargo, sabemos que el bienestar animal no es un fenómeno único, y que no existe una definición que satisfaga a todos (Moberg 1992, Baxter 1993, Duncan y Dawkins 1983).

El estudio del bienestar animal es importante ya que nos permite que los animales a nuestro cuidado puedan expresar sus pautas normales de conducta. Lo que es posible cuando conocemos sus necesidades biológicas, psicológicas (emocionales) y etológicas (de comportamiento); y cuando desarrollamos ambientes adecuados (enriquecidos) con rutinas de aseo y alimentación acordes a los requerimientos humanos y animales.

Para crear un estado de bienestar, cada animal necesita un ambiente social en el cual puede gozar de un mínimo de contactos básicos y de relaciones sociales positivas.

El bienestar de un animal se ve amenazado cuando:

- a) el espacio es insuficiente para mantener una distancia adecuada para el comportamiento;

- b) el espacio de alimentación y de descanso para todos los individuos son insuficientes; o cuando la alimentación y el descanso no se pueden realizar concurrentemente;
- c) los agrupamientos son tan frecuentes que los animales deben experimentar repetidamente el proceso de estabilización; y
- d) los tamaños de los grupos no son apropiados para las especies.

Una de las principales razones para establecer un programa de manejo etológico en los centros de recolección, acopio o paso de animales; es que mediante estas técnicas no sólo se reducirá el estrés en los animales sino que se podrá promover una imagen social de profesionalismo y ética hacia toda forma de vida, incluida la humana. Para ello, es necesario la implementación de manera simple y práctica de la filosofía del bienestar animal (las cinco libertades) y el enriquecimiento ambiental, que incluyen:

- La satisfacción de necesidades nutricionales, liberando a los animales de hambre, sed y desnutrición
- La satisfacción de necesidades de abrigo, para que estén confortables y libres estrés ambiental
- La satisfacción de necesidades físicas, para que estén libres de lesiones, dolor y enfermedad
- La satisfacción de necesidades emocionales, para que estén libres de miedo, angustia y sufrimiento
- La satisfacción de necesidades etológicas para que puedan expresar libremente sus pautas normales de conducta

La etología además de proporcionar información valiosa para el cuidado y bienestar de los animales, nos brinda también conocimientos psicobiológicos de las especies. El poder adaptar muchas de sus técnicas y estrategias para el estudio y observación de los animales en nuestros ámbitos de trabajo y así lograr una mejor interpretación de sus señales y por supuesto una mejor comunicación. De esta

manera se desarrollarían habilidades para identificar o diagnosticar los indicadores de estrés y bienestar animal (cinco libertades) en resguardos, refugios, encierros o lugares de paso; y así garantizar las condiciones mínimas de bienestar en los lugares donde tengamos que confinar o mantener animales por largos períodos de tiempo (Calderón 2002).

Finalmente, un elemento que se sale de las habilidades del manejador, cuidador o responsable de los animales; es el elemento físico ambiental, donde el concepto enriquecimiento ambiental juega un papel importante.

El enriquecimiento del comportamiento debería, en general, favorecer y promover un repertorio completo de comportamientos normales (etograma) para todos los animales, principalmente en aquellos que se encuentran cautivos, con el fin de prevenir el desarrollo de comportamientos anormales. En cualquier programa de enriquecimiento del comportamiento, es conveniente incluir estímulos físicos y objetos que favorecen la expresión de comportamientos propios de las especies.

Una planeación e implementación apropiada de los programas de enriquecimiento ambiental pueden contribuir a mejorar el bienestar y la salud animal a través de crear oportunidades para que puedan ejercer algún control sobre el ambiente. Ya sea que el enriquecimiento le permite al animal evitar estímulos externos estresantes o simplemente le proporciona la oportunidad de realizar una conducta de desplazamiento. La capacidad del animal para tener cierto control sobre su ambiente parece ser crucial en la reducción del estrés y, por ello, reducir el riesgo de problemas de salud asociados (Brousset 2003).

Se puede evaluar el éxito de tal programa, midiendo hasta que punto éste impide el desarrollo de anormalidades de comportamiento y favorece el

comportamiento normal, o minimiza la expresión o elimina las anormalidades preexistentes demostradas con anterioridad por un individuo o el grupo.

Los animales que se encuentran bajo condiciones de estrés por periodos prolongados, pueden presentar estereotipias, patrones de comportamiento repetidos sin alguna función o meta. Bajo condiciones de estrés, tanto en vida libre como en cautiverio, no sólo las estereotipias se desarrollan, sino también patrones de comportamiento nocivos y perjudiciales para el individuo en las que puede haber automutilación o hacia sus congéneres, así como una serie de comportamientos como son reducción de la actividad, disminución del apetito y reducción de la reproducción (Ramsay y Dunbrack 1986). Las estereotipias se han considerado como indicadores de un nivel pobre de bienestar y se han observado con regularidad en los zoológicos, principalmente en carnívoros, ungulados y elefantes. Se dice que se asocian con situaciones en donde el comportamiento animal es alterado y se presentan conflictos motivacionales. Las estereotipias más comunes son: andar a paso largo, bambolear la cabeza, caminar o saltar en el mismo lugar, morderse la cola y los flancos, balancear y embestir la jaula. Esto sugiere que el ambiente de estos animales tiene una escasez esencial de estímulos que induzcan los comportamientos propios de la especie y que las condiciones de cautiverio y el ambiente son subóptimas, afectando la reproducción y el bienestar en general de los individuos (Genazzani 1991). Entre los comportamientos perjudiciales y nocivos, los más frecuentes son: auto-mordedura, arrancamiento e ingestión de pelos, dispersión de las heces, golpes en la cara o en los ojos.

En lo que respecta a los osos mantenidos en cautiverio, se ha observado que las principales estereotipias que pueden desarrollar se encuentran: caminado con la mirada hacia arriba y abajo asociado a bostezo y golpeteo con la lengua (Welchsler 1991), caminata en ocho (Templin 1992), estado de inactividad y disminución de la respuesta a estímulos externos (Fraser 1988).

En los osos se presentan comportamientos estereotipados debido a que en vida libre pasan la mayor parte del tiempo activos; el oso negro, por ejemplo ocupa 18 horas del día en alimentarse, el oso pardo (*Ursus arctos*) se encuentra activo entre el 45 y 60% del día y la noche del cual el 94% es alimentándose (D Agostino 1998, Hofer 1998, Van Dijk y Koene 1998).

1.4. ESTRÉS Y CORTISOL

El estrés, por sí mismo, puede ser o no dañino para un animal, pero puede conllevar a respuestas que interfieren con el bienestar y reproducción y pueden ser capaces de inducir cambios patológicos (Breazile 1987). La magnitud y naturaleza de la respuesta al estrés de cada organismo, puede ser muy variable entre las especies, entre poblaciones de la misma especie, entre individuos e incluso cambiar dependiendo de la época del año o bien de la condición corporal del individuo (Hofer e East 1998).

El sistema nervioso autónomo, a causa de sus respuestas rápidas y específicas a muchas agresiones, ha sido una gran ayuda para el diagnóstico del estrés, por la evaluación del ritmo cardiaco, de la respiración, y de la secreción de catecolaminas. Muchos investigadores aceptan el aumento de secreción de glucocorticoides como prueba de la aparición del estrés. El estrés físico y emocional provoca la secreción de diversas hormonas, principalmente del grupo de los corticoesteroides, particularmente el cortisol (Moberg 1985).

Es bien sabido que el estrés tanto fisiológico como psicológico, pueden tener un efecto perjudicial sobre el estado físico de la reproducción así como en el comportamiento de los mamíferos (Brown *et al* 1994). Cuando un individuo enfrenta una forma de estrés, presenta un mecanismo de adaptación al medio llamado Síndrome General de Adaptación, el cual se divide en tres fases principales: alarma, resistencia y agotamiento. El estresor es detectado en la fase

de alarma, donde se activa el eje Simpatoadrenal liberando catecolaminas (adrenalina y nor-adrenalina), ocasionando un incremento en la frecuencia cardiaca y respiratoria, un incremento de glucosa y oxígeno en la sangre, así como un incremento en la gluconeogénesis para poder obtener energía a través de los ácidos grasos para mantener la homeostásis del individuo. En la fase de resistencia, el individuo enfrenta al estresor, activando el eje Adrenocortical, liberando glucocorticoides, cortisol en mamíferos y corticosterona en aves y reptiles principalmente. La tercera fase llamada de agotamiento, se caracteriza por la terminación de la respuesta al estrés y el inicio de las patologías, en cuyo caso extremo finalizan con la muerte del individuo (Moberg 1987, Seyle 1950, Nelson 2000, Sapolsky 1992, Wingfield y Ramenofsky 1999, Creel 2001).

Un animal que padece de estrés por tiempo prolongado, mantiene un incremento en las hormonas glucocorticoides que pueden contribuir a varias alteraciones metabólicas, acciones antiinflamatorias y modificaciones en la respuesta inmune (Breazile 1987).

Muchos factores modificantes pueden clasificarse como estresores y desencadenar una cascada de secreciones hormonales típicas de estado de estrés. Estas hormonas provocan una reacción de emergencia que suprime procesos innecesarios y promueve la supervivencia mientras el estrés desaparece. Sin embargo, la respuesta es importante durante un tiempo corto; pero puede ser deteriorante si se activa repetidamente (Wingfield *et al*/ 1998)

Dentro del sistema neuroendócrino, el hipotálamo juega un papel esencial y constituye la unión entre el Sistema Nervioso Central y varios Sistemas Endócrinos; es el termostato del cuerpo y se encuentra involucrado en muchas otras funciones principales del organismo como la reproducción (Lawrence y Jeffrey 1993).

El cortisol es una hormona esteroidal de la zona fasciculata de la corteza adrenal que responde a los efectos del estrés y está considerado actualmente como un indicador del mismo. Es una hormona esteroidal sintetizada a partir de colesterol. El organismo posee un sistema elaborado de retroalimentación para el control de la secreción de cortisol y así regular la cantidad de cortisol en circulación. El mecanismo del cortisol inicia en el hipotálamo el cual recibe la señal de estrés que afecta el sistema y la transfiere en forma de señal química como hormona liberadora de corticotropina (CRH), la cual viaja a vasos portales hacia la parte anterior de la pituitaria, pequeña glándula en la base del cerebro donde estimula la liberación de hormona adenocorticotrópica (ACTH). La secreción de ACTH manda la señal a la corteza de las glándulas adrenales para que aumenten la producción y secreción de glucocorticoides (cortisol en mamíferos y corticosterona en aves y reptiles principalmente). Casi inmediatamente después de un evento estresante los niveles de las hormonas reguladoras ACTH y CRH aumentan, causando un aumento inmediato en los niveles de cortisol.

Cuando el cortisol está presente en cantidades adecuadas (o en exceso), un sistema negativo de retroalimentación actúa sobre la glándula pituitaria y el hipotálamo, el cual alerta a estas áreas para reducir la salida de ACTH y CRH, respectivamente, a fin de que reduzca la secreción de cortisol. (Dehnhard *et al*/ 2001). El cortisol liberado a circulación, se une rápidamente a proteínas plasmáticas específicas, principalmente globulinas transportadoras y albúmina, y sólo una pequeña fracción permanece libre, la cual sigue siendo activa (Nelson 1995).

Al presentarse cualquier tipo de estrés en el organismo, la secreción de cortisol aumenta, provocando un desdoblamiento de las proteínas musculares, originando una liberación de aminoácidos hacia el torrente sanguíneo, los cuales son utilizados por el hígado para sintetizar glucosa y así generar energía mediante la gluconeogénesis, proceso que aumenta los niveles de azúcar en sangre

incrementando así el nivel de glucosa en cerebro para la formación de energía. Al mismo tiempo los demás tejidos del cuerpo disminuyen el uso de glucosa.

El cortisol, también desencadena la liberación de los llamados "ácidos grasos", fuente de energía proveniente de las células adiposas, para ser usadas por los músculos. En conjunto, éstos procesos direccionales de energía preparan al individuo para enfrentarse con estresores y asegurarse que el cerebro reciba fuentes de energía adicionales. Además de lo anterior, esta hormona, se encuentra envuelta principalmente en una acción metabólica e inmunológica; inmunológicamente, como un importante antiinflamatorio, además juega un papel de hipersensibilidad, inmunosupresión y resistencia a enfermedades. Al encontrarse alterada la respuesta inmune, el objetivo primordial del organismo consiste en estabilizar las funciones vitales de tal modo que la reproducción de la especie es relegada a segundo término.

La ACTH y el cortisol son secretados independientemente del ritmo circadiano en respuesta a estrés físico o psicológico. Esto nos hace suponer que el principal propósito del cortisol y la corticosterona en mamíferos es la movilización de procesos fisiológicos en contra de infecciones y efectos adversos. Estos esteroides controlan un gran número de enzimas, hormonas y procesos, muchos de los cuales pueden conllevar a procesos patógenos u ocasionar síntomas adversos.

Los esteroides gonadales y adrenales son metabolizados rápida y extensamente en hígado y/o riñón, antes de ser excretados a orina o heces (Dehnhard *et al* 2001). Generalmente, los esteroides biológicos (oestradiol, oestrone, progesterona, testosterona, cortisol y corticosterona) se desactivan durante el metabolismo de cambios moleculares y/o durante la conjugación hacia moléculas altamente ionizadas, o entidades de cadenas laterales (moléculas de sulfato o glucurónidos) antes de la excreción. Los esteroides conjugados, han

incrementado la polaridad molecular lo cual provee solubilidad en ambientes acuosos como orina o bilis (Monfort en prensa). En la mayoría de los animales los esteroides son excretados como metabolitos inactivos vía urinaria y fecal. Los metabolitos de los glucocorticoides fecales representan una fracción de los glucocorticoides plasmáticos dando una medición integrada del estatus adrenal (Goyman *et al* 1999).

La proporción de esteroides excretados en orina o heces es específica de cada especie o taxa. Por ejemplo, en la mayoría de los felinos, se excreta más del 90% de los esteroides gonadales en heces, en algunos monos más del 80% por orina. La cantidad del metabolito específico que se forma a partir de los esteroides, antes de ser excretados, varían según cada especie o individuo. No es necesario determinar la estructura molecular específica de la hormona que se va a monitorear, sin embargo, es indispensable probar que la fluctuación en los metabolitos hormonales que se están midiendo proporcionen información fisiológica relevante.

Los niveles de cortisol en el torrente sanguíneo presentan lo que se conoce como una variación diurna (concentraciones normales varían a lo largo de un periodo de 24 h) Los niveles de cortisol en individuos normales son mayores aproximadamente de 6 a 8 a.m. y son menores alrededor de media noche. Adicionalmente los niveles de cortisol pueden ser mas altos después de las comidas.

El tiempo que tarda un esteroide desde su formación hasta su secreción para aparecer en la orina es generalmente menor a 12 horas, en contraste el tiempo que dura en heces va de 12 a 24 horas en rumiantes y de 24 a 48 horas en primates y no rumiantes (Monfort en prensa).

1.5. MEDICIÓN DE HORMONAS COMO INDICADORES DEL ESTRÉS FISIOLÓGICO

La medición de la actividad adrenal es de gran importancia y aplicación para la conservación, el manejo de fauna silvestre, el alojamiento animal, el comportamiento ecológico y la biomedicina (Brown *et. al.* 1994).

Para obtener datos válidos es necesario un muestreo continuo de los individuos de estudio. En el caso de un muestreo sanguíneo regular para medir los niveles de cortisol en suero es necesario un manejo constante de los animales, técnica impráctica en las especies no domésticas debido a que el constante manejo puede inducir una respuesta de estrés. La dificultad para coleccionar muestras de plasma así como el efecto de la misma especialmente en animales libres o semi-libres ha llevado a los investigadores a buscar nuevas técnicas no invasivas.

Las técnicas no invasivas de medición de hormonas, han sido utilizadas tanto en animales en cautiverio como en vida libre. El primer estudio reportado en 1984 fue sobre el celo en Elefante Africano, poco después se realizó en monos, y desde ese momento mas de 50 publicaciones han descrito el monitoreo endócrino no invasivo de mamíferos silvestres y aves (Monfort en prensa).

Recientemente, el monitoreo no invasivo de la actividad adrenal ha sido utilizado para la evaluación del estrés asociado a la dominancia, la agresión y la perturbación provocada por el humana. Algunos estudios más recientes, han integrado el comportamiento, la genética y los patrones hormonales para entender con mayor facilidad la evolución del sistema de acoplamiento, incluyendo fenómenos tales como la dominancia, el estrés social y la supresión reproductiva.

Este rápido desarrollo, nos confirma que el monitoreo endócrino no invasivo es muy útil para el incremento o para fundamentar los conocimientos que se tienen acerca de especies de fauna silvestre en vida libre. Debido a que las

mediciones no invasivas, proveen información del estatus reproductivo, la salud y el impacto del ser humano sobre el bienestar animal, tienen una implicación importante en la conservación y manejo de especies silvestres.

El estrés psicológico, resultado de la manipulación, altera los resultados obtenidos, ocasionando falsos resultados. El monitoreo no invasivo tiene una gran ventaja ya que la acumulación de orina (en vejiga) o heces (en tracto intestinal) liberan patrones de secreción episódicos, lo cual ocurre normalmente en sangre. Aunado a esto, los métodos no invasivos tienen una gran ventaja ya que es posible la obtención frecuente de muestras, permitiendo así estudios longitudinales (Monfort en prensa).

1.6. TÉCNICAS EMPLEADAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS ESTEROIDALES.

Los metabolitos esteroideos se pueden cuantificar utilizando una gran variedad de técnicas radiométricas o no radiométricas, como inmunoanálisis enzimáticos (EIA) o inmunoanálisis fluorescente (FIA). A pesar de la técnica utilizada, el inmunoanálisis debe ser revalidado para cada nueva especie o medio. Para su validación hay dos pasos: 1) la validación del laboratorio (especificidad, precisión sensibilidad y exactitud) para demostrar que las hormonas han sido medidas, y 2) validación fisiológica, para demostrar que la medición de hormonas refleja con exactitud los eventos fisiológicos en los que uno está interesado en estudiar.

La administración de una droga conocida para estimular la producción hormonal (GnRH o ACTH) es de gran utilidad para demostrar una relación de causa efecto entre la administración exógena y la subsecuente excreción de la hormona.

El monitoreo hormonal en orina es rápido, pero las muestras son difíciles de colectar bajo condiciones de campo. Un gran número de métodos de inmunoanálisis bien establecidos han sido validados para el proceso, extracción y exacta cuantificación de metabolitos esteroidales en heces.

Los esteroides fecales no se encuentran conjugados en excreta, en parte, debido a que las enzimas bacterianas hidrolizan o desconjugan los esteroides conjugados a lo largo del intestino. Adaptando un método de colección y almacenamiento ya estandarizado, se puede minimizar el impacto de la degradación bacteriana sobre los metabolitos esteroidales, que continúa después de la defecación. Lo ideal es la recolección de la muestra lo mas pronto posible después de la defecación, y someterla inmediatamente a un tratamiento que ayude a disminuir la continua degradación bacteriana. Si la muestra no fue colectada después de 1-2 horas de la defecación, el impacto del tiempo de la defecación a la colección de la muestra, en lo que respecta a la concentración de metabolitos hormonales debe ser examinada detalladamente, debido a la presencia de bacterias que pudieran alterar los resultados esperados. Los métodos de almacenamiento y preservación de muestras van desde la congelación, desecación en estufa u horno portátil, preservación en alcohol o la utilización de métodos sencillos de extracción de campo (Monfort en prensa).

Una de las principales ventajas del monitoreo no invasivo de corticosteroides, es que se puede obtener una medición global del estatus adrenal de individuos que no han sido molestados o perturbados anteriormente. Pequeñas cantidades de cortisol (o corticosterona) natural, se encuentran en heces, debido a que estas hormonas son metabolizadas extensamente antes de ser excretadas. La infusión de cortisol radioactivo y/o desafío de la ACTH han sido utilizados en especies en cautiverio como son elefantes africanos, rinocerontes negros, osos, leopardos, en conjunto con la validación de inmunoanálisis de corticosteroides fecales.

Estos estudios, revelan que los análisis de corticosteroides fecales reflejan con exactitud los cambios endógenos de la actividad adrenal. La variación interespecífica de los metabolitos de corticosteroides hacen imposible saber que tipo de metabolito fecal produce cada especie. Sin embargo, algunos laboratorios han demostrado la efectividad de anticuerpos específicos de grupo para reconocer a un grupo o familia de metabolitos en vez de un solo metabolito en específico (Monfort en prensa).

2. JUSTIFICACIÓN

Para poder asegurar el óptimo nivel de bienestar, de salud y éxito reproductivo en animales de granja, laboratorios y zoológicos, es necesario conocer el impacto tanto biológico como fisiológico que ejerce el ambiente en los individuos en cautiverio (Carlstead *et al* 1993). Esto puede lograrse, mediante la realización de estudios de población, estudios acerca de su interacción con el medio en el que se localizan y aquellos que se refieren a su comportamiento en confinamiento ya que si un animal no se encuentra en condiciones adecuadas difícilmente puede llegar a adaptarse al medio.

Anteriormente se ha establecido que las conductas anormales observadas en animales silvestres, mantenidos en cautiverio, pueden ser el resultado de factores relacionados con el ambiente durante su desarrollo, la falta de estímulos y espacios inadecuados (Hediger 1968). Las estereotipias han sido consideradas como indicadores de un pobre nivel de bienestar y se han observado con regularidad en los zoológicos, principalmente en carnívoros, ungulados y elefantes. Se dice que se asocian con situaciones en donde el comportamiento animal es alterado y se presentan conflictos motivacionales.

Una planeación e implementación apropiada de programas de enriquecimiento ambiental pueden contribuir a mejorar el bienestar y la salud animal a través de la creación de oportunidades para que puedan ejercer algún control sobre el ambiente. Ya sea que el enriquecimiento le permita al animal evitar estímulos externos estresantes o simplemente le proporcione la oportunidad de realizar una conducta de desplazamiento. La capacidad del animal para tener cierto control sobre su ambiente parece ser crucial en la reducción del estrés y, por ello, reducir el riesgo de problemas de salud asociados (Brousset 2003).

Adicionalmente, la medición fecal de metabolitos del cortisol como indicador de la actividad de la corteza adrenal en relación con el estrés por medio de

técnicas no invasivas es una práctica actual que provee información más objetiva, de vital importancia, sobre la respuesta a los estímulos del ambiente en especies cautivas de difícil manejo.

La razón por la cual es importante considerar al oso negro dentro de estudios de esta índole, se debe a que es el mamífero mexicano de mayor tamaño, y se encuentra citado en el Apéndice II del CITES, lo cual nos indica que si no se protege e inicia un programa de conservación en poco tiempo se convertirá en una especie en peligro de extinción. Aunado a lo anterior, se sabe muy poco de la biología de estos animales; debido a ello no se ha logrado realizar un programa adecuado para la especie. Si bien se sabe que son animales solitarios y que pasan la mayor parte del tiempo alimentándose, la implementación de un programa de enriquecimiento ambiental que cubra las necesidades primordiales de estos animales mejoraría su nivel de vida dentro de los zoológicos.

Se puede evaluar el éxito de tal programa, midiendo hasta que punto éste impide el desarrollo de anomalías de comportamiento y favorece el comportamiento normal, o minimiza la expresión o elimina las anomalías preexistentes demostradas con anterioridad por un individuo o el grupo.

Debido a lo anterior, el presente estudio pretende generar información sobre el efecto del ambiente en el comportamiento animal y los niveles de cortisol fecal, mediante la investigación de la relación que existe entre un programa de enriquecimiento ambiental propuesto y el mejoramiento del comportamiento animal.

La relevancia en la obtención de datos que nos permitan entender el estado fisiológico y psicológico de los animales para el mejoramiento de prácticas de manejo, calidad de vida en los encierros y aspectos reproductivos, radica en la

posibilidad de utilizar posteriormente esta información en animales en vida libre; principalmente en aquéllos que se encuentren en peligro de extinción.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la relación que existe entre las pautas de comportamiento individual y social del oso negro en cautiverio, con la actividad adrenal a través de la medición de metabolitos de cortisol fecal, antes durante y después de un programa de enriquecimiento ambiental.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Evaluar el efecto de un programa de enriquecimiento ambiental sobre pautas de comportamiento individual y social, así como sobre los niveles de cortisol fecal en osos negros en cautiverio.

- 2.- Comparar la proporción del tiempo en diferentes estados de conducta y la frecuencia de eventos de conductas individuales y sociales, así como la actividad adrenal en osos negros bajo encierros simples y complejos, ante un programa de enriquecimiento ambiental.

- 3.- Relacionar los patrones de conducta social e individual con los niveles de cortisol fecal en el oso negro en cautiverio.

5. HIPÓTESIS

- 1.- Un programa de enriquecimiento ambiental, influye en los niveles de cortisol y la conducta de los animales.

- 2.- Animales mantenidos en albergues simples dedican mayor tiempo a anomalías de conducta y tienen mayor actividad adrenal que aquellos que se mantienen en albergues complejos.

- 3.- Las pautas anormales de comportamiento se relacionan con mayor concentración de cortisol.

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1. Sujetos de estudio

El estudio se llevó a cabo en 3 zoológicos de la República Mexicana, con un total de 9 individuos, dos de Chapultepec, zoológico A (1 hembra y 1 macho); 3 de San Juan de Aragón, zoológico B (2 hembras y 1 macho) y 4 de Africam Safari, zoológico C (3 hembras y 1 macho). A y B ubicados en el Distrito Federal, C en Valsequillo, Puebla.

El zoológico A se localiza a 19° 28' latitud norte, 99° 04' longitud oeste, a una altitud de 2240 msnm, con un clima semiseco templado, con lluvias en verano. El zoológico B a 19° 25' latitud norte, 99° 12' longitud oeste, a una altitud de 2250 msnm, con clima templado, subhúmedo con lluvias en verano. El zoológico C esta a 18°50' latitud norte, 98° 19' longitud oeste, con un clima templado subhúmedo con lluvias de verano (INEGI 1998).

Los albergues se clasificaron en simples y complejos, dependiendo de las condiciones de los mismos. Simples cuando el espacio era reducido, los pisos eran de concreto, paredes de malla ciclónica o cemento, un bebedero y una rama o tronco en su interior, o bien cuando una parte de éste era de concreto y la otra de pasto, presentaba ambientación artificial y no tenía contacto con otras especies. Complejo cuando el espacio era mayor de 3 ha., tenían ambientación con vegetación natural, diversidad de espacios verticales y horizontales y compartían albergue con otras especies.

La alimentación diaria consistió en proporcionar una dieta que constaba de croquetas, arroz, pan, carne de pollo, verduras, frutas y miel principalmente, variando un poco entre colecciones. La ración completa se colocaba en el comedero a la misma hora, retirándose al día siguiente lo que no se hubiera consumido. Tuvieron acceso al agua ad-libitum. La hora de limpieza era por las

mañanas y la alimentación varió dependiendo del zoológico, ya que en el A y C se daba de comer por las tardes mientras que en el B era por las mañanas.

No se sabe con claridad la procedencia de algunos de los animales, 2 de ellos nacieron en cautiverio (San Juan de Aragón) y los demás fueron donados a los zoológicos. Cuatro de ellos pasaron de vida libre directo al zoológico (Africam Safari , Chapultepec, San Juan de Aragón); 2 de ellos fueron trasladados de otro zoológico al actual (Africam Safari); uno de ellos llegó como decomiso (Africam Safari).

Cuadro 1. Características generales de 9 ejemplares de oso negro (*Ursus americanus*) cautivos de tres zoológicos diferentes.

| Zoológico | Nº animales | Sexo | | Edad |
|-----------|-------------|------|---|---------------|
| | | M | H | |
| Ch A | 2 | 1 | 1 | 13,5 |
| Ar B | 3 | 1 | 2 | Se desconocen |
| Afr C | 4 | 1 | 3 | 9,7,11,11 |

Ch A: Zoológico Chapultepec

Ar B: Zoológico San Juan de Aragón

Afr C: Zoológico Africam Safari

6.2. Evaluación de conducta

6.2.1. Historiales Clínicos de cada individuo

Se elaboraron Historiales Clínicos de cada individuo, que contienen datos generales (nombre, edad, lugar de nacimiento, sexo, origen, tiempo en cautiverio, identificación y señas particulares), nutrición (dieta diaria y alimento en base a enriquecimiento), enfermedades y tratamientos e historial reproductivo (época de reproducción, últimos celos detectados, montas, gestaciones y número de crías).

6.2.2. Elaboración del catálogo de comportamiento

Para ello se realizaron observaciones directas durante 24 horas, divididas en 3 días de 8 horas cada uno. En cada zoológico se elaboró un catálogo de comportamiento para conductas individuales y sociales a través de muestreo ad libitum.

6.2.3. Elaboración hoja de registro

Una vez elaborado el catálogo de comportamiento, se realizó una hoja de registro, la cual en la parte superior contiene el nombre del zoológico, la fecha, el nombre del observador, hora de inicio de las observaciones, temperatura ambiental y número de hoja. (Apéndice I)

Las cuatro primeras columnas corresponden a las conductas individuales (HORA la hora en la que se está observando al individuo, LOC localización del individuo dentro del albergue, ID identificación del individuo, COND la conducta que realiza el individuo), y las cinco columnas siguientes a las conductas sociales (ID-EM identificación del emisor, es decir, quien realiza la conducta, ID-RE identificación del receptor, es decir, quien recibe la conducta, C-EM conducta emitida, C-RE conducta recibida, DURACION tiempo que tarda en realizarse la conducta).

6.2.4. Observaciones

La hoja de registro, se utilizó durante las observaciones del estudio, las cuales se realizaron a través de muestreos focales con registro continuo (observaciones de un solo individuo por un intervalo específico de tiempo y se registran todos los comportamientos durante ese intervalo de tiempo) en cada uno de los encierros de la siguiente manera:

Zoológico A: seis o siete horas diarias, de 9:00 a 15:00 los lunes y de 9:00 a 16:00 horas de martes a viernes durante tres semanas.

Zoológico B: tres ciclos que incluyen un día de observación en el exterior del albergue durante siete horas de 9:00 a 15:00 horas y tres días de observación en el interior del albergue, dos días de 9:00 a 13:00 y un día de 13:00 a 17:00 horas durante tres semanas.

Zoológico C: siete horas diarias, de 10:00 a 17:00 horas de lunes a viernes durante tres semanas.

6.2.5. Implementación de un programa de enriquecimiento

Durante el periodo de observaciones, se aplicó un programa de enriquecimiento con variaciones, una primera semana sin enriquecimiento o la suspensión total de enriquecimiento, esto último en el caso de aquéllos zoológicos donde se realizan programas de enriquecimiento, durante la segunda semana de estudio se aplicó un programa de enriquecimiento diario durante la cual se realizaron las siguientes actividades:

Zoológico A

Lunes.- pescado crudo distribuido en todo el albergue

Martes.- ramas y hojas de árboles

Miércoles.- cocos con yogurt y cereal

Jueves.- excremento de felino

Viernes.- bola de boliche

Sábado.- fresas y uvas distribuidas en el albergue

Domingo.- cubos de hielo con frutas

Zoológico B

Lunes.- cabezas de piñas con pasas, nueces y miel

Martes.- cubos de hielo con frutas

Miércoles.- piñitas de pino y ramas secas

Jueves.- frutas secas escondidas en montones de paja

Viernes.- tubos de pvc grandes con yogurt en el centro

Sábado.- pelotas de mecate con una pera en el centro

Domingo.- charales vivos en los bebederos

Zoológico C

Lunes.- bolsas de yute con cereal adentro

Martes.- excremento de felino

Miércoles.- palos de bambú con frutas secas adentro

Jueves.- sonidos de otros animales

Viernes.- cubos de hielo con frutas

Sábado.- charales vivos en el estanque

Domingo.- tubos de pvc con semillas adentro

Durante la semana de enriquecimiento ambiental, la dieta de los individuos de los zoológicos A y B no varió a pesar de que en varias ocasiones se les dio un enriquecimiento de tipo alimenticio, mientras que en el zoológico C, los días que se dio enriquecimiento alimenticio, si se tomó éste en cuenta para adecuar la dieta de ese día.

Finalmente, durante la tercera semana del estudio se suspendió el enriquecimiento, con el objetivo de medir la proporción de tiempo en cada estado de conducta así como la frecuencia con la que se presentan los eventos en cada etapa.

Cuadro 2. Pautas de comportamiento que se determinó medir para evaluar la conducta de 9 ejemplares de oso negro (*Ursus americanus*), cautivos en tres albergues de tres zoológicos diferentes.

| Comportamiento | Descripción |
|----------------------------|---|
| Locomoción | caminar, correr, inspeccionar, jugar, nadar, ascender o descender. |
| Estereotipia | patrones de comportamiento repetidos sin alguna función o meta, normalmente bamboleando, caminando trazando alguna ruta |
| Inactividad (Descanso) | sentado o echado con los ojos abiertos o cerrados (durmiendo). |
| Alimentación | comer, beber o masticar |
| Cuidado corporal | bañarse, lamerse, frotarse con una zarpa o sacudirse |
| Interacción agonista/cf | Encuentros ofensivos con contacto físico |
| Interacción agonista/sc | Bufar, amenazar o perseguir a otro. |
| Acicalamiento | invitar al juego a otro, lamerlo u olfatearlo |
| Sexual | cortejar, morder, montar o bien que se presente una cópula |

Cf: contacto físico

Sc: sin contacto físico

6.3. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.

Al mismo tiempo que se realizó el estudio de comportamiento, se recolectaron muestras de heces de cada individuo. La obtención de las muestras se realizó siempre por las mañanas, durante la limpieza del albergue, del lugar y los días que defecaron durante todas las semanas. Cada muestra fue colocada en bolsa de plástico e identificada especificando fecha, individuo sexo y colección. En el caso de los albergues donde había más de un animal y no fue posible separarlos, se adicionó un colorante vegetal a los alimentos para así poder diferenciar las heces. Todas las muestras se mantuvieron en congelación a -4°C , esto con el fin de detener el proceso de descomposición de las mismas. Una vez obtenidas todas las muestras, se trasladaron al Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, IPN, donde

se mantuvieron en las mismas condiciones durante cuatro semanas, hasta que dio inicio la parte experimental.

6.4. EVALUACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL FECAL.

Una vez obtenidas las muestras se procedió a la extracción de los esteroides. Las muestras fueron descongeladas, homogeneizadas y secadas para ser sometidas al proceso de extracción y radioinmunoanálisis. Se colocó el excremento en un tubo dejando un centímetro del mismo vacío y se colocaron en un horno a una temperatura de entre 50 y 70°C para secarlas. Una vez secas se les extrajeron ramas, huesos y semillas para evitar resultados falsos. Posteriormente se depositaron de 180 a 200 mg de heces secas en un tubo de precipitado y se realizó la extracción de los metabolitos, se le agregaron 4 ml. de etanol absoluto y 1 ml de agua destilada, se mezcló en el Vortex por 10 segundos. Se marcó el tubo con una línea hasta donde llega el líquido y se calentaron a Baño María a 93°C. Conforme se fue evaporando, se le agregó etanol absoluto hasta la línea por 20 minutos. Una vez finalizado este proceso se le agregó nuevamente etanol hasta la línea y se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 20 minutos. Se decantó el tubo sin residuos en otro tubo limpio, se cerró y se metió al refrigerador por un tiempo de entre 1 y 3 días. Posteriormente se sacaron los tubos y se colocaron a Baño María a 36°C y se secaron bajo corrientes de aire con un evaporador múltiple, una vez secos totalmente los tubos, se les agregó 1 ml de etanol absoluto y se colocaron en el Vortex por 1 minuto. Se metieron nuevamente a la centrifuga por 20 minutos y se decantaron finalmente en un tubo RIA hasta 1 ml y se le agregó 2 ml de Buffer RIA y se taparon y sellaron para meterse al congelador. Una vez obtenidas las muestras se llevó a cabo la determinación de cortisol por la prueba de RIA a cada una de ellas. Previamente al análisis de todas las muestras se llevó a cabo la estandarización de la técnica como se indica en la sección 6.5.

Una vez estandarizada la técnica, la concentración hormonal de cada muestra fue calculada a través de porcentajes de unión utilizando el programa estadístico Graph pad Inplot, versión 4.

6.5. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA EN EL LABORATORIO PARA LA MEDICIÓN DE CORTISOL FECAL.

Se seleccionaron al azar 10 muestras de heces de los tres encierros y se realizaron diluciones seriadas (1:1, 1:2, 1:4, 1:16, 1:32, 1:64 y 1:128). Las muestras diluidas fueron extraídas mediante el procedimiento previamente descrito y se determinó la concentración de cortisol por la prueba de RIA. Se utilizó como anticuerpo el anticortisol de conejo (3/CMO) de Chemicon con máxima especificidad para cortisol. El trazador utilizado fue la hidrocortisona [1,2,6,7-³H(N)] 70-100 Ci/mmol, 1 mCi ml de etanol de NEN Life Science products, INC. Paralelamente se elaboró una curva estándar de cortisol ³H en un rango de 3.125 a 200 pg/ml de hormona fría (hidrocortisona) y se corrió el análisis de RIA, se establecieron las diluciones adecuadas de las muestras considerando los valores obtenidos en relación a la curva obtenida. A partir del análisis de los datos, se seleccionó la dilución que correspondiera al punto central de la curva en cada caso. La dilución finalmente seleccionada para el análisis de todas las muestras fue de 1:64. Es factible utilizar el anticuerpo ³H para evaluar los metabolitos de cortisol ya que fue posible leer todas las muestras dentro de la curva estándar del ensayo. La prueba de validación se realizó a través de diluciones seriadas de una mezcla de extractos y la curva estándar, con una recuperación significativa de ³H.

6.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa de cómputo Statística® versión 6.0. Se aplicó la prueba para normalidad de Kolmogorov-Smirnov para los datos y la distribución de los datos de comportamiento es no normal, por lo cual se utilizaron pruebas estadísticas no-paramétricas.

Se utilizó la prueba de Friedman para comparar medias de la proporción del tiempo en diferentes estados y eventos de comportamiento entre etapas de un programa de enriquecimiento ambiental. La prueba de Spearman se usó para relacionar las variables de comportamiento con los valores promedio de los niveles de cortisol por etapas.

La prueba de Mann-Whitney se usó para comparar la proporción del tiempo en estados de comportamiento y niveles promedio de cortisol entre encierros simples y complejos.

Los valores promedio de cortisol en las tres etapas fueron comparados entre sí utilizando la Prueba de t de Student.

Se determinaron intervalos de confianza al 95 y 99% para expresar diferencias estadísticas ($p < 0.05$ y $p < 0.01$)

7. RESULTADOS

a) Comparación de conducta individual entre etapas.

Los valores de la proporción del tiempo promedio (\pm E.E.) dedicado a las diferentes categorías de conducta individual para todos los animales antes (etapa 1), durante (etapa 2) y después (etapa 3) del programa de enriquecimiento ambiental, se muestran en la figura 2.

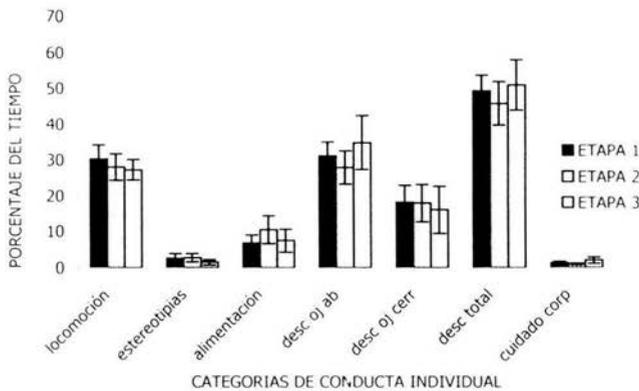


Figura 2. Comparación de la proporción del tiempo promedio dedicado a diferentes categorías de conducta individual registradas en osos negros cautivos (n=9 osos) en tres zoológicos diferentes durante tres etapas de observación. Las barras indican el promedio y las líneas el error estándar. Desc oj ab= descanso con ojos abiertos, desc oj cerr= descanso con ojos cerrados. Etapa 1 y 3 sin enriquecimiento ambiental del albergue, etapa 2 con enriquecimiento ambiental del albergue.

Los valores promedio (\pm E:E.) obtenidos de los tiempos destinados a los distintos comportamientos individuales de los sujetos en las diferentes etapas estudiadas están representados en el Cuadro 3.

Al comparar los tiempos de los distintos comportamientos individuales entre sujetos, pudimos observar algunas diferencias estadísticas. En lo que respecta a la alimentación se encontraron diferencias significativas entre las tres etapas estudiadas ($F=9.5$, $p < .01$). En el resto de las conductas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

Cuando se comparan pautas de comportamiento entre etapas por separado, únicamente en el caso de alimentación se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la etapa 1 y 2 ($Z=1.8$, $p < .05$). En el resto de los comportamientos estudiados, locomoción, estereotipia, cuidado corporal, descanso y fuera de vista, no se encontraron diferencias al hacer estas comparaciones ($p > .05$).

Cuadro 3

Comparación del promedio del tiempo destinado por los 9 ejemplares de oso negro a los diferentes estados de comportamiento durante las 3 etapas de estudio.

| Etapa de estudio | Proporción del tiempo \pm E.E. | | | | | | Fuera de vista |
|------------------|----------------------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------------|------------------------|-----------------|
| | Locomoción | Estereotipia | Alimentación | Cuidado corporal | Descanso ojos abiertos | Descanso ojos cerrados | |
| 1 | .307 \pm .039 ^a | .026 \pm .013 | .068 \pm .022 | .0140 \pm .003 | .312 \pm .04 | .182 \pm .047 | .093 \pm .033 |
| 2 | .280 \pm .037 ^b | .027 \pm .011 | .105 \pm .04 | .0102 \pm .0022 | .279 \pm .046 | .179 \pm .053 | .119 \pm .041 |
| 3 | .272 \pm .029 ^c | .016 \pm .007 | .075 \pm .032 | .020 \pm .008 | .349 \pm .075 | .161 \pm .066 | .107 \pm .053 |

^{a,b,c} Diferencias significativas ($p < 0.05$)

b) Comparación de medias entre etapas por individuo y conducta.

En cuanto a la pauta de conducta categorizada como locomoción, esta se realizó en una proporción similar por la mayoría de los osos en los tres zoológicos durante las tres etapas. En excepción de los osos 1,2 y 5 de los zoológico A y B respectivamente, que mostraron mayor actividad de locomoción, el oso 1 y 5 durante la segunda etapa y el oso 2 durante la tercera etapa respectivamente ($F=4.8, 7.2$ y $6.02, p<0.05$). (Apéndice II)

Si tomamos en consideración la diferencia individual entre etapas, el oso 1 macho del zoológico A, el oso 2 hembra del mismo zoológico y el oso 8 hembra del zoológico C, presentaron una disminución considerable en el tiempo fuera de vista durante la tercera y segunda etapa ($F=6.7, F=8.16$ y $F=5.9, p<0.05$) respectivamente.(Apéndice II)

En lo que respecta a la pauta de conducta de alimentación, se observa que el oso 5 presenta una tendencia a dedicar más tiempo a alimentarse durante la segunda etapa ($F=6.02, p<0.05$), a diferencia de los demás individuos que no presentan diferencias significativas. (Apéndice II)

A diferencia de los demás osos, la proporción del tiempo en la conducta de descanso del oso 6, macho del zoológico C, disminuyó durante la segunda etapa ($F=6.02, p<0.05$), al igual que las estereotipias en el oso 8 hembra del mismo zoológico ($F=7.4, p<0.05$). (Apéndice II)

Los demás osos no presentaron diferencia alguna en las pautas de conducta estudiadas.

c) Comparación de conducta social entre etapas.

Los valores de la proporción del tiempo promedio (\pm E.E.) dedicado a las diferentes categorías de conducta social antes (etapa 1), durante (etapa 2) y después (etapa 3) del programa de enriquecimiento ambiental, se muestran en la figura 3.

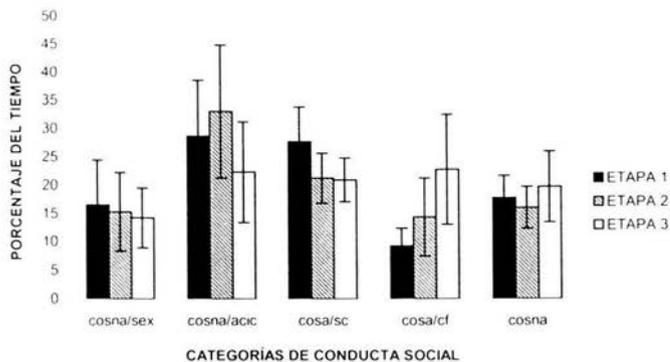


Figura 3. Comparación de la proporción del tiempo promedio dedicado a diferentes categorías de conducta social registradas en osos negros cautivos ($n=9$ osos) en tres zoológicos diferentes durante tres etapas de observación. Las barras indican el promedio y las líneas el error estándar. cosna/sex = conducta social no agonística sexual; cosna/acic = conducta social no agonística de acicalamiento; cosa/sc = conducta social agonística sin contacto; cosa/cf = conducta social agonística con contacto físico; cosna = conducta social no agonística de evasión. Etapa 1 y 3 sin enriquecimiento ambiental del albergue, etapa 2 con enriquecimiento ambiental del albergue.

Cuando se comparan pautas de comportamiento sociales entre etapas por separado, no se observó ningún cambio significativo en la conducta sexual, a diferencia de las conductas agonísticas con contacto físico donde se observó un aumento considerable de las mismas a lo largo del estudio. También se observó que los individuos se acicalaban con mayor frecuencia durante el periodo de enriquecimiento ambiental.

Al comparar los tiempos de los distintos comportamientos sociales entre sujetos, pudimos observar algunas diferencias estadísticas. En cuanto a la pauta de conducta categorizada como sexual, esta se realizó en una proporción similar por la mayoría de los osos en los tres zoológicos durante las tres etapas, a excepción de los osos 1 y 2 macho y hembra del zoológico A donde se observó una mayor actividad sexual durante la segunda etapa ($F=11.5$ y $F=9.7$, $p<0.01$) respectivamente. (Apéndice III)

También se observó que el oso 1, macho del zoológico A presentó diferencias significativas en la conducta de acicalamiento ($F=9.9$, $p<0.01$), siendo menor en la primera etapa que en la segunda y tercera. Esta tendencia, también fue observada en el oso 7, hembra del zoológico C ($F=5.56$, $p<0.05$).

Al realizar el análisis de las conductas sociales se pudo observar una diferencia significativa en lo que respecta a las conductas agonísticas en la mayoría de los individuos a excepción de los osos 3, 4 y 5 animales del zoológico B. Se observó que los osos 1,2,6,7 y 8, los dos primeros del zoológico A y los tres últimos del zoológico C, presentaron un cambio en la frecuencia de presentación de conductas agonísticas, ya que aumentaron la agresión sin y con contacto físico en la segunda o tercera etapa de estudio, oso 1 ($F=6.4$), oso 2 ($F= 6.9$ y $F= 7.27$), oso 6 ($F=5.14$ y $F= 7.57$), oso 7 ($F=7.19$) y oso 8 ($F=6.25$) respectivamente ($p<0.05$). (Apéndice III)

También se observó una tendencia a presentar con mayor frecuencia una conducta de evasión en los osos 1 y 2, ($F=7.35$ y $F= 7.9$, $p<0.05$) siendo mayor en la etapa tres. (Apéndice III)

Los osos 3, 4 y 5, animales del zoológico B y el oso 9 hembra del zoológico C, presentaron muy pocas interacciones con el resto de los individuos, no

observándose diferencias significativas entre las diferentes etapas en ninguna de las pautas de comportamiento medidas. (Apéndice III)

d) Comparación de conducta entre encierros simples y complejos

Cuando la proporción de tiempo en estados de comportamiento se comparó entre los diferentes encierros, mediante la prueba de Mann-Whitney, se encontraron algunas diferencias significativas. Se encontraron diferencias entre encierros en la actividad fuera de vista en la segunda y tercera etapa ($U = 0$, $P < .05$). En este caso, los animales en encierros complejos repetían con mayor frecuencia este comportamiento. También se observó que existen diferencias significativas entre tipos de encierro en el comportamiento de descanso con ojos cerrados durante la tercera etapa, ya que los animales que se encontraban en encierros complejos permanecían más tiempo en esta actividad ($U = 3$, $P < .05$). Finalmente se observó que en la primera y tercera etapa, los animales permanecían en descanso con ojos abiertos un tiempo mayor en aquellos encierros simples que en los encierros complejos ($U = 0$, $P < .05$). En el resto de los comportamientos, no se encontraron diferencias entre los encierros ($P > .05$). (Apéndice IV)

En los encierros simples, se observó, que los osos permanecían menor tiempo fuera de vista en la tercera etapa que en la primera y segunda etapa. También se observó que en los encierros complejos, los osos disminuyeron la proporción del tiempo en descanso con ojos cerrados durante la segunda etapa de estudio. (Apéndice IV)

e) Comparación de niveles de cortisol entre etapas.

Los niveles promedio de cortisol encontrados en cada individuo en las diferentes etapas bajo estudio se muestran en el Cuadro 4.

En lo que respecta a los niveles de cortisol en los diferentes osos, se pudo observar que en el caso de los osos 7 y 8 hembras del zoológico C hay presencia de niveles altos de cortisol en la primera y tercera etapa, disminuyendo éstos significativamente durante la segunda etapa (enriquecimiento ambiental ($F=4.6$ y $F=4.6$, $p<0.05$) respectivamente).

Para el caso de los osos 3 y 6, machos del zoológico B y C respectivamente, se observaron niveles bajos de cortisol durante la primera y tercera etapa, los cuales aumentan significativamente en la etapa dos (enriquecimiento ambiental) ($F=4.9$, $p<0.05$).

En el caso de los osos 1, 2, 4, 5 y 8 los niveles de cortisol se mantiene constantes, por lo cual, no hay diferencias significativas entre etapas para estos individuos.

Cuadro 4

Niveles promedio de cortisol encontrados en 9 ejemplares de oso negro (*Ursus americanus*), cautivos de 3 zoológicos diferentes.

| Individuo y Zoológico | # animal | Cortisol (ng/g) ± E.E. | | |
|----------------------------|----------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | Etapas 1 | Etapas 2 | Etapas 3 |
| Bernie Chapultepec | 1 | 32.08 ± 5.78 | 36.68 ± 8.84 | 36.66 ± 16.24 |
| Princesa Chapultepec | 2 | 26.05 ± 3.75 | 20.54 ± 2.57 | 15.76 ± 2.79 |
| Macho San Juan Aragón | 3 | 27.87 ± 11.07 ^a | 53.23 ± 25.82 ^b | 25.89 ± 2.38 ^c |
| Candelaria San Juan Aragón | 4 | 53.31 ± 8.97 | 48.63 ± 22.94 | 35.86 ± 14.55 |
| Monterrey San Juan Aragón | 5 | 28.41 ± 11.40 | 41.26 ± 11.54 | 46.82 ± 10.54 |
| Macho Africam Safari | 6 | 25.31 ± 3.31 ^a | 54.96 ± 34.25 ^b | 23.39 ± 5.01 ^c |
| Mocha Africam Safari | 7 | 78.86 ± 27.30 ^a | 23.68 ± 1.42 ^b | 60.53 ± 22.62 ^c |
| Amarilla Africam Safari | 8 | 59.87 ± 14.78 ^a | 29.27 ± 5.82 ^b | 54.86 ± 21.07 ^c |
| Negra Africam Safari | 9 | 20.03 ± 3.90 | 24.60 ± 18.19 | 54.87 ± 18.93 |
| Promedio | | 39.08 ± 6.69 | 36.98 ± 4.41 | 39.40 ± 5.26 |

^{a,b,c} Diferencias significativas ($p < 0.05$)

Al comparar los niveles promedio de cortisol entre las diferentes etapas de estudio, mediante la prueba de t de Student, no se observaron diferencias significativas.

f) Relación entre comportamiento y cortisol

No se encontró ninguna correlación significativa en ningún oso en ninguna de la etapas de estudio.

8. DISCUSIÓN

A la fecha no se han realizado otros estudios relacionados al comportamiento y medición de cortisol fecal en el oso negro (*Ursus americanus*), debido a ello, los resultados obtenidos en este estudio proveen información muy útil para un mejor entendimiento del comportamiento de estos animales bajo condiciones de cautiverio.

A manera de recordatorio, se observó una diferencia estadísticamente significativa en la conducta de alimentación durante la etapa 2 (de enriquecimiento). Se encontraron diferencias significativas entre los encierros en el comportamiento de descanso con ojos cerrados durante la tercera etapa. En el resto de los comportamientos, no se encontraron diferencias significativas entre los encierros ($P > .05$).

La diferencia en el tiempo destinado a la alimentación, nos hace suponer que esta conducta está relacionada al enriquecimiento, que gran parte de éste fue de tipo alimenticio, aunque si se analiza por separado a los individuos observamos que tanto los osos 1 y 2 del zoológico A como el 6, 7, 8 y 9 del zoológico C, el tiempo que destinaron a alimentarse no presentó una variación notoria, ya que no rebasó el uno por ciento de aumento, a diferencia de los osos 3, 4 y 5 del zoológico B, en los que el tiempo destinado a la alimentación aumentó de un diez a quince por ciento durante la segunda etapa. Puede deberse a la presencia de estímulos externos novedosos que al ser introducidos en un albergue de menores dimensiones, logran atraer la atención de los osos logrando un acercamiento a los objetos, los cuales en el caso particular de este albergue eran de tipo alimenticio, dedicándole mayor tiempo a explorarlo y finalmente ingerirlo. Esto nos indica que a pesar de que los osos han vivido la mayor parte de su vida en cautiverio, e incluso algunos han nacido ya cautivos, la motivación de exploración sigue presente en ellos, ya que en vida libre dedican más del setenta por ciento del

tiempo en alimentarse (Karistead *et al* 1991). Por otro lado, la diferencia tan notoria observada entre los encierros, hace suponer que este cambio está influenciado por el tipo de encierro en el que se encuentran, ya que mientras que los osos 3, 4 y 5 se encuentran en un espacio reducido, los osos 1 y 2 están albergados en un espacio más adecuado y los osos 6, 7, 8 y 9 cuentan con un espacio mayor y están en presencia de otras especies. Es bien sabido que los comportamientos funcionales pueden ser promovidos en animales en cautiverio, mediante el incremento de la complejidad física del ambiente y adoptando un sistema de alimentación que estimule todos los comportamientos alimenticios de la especie. La capacidad de una especie para responder con conductas de su repertorio natural a las condiciones de cautiverio depende de una compleja interacción de factores del desarrollo, experiencia y herencia, al igual que el grado en el que un ambiente de cautiverio se asemeje a su ambiente natural (Shepherdson 1994, Carlstead 1996, Poole 1998).

A pesar de que se aplicó un programa de enriquecimiento, no se observó una disminución significativa en el tiempo que dedicaban a descansar. Por el contrario, en la mayoría de ellos el descanso total se mantuvo inalterado y además, contrariamente a lo esperado, en algunos de ellos el descanso con ojos cerrados aumentó considerablemente en lugar de disminuir. Existen dos causas por las cuales se pueda presentar una inactividad en los individuos, la primera es que la falta de actividad puede explicarse como una estrategia adaptativa, ya que estos periodos pueden ser esenciales para necesidades primordiales como conservación de energía o evitar depredadores. Los animales ajustan sus patrones de actividad de acuerdo al costo de las diferentes actividades (Dawkins 1990), mientras que la segunda, nos indica un estado de inactividad total, debido a que el individuo pierde interés por el medio que lo rodea o bien entra en un estado narcótico que deprime su sistema ocasionando en los individuos un estado de apatía.

En este estudio se encontraron diferencias significativas en la proporción de algunos estados de comportamiento entre los diferentes encierros como fue el caso de descanso tanto con ojos abiertos como cerrados, así como en el tiempo que permanecieron fuera de vista. Una de las mayores diferencias entre tipos de encierros, es la posibilidad del animal para controlar el impacto de los estímulos recibidos a través de realizar ajustes conductuales (Carlstead 1993, Shepherdson *et al.* 1993), además los patrones de actividad motivados por el apetito y el patrullaje, pueden resultar demasiado rígidos y repetitivos en un albergue pequeño poco complejo (Carey y Farnsworth 1983, Lyons *et al.* 1997).

El hecho de que haya habido diferencias entre los tipos de encierro en lo que respecta al tiempo que los osos permanecían fuera de la vista. Esto se debe a que al tener un espacio mayor en los primeros, los animales tenían la oportunidad de resguardarse en zonas donde no eran detectados a simple vista, lo cual no era posible en los otros encierros, ya que el espacio con el que cuentan es mínimo y no presenta zonas donde esconderse y así quedar fuera de vista.

Al realizar un análisis por separado de cada individuo a lo largo de las tres etapas se obtuvieron algunos resultados interesantes. Por ejemplo en lo que se refiere al oso 1, macho del zoológico A, durante la segunda etapa, aumentó su conducta de locomoción, esto puede deberse al implemento del programa de enriquecimiento, el cual posiblemente despertó en él una actitud de búsqueda. Tal vez, el individuo dedica generalmente la mayor parte de su tiempo a descansar, debido a que el encierro en el que vive no cubre sus requerimientos y por tanto necesita estímulos ambientales nuevos. La disminución en la conducta fuera de vista durante la tercera etapa, puede ser una respuesta a los estímulos presentados durante la segunda etapa, ya que el individuo al haber estado sometido a un programa de enriquecimiento por un tiempo determinado, inicia una búsqueda de los estímulos presentados durante ese tiempo, una vez que este es suspendido totalmente, por lo cual, sale de su escondite donde permanece fuera

de la vista del público. Un programa de enriquecimiento ambiental, está dirigido a mejorar el ambiente en el que se mantienen los animales en cautiverio (Newberry 1994 y 1995), a través de una gran diversidad de técnicas de manipulación del entorno físico y social, logrando una mayor diversidad de conductas, disminución de conductas indeseables, aumento en el uso de espacio y de la manipulación de objetos y/o exploración a largo plazo (Chamove 1989).

Con respecto al oso 2, hembra del mismo zoológico, el aumento en locomoción y fuera de vista durante la tercera etapa, puede deberse a la suspensión total de estímulos durante ésta, después de encontrarse bajo un programa de enriquecimiento que estimula conductas de exploración. Al ser éste suspendido, es posible que el individuo haya aumentado su actividad locomotora, desplazándose incluso hacia zonas que casi no frecuentaba, tales como la fosa del albergue donde permanece fuera de vista del público, en busca de éstos. Una planeación e implementación apropiada de un programa de enriquecimiento ambiental puede contribuir a mejorar el bienestar y la salud animal a través de crear oportunidades para que puedan ejercer algún control sobre su ambiente (Hediger 1968, Chamove 1989, Newberry y Estévez 1997, Baer 1998), ya que el objetivo primordial es proporcionar al animal la oportunidad de elegir y presentar patrones conductuales apropiados para responder a los estímulos del entorno contribuyendo así a lograr un mejor nivel de bienestar (Seidensticker y Doherty 1996).

Se observaron cambios en las conductas individuales del oso 5, la menor de las hembras del zoológico B, que presentó un aumento en locomoción y alimentación durante la segunda etapa. Esto posiblemente se explique por la implementación del programa de enriquecimiento, ya que este individuo es el menor del encierro, una hembra joven, la cual aún se encuentra dentro de la etapa de aprendizaje y exploración, por lo cual, al momento de introducir nuevos estímulos en el albergue, éstos ocasionan que el individuo se active nuevamente.

Al encontrarse en un encierro que no cubre sus necesidades básicas, el individuo reacciona ante objetos novedosos que se le presentan, logrando así activar conductas deseadas en ellos. Los osos en cautiverio, son alimentados una vez al día, sin variación en ingredientes, presentación y horario, lo que se convierte en una rutina predecible para el animal, ya que no tienen que realizar esfuerzo alguno para adquirir el alimento y lo ingiere en un tiempo breve (Mellen 1998, Lindburg 1988, Shepherdson *et al.* 1993)

Es bien sabido que los comportamientos funcionales pueden ser promovidos en animales en cautiverio, mediante el incremento de la complejidad física del ambiente y adoptando un sistema de alimentación que estimule todos los comportamientos alimenticios de la especie. La variación en la dieta puede ser controlada mediante el ofrecimiento de alimento en diferentes tiempos y lugares, así como diferentes tipos de alimentos y porciones; aunado a esto la diversidad estructural del encierro, que se puede controlar estratificando los encierros mediante la diferenciación de tipos y niveles de vegetación como árboles, arbustos o hierva. Las barreras naturales proveen a los osos un lugar seguro donde evadir a los demás del encierro. Esto puede tener como resultado la disminución de comportamientos no deseados en los individuos (Agostino 1998, Hofer e East 1998, Van Dijk y Koene 1998).

Los osos 3 y 4, individuos del mismo encierro que el osos 5, posiblemente no reaccionaron al programa, debido a la edad ya que son individuos adultos y no tienen tan marcada la conducta de aprendizaje, o bien, los individuos han perdido el interés hacia estímulos externos, por lo que no respondieron satisfactoriamente al programa. La habilidad que tienen las diferentes especies e individuos para adaptarse o enfrentar condiciones de cautiverio con el repertorio conductual normal, depende de factores genéticos, experiencia, edad, sexo (Carlstead 1996)

En los osos 6, 7, 8 y 9 individuos del zoológico C, se observó, que la implementación de un programa adecuado es de gran utilidad, ya que activa conductas que habían comenzado a desaparecer y disminuye aquellas que son indeseables como es el caso de la inactividad y la aparición de conductas anormales. Esto se reflejó en una disminución de la conducta de descanso en el caso del oso 6, macho del encierro durante la etapa de enriquecimiento y una disminución en las estereotipias y de fuera de vista para el caso del oso 8, hembra del mismo encierro. Las conductas anormales, presentes en individuos mantenidos en cautiverio, son el resultado de factores relacionados con el ambiente durante su desarrollo y la falta de estímulos y espacios adecuados (Hediger 1968). Conductas estereotipadas, pueden ser un mecanismo para enfrentar el estrés ante la frustración desarrollada por no poder llevar a cabo otro tipo de conductas (Mason 1991).

En los demás osos del encierro no se observaron cambios en las conductas individuales, lo cual puede deberse a que son menos susceptibles a modificaciones del ambiente que aquellos que si las presentaron, o bien a que se encuentran en un estado de apatía tal que cualquier cambio adicional, no les afecta. Por otro lado, puede ser que esos individuos se encuentren adaptados totalmente a las condiciones actuales de encierro, lo cual trae como consecuencia la falta de respuesta a los nuevos estímulos del programa de enriquecimiento.

Se observó un aumento en el comportamiento sexual entre los osos 1 y 2, individuos del zoológico A, lo cual posiblemente se debió a que la hembra entró en época de celo atrayendo de esta manera al macho. Al principio la hembra no aceptó al macho, pero a mitad de la segunda etapa (enriquecimiento), la hembra fue receptiva, probablemente por haber entrado en etapa de estro. Sin embargo, no se tienen referencias bibliográficas alguna del comportamiento del ciclo estral, por lo cual no es posible asegurar lo anterior.

El aumento en las conductas agonistas en la hembra durante la segunda etapa se debe a que el macho, al percibir que ésta se encontraba en celo intentó montarla varias veces, provocando rechazo por parte de ésta, la cual respondió de manera agresiva, ya que cuando las hembras no son receptivas, agreden al macho para alejarlo. Se han descrito explosiones de agresividad como conducta redirigida a congéneres en situaciones de pérdida de control del miedo. (Carlstead 1996)

Las diferencias presentadas en la conducta de acicalamiento por parte del oso 1, macho del zoológico A durante la segunda etapa, pueden deberse al intento de acercamiento hacia el oso 2, hembra del mismo encierro al momento de iniciarse la época reproductiva, sin embargo, al obtener una respuesta agresiva por parte de ésta, respondió en principio con agresión verbal, observándose un aumento en la conducta de agresión por parte del oso 1, sin contacto físico. Finalmente, al no obtener respuesta sexual por parte del oso 2, el oso 1 optó por evadirlo, incrementándose esta conducta durante la tercera etapa. El oso 2, al no encontrarse en estado receptivo, inició con una respuesta agresiva, optando al último por evadir al oso 1, cuando éste no respondió a sus agresiones. Una posible explicación a las diferencias de actitudes observadas puede ser la diferencia de edades, ya que el oso 2, hembra del zoológico A es un animal adulto de más de 10 años, mientras que el oso 1, macho del mismo albergue es un animal joven que tiene entre 5 a 6 años. Es de suma importancia, el conocimiento de ciertas condiciones entre los individuos como familiaridad, dominancia o edad que pudieran ser la condicionante, o bien la flexibilidad en la capacidad de sociabilización de la especie (Lindburg y Fitch-Snyder 1994)

El bajo nivel de conducta sexual en los osos 3, 4 y 5 individuos del zoológico B se puede deber a que el oso 3, macho del albergue es un animal de edad adulta, a diferencia de las hembras. Estos animales al encontrarse en un encierro simple prefirieron dedicar mas tiempo a la alimentación durante la segunda etapa de

enriquecimiento, que a cualquier otra actividad, o también es posible que siendo el macho un animal de edad avanzada, pierda el interés en las hembras en celo.

Por último, las conductas de acicalamiento se observaron principalmente en el oso 6, macho del zoológico C y en el oso 7, hembra menor. En este caso los animales permanecían mayor parte del tiempo juntos, a excepción del período en el que otra de las hembras de este zoológico entró en celo, en el que el macho tuvo preferencia hacia ella, originando algunas conductas de agresión entre las hembras. Las diferencias observadas en la disminución de la conducta de agresión, con contacto físico en el oso 8 durante la segunda etapa puede deberse al inicio del ciclo estral en ésta, por lo que se volvió receptiva hacia el macho y dejó de agredirlo. Reynolds y Beechman (1980) sugieren que el grado de tolerancia puede relacionarse con la estructura de edades.

Por otro lado, en el oso 6 también se observó un cambio en la conducta de agresión con contacto físico, la cual aumentó durante la primera etapa y disminuyó durante la segunda etapa. Probablemente, esto fue una consecuencia de la suspensión, durante la primera etapa, del programa de enriquecimiento con el que normalmente cuentan en este zoológico. Así mismo, se observó un aumento en la frecuencia en la conducta de agresión sin contacto físico durante la segunda etapa, lo cual puede explicarse como un intento de alejar a otros individuos de la hembra en celo, o bien, a una actitud de defensa de los objetos o alimentos incluidos en el programa de enriquecimiento. En los animales confinados, los cambios en patrones de conducta agonísticas son una respuesta a factores de estrés (Moodie y Chamove 1990).

De forma general, se pudo observar una diferencia en la conducta de acicalamiento entre los encierros simples y complejos, ya que esta conducta está presente en todos los individuos de los encierros complejos, a diferencia de los encierros simples, donde esta conducta se observó escasamente. Esto puede estar

relacionado con el tipo de encierro, ya que al tener un mayor espacio donde moverse, los animales de encierros complejos no tienen la necesidad de pelear por el lugar, así que comparten parte de su tiempo realizando actividades de grupo, mientras que en los animales de encierros simples, el espacio es más reducido e incluso en ocasiones, tienen que pelear por el alimento ya que se sirve al mismo tiempo a todos.

Los animales mantenidos en albergues simples dedican mayor tiempo a estereotipias que aquellos que se mantienen en albergues complejos. Estudios sugieren que los ambientes más complejos pueden reducir conductas anormales y niveles de cortisol a través de proporcionar la oportunidad para desarrollar ciertos patrones conductuales de la especie (Mellen *et al.* 1998). Los animales que se encuentran bajo condiciones de estrés por periodos prolongados, presentan estereotipias y son asociadas con un sistema caracterizado por confinamiento reducido y un ambiente monótono, interpretadas como estrategias anormales para motivar la homeostasis en condiciones de confinamiento que distan de ser parecidos al medio natural en el que se desarrollan y donde la organización del comportamiento animal ha sido regulado por la evolución. Bajo condiciones de estrés crónico, no solo las estereotipias se desarrollan, sino también una serie de comportamientos como son reducción de la actividad, disminución del apetito y reducción de la reproducción (Lawrence y Jeffrey 1993). A la presencia de estas alteraciones en el comportamiento, se le atribuye el aumento en los niveles de cortisol.

Al analizar los niveles de cortisol entre los osos de los distintos encierros, se pudo observar una disminución considerable en los niveles encontrados en los osos 7 y 8, hembras del zoológico C, en la segunda etapa. Lo anterior se atribuye a que en esta etapa se dio el enriquecimiento, lo que mantuvo a estos animales ocupados en otra actividad, reduciendo la agresividad entre ellas; al no existir agresividad, los niveles de estrés disminuyen y lo mismo sucede con los niveles de

cortisol. Un animal que padece de estrés por tiempo prolongado, mantiene un incremento en las hormonas glucocorticoides (Breazile 1987).

La exposición a un estresor ya sea físico o social, produce una serie de procesos fisiológicos que llevan al animal a enfrentar o sobrevivir al estresor. Uno de los indicadores mas reconocidos en respuesta a un estresor es el incremento de la actividad hipotálamo-pituitaria-adrenal, y en conjunto el incremento de glucocorticoides circulantes y de la actividad del sistema simpático nervioso (Smith y French 1997) que se presentan dependiendo de las características específicas del estresor y de la manera en que el individuo responde a ellas. Por lo tanto, lo anterior permite suponer que cuando desaparece el estresor (agresión por parte del otro animal), esto favorece la reducción de los niveles de cortisol.

Por el contrario, en los osos 3 y 6, machos de los zoológico B y C respectivamente se encontró que los niveles de cortisol aumentaron considerablemente en la segunda etapa, disminuyendo nuevamente al finalizar ésta. Una posible explicación a este comportamiento es nuevamente la presencia de celo en las hembras, ya que el macho en encierro complejo pasaba la mayor parte del tiempo persiguiendo a las hembras y tratando de montarlas; se sabe que la adquisición de estímulos placenteros, como adquisición de alimento y el juego o cortejo, provocan un aumento de cortisol (Broom 1988, Dantzer 1994). Por el contrario, en el macho que se encontraba en confinamiento reducido se presentaron dos comportamientos no esperados, uno de ellos fue un aumento del tiempo en descanso con ojos cerrados (incremento del veinte por ciento) y el otro fue la presencia de estereotipias, las cuales aumentaron de un dos al diez por ciento del tiempo.

Sin embargo, como puede observarse, al comparar los valores promedio de cortisol en las tres etapas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Esto puede deberse a la variabilidad interindividual observada. Se

sabe que individuos de la misma especie, sexo y edad pueden diferir de manera notoria en la manera en que se enfrentan aparentemente con el mismo conjunto de estresores, por lo que es importante tomar en cuenta la edad, sexo y estado reproductivo. Otras de las causas a las que se atribuyen las diferencias individuales son diferencias genéticas, experiencias tempranas y eventos negativos (Manteca 1991).

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran la utilidad de los estudios de evaluación de las conductas, tanto sociales como individuales así como de la actividad adrenal en el oso negro. A su vez, la aplicación de técnicas no invasivas para la determinación de metabolitos de cortisol, puede brindar información valiosa sobre el bienestar de los individuos mantenidos en zoológicos

Los diferentes tipos de encierro, manejo, condiciones ambientales y capacidad de adaptación, influyen en los niveles de cortisol y en la conducta de los animales. La presencia de diversos tipos de comportamientos y problemas conductuales son proporcionales a las condiciones de bienestar reflejadas por las condiciones ambientales en las que se encuentran los individuos.

Es importante mencionar que en este estudio se presentaron algunas limitantes (tales como un número reducido de sujetos de estudio, alta variabilidad individual, diferentes tipos de encierro, desconocimiento de la edad exacta y su procedencia), la información obtenida en el presente estudio puede servir como punto de partida para profundizar en el conocimiento de la repercusión que tienen las condiciones ambientales de los encierros, en el comportamiento de los individuos.

De todo lo anterior, podemos concluir que, los animales mantenidos en albergues simples dedican mayor tiempo a estereotipias que aquéllos que se mantienen en albergues complejos, que las conductas de agresión presentadas en estos animales puede deberse al nivel de dominancia presente en cada individuo y

que el conocimiento de los efectos que puede tener un programa de enriquecimiento ambiental sobre el comportamiento de los animales es una consideración importante que debe tomarse en cuenta al mantener animales en cautiverio (Nimone y Dalziel 1992), ya que uno de los objetivos de los zoológicos al mantener poblaciones cautivas, en un futuro no muy lejano, es la reintroducción a su hábitat, por esta razón es de suma importancia el mantenimiento de la diversidad conductual de la especie (Carlstead y Shepherdson 2000).

También es importante reconocer, que el enriquecimiento ambiental, influye en el bienestar físico, mental y social de los animales en cautiverio, provocando beneficios sobre su salud. Debido a lo anterior, estos programas podrían ser vistos como un componente integral de los programas de medicina preventiva así como una estrategia en la participación de los zoológicos en la conservación de especies (Maple y Perkins 1996).

10. REFERENCIAS

1. Baer JF. A veterinary perspective of potential risk factors in environmental enrichment. In Shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M editors. Second nature, environmental enrichment for captive animals Washington Smithsonian Institution Press. (1998); 277-301.
2. Breazile JE. Physiologic basis and consequences of distress in animal. Journal of the American Veterinary Medical Association; 191:1212-1215 (1987).
3. Broom DM. The scientific assessment of animal welfare. Applied Animal Behavior Science: 20:5-19 (1988)
4. Brousset, DM (2003) 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 PhD UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 171p.
5. Brown J.L, Wasser SK, Wildt DE, Graham LH. Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasive in feces. Biology of Reproduction 51:776-786 (1994).
6. Calderón MNA, ETOLOGÍA Y MANEJO ANIMAL A.A. Capitulo Bogotá-Cundinamarca - Período 2002-2004. Bogotá – Colombia. Internet. (2002).
7. Carey S and Farnsworth RJ: The effect of environmental change on the behavior of confined African lions (*Panthera Leo*). J. Zoo Animal Medicine (1983); 14:98-102.
8. Carlstead K, Brown JL, Strawn W. Behavioral and physiological correlates of stress in laboratory cats. Applied Animal Behavior Science. 38:143-158 (1993)
9. Carlstead K, Effects of captivity on the behavior of wild mammals. In Kleiman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editors. Wild mammals captivity. Chicago Press 1996.
10. Carrera LJ. , Canales GE. Evaluación y estrategias de aprovechamiento del oso negro. Saltillo, Coahuila: 3-45 (1985).

11. CEMEX. Diversidad de Fauna Mexicana, Agrupación Sierra Madre, SC. México D.F.(1996).
12. Chamove AS. Environmental enrichment; a review. *Animal Technology* (1989); 40:155-178. -
13. Creel S Social dominance and stress hormones. *Trends in Ecology and Evolution*. (2001); 16(9): 491-497.
14. Dantzer R: Animal welfare methodology and criteria. *Review Science Technology. Off Int Epiz* (1994); 13(1): 291-302.
15. D Agostino J. Steroid metabolite as an indicator of chronic stress. 2nd International Symposium on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals Berlin, 7-10 October (1998).
16. Dawkins MS: From an animal's point of view: motivation, fitness and animal welfare. *Behavior and Brain Science*, (1990); 13, 1-9
17. Dehnhard M, Clauss M, Lechner-Doll M, Meyer HH, Palme R. Non-invasive monitoring of adrenocortical activity in roe deer (*Capreolus capreolus*) by measurement of fecal cortisol metabolites. *Gen Comp. Endocrinol* 123(1): 111-20 (2001).
18. Dirección General de Fauna Silvestre. Monografía del oso negro. SEDUE. (1983).
19. Fraser AF. Animal Suffering: The appraisal and Control of Depression and Distress in Livestock. *Applied Animal Behavior Science*; 20:127-133 (1988).
20. Genazzani, A.R., Perspectives on stress- induced amenorrhea. Stress and relates disorders from adaptation of dysfunction, the pathenon publishing group. New Jersey: 307-325 (1991)
21. Goyman W, Mostl E, Vant Hof T, East ML, Hofer H. Non-invasive fecal monitoring of glucocorticoids in spotted hyenas, *Crocuta crocuta*. *Gen Comp. Endocrinol* 114(3): 340-8 (1999)
22. Graham LH, Brown JL. Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for non-invasive monitoring of adrenocortical function in endangered fields. *Zoo Biology*: 15, 71-82 (1996)

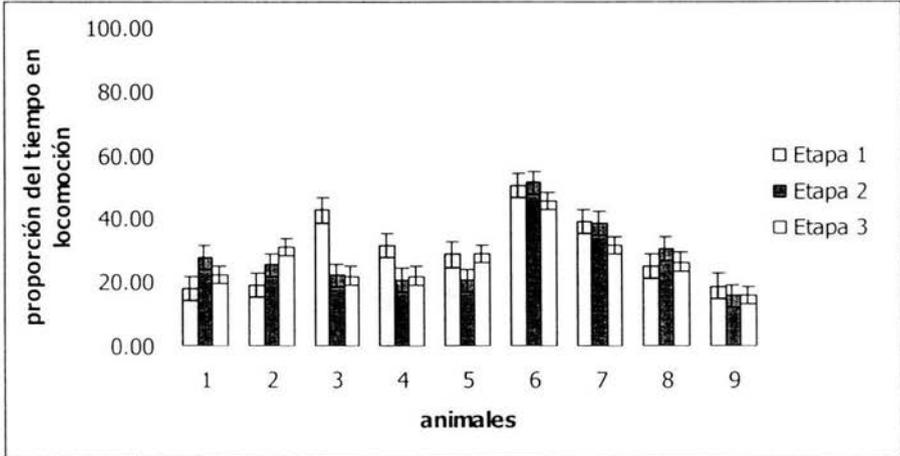
23. Hediger H. The psychology and behavior of animals in zoos and circuses New York Dover Publications. (1968)
24. Hofer H, East ML. Biological conservation and stress. 2nd International Symposium on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals Berlin, 7-10 October (1998).
25. Hosey GR. Behavioral research in zoos: academic perspectives. *Applied Animal Behavior Science*. (1997); 51:199-207
26. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Cuadernos estadísticos de la delegación Miguel Hidalgo y Gustavo A. Madero. México D.F.
27. Karistead K, Seidensticker J, Baldwin R. Environmental Enrichment for Zoo Bears. *Zoo Biology*; (1991); 10:3-16
28. Lawrence AB, Jeffrey R (Eds.) *Stereotypic Animal Behavior: Fundamentals and Applications to Welfare*. CAB International. Oxon, UK (1993).
29. Leopold SA, *Fauna Silvestre de México*. Ed. Pax-México: (1983); 467-473
30. Lindburg D. Improving the feeding of captive felines through the application of field data. *Zoo biology* (1988); 7:211-218.
31. 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.
32. Manteca J: Individual variation in behavior with particular reference to domestic animals. Dissertation M Sc in Applied animal behavior and animal welfare, The University of Edinburgh, Scotland, (1991).
33. Mason G and Mendel M Why is there no simply way of measuring animal welfare? *Animal Welfare* (1993); 2:310-319.
34. Mellen JD, Hayes MP, Shepherdson DJ: Captive environments for small felids. In shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M editors. *Second nature, environmental enrichment for captive animals*. Washington Smithsonian Institution Press, (1998); 184-201.
35. Moberg GP. Problems in defining stress and distress in animal. *Journal of the American Veterinary Medical Association* (1987); 1991:1207-1211

36. Monfort SL, Non-invasive Endocrine Measures of Reproduction and Stress in Wild Populations. In print
37. Moodie EM, Chamove AS. Brief threatening events beneficial for captive tamarins. *Zoo Biology* (1990); 9:275-286.
38. Nelson RJ. AN Introduction of Behavioral Endocrinology. Sinauer Associates, INC (2000); 557-591.
39. Nimon AJ and Dalziel FR. Cross-species interaction and communication: a study method applied to captive siamang (*Hylobates syndactylus*) and long-billed corella (*Cacatua tenuirostris*) contacts with humans. *Applied Animal Behavior Science*. (1992); 33:261-272.
40. Newberry RC, Estevez I. A dynamic approach to the study of environmental enrichment and animal welfare. *Applied Animal Behavior Science* (1997); 54:53-57.
41. Newberry RC. Environmental enrichment; bringing nature to captivity. Proceedings of the 28th International congress of the ISAE; (1994) August 3-6, Denmark. *International Society of Applied Ethology* (1994); 51-67.
42. Newberry RC. Environmental enrichment; increasing the biological relevance of captive environments. *Applied Animal Behavior Science* (1995); 44:229-243. Proceedings of the 28th International congress of the ISAE; (1994) August 3-6, Denmark. *International Society of Applied Ethology* (1994); 51-67.
43. Pastor OF., Peñate ML. Programa de Enriquecimiento Ambiental en las Instalaciones de Chimpancés del Zoo de Madrid. Internet. Madrid (1999).
44. Poole TB: Meeting mammal's psychological needs. In Shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M editors. *Second nature, environmental enrichment for captive animals*. Washington Smithsonian Institution Press, (1998).
45. Powell RA, Zimmerman JW, Seaman DE. Ecology and behavior of North American Black Bears. Chapman and Hall (1997).
46. Ramírez PJ, Briton MC, Perdomo A, Castro A. Guía de los mamíferos de México. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F (1986); 60-67

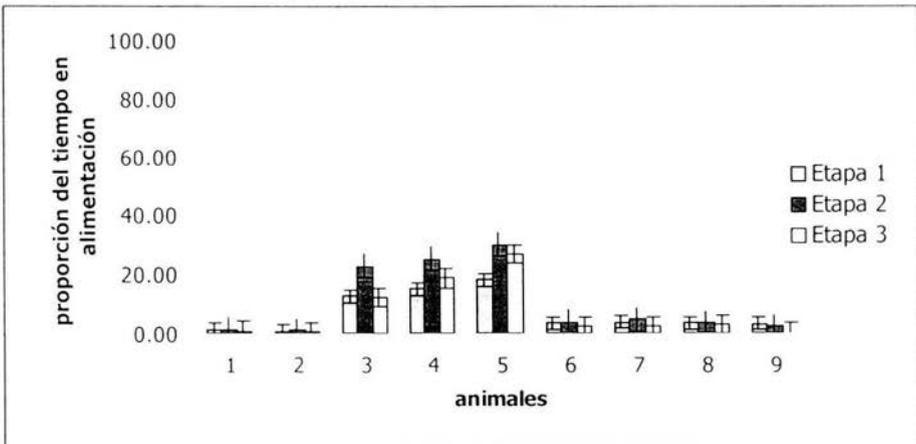
47. Ramsay M, Dunbrack RL. Physiological constraints on life history phenomena: the example of small bear cubs at birth. *American Naturalist*: (1986); 127:735-743
48. Seidensticker J, Doherty JG. Integrating animal behavior and exhibit design. In Kleim DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S editors. *Wild mammals in captivity*. Chicago Press (1996); 180-190.
49. SEMARNAP. Proyecto para la Conservación y Manejo del Oso Negro en México. México D.F. (1999).
50. Shepherdson D. The role of environmental enrichment in the captive breeding and reintroduction of endangered species. In Olney PJS, Mace GM, Feistner ATC editors. *Creative conservation; interactive management of wild and captive animals*. Chapman & Hal Press, (1994)
51. 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.
52. Smith TE, French JA. Psychosocial stress and urinary cortisol excretion in marmoset monkeys (*Callithrix kuhli*). *Physiology and Behavior* 62(2): 225-232 (1997)
53. Templin R. Stereotyped Movements in Zoo Animals. *Abstract Applied Animal Behavior Science* (1992); 33:381-388
54. Van Dijk JJ, Koene P. Ecological requirements: a necessity for conserving behavior in captivity. 2nd International Symposium on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals Berlin, 7-10 October (1998).
55. Wasser SK, Hunt KE, Brown JL, Cooper K, Crockett CM, Bechert U, Millspaugh JJ, Larson S, Monfort SL. A generalized fecal glucocorticoid assay for use in a diverse array of nondomestic mammalian and avian species. *Gen Comp Endocrinol* (2000); 120(3):260-75
56. Welchsler B. Stereotypes in Polar Bears. *Zoo Biology*; 10:177-188 (1991).
57. Wingfield JC, Hunt K, Breuner C, Dunlap K, Fowler GS, Freed L, et al. Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. In

- "Behavioral approaches to conservation in the Wild", Clemmons and Buchholts eds, Cambridges Univ Press. (1997); 95-131
- 58.. Wingfield JC and Ramenofsky M: Hormones and the behavioral ecology of stress. In stress physiology in animals. Balm PHM, Sheffield Academic Press-CRC Press England (1999); 1-41.
59. Yousef MK. Animal stress and strain: definition and measurements. Applied Animal Behavior Science. (1988); 20:119-126

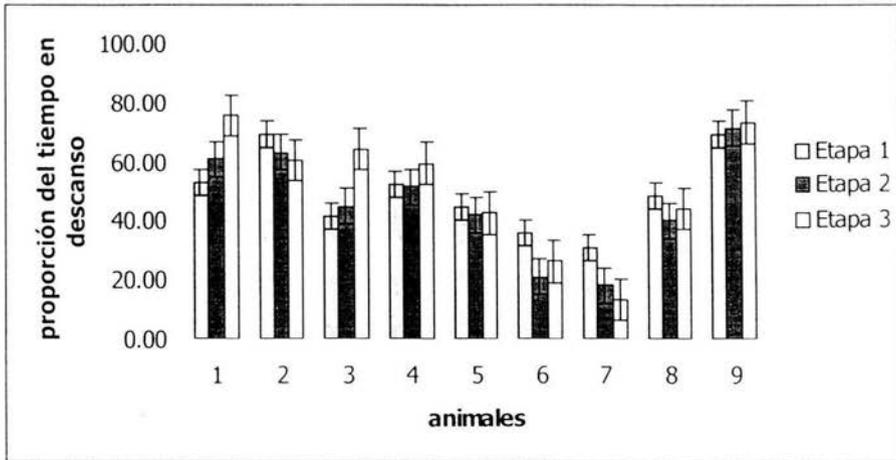
Apéndice II Porcentaje de tiempo en diferentes estados de conducta, observados en 9 ejemplares de osos negro (*Ursus americanus*) en tres zoológicos diferentes.



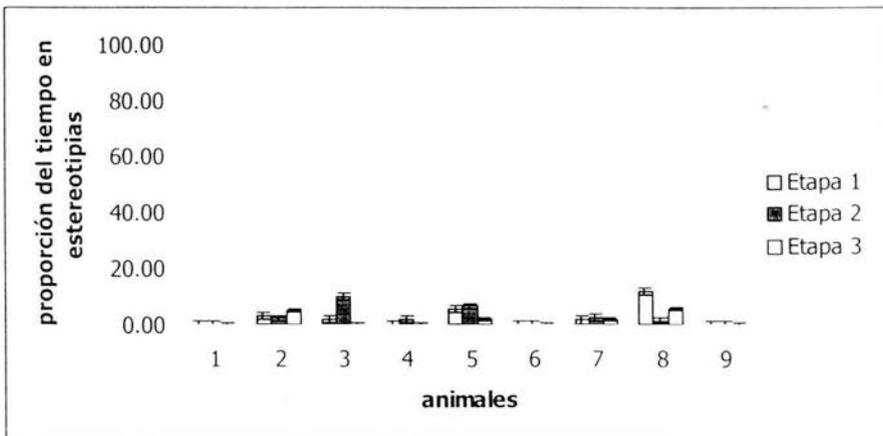
a) Porcentaje de tiempo \pm E.E. dedicado a locomoción en cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.



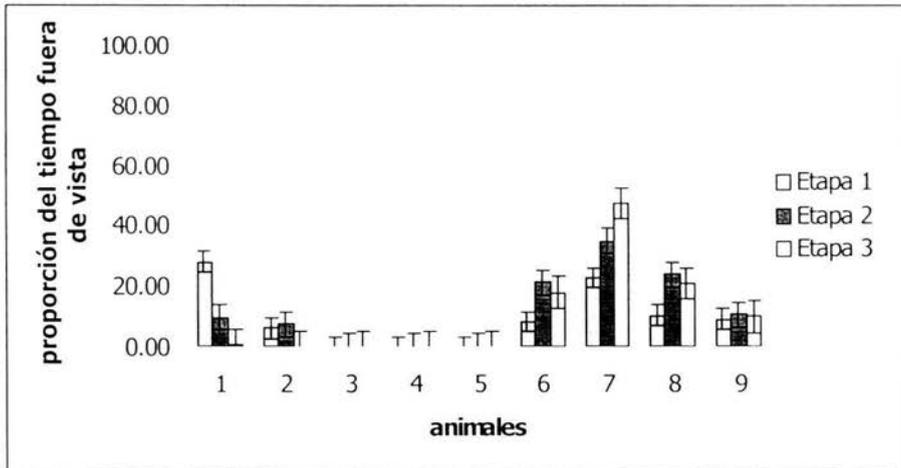
b) Porcentaje de tiempo \pm E.E. dedicado a alimentación en cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.



c) Porcentaje de tiempo \pm E.E. dedicado a descanso en cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.

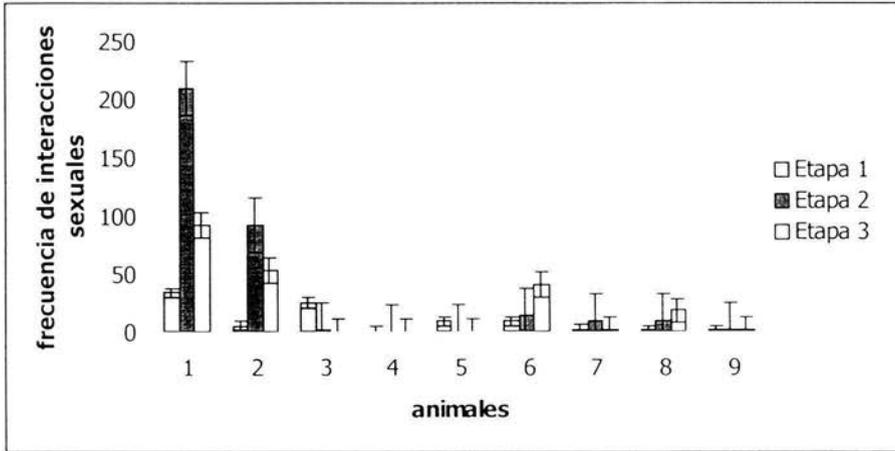


d) Porcentaje de tiempo \pm E.E. dedicado a estereotipias en cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.

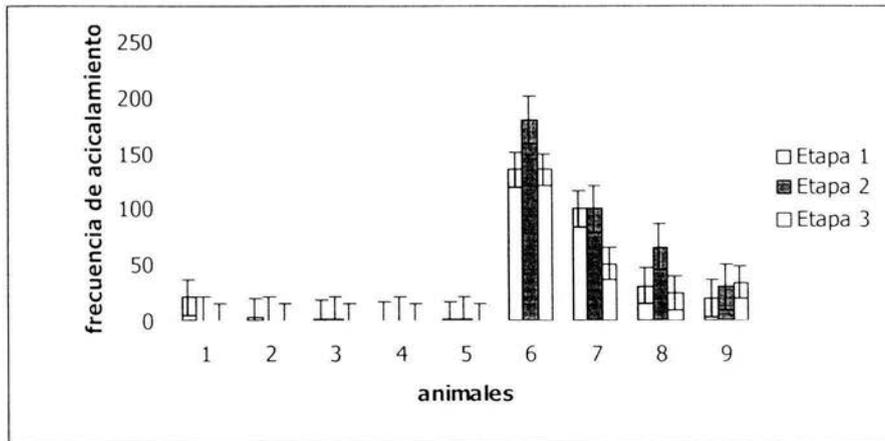


e) Porcentaje de tiempo \pm E.E. fuera de vista en cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.

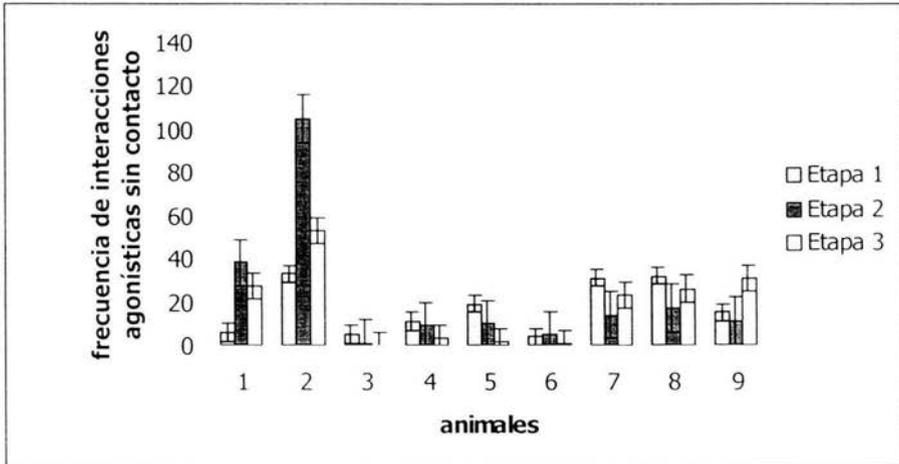
Apéndice III Frecuencia de eventos de conducta observados en 9 ejemplares de oso negro (*Ursus americanus*) cautivos en tres zoológicos diferentes.



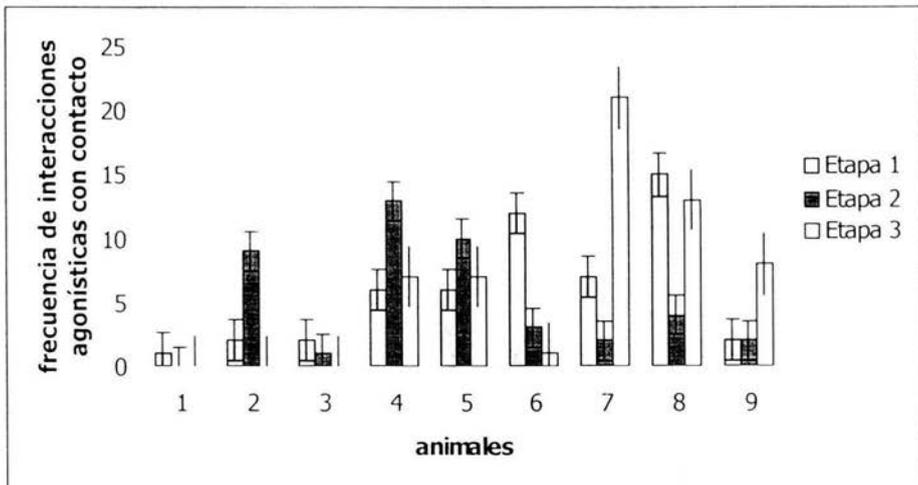
a) Frecuencia promedio \pm E.E. de interacciones sexuales de cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.



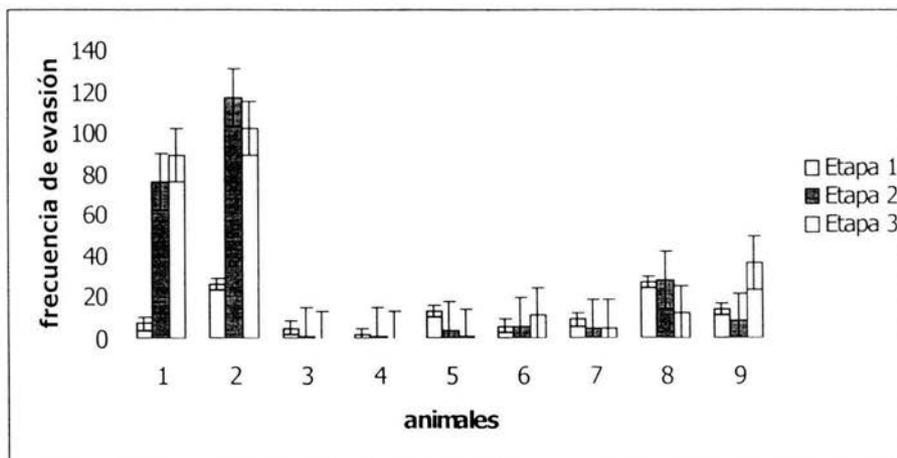
b) Frecuencia promedio \pm E.E. de acicalamiento de cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.



c) Frecuencia promedio \pm E.E. de interacciones agonísticas con contacto físico de cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.

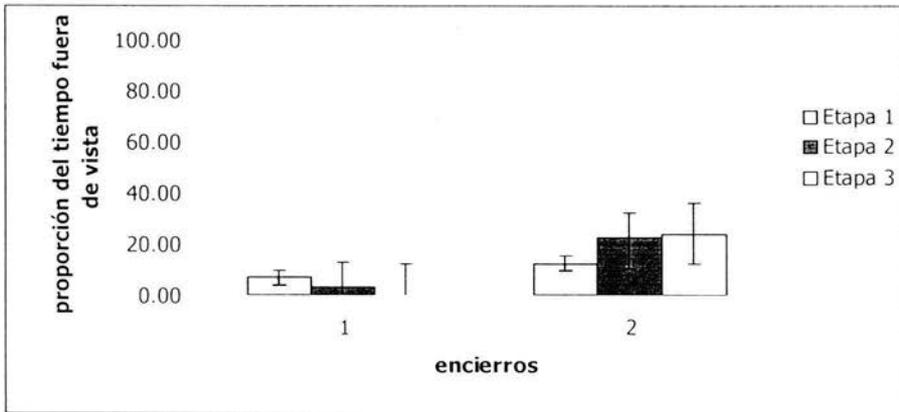


d) Frecuencia promedio \pm E.E. de interacciones agonísticas sin contacto físico de cada uno de los osos (n=9) en las tres etapas de estudio.

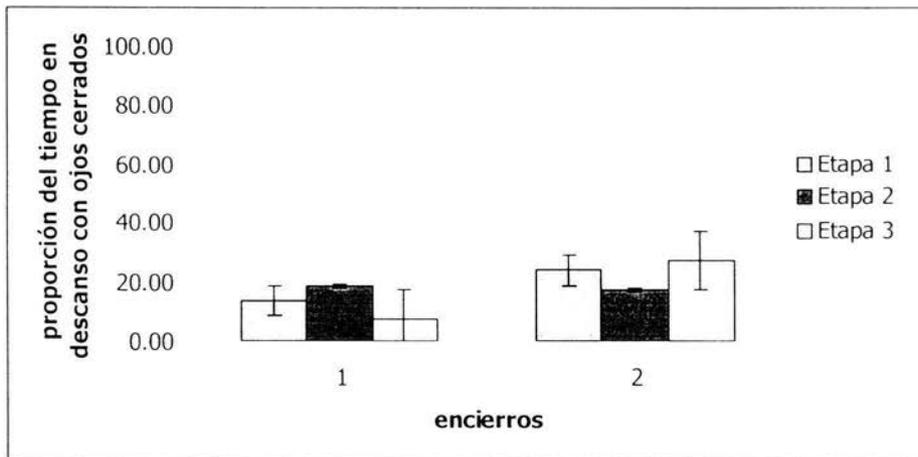


e) Frecuencia promedio \pm E.E. de evasión de cada uno de los osos ($n=9$) en las tres etapas de estudio.

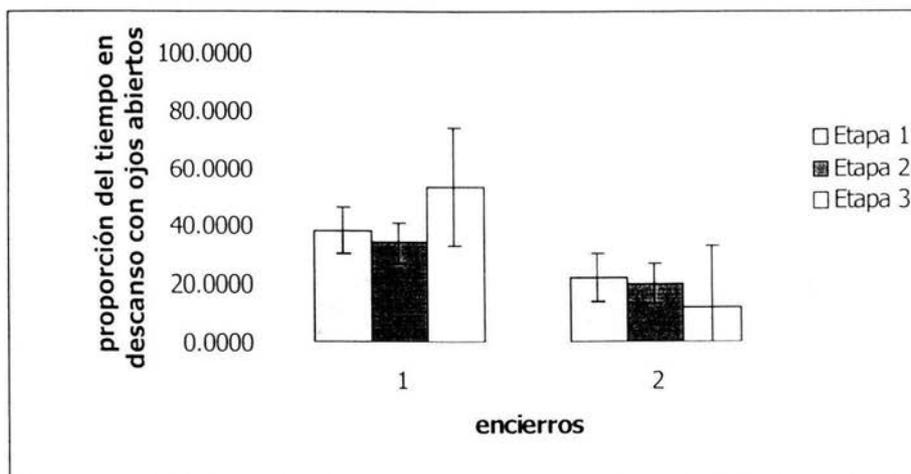
Apéndice IV Porcentaje de tiempo en estados de conducta por encierro, observados en 9 ejemplares de osos negro (*Ursus americanus*) en 3 zoológicos diferentes.



a) Porcentaje de tiempo \pm E.E. fuera de vista en encierros simples y complejos en las tres etapas de estudio.



b) Porcentaje de tiempo \pm E.E. en descanso con ojos cerrados en encierros simples y complejos en las tres etapas de estudio.



c) Porcentaje de tiempo \pm E.E. en descanso con ojos abiertos en encierros simples y complejos en las tres etapas de estudio.