



01674
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**EFFECTO DEL PÚBLICO SOBRE
COMPORTAMIENTO Y CORTISOL FECAL
EN EL LOBO MEXICANO (*Canis lupus
baileyi*) EN CAUTIVERIO**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS

PRESENTA

MARIA PIFARRÉ i OLIVÉ

TUTOR:
FRANCISCO GALINDO MALDONADO

COMITÉ TUTORAL:
CARLOS GONZÁLEZ-REBELES ISLAS
MARTA ROMANO PARDO

MÉXICO D.F.

2005

m 345712



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A vosaltres pares, per haver-me donat aquesta gran oportunitat, i als més trempats del món, en Ramon i en Jordi, heu estat sempre al meu costat!!!

A tota la gent estupenda de la facultat UAB, de Girona i rodalies, que no m'heu deixat desaparèixer així com així...
Sònia, Carla, Bernat i Oriol, gràcies per fer-me aixecar!

A todos mis queridísimos compañeros, colegas y amigos del departamento de fisiología de la Universidad de la República Oriental de Uruguay, Dr. Rodas, gracias por la semilla de la investigación.

A mis lobeznos: Carmen, Itandehui, Javi, Socórro, Martín y Oscar, y su manada, el trabajo también es vuestro.

A mis hermanísimos mexicanos, Roberto y Neto, de Videa Salvaje, y a tí, Beto, sois mi más valorado punto de apoyo.

Al Área de Etología del Africam, Gerardo y fabuloso grupo de estudiantes, compañeros y amigos, a todos los cuidadores y amigos del Africam, me disteis las ganas.

A los que me habéis hecho crecer como persona, amigos chilenos, colombianos, peruanos, mallorquins, bascos, cubanos, ticos, italianos, franceses, argentinos, venezolanos, brasileños, mexicanos y a tí, Alex.

A Canek, Nancy, Maria, Unahcú, Lishcán, Ximosehuit, Erandi, Fosca, Tasha, Joy, Esdrah, Jasna, Juancho, Viejita, Seewa y Ezequiel, con todo mi respeto y admiración.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a todo el personal de los zoológicos: Africam Safari, Chapultepec y San Juan de Aragón, sin su gran ayuda, nunca hubiéramos podido realizar la investigación.

Gracias a todos los compañeros y amigos del laboratorio de Fisiología del C.I.N.V.E.S.T.A.V., por toda la paciencia de enseñarme y aguantar las inundaciones, quemas y fugas del laboratorio.

Gracias a mis tutores, Carlos, Marta y Pancho, por haberme dedicado su valioso tiempo haciéndome sentir su apoyo en todo momento, como profesionales y como amigos.

Gracias a todos mis amigos del departamento de Etología y Fauna Silvestre, a todos mis amigos de maestría, a mis más cercanas confesoras...Claudia, Alba, Ceci, Clementina por haber seguido mis pasos en los más inverosímiles momentos.

Gracias por toda la ayuda y paciencia del personal de Posgrado de la F.M.V.Z. de la U.N.A.M. para poder realizar mis estudios.

Gracias al Biólogo Ricardo A. Valdés por su apoyo y supervisión en la realización de las determinaciones laboratoriales y a la dirección de la Dra. Marta Romano del departamento de Fisiología , Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV.

RESUMEN

El lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) es la subespecie genéticamente más distinta de los lobos grises y está clasificada como especie en peligro de extinción. Actualmente la mayoría de los ejemplares se encuentran ubicados en zoológicos, donde se realiza el programa binacional, México y U.S.A., para su conservación. La ausencia de una adecuada estimulación y la presencia de los visitantes han sido considerados como factores de estrés en animales de zoológico. El efecto del público es un factor de estrés subestimado en muchas especies de mamíferos, y se sabe que la existencia de estrés crónico implica un nivel pobre de bienestar animal. Es de resaltar que estudios anteriores al respecto no relacionan indicadores fisiológicos y conductuales de estrés.

En el presente estudio^{EE} ha evaluado el impacto de la presencia del público sobre el bienestar de los lobos mexicanos en cautiverio. Para ello se midió el comportamiento y los niveles de cortisol fecal de lobos mexicanos en tres zoológicos en días de alta y baja afluencia de público. Se observó que en los días de más afluencia de visitantes, los lobos permanecen más tiempo echados, escondidos y presentan menos locomoción ($p < 0.05$). En estos días también hay más encuentros agonísticos y un aumento de conductas redirigidas y estereotipadas con respecto a días de baja afluencia ($p < 0.05$). Los niveles de cortisol fecal fueron mayores en días de alta afluencia ($p < 0.01$) y se encontró una correlación positiva entre cortisol y la frecuencia de acicalamiento ($R_s = 0.8$, $p < 0.05$).

Estos resultados indican que el público visitante puede ser un factor de estrés para el lobo mexicano, lo que es indeseable para la conservación de una especie en peligro de extinción. A futuro es necesario realizar este tipo de estudios en especies de carnívoros susceptibles al estrés crónico en cautiverio.

Palabras clave: Lobo mexicano, bienestar animal, cortisol fecal, comportamiento, zoológicos, conservación.

ABSTRACT

The Mexican wolf (*Canis lupus baileyi*) is the subspecies that differs more genetically from other gray wolves and it is classified as endangered. Currently, most of the individuals of this species live in zoos of Mexico and the U.S.A., that are part of a binational conservation program. Lack of suitable environmental stimulation and the presence of visitors had been considered as stress factors in zoo animals. Zoo visitors is a underestimated factor of stress in many species of mammals, and the existence of chronic stress implies a poor level of welfare. It is relevant that there are no previous studies that relate physiologic and behavioural indicators of stress.

In this study we assessed the impact of zoo visitors on the welfare of Mexican wolves kept in three zoos by measuring their behaviour and faecal cortisol during the days with high and low visitor affluence. During the days of more visitor affluence wolves spent more time lying, hiding and less time in locomotion ($p < 0.05$). Also, during these days there were more agonistic encounters and there was an increase of redirected behaviours and stereotypies than during the days with low public affluence ($p < 0.05$). Faecal cortisol levels were higher during the days of high visitor affluence ($p < 0.01$) and there was a positive correlation between these levels of cortisol and the frequency of grooming ($R_s = 0.8, p < 0.05$).

These results indicate that visitors can be a stress factor for Mexican wolves which is undesirable for the conservation of this endangered species. In the future is necessary to carry out studies like this in other carnivore species that can be suitable to chronic stress in captivity.

Key words: mexican wolf, animal welfare, faecal cortisol, behaviour, zoo, conservation.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Lobo Gris Mexicano (<i>Canis lupus baileyi</i>): especie en peligro de extinción	1
1.2. Biología del Lobo Gris Mexicano	3
1.3. Función de los zoológicos en la conservación	4
1.4. Motivación del comportamiento y conductas anormales	8
1.5. Fisiología del estrés	10
1.6. Relación entre comportamientos anormales y la fisiología del estrés.	13
1.7. Presencia humana como factor de estrés	16
1.8. Evaluación de problemas de bienestar a largo plazo	18
1.9. Justificación	22
II. HIPÓTESIS	23
III. OBJETIVOS	23
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	24
4.1. Localización y sujetos	24
4.2. Medición del comportamiento	25
4.3. Medición de la actividad adrenocortical	27
4.4. Análisis estadístico	29
V. RESULTADOS	30
5.1. Comportamiento	30
5.2. Actividad adrenocortical	32
5.3. Relación de las pautas de comportamiento con la actividad adrenocortical	33
VI. DISCUSIÓN	35
6.1. Efecto del público sobre el comportamiento	36
6.2. Rango de valores de cortisol fecal en lobo mexicano	40
6.3. Efecto del público sobre la respuesta adrenocortical	42
6.4. Relación de las pautas de comportamiento con la actividad adrenal	44
6.5. Comentarios finales	45
VII. REFERENCIAS	47
VIII. APÉNDICES	63
APÉNDICE I. Catálogo de conductas evaluadas para el lobo mexicano	
APÉNDICE II. Planilla de observaciones utilizada en el lobo mexicano	
APÉNDICE III. Distribución de público a través de la semana	
APÉNDICE IV. Relación de animales y albergues	
APÉNDICE V. Porcentaje de tiempo en estados de conducta	
APÉNDICE VI. Frecuencia de eventos de conducta	
APÉNDICE VII. Concentraciones de cortisol fecal	

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Lobo Gris Mexicano (*Canis lupus baileyi*): especie en peligro de extinción

México es considerado uno de los países con mayor diversidad biológica a nivel mundial pero a raíz de diversas actividades humanas, su riqueza está siendo reducida a un grado que muchas especies se encuentran en vías de extinción. Es por eso que en muchos casos se están desplegando acciones conservacionistas para evitar la desaparición de poblaciones silvestres.

El lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) habitaba en tierras mexicanas desde hace muchos siglos. Era considerado por los teotihuacanos (s.VII) como una deidad, *Xólotl* dios canino, y se le relacionaba en las ceremonias con el ciclo diario del sol y el espacio nocturno (Valádez *et al.*, 2002). La desaparición del lobo mexicano de su hábitat inició desde el siglo XV, pero el peor período fue el comprendido entre las décadas del 1950 y 1960. El lobo era considerado por los ganaderos como el depredador más importante de ganado en México y Estados Unidos (INE, 1994). En 1893 se ofrecieron las primeras recompensas oficiales por lobo muerto y en 1914 empezó un programa de erradicación oficial con el establecimiento del "Predatory Animal and Rodent Control". En los años 50, con base a la problemática ganadera observada, los dos países firmaron en Nogales unos acuerdos para combatir a los depredadores de ganado. La Oficina Sanitaria Panamericana implementó un programa de erradicación del lobo mexicano basado en la caza, trampas y destrucción de madrigueras, pero las acciones más eficaces que mermaron definitivamente las poblaciones fueron la utilización de venenos como estriquina y el compuesto 1080 (monofluoroacetato de sodio). Con ello la población descendió a niveles alarmantes y en 1950 los estados de Arizona, Nuevo México y Texas, se declararon estados "libres de lobos", en 1970 fue cazado el último lobo del estado de Texas (McBride, 1980).

En 1975 se vio la importancia de conservar genéticamente a la especie, y en los años 1977-1980 se establece "*El Plan de Preservación de Especies*" en el que participaban la Asociación de Zoológicos de América y el "United States Fish and Wildlife Service". Durante esos años se capturaron los últimos seis lobos en libertad para entrar en un programa de reproducción. En 1982 se estableció un convenio entre México y Estados Unidos formándose el "Mexican Wolf Recovery Team" y se instaura *El Plan de Recuperación del Lobo Mexicano*. En este plan se contempla la reproducción *ex-situ* para una posterior reintroducción y repoblación de zonas aptas para la conservación de la subespecie (INE, 1994). A partir del 1988 México inicia sus propios esfuerzos para reproducir el lobo mexicano en cautiverio, con la llegada de diversas parejas reproductoras procedentes de E.U.A.

Más actualmente no sólo es una especie en peligro de extinción, se puede decir que ya está extinta del medio silvestre. Sobrevive únicamente representado por algunos pocos ejemplares que se encuentran en cautiverio en zoológicos y reservas de reciente reintroducción (Bernal y Packard, 1997). Cabe mencionar que todos los individuos descienden de unos pocos animales que fueron capturados en los años 70, cosa que conlleva a que actualmente exista un alto grado de endogamia y un difícil manejo reproductivo. Está clasificado bajo la categoría de especies "probablemente Extintas del medio silvestre" según la norma oficial mexicana NOM-059-ECOL-2001 (Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión o cambio. Lista de especies de riesgo), y se encuentra, desde 1975, en el Acta de Especies en Peligro de Extinción (Mech, 1982). Esta subespecie fue declarada como "la necesidad de más alta prioridad para la conservación de lobos en todo el mundo" (Busch, 1995) .

La creciente preocupación por recuperar, proteger y conservar la diversidad biológica de México ha hecho que el Gobierno haya dado preferencia a ciertas

especies nacionales, dándoles el nombre de prioritarias. Estas especies son aquellas que han sido seleccionadas por estar incluidas en alguna categoría de riesgo reconocida internacionalmente; por la facilidad de recuperarla y manejarlas; o por ser especies paraguas, es decir, que producen un efecto de protección indirecta que permite conservar a otras especies y su hábitat, o por ser especies carismáticas y poseer un valor cultural o económico (Semarnap, 2000). El lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) tiene todas estas características, es por eso que es una especie prioritaria para el país.

1.2. Biología del Lobo Gris Mexicano

Entre las 34 especies de la familia *Canidae*, la especie *Canis lupus* es la más grande de todas ellas. La subespecie *Canis lupus baileyi* es una de las 14 más aceptadas ya que es la subespecie genéticamente más distinta de los lobos grises (García-Moreno *et al.*, 1996). Habitaba en los bosques montañosos húmedos y templados, y se vio siempre relacionado con zonas de agua abundante y buena densidad de ungulados. Aunque es un animal que también se adaptaba a las porciones semiáridas del desierto central de México (Servín, 1991). Se distribuyó históricamente desde el sur de E.U.A. hasta la Cuenca de México. Su longevidad es de 15 años en cautiverio, y en estado silvestre, aunque no se ha determinado del cierto, se dice que alcanza a vivir entre 8 y 9 años. El período reproductivo se presenta en la segunda semana de enero a la tercera de abril, y los eventos reproductivos más exitosos se concentran entre las dos últimas semanas de febrero y la primera de marzo. Su tiempo de gestación es de 63 días y cada camada consta de 1 a 9 cachorros, aunque se está viendo que en cautividad tienden a ser más reducidas, y la proporción macho:hembra tiende a ser 1:1 (Semarnap, 2000).

Su comportamiento social está bien definido y tiene como unidades sociales básicas núcleos familiares más pequeños que otras subespecies de lobos, estos núcleos son formados por una pareja y sus crías, que abandonan la

manada a los pocos años de edad. Se establecen relaciones jerárquicas estrictas dentro de las manadas familiares, este tipo de estructuras facilitan la caza cooperativa, pero para ello los adultos deben invertir mucho tiempo en la enseñanza de ciertas técnicas de cacería a los cachorros. Las parejas de adultos son de por vida, aunque actualmente, debido a la depresión endogámica que está sufriendo la especie, se hace imposible conservar este carácter. Se ha visto que el trabajo cooperativo contribuye al éxito reproductivo de las parejas y se sugiere que la experiencia y la capacidad de aprendizaje son igualmente importantes en la cría de los cachorros (Servín,1997). Es por eso que es de gran importancia para la reintroducción conservar las conductas típicas entre generaciones nacidas en cautiverio (Carlstead y Shepherdson, 2000).

1.3. Función de los zoológicos en la conservación

En el programa de conservación del lobo mexicano se han establecido estrategias "*in-situ*" y "*ex-situ*", éstas últimas son de vital importancia dado que hay pocos ejemplares en libertad y son de reciente introducción. Los zoológicos tienen una responsabilidad enorme en este tipo de especies que se han extinguido de su hábitat natural y en las que ahora solo existen poblaciones en cautiverio (Kreger *et al.*, 1998). Los zoológicos son los que tienen un papel crucial para preservar la diversidad genética de la especie y viabilidad para su reintroducción. Se ha sugerido que para dar oportunidad a la supervivencia de la especie en vida libre, es necesario mantener en cautiverio poblaciones conductualmente intactas (Wiese y Hutchins, 1994). Actualmente los zoológicos se están encontrando con el reto de superar una tasa reproductiva baja y un alto grado de consanguinidad en esta especie (Semarnap, 2000), así como de proveer de condiciones adecuadas para que se expresen comportamientos típicos de la especie.

Desde tiempos prehispánicos existen los zoológicos, pero sus funciones han ido evolucionando a lo largo de los siglos. Al principio de su creación, eran sitios de exhibición de especies exóticas y de recreación para las personas que los visitaban. En la actualidad son centros de investigación y educación que se han convertido en una gran herramienta para la conservación (Shepherson, 1998; Hutchins *et al.*, 2003). De hecho, la Asociación Americana de Parques y Acuarios (AAZPA) declara que la misión más importante de los zoológicos es la conservación, es por eso que los mayores esfuerzos de la investigación van encorados a estudios prácticos de especies en peligro de extinción (Kleiman, 1992).

En especies consideradas en grave peligro de extinción, como el lobo mexicano, donde es necesario un incremento rápido del número de individuos para la recuperación de la especie, es necesario que los ejemplares estén bajo cuidados específicos (Kleiman, 1980). Los programas de medicina preventiva, manejo reproductivo y clínico que ofrecen los zoológicos hace que estos centros sean lugares de elección para albergar estos animales. Es por esto que los zoológicos desempeñan una función muy importante en la reproducción *ex-situ* de especies en peligro de extinción (Shepherdson, 1998). Pero el papel de la conservación *ex-situ* tiene importantes limitaciones. Por un lado los programas de reproducción no son tan exitosos como se desearía debido a la disminución de la variabilidad genética, depresión endogámica (Campbell, 1980) y a cambios de la estructura física y social de las especies en cautiverio (Kleiman, 1980). Como consecuencia del número restringido de animales que pueden albergar los zoológicos y de los pocos organismos fundadores de la población cautiva, éstos individuos son también una muestra reducida y sesgada de la diversidad genética y conductual de la especie (Cuarón, 2004). Asimismo, con estos programas se favorece la selección artificial (Frankel y Soulé, 1981), con las consecuentes repercusiones que tendrá la especie al readaptarse al medio con el que no co-evolucionó (Conway, 1980). Para crear un lazo entre la conservación *ex-situ* e *in-situ* es necesario que entendamos los efectos que tiene el ambiente de los zoológicos sobre el comportamiento de

los animales silvestres, no es suficiente con la creación y el mantenimiento de una variabilidad genética, también es necesario que se produzcan y mantengan animales conductualmente compatibles con un estado de libertad (Seidensticker y Forthman, 1998).

Debemos tener en cuenta que los lobos mexicanos a pesar de estar en cautiverio son animales silvestres, es decir, animales no domésticos. El proceso de domesticación es una combinación entre cambios genéticos ocurridos a lo largo de varias generaciones y mecanismos de desarrollo (Price, 1999). Debido a que el cautiverio de estos lobos es relativamente reciente, no han evolucionado con el hombre y por lo tanto no presentan un fenotipo doméstico. Con ello, se ven obligados a intentar enfrentar una situación de cautiverio a la que no están genéticamente preparados (Tennessen, 1989). Se ha dicho que por este motivo el éxito de los programas de conservación *ex-situ* de especies de mamíferos mayores (carismáticos) no es el esperado (Campbell, 1980; Cuarón, 2004), y se han propuesto alternativas, posiblemente más viables, de proyectos de conservación *ex-situ* en pequeños mamíferos que también se encuentren en peligro de extinción. Con todo, hace falta más información para valorar cuál es la situación de cautiverio que tienen que enfrentar las diferentes especies y cuales son los factores que afectan al éxito de estos programas.

La habilidad que tienen las diferentes especies para adaptarse o enfrentar condiciones de cautiverio con el repertorio conductual normal, depende de factores genéticos, experiencia y el grado de semejanza de su albergue a su hábitat natural (Carlstead, 1996). El cautiverio proporciona a los animales silvestres un ambiente que difiere mucho del medio en el que se han desarrollado (Carlstead, 1996), por esa razón muchos de ellos se ven incapacitados a adaptarse a las condiciones de confinamiento (Dawkins, 1990). Esto hace que muchos de los animales de las colecciones zoológicas presenten alteraciones de conducta. Lo cual hace suponer que las condiciones de confinamiento no son, en muchos casos las más óptimas (Shepherson,

1998). En lobo gris (*Canis lupus lupus*) se han hecho estudios del efecto del albergue sobre su comportamiento (Kreeger *et al.*, 1996; Frézard y Le Pape, 2003) donde se tomaron en cuenta variables como complejidad del medio y dimensiones del exhibidor. La manipulación de algunos factores biológicos como la complejidad del albergue, tamaño de grupo, ciclos de luz, entre otros, ha sido muy importante para la identificación de algunos recursos necesarios para la supervivencia y reproducción de las especies (Kleiman, 1992).

Se debe tener especial cuidado con los efectos a largo plazo del cautiverio sobre el comportamiento cuando la finalidad de los animales confinados es la recuperación de aquellas especies que se encuentran en peligro de extinción (Kleiman, 1992). La reintroducción de animales que han crecido en cautiverio es una herramienta para conservar la biodiversidad, pero los efectos del cautiverio sobre los comportamientos, no están bien definidos, siendo muy variables en cada especie (Castro *et al.*, 1998). De hecho se ha criticado bastante la reproducción en cautiverio porque posiblemente se pierdan, durante el cautiverio, comportamientos presentes en estado silvestre y los ejemplares no puedan sobrevivir en libertad (Bendiner, 1981; en Carlstead 1996). Algunos de los cambios conductuales debido al cautiverio que repercuten en la reintroducción son: incapacidad de aparearse, de criar a los cachorros, de cazar o forrajear, de escapar de depredadores y la pérdida del miedo a los humanos (Frankel y Soulé, 1981). Aunque se ha visto que las diferencias conductuales de los animales de zoológicos en comparación con los de libertad son más cuantitativas que cualitativas (Carlstead, 1996).

Uno de los principales objetivos de los zoológicos es promover el bienestar de los animales, para que éstos se puedan desarrollar sanos y expresando conductas naturales, ya que ello promueve el éxito de programas de reproducción y conservación de especies (Rivera *et al.*, 2003). Los programas de investigación y bienestar animal en zoológicos se han desarrollado de manera significativa, lo que hace vislumbrar un buen futuro para el manejo de los mamíferos en cautiverio como poblaciones reproductivas (Carlstead, 1996).

Actualmente los zoológicos aplican diversas estrategias para mantener conductas compatibles con la reintroducción, por lo tanto es importante desarrollar trabajos de investigación enfocados a cuantificar los efectos de las variables ambientales en el cautiverio sobre el comportamiento (Shepherdson, 1998).

Desde el momento en que los proyectos de recuperación se apoyan en los zoológicos, éstos deben de convertirse realmente en centros donde las necesidades de los animales se vean totalmente cubiertas y así alcanzar niveles óptimos de salud, reproducción y comportamiento y lograr maximizar el éxito de los programas de conservación (Reade y Waran, 1996). Para ello, y debido también al creciente interés por el bienestar de los animales, se han llevado a cabo estudios para evaluar las relaciones entre respuestas fisiológicas y el comportamiento en diferentes ambientes, con objeto de identificar factores de estrés en animales cautivos en zoológicos (Carlstead *et al.*, 1992,1993).

1.4. Motivación del comportamiento y conductas anormales

La motivación es el conjunto de factores internos y externos que contribuyen a que el animal se comporte de una manera en particular (Manning y Dawkins, 1992), en otras palabras, la motivación es el deseo del animal a realizar cierta conducta. El sistema neuroendocrino, reloj interno y la experiencia, así como los estímulos externos que percibe el animal, influyen en la decisión del comportamiento a realizar en cada situación. Un animal en vida libre es capaz de controlar la cantidad de estímulos que lo rodean ajustando su comportamiento a ellos, pueden explorar, atacar, escaparse, perseguir, evitar o esconderse de los estímulos que sobrepasan un nivel aceptable. Pueden controlar su microclima moviéndose de sol a sombra, o pueden satisfacer su motivación apetitiva buscando activamente comida, refugio o montas (Carlstead, 1996).

En situaciones donde los animales se ven incapacitados de realizar patrones de comportamiento fuertemente motivados, aparecen en su lugar conductas anormales (Mason, 1991). Se describen como anormales aquellas conductas que no aparecen en situaciones de libertad (Mason, 1991). La realización de conductas al vacío o de desplazamiento en animales de granja, así como en animales de zoológico, se han relacionado con estados elevados de motivación (Vestergaard, 1980; en Mason 1991). Parece ser que la realización de estos comportamientos provee a los animales de una percepción de control del medio más que un control real (Carlstead, 1996). Algunos de los problemas de comportamiento relacionados con alteraciones en los sistemas motivacionales de conducta son: estereotipias, conductas redirigidas, pasividad e hiperexcitabilidad (Broom y Johnson, 1993).

Las conductas anormales son de naturaleza diversa, la repetitividad y la inflexibilidad, así como el tipo y el tiempo dedicado a ellas depende de la especie y del estímulo que las elicit (Mason, 1991), varían también entre individuos. Los comportamientos anormales, sobretodo estereotipias, han sido ampliamente reportadas en carnívoros como osos, zorras y mustélidos, de hecho se presentan con relativa frecuencia en este taxón (Carlstead, 1991a,b; 1993). Se ha observado, por ejemplo, que las estereotipias de caminata que presentan varios felinos de zoológico están relacionadas con la colocación de la carne en los encierros (Carlstead, 1998). Otras conductas anormales observadas en felinos en cautiverio son: acicalamiento excesivo, arrancarse el pelo y lamido de patas y cola (Carlstead *et al.*, 1993). En cánidos, concretamente en fennecs (*Vulpes* o *Fennecus zerda*), se han descrito estereotipias post-alimentación relacionadas con la motivación de cazar presas (Carlstead, 1991).

En cautiverio, donde el ambiente está restringido, los animales tienen una limitada capacidad de alterar la estimulación externa a la que están expuestos (Carlstead, 1996) y es más probable que los animales se vean privados de

realizar los pasos necesarios para evitar los estímulos adversos (Dawkins, 1990). En algunas especies, tanto en aves como en carnívoros, la motivación a escaparse de estos estímulos se traduce en movimientos estereotipados de locomoción (Ödberg, 1986; Mason, 1993). Por ejemplo ya en 1955 Inhelder describió en hienas la aparición de estereotipia de caminata cuando los visitantes se acercaban a la parte delantera de la jaula.

Se han descrito varias conductas como signos de estrés en lobos mexicanos: estereotipias de caminata, giros o vueltas sobre sí mismos, aumento de agresiones o subordinaciones, sobreacicalamiento, lamido o mordidas excesivas, excesivo marcaje, diarrea, pérdida de pelo, enfermedades, disminución del apetito o pérdida de peso, fallo reproductivo o inadecuada conducta materna (Servín y Lindaker, 1992). Las estereotipias son un buen indicador de que el ambiente es sub- óptimo para un individuo en particular, impidiendo que el animal realice algunas conductas para las cuales existe una alta motivación (Carlstead, 1998). Se ha dicho que los animales cautivos sufren al ver impedida la realización de patrones comportamentales para los cuales tienen una alta motivación (Dawkins, 1990). Ello va asociado a altos niveles de estrés, que pueden ir acompañados de la aparición de problemas comportamentales (Mason 1991), alteraciones reproductivas, pérdida de diversidad genética y un aumento en la incidencia de enfermedades (Broom, 1988; Mellen, 1991; Pottinger, 1999). Es por eso que, aunque la realización de conductas anormales pudiera ser una estrategia adaptativa y tuviera una función proximal, tiene un papel detrimental en la habilidad inclusiva de los animales (Dawkins 1980).

1.4. Fisiología del estrés

Desde la aparición del término estrés en el siglo pasado, éste ha sido un tema de amplia investigación. Cuando hay una perturbación de la homeostasis debido a la percepción de un estímulo adverso se activa una respuesta de

estrés. Ésta es un conjunto de respuestas fisiológicas que desencadenan la liberación de hormonas y de respuestas comportamentales que ayudan a reestablecer la homeostasis (Nelson, 2000). La función de éste incremento de hormonas circulantes así como los cambios conductuales es la de incrementar la oportunidad de supervivencia de los individuos (Ladewing *et al.*, 1993). Según Selye 1950, esta respuesta es bastante inespecífica puesto que puede ser elicitada por multitud de estímulos. Dos complejos son los más implicados en la respuesta de estrés: el sistema nervioso autónomo y el eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal (HHA) (Chrousos *et al.*, 1995).

Los estímulos ambientales son percibidos por los órganos de los sentidos e integrados en las estructuras superiores del cerebro: hipotálamo, sistema límbico (amígdala e hipocampo) y neocórtex. Desde el momento en que se percibe un estímulo como adverso se pone en marcha toda una intrincada cascada de hormonas por diferentes vías. A los pocos segundos, mediante la activación de las vías simpáticas del Sistema Nervioso Autónomo, se liberan catecolaminas en sangre. Desde el hipotálamo, por vía axonal, la información llega a la hipófisis posterior (neurohipófisis) y se produce la liberación de vasopresina y oxitocina. El hipotálamo produce la Hormona Liberadora Corticotropa (CRH) que viaja vía portal hasta la adenohipófisis y estimula la liberación de prolactina y del péptido pro-opiomelanocortina (POMC), el cual se partirá en sustancias opioides (β -endorfinas) y ACTH. Esta última es la responsable de la estimulación de la corteza adrenal para la liberación de glucocorticoides, apareciendo un aumento de su concentración sanguínea en pocos minutos. El cortisol se transporta en sangre libre o unido a albúmina y globulinas específicas (transcortina) y después de circular entre 80 a 120 minutos, sufre un proceso de catabolismo principalmente en el hígado y en menor medida en riñón, tejido conectivo, fibroblastos y músculos (Brownie, 1992). Finalmente sus metabolitos son eliminados por orina y heces.

La función de la liberación de todos los factores anteriormente mencionados, es la de preparar al organismo para salvar una situación de

emergencia (Möst y Palme, 2002). Las catecolaminas son las responsables de aumentar el aporte de oxígeno en los tejidos y el tono simpático, aumentan el estado de alerta, el aprendizaje y la memoria (Nelson, 2000). La vasopresina aumenta la presión, el volumen sanguíneo y la eficacia del reparto energético a los grandes músculos. La prolactina a altas concentraciones inhibe la función reproductiva (Dobson y Smith, 2000). La CRH parece ser la mediadora de la liberación de catecolaminas, inhibición de LH y Hormona de crecimiento, ansiedad y reducción de conductas exploratorias (Ladewing *et al.*, 1993). Las sustancias opioides: β -endorfinas, enkefalinas (liberadas junto con la adrenalina) y las dynorphinas (almacenadas con la CRH) son las responsables de la disminución de la sensibilidad al dolor (Amit y Galina, 1986). Los glucocorticoides son los responsables de interferir en las vías metabólicas para asegurar energía disponible. A su vez se inhiben las actividades energéticamente costosas e innecesarias para la supervivencia inmediata (Sapolsky, 1992), como es el crecimiento, la reproducción y la función inmunitaria (Sapolsky *et al.*, 2000; Nelson, 2000). Cuando la situación de emergencia ha pasado se restablece el equilibrio.

El Síndrome General de Adaptación (GAS) es todo el proceso de adaptación que sufre el organismo delante de factores de estrés (Selye, 1950; en Nelson 2000). Primero se pasa por un estado de alarma y reacción, en el cual se detecta el factor de estrés y predomina el eje simpato-adrenal. Si el estímulo continua, se pasa por un estado de habituación o resistencia con la consecuente activación del eje HHA. Si el estímulo es persistente y aún no ha habido adaptación, se llega al estado de agotamiento del sistema, donde aparecen estados patológicos debido a la activación prolongada de la respuesta de estrés (Sapolsky, 1992). De este modo, mientras que la respuesta de estrés aguda puede ser beneficiosa para los animales, ésta puede llegar a ser dañina si se prolonga o se repite (Wingfield y Ramenofsky, 1999; Creel, 2001).

En estados de estrés crónico, donde existe un aumento sostenido de cortisol en sangre, hay una disminución de la habilidad inclusiva individual por inmunodepresión y atrofia de tejidos (Munck *et al.*, 1984; Toates, 2000). Se habla de estrés crónico como un estado constante e invariable, pero se pueden considerar estados de estrés a largo plazo bajo sucesivas situaciones repetidas de estrés agudo, donde se estaría hablando de estrés crónico intermitente (Ladewing, 2000).

El efecto que produce un factor de estrés depende de la experiencia subjetiva de los animales, de manera que una misma situación puede afectar de diferente forma a varias especies o individuos (Ladewing, 2000). Los animales, particularmente los mamíferos, son sensibles a condiciones ambientales adversas, las cuales son percibidas como amenazas (Rivier y Rivest, 1991). La respuesta a estos estímulos es la activación del Sistema simpato-adrenal (SSA) y del eje Hipotálamo-Hipófisis-Glándula Adrenal (HHA), estado en el que se pueden desarrollar conductas anormales (Berridge y Dunn, 1989).

1.6. Relación entre comportamientos anormales y la fisiología del estrés

Poca es la información que se tiene de la asociación entre conducta, sistema inmunitario y hormonas neuroendocrinas durante momentos de estrés (Clark *et al.*, 1997a). La aparición de conductas anormales en situaciones de estrés hace pensar en la existencia de algún tipo de relación entre estos comportamientos y los parámetros fisiológicos de estrés. En humanos, los análisis bioquímicos para la detección de sustancias opioides, cortisol, ACTH y prolactina en sangre, revelan que estas variables están fuertemente involucradas en la realización de conductas anormales (Tuinier *et al.*, 1997). Pero, como veremos, los diferentes resultados obtenidos al respecto, hace que la relación existente entre variables fisiológicas y conductuales de estrés sea un punto de amplia controversia.

Parece ser que la liberación endógena de opioides está directamente relacionada con el mantenimiento de las estereotipias. En varias especies se ha visto una reducción de conductas anormales al tratarlas con antagonistas opioides (Cronin *et al.*, 1985; Rushen *et al.*, 1990; Dodman *et al.*, 1987) como es la Naloxona. Esta reducción oscila en los diferentes estudios entre un 10 y un 50%. Aunque, por otro lado, otras conductas anormales se han visto incrementadas con la administración de sustancias antagonistas de los opioides (Schouten y Rushen, 1992). Es posible que la diferencia entre estos estudios sea debido al estado de desarrollo de los comportamientos anormales, ya que se ha observado una correlación negativa entre el tiempo que llevan desarrollando la estereotipia con el efecto inhibitorio de la naloxona (Cronin *et al.*, 1985; Kennes *et al.*, 1988). Por otro lado, al no encontrar diferencia entre niveles de opioides circulantes en sangre de caballos con y sin conductas anormales, se sugirió que los animales con estereotipias heredan receptores opioides más sensibles que los caballos con comportamiento normal (Pell y McGreevy, 1999), lo cual indica que la realización de estereotipias tiene un fuerte componente hereditario. Los opioides endógenos mantienen una relación con la actividad del sistema nervioso autónomo modulando su regulación (Nelson, 2000). Veamos como se relaciona éste con la conducta.

Algunos estudios han descrito un aumento en la frecuencia cardíaca y de conductas anormales en cerdos después de la alimentación (Schouten *et al.*, 1991), aunque también se han relacionado los opioides con una reducción de la frecuencia cardíaca (Morris *et al.*, 1990). Por eso, en otras investigaciones se ha observado que la frecuencia cardíaca tiende a disminuir en cerdos con estereotipias y que la relación existente entre estos parámetros varía con el tiempo (Schouten y Wiepkema, 1991). Por otro lado, en perros bajo situaciones de estrés agudo, no se encontró relación entre variables fisiológicas, frecuencia cardíaca y cortisol salival, con variables conductuales (Beerda *et al.* 1997). Debido a la diversidad de resultados obtenidos, podemos decir que la posible relación existente entre el desarrollo de estereotipias y el SNA aún requiere de

más estudio, ya que hay muchos factores internos y externos que tienen que ser valorados.

Debido a que el desarrollo de estereotipias ha estado relacionado en muchos casos con altos niveles de estrés (McBride y Cuddelford, 2001), es de esperar que existan cambios del eje HHA durante la realización de éstas (Ladewing *et al.*, 1993). Sobre la relación entre la realización de estereotipias y los niveles de glucocorticoides circulantes hay una gran controversia. Se han observado concentraciones de corticoides más bajas en aves y cerdos que realizaban estereotipias comparados con individuos que no las desarrollaban (Kostal *et al.*, 1992; Cronnin y Barnett, 1987). También se han observado niveles más bajos de cortisol en primates que realizaban conductas de auto mutilación, en comparación con sus compañeros que no las realizaban (Tiefenbacher *et al.*, 2000; 2004). Por el contrario, en otros estudios realizados en cerdos, se encontró un aumento de cortisol y de conductas estereotipadas en situaciones de estrés (Redbo, 1993). Otros autores indican que no se encontró relación entre la concentración de cortisol circulante y la presencia o ausencia de estereotipias en cerdos y caballos (Terlouw *et al.*, 1991a,b; vonBorell y Hurnik, 1990; Redbo, 1993; Pell y McGreevy, 1999). Lo que sí se ha concluido es que no existe una respuesta neuroendocrina común o un único mediador neuroendocrino que haga predecibles los cambios de comportamiento y inmunitarios después de un estado de estrés (Morrow-Tesch *et al.*, 1993).

Debido a los diferentes resultados encontrados en la relación existente entre las estereotipias y la fisiología de estrés, no cabe duda que es un campo abierto a ser investigado. Para saber la función que desempeñan las conductas anormales en la respuesta de estrés hay que profundizar más en la relación existente entre ambas.

1.7. Presencia humana como factor de estrés

Los humanos interactúan con animales en muchos ámbitos de la vida cotidiana y en situaciones donde estas interacciones son frecuentes y estrechas, la calidad de éstas tiene considerables consecuencias (Hemsworth y Barnett, 2000). En animales de producción, sobretodo en aves y cerdos, se ha relacionado la interacción humano-animal con estados de estrés y productividad. Aunque este tipo de especies son consideradas domésticas, se ha observado una correlación negativa entre el miedo expresado hacia los humanos y la producción de los animales (Hemsworth y Barnett, 2000), es de esperar que en especies silvestres, esta correlación sea aún más palpable (Frézard y Le Pape, 2003). La influencia de la presencia humana sobre el comportamiento de los animales de zoológico es bastante intuitivo, es por eso que el efecto que tiene el público sobre los animales se empezó a investigar desde mediados de la década de los 60. A partir de los estudios realizados han surgido tres teorías del posible efecto que podía tener la gente sobre los animales de zoológico: como factor de estrés, como enriquecimiento o sin efecto alguno (Hosey, 2000).

Recientemente varios estudios en primates de zoológico se han realizado para definir esta interacción humano-animal. En diferentes especies de primates se ha visto un aumento en el número de interacciones con los humanos cuando la audiencia es más activa y que la presencia de gente no tenía ningún efecto en las interacciones sociales intragrupalas (Hosey y Druck, 1987; Mitchell *et al.*, 1992). No se ha encontrado relación de las conductas de acicalamiento, sexuales y de juego con la cantidad de público en un estudio en mangabeys (*Cercocebus galeritus*) (Mitchell *et al.*, 1991b; 1992).

En otros estudios primatológicos se ha relacionado la presencia y cantidad de gente con un aumento de actividad, una disminución del acicalamiento y un aumento en las conductas agonísticas, dirigidas hacia individuos del propio grupo y hacia la gente (Glatston *et al.*, 1984; Maki *et al.*, 1987; Chamove *et al.*,

1988; Mitchell *et al.*, 1991a; Wormell *et al.*, 1996; Fa, 1992; Lambeth *et al.* 1997). En chimpancés se ha observado directamente una disminución de las conductas afiliativas (Chamove, 1988) y recientemente se relacionó altas cantidades de visitantes con una disminución de la conducta de forrajeo y de la utilización del enriquecimiento (Wood, 1998).

La diversidad en los resultados obtenidos en estos estudios, hace pensar que hay varios factores ambientales, de especie e individuales que hacen variar los efectos que la presencia de gente puede causar sobre los primates (Hosey, 2000). La interpretación hecha de algunos de estos resultados ha sido que los primates perciben como factor de estrés al público visitante (Glatston *et al.*, 1984; Chamove *et al.*, 1988; Wormell *et al.*, 1996). Aunque los cambios conductuales observados durante la presencia de altas cantidades de público son compatibles con estrés, no hay estudios que hayan relacionado comportamientos anormales u otros indicadores fisiológicos de estrés con el contacto con el público (Hosey, 2000).

Pocos son los estudios realizados al respecto en otros taxones. En un estudio hecho en varios herbívoros hubo cambios conductuales relacionados con la presencia de visitantes (Thompson, 1989) y en rinoceronte negro (*Diceros bicornis*) se encontraron efectos adversos a la presencia de público (Carlstead *et al.*, 1999). En aves, solo se tienen datos del incremento del repertorio conductual con la presencia de gente en una cacatúa (Nimon y Dalziel, 1992). Referente al efecto del público en carnívoros de zoológico, únicamente se tienen estudios de felinos, donde en las siete especies estudiadas no se encontró ninguna influencia de la gente en la actividad de éstos (O'Donovan *et al.*, 1993; Margulis *et al.*, 2003). Pero en otra investigación hecha con leopardos de las nieves, se encontró concentraciones de cortisol más elevadas en animales expuestos al público que los que no lo estaban (Wielebnowski *et al.*, 2002), lo que indica que los visitantes fueron percibidos como factor de estrés. En cánidos, solo se tienen datos de granjas de zorros (*Vulpes vulpes* y *Alopex lagopus*), en los que se concluyó que aparentemente

el mayor problema de bienestar en estos animales es el considerable miedo que tienen a los humanos (Bakken *et al.*, 1994) ocasionando posibles problemas reproductivos (Nimon y Broom, 2001).

Se cree que la presencia de visitantes es un factor de estrés crónico subestimado en muchas especies de mamíferos (Carlstead, 1996). En realidad, en la mayoría de especies sólo se tienen mediciones conductuales, y éstas aún no se han relacionado con ningún otro tipo de indicador fisiológico de estrés. Es decir, se desconoce el efecto que puede tener la presencia de público sobre la actividad adrenocortical en especies como los cánidos. Además, son necesarios más estudios que determinen como comportamientos específicos están influenciados por los visitantes, y como éstos varían clara y consistentemente entre especies (Hosey y Druck, 1987). Por ejemplo, en cánidos de zoológico no se han obtenido ningún tipo de datos que apoyen o rechacen ninguna de las hipótesis anteriormente mencionadas. Estas mediciones podrán ser aún más interesantes en especies prioritarias como el lobo mexicano, puesto que es un animal de gran temperamento en el cual el proceso de aprendizaje es vital para su supervivencia y tiene una estructura social compleja (Semarnap, 2000).

1.8. Evaluación de problemas de bienestar a largo plazo

La interacción humano-animal tiene considerables implicaciones en el bienestar animal (Hemsworth y Barnett, 2000) y de hecho, en los zoológicos dos factores importantes, en relación al bienestar de las especies albergadas, han sido descritos: la ausencia de una adecuada estimulación y la presencia de los visitantes como factor de estrés (Birke, 2002). El bienestar animal es un concepto objetivo y cuantificable (Broom and Johnson, 1993). Un nivel pobre de bienestar debido a problemas prolongados se puede valorar mediante un amplio rango de variables, como serían la habilidad inclusiva individual y la dificultad de adaptación al medio.

Se ha visto que bajos índices reproductivos (Jurke *et al.*, 1997; Johnson *et al.*, 1992), una disminución en el peso corporal o en el crecimiento (von der Ohe y Servheen, 2002), así como una baja expectativa de vida (Nelson, 2000), pueden ser indicadores de un nivel pobre de bienestar. En lobo mexicano se han observado varios de estos indicadores (Semarnap, 2000), pero el hecho de que exista un alto grado de endogamia en esta especie, hace que la medición de bienestar bajo estos parámetros sea un poco difícil.

Los indicadores fisiológicos que se pueden utilizar para evaluar el estado de estrés crónico incluyen la medición de niveles hormonales de ACTH y glucocorticoides (Garnier *et al.*, 1990; Palme *et al.*, 2000), niveles sanguíneos de glucosa y proporción de células blancas en sangre (leucograma de estrés) entre otros (Knol, 1991). En carnívoros se ha detectado un aumento de glucocorticoides en situaciones pobres de confinamiento (Carlstead *et al.* 1993; Clark *et al.*, 1997b; Hennessy *et al.*, 1997), bajo condiciones de anestesia y restricción (Fox *et al.*, 1994; Moe y Baken, 1997; Ogburn *et al.*, 1998; Smith *et al.* 1999) y en cirugías (Church *et al.*, 1994). La obtención de muestras sanguíneas para la medición de estos parámetros puede ser un problema importante en muchas especies, llegando a ser casi imposible en animales de zoológico o silvestres (Schatz y Palme, 2001). Por otro lado, la misma extracción de sangre puede inducir una respuesta de estrés (Astheimer *et al.*, 1994; Wingfield *et al.*, 1994; Schatz y Palme, 2001) dando unos resultados confusos en la investigación (Hopster *et al.*, 1999; Möstl y Palme, 2002). El entrenamiento o habituación de los animales para que se dejen tomar muestras de sangre puede tener como consecuencia la aparición de conductas diferentes a las presentes en vida libre (Cook *et al.*, 2000), situación que no se puede permitir en especies que estén bajo un programa de conservación.

Una técnica bien aceptada para la medición de la actividad adrenocortical por ser no invasiva, es la medición de metabolitos fecales de cortisol, debido a la fácil colecta de muestras sin provocar estrés en los animales (Cavigelli,

1999; Wasser *et al.*, 2000; Möstl y Palme, 2002). Éstos reflejan la actividad de la corteza adrenal de forma retrospectiva, es decir, lo que ha circulado en sangre en el intervalo de tiempo previo a la última defecación (Schatz y Palme, 2001). Esta técnica ya ha sido usada en diferentes especies silvestres (Monfort *et al.*, 1998; Cavigelli, 1999; Palme *et al.*, 2000; Ganswindt *et al.*, 2003) y concretamente en carnívoros ya se ha probado su eficacia (Graham y Brown, 1996; Goyman *et al.*, 1999; Terio *et al.* 1999; Schatz y Palme, 2001). En perros (Wasser *et al.*, 2000; Schatz y Palme, 2001) y en cánidos silvestres, como perros licaones (*Lycaon pictus*) (Creel *et al.*, 1996,1997; Monfort *et al.*, 1998) y lobos grises (*Canis lupus*) (Creel *et al.* 2002; Sands y Creel, 2004), ya se ha demostrado que la medición de cortisol fecal es una buena técnica para evaluar estrés en este tipo de especies. Esta herramienta es de gran valor, sobretodo en especies en peligro de extinción, para evaluar factores de estrés asociados con las condiciones ambientales y técnicas de manejo (Graham y Brown, 1996).

Debido a las ventajas de utilización que presentan las técnicas no invasivas de mediciones hormonales es muy importante poder estandarizarlas para que puedan ser utilizadas de forma rutinaria, ya que son de gran ayuda para determinar características biológicas de especies silvestres. Pero debido a la multitud de factores que pueden hacer variar las concentraciones de cortisol, es necesario que estos resultados sean combinados con otros indicadores de bienestar (Clark *et al.*, 1997b).

Los mejores indicadores de problemas de bienestar han sido en muchos casos las mediciones conductuales (Broom y Johson, 1993). En situaciones de restricción de movimientos, delante de cierto grado de frustración, ante la incapacidad de escaparse de estímulos adversos, en una falta de estimulación o en una sobre estimulación, los animales se ven incapacitados de responder de una manera adecuada. En estos casos es frecuente la aparición de conductas anormales relacionadas con estados de estrés crónico y asociadas en muchos casos a situaciones de frustración y impredecibilidad. Los

comportamientos estereotipados, así como la hiperexcitabilidad, las conductas redirigidas y la pasividad, son uno de los indicadores más importantes de problemas de bienestar a largo plazo (Broom y Johson, 1993). La aparición de conductas normales con frecuencias o intensidades aumentadas o disminuidas, así como alteraciones en los ciclos de actividad, también pueden ser indicadores de un nivel de bienestar pobre (Crocket, 1998). La medición de conducta ha resultado ser una herramienta muy práctica en zoológicos debido a que no es necesario la manipulación del medio ni de los individuos para realizar un muestreo (Pifarré, 2002).

La utilización de mediciones conductuales conjuntamente con medidas fisiológicas para determinar el grado de reto al que se exponen los animales ha tenido unos resultados muy útiles (Cook *et al.*, 2000). Sin embargo, es necesario realizar más estudios para evaluar indicadores de bienestar con base a métodos no invasivos, que permitan crear más información y un mejor conocimiento sobre la compleja relación entre el estrés y las variables medioambientales de los zoológicos (Carlstead y Shepherdson, 2000).

1.9 Justificación

El conocimiento de los efectos que puede tener el público sobre el comportamiento de los animales es una consideración importante que se debe tomar en cuenta al mantener animales en cautiverio en un zoológico (Nimone y Dalziel, 1992). Es necesario generar información acerca de la forma en que el público visitante puede influir en el comportamiento y actividad adrenal de los lobos mexicanos en cautiverio. Esta información será útil para mejorar las condiciones de manejo de los lobos cautivos como para crear antecedentes para el mantenimiento de cualquier especie que comparta una situación o características similares.

Con el presente estudio se intenta identificar cual es el impacto que puede tener el público sobre el bienestar del lobo mexicano y así evaluar este problema potencial de la conservación ex-situ y con ello poder proponer métodos para un mejor manejo. Es importante crear más información sobre como perciben los animales el ambiente que les rodea, lo cual nos puede ayudar a dar unas pautas más precisas de cómo albergar a la especie en cuestión en espacios más adecuados, y así lograr un aumento del bienestar animal y con ello mejorar los programas de reproducción y conservación.

II. HIPÓTESIS

Los lobos expuestos a una mayor cantidad de visitantes presentarán cambios en el comportamiento y en la actividad del eje adrenocortical, con respecto a cuando no están expuestos a una gran cantidad de público.

III. OBJETIVOS

1. Evaluar el efecto de la exposición al público sobre la proporción del tiempo en estados de conducta y frecuencia de eventos de conducta.
2. Evaluar el efecto de la exposición al público sobre niveles de cortisol fecal en el lobo mexicano.
3. Relacionar las pautas de comportamiento con los niveles de cortisol fecal en el lobo mexicano ante diferentes grados de exposición al público.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Localización y sujetos

El trabajo se realizó en tres zoológicos mexicanos: Africam Safari (Af), Chapultepec (Ch) y San Juan de Aragón (Ar). La recolección simultánea de datos de comportamiento y colección de heces se llevó a cabo en marzo del 2003. Se obtuvieron muestras de un total de 16 animales albergados en 7 exhibidores de diferentes dimensiones (Cuadro 1). Todos ellos disponían de sustrato para escarbar, múltiples lugares de descanso y vegetación alta, media y baja como barreras visuales. Cada exhibidor se mapeó y se caracterizaron las zonas donde los animales estaban visibles para el público (V) y donde estaban no visibles (NV), teniendo unas zonas de resguardo entre 1/3 y 2/3 del encierro. Cuatro de los individuos del zoológico de Ar. estaban en unos albergues separados del paso del público por una malla ciclónica tapada con plásticos, por lo que no existía contacto visual con los visitantes. En los tres zoológicos, todas las mañanas se realizaba el aseo de los albergues y alrededor de las 17:00 h. se les daba el alimento, el cual consistía en 1.3 Kg. de mezcla de carne de pollo y de vacuno por animal. Todos los individuos del trabajo nacieron en



Figura 1. Albergue n° 1 de lobo mexicano (Canis lupus baileyi). Zoológico Africam Safari.



Figura 2. Albergue n° 3 de lobo mexicano (Canis lupus baileyi). Zoológico de Chapultepec.



Figura 3. Albergue n° 7 de lobo mexicano (Canis lupus baileyi). Zoológico San Juan de Aragón

cautiverio y hacía más de un año que se encontraban en los zoológicos donde fueron estudiados.

Cuadro 1. Características de los 16 ejemplares de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) y de sus albergues en los tres zoológicos.

ZOOLOGICO (nº de albergue)	Nº animales	SEXO		EDAD (años)	m ²	m ² /animal
		M	H			
Af (1)	4	2	2	6,1,9,4	680	170
Ch (2)	4	1	3	1,1,1,1	776	194
Ch (3)	2	1	1	5,6	604	302
Ar* (4)	2	1	1	9,3	700	350
Ar* (5)	1	1	0	9	580	580
Ar* (6)	1	0	1	15	200	200
Ar (7)	2	1	1	7,8	790	395

* albergues sin exposición visual al público.

Af: Zoológico Africam Safari.

Ch: Zoológico de Chapultepec.

Ar: Zoológico San Juan de Aragón.

4.2. Medición del comportamiento

Se utilizó un catálogo de comportamiento adaptado de un etograma del lobo mexicano (Servín, 1991) y de otro de cánidos (Scott y Fuller, 1965; Gandelman, 1992). Éste se definió a través de 40 horas de observación piloto directa utilizando un muestreo *ad libitum* (Jensen *et al.*, 1986; Harré y Lamb, 1991) (Cuadro 2).



Figura 4. Pareja de lobos mexicanos del Africam Safari. Individuos nº 1 y 2.

Se realizó una combinación de muestreos de barrido y conductuales (Martin y Bateson, 1993) con

comportamiento individual y social de los lobos. Se realizaron muestreos de barrido con registros instantáneos cada cinco minutos para calcular la proporción del tiempo en estados de comportamiento, dividiendo el número de barridos de la conducta / Total de barridos realizados. Entre los muestreos de barrido se realizaron muestreos conductuales de registro continuo, con los que se obtuvo la frecuencia de los eventos de conducta por unidad de tiempo, dividiendo el número de eventos de la conducta / horas totales de observación.

Siete observadores realizaron los muestreos de comportamiento simultáneos en los diferentes albergues. Se realizó una prueba de correlación inter-observadores previa a la obtención de datos ($R = 0.95$, $p < 0.05$).

Cuadro 2. Listado de pautas de comportamiento que se registraron durante el estudio.

Comportamiento	Descripción
1. Descanso	<i>Echado en reposo, ojos abiertos o cerrados, o dormido.</i>
2. Estático	<i>Parado o sentado sin desplazamiento.</i>
3. Trófico	<i>Comportamiento alimenticio de ingestión de agua o comida.</i>
4. Locomoción	<i>Desplazamiento, se distinguió: paso, trote y galope.</i>
5. Estereotipia	<i>Movimientos repetidos sin función obvia, normalmente de caminata.</i>
6. Cuidado Corporal	<i>Acicalamiento propio, rascarse, lamerse, frotarse, mordisquear su pelo y sacudirse.</i>
7. Escarbar	<i>Escarbar, enterrar y desenterrar.</i>
8. Interacción Afiliativa	<i>Interacciones entre individuos donde pueden aparecer movimientos laterales de cola, haloacicalamiento, tocar el hocico con cualquier parte del cuerpo, olfateo de genitales y cara.</i>
9. Juego	<i>Conducta de solicitud de juego, juego con contacto y persecución.</i>
10. Interacción Sexual	<i>Levantar la cola y pasear enfrente del macho, lamido de genitales, intentos de monta, ladeación de cola con persecución.</i>
11. Monta	<i>El macho abraza la hembra colocando las extremidades anteriores encima de ella.</i>
12. Cópula	<i>Acoplamiento de macho y hembra</i>
13. Marcaje	<i>Orinar en goteo, restregarse en el suelo, rasgar el suelo con las patas delanteras o traseras.</i>
14. Interacción Agonística	<i>Encuentros ofensivos o defensivos con posturas de sumisión o de dominancia.</i>

Se registró el total de visitantes que entraron cada día en los zoológicos y se hicieron muestreos de barrido cada cinco minutos de la gente que pasaba delante del albergue de los lobos mexicanos, obteniendo una correlación entre ambas variables $R > 0,90$ ($p < 0,05$). La cantidad de visitantes en fin de semana fue significativamente más alta que la cantidad de gente durante los días lunes y martes ($t = 5,60$, $p < 0,001$). En base a estos datos, se dividieron los días observados en dos categorías: sábados y domingos como días de Alta cantidad de visitantes (A) y lunes y martes como días de Baja cantidad de público (B). La cantidad promedio de visitantes en un día de condición A fue de 3121.33 ($\pm 89,67$) en el zoológico Af, 31008.92 ($\pm 3140,91$) en el de Ch. y 11177.08 ($\pm 2941,62$) en el zoológico de Ar. La media de público en los días de situación B fue de 452.33 ($\pm 69,06$) visitantes en el zoológico Af, 5615.72 ($\pm 3814,22$) en el de Ch. y 824.30 ($\pm 435,79$) en el zoológico de Ar.

Durante las tres semanas de estudio se observó a cada animal cuatro días por semana, seis horas por día (10:00 – 12:00, 12:30-14:30, 15:00- 17:00). Es decir, se observó a cada individuo durante seis días en condición A y seis días de condición B. Se obtuvo un total de 72 horas observadas por animal en cada una de las dos condiciones de público (alta cantidad de visitantes –A- y baja cantidad de visitantes –B-).

4.3. *Medición de la actividad adrenocortical*

La medición de cortisol se hizo a partir de muestras fecales obtenidas durante el aseo del albergue de los lobos, que en los tres zoológicos fue alrededor de las 9:00 de la mañana. El día anterior a la recogida de muestras, se les administró colorante vegetal junto con su dieta para teñir sus heces y poderlas distinguir entre individuos. Los valores de cortisol obtenidos en una muestra, representan la cantidad total de cortisol circulante en sangre durante el día anterior al muestreo ya que se determinó la excreción máxima de cortisol

a las 24±4 h. de su producción en perros (Schatz y Palme, 2001) y a las 16-20 h. en lobos grises (Sands y Creel, 2004).

Las muestras se etiquetaron y se congelaron a -20°C hasta el momento de su análisis, el cual se realizó en el laboratorio de Fisiología del CINVESTAV bajo la dirección de la Dra. Marta Romano y del biólogo Ricardo Valdéz. Se obtuvo la materia seca (MS) de éstas después de un proceso de secado en horno durante 4h. a 65° C. Las muestras se homogenizaron y se pesó 0,18 – 0,2 g de cada muestra en MS (libres de pelos y huesos) y se realizó la extracción de los metabolitos con etanol al 80% usando una modificación de métodos ya publicados (Brown *et al.* 1994; Brousset, 2003). En este proceso se resuspendieron los 0,2 g. de MS en 1 ml. de agua desionizada y 4 ml. de etanol y se hirvió la muestra al baño María a 93°C durante 20 minutos sin dejar que las muestras se evaporaran por completo. Los tubos se centrifugaron a 1600 rpm. durante 20 minutos y se realizó el secado recolocando las muestras al baño María a 36°C con aire a presión en un intervalo de 3 a 4 h. Las muestras se resuspendieron con buffer RIA pH 7.0 diluido al 75% y etanol 2:1 (buffer RIA:etanol v/v) y se conservaron a -4°C. Para obtener el porcentaje de recuperación del proceso de extracción se añadió a 6 muestras una cantidad conocida de cortisol marcado (23.000 cpm) recuperando el 98,95 ± 7,07% (N=6) de éste.

Se hizo una curva de trabajo con seis muestras en varias diluciones (1:10, 1:25, 1:50, 1:80, 1:160, 1:320) con lo que se definió la concentración de trabajo óptima en 1:250. 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. La curva estándar se realizó de siete puntos: 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 pg/ml de hormona fría (hidrocortisona).

La determinación de cortisol por radioinmunoensayo (RIA), se realizó según una modificación del método descrito por Pérez *et al.* (1999). La técnica

fue validada anteriormente en lobo mexicano (Pifarré *et al.*, en escritura) con la realización de una prueba de desafío con restricción física, en la que se encontró una correlación positiva ($n=3$, $R= 0.83$, $p<0.05$) entre los niveles de cortisol en sangre y fecal.

A partir de una muestra repetida en todos los ensayos se obtuvo el coeficiente de variación inter-ensayo (Bedolla *et al.*, 1984) del $12,20 \pm 1,38\%$ ($N=9$). El coeficiente de variación intra-ensayo fue calculado a partir de las cuatro repeticiones de la concentración 25 ng/ml de la curva estándar en dos puntos del RIA (Bedolla *et al.*, 1984). La media de éste fue del $5,96 \pm 0,86\%$ ($N=9$).

5.4. Análisis estadístico

Se utilizó el programa de cómputo STATISTICA®, 6.0 para realizar el análisis estadístico de los datos. Se hizo la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para las variables conductuales con la que se obtuvo una distribución no normal de éstas ($p<0.05$). Por ese motivo se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para comparar los promedios de los estados y eventos conductuales entre los días A y B. Para encontrar diferencias en la cantidad de cortisol excretado en las dos situaciones de cantidad de público, se utilizó la prueba de t-student de muestras dependientes. Para relacionar las variables conductuales con los niveles de cortisol fecal, se realizó la prueba de correlación de Spearman. En todas las pruebas se tomó un intervalo de confianza del 95% ($p<0.05$) para establecer los niveles de confianza (Pagano, 1998).

V. RESULTADOS

5.1. Comportamiento

Al evaluar el impacto de la exposición al público sobre la proporción de tiempo en estados de conducta, en los 16 individuos se compararon las medias de cada animal en días A (n=6) y las medias en días B (n=6)(Cuadro 3). Como se observa en el cuadro 3, en la condición A los lobos mexicanos dedican más tiempo en las conductas de descanso ($Z= 2.48$, $p= 0.013$) y agonísticas ($Z= 2.20$, $p= 0.028$). Sólo uno de los animales presentaba conducta estereotipada de caminata, la cual aumentó significativamente ($Z= 2.02$, $p=0.043$) en los días de alta afluencia de público (A=33.6%, B=24.7%). En la condición B, días de baja afluencia de público, los animales se pasaron significativamente más tiempo en los comportamientos de locomoción al paso ($Z= 2.32$, $p= 0.019$), locomoción al trote ($Z= 1.99$, $p= 0.047$) y por consecuencia locomoción total ($Z= 2.17$, $p=0.029$). También se vio que los lobos están significativamente más visibles para el público durante los días en la condición B ($Z= 2.27$, $p= 0.023$). No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en el tiempo dedicado a la conducta trófica, estática, locomoción al galope, juego, escarbar y afiliativas. (Ver APÉNDICE V).

Para cerciorarnos que los datos obtenidos en las tres semanas por separado se trataban de repeticiones, se realizó el mismo análisis de comparación de los promedios de pautas de comportamiento bajo las dos situaciones de público respectivamente. Se obtuvieron diferencias estadísticas entre las dos situaciones frente a público para las mismas pautas de conducta para las tres semanas por separado (visibilidad, $p<0.01$; descanso, $p<0.05$; locomoción, $p<0.05$; agonísticas $p<0.05$).

Cuadro 3. Promedios (\pm ES) de tiempo en estados de conducta y de frecuencia de eventos de comportamiento de los 16 ejemplares de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) sujetos a las dos condiciones de cantidad de público.

ALTA CANTIDAD de PÚBLICO BAJA CANTIDAD de PÚBLICO					
ESTADOS	variable	media %	\pm ES	media %	\pm ES
	<i>Visibilidad*</i>	17.54	\pm (9.18)	25.17	\pm (10.3)
	<i>Descanso*</i>	77.42	\pm (7.10)	68.25	\pm (9.90)
	<i>Estático</i>	5.14	\pm (2.86)	5.83	\pm (2.72)
	<i>Tráfico</i>	1.80	\pm (0.61)	1.38	\pm (1.20)
	<i>Locomoción al paso*</i>	9.75	\pm (2.84)	14.49	\pm (4.51)
	<i>Locomoción al trote*</i>	2.80	\pm (2.18)	6.09	\pm (3.66)
	<i>Locomoción al galope</i>	0.14	\pm (0.16)	0.48	\pm (0.40)
	<i>Locomoción Total*</i>	12.69	\pm (4.58)	1.63	\pm (3.75)
	<i>Estereotipia</i>	2.11	\pm (4.19)	1.63	\pm (3.07)
	<i>Juego</i>	0.19	\pm (0.22)	0.39	\pm (0.30)
	<i>Escarbar</i>	0.29	\pm (0.23)	0.09	\pm (0.10)
EVENTOS	variable	media e/h	\pm ES	media e/h	\pm ES
	<i>Afillativas</i>	0.09	\pm (0.06)	0.09	\pm (0.05)
	<i>Juego</i>	0.12	\pm (0.13)	0.08	\pm (0.05)
	<i>Sexuales</i>	0.03	\pm (0.06)	0.01	\pm (0.00)
	<i>Marcaje</i>	0.08	\pm (0.06)	0.05	\pm (0.05)
	<i>Agonísticas*</i>	0.04	\pm (0.02)	0.00	\pm (0.00)
	<i>Cuidado corporal*</i>	0.09	\pm (0.12)	0.00	\pm (0.00)

* Variables con diferencia significativa entre días en A y B.
e/h. Número de eventos por hora.

Los eventos de conducta que fueron significativamente más frecuentes en los días A fueron los agonísticos ($Z= 2.8$, $p= 0.005$). Sólo una hembra presentaba una conducta redirigida de lamido de patas y flancos, en este animal la conducta de cuidado corporal aumentó significativamente ($Z= 2.36$, $p= 0.018$) durante los días en la condición A. Los eventos conductuales afiliativos, de juego, sexuales, de marcaje y de cuidado corporal general, no presentaron diferencias significativas ($p>0.05$). (Figura 5. Ver APÉNDICE VI).

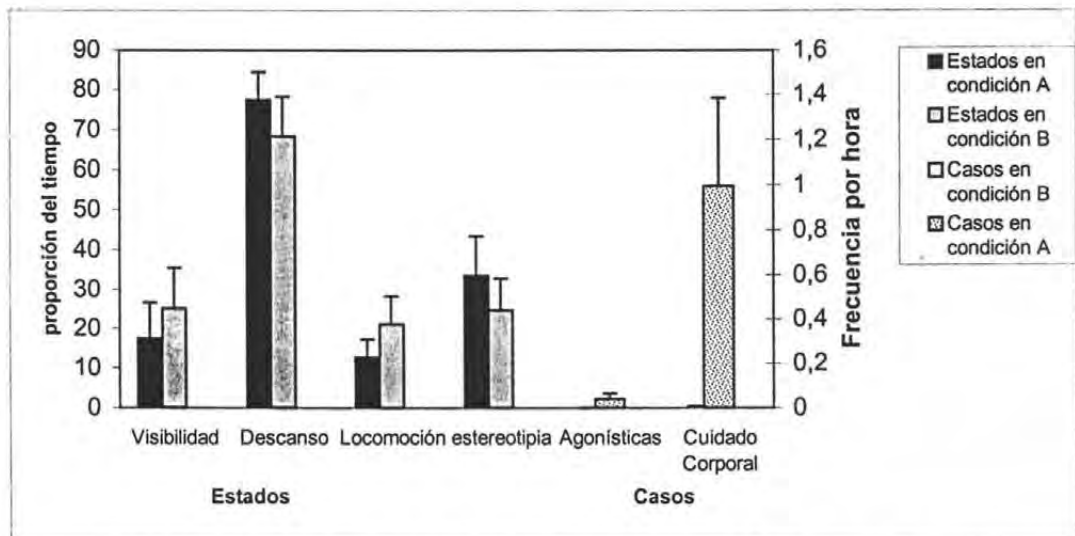


Figura 5. Promedio de tiempo en estados de conducta y frecuencia de casos por hora (\pm ES) de 16 ejemplares de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) albergados en tres zoológicos bajo las dos condiciones de cantidad de público.

5.2. Actividad Adrenocortical

El rango de cortisol fecal para los 14 lobos mexicanos muestreados fue de 27.87 a 706.52 ng/g de MS y la media fue de 203.74 ng/g. No se encontraron diferencias en los niveles de cortisol fecal entre albergues ($p > 0.05$) (Figura 6), ni entre sexos (machos, 202.51 ± 9.02 ; hembras, 214.47 ± 14.98 ; $p > 0.05$).

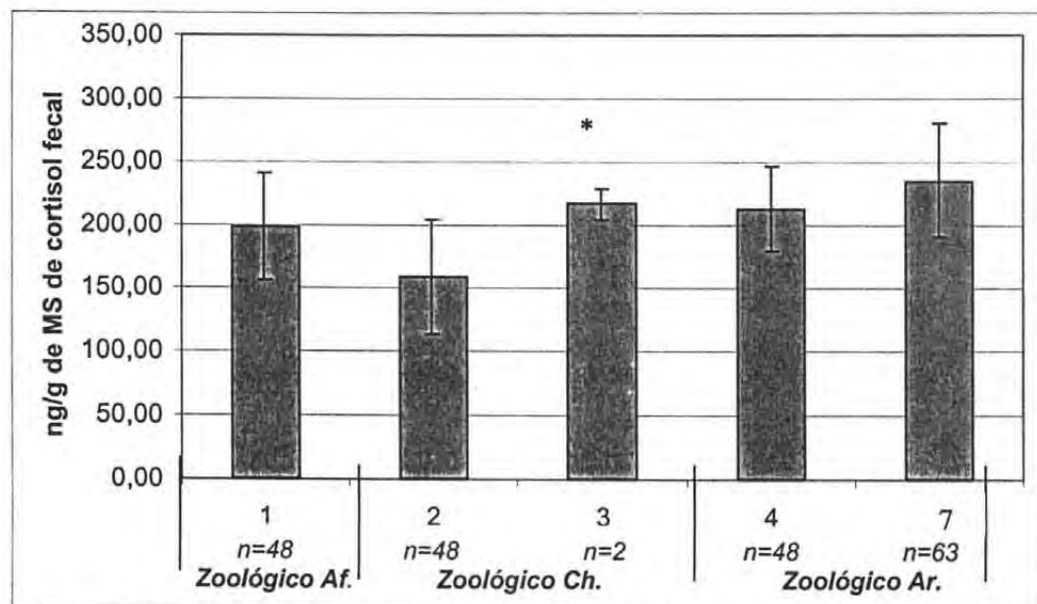


Figura 6. Promedio (\pm ES) de cortisol fecal en los diferentes albergues.

* En este albergue solo se pudo obtener la muestra de un día, por eso estos dos individuos no se introdujeron en el análisis posterior.

Se compararon los niveles de cortisol fecal promedio en la condición A de público (N=99) de los 14 lobos mexicanos con los niveles promedio de la condición B (N=108). Los niveles de cortisol fecal en los días de más afluencia de público fueron significativamente mayores ($t=3.53$, $p<0.001$) (Figura 7).

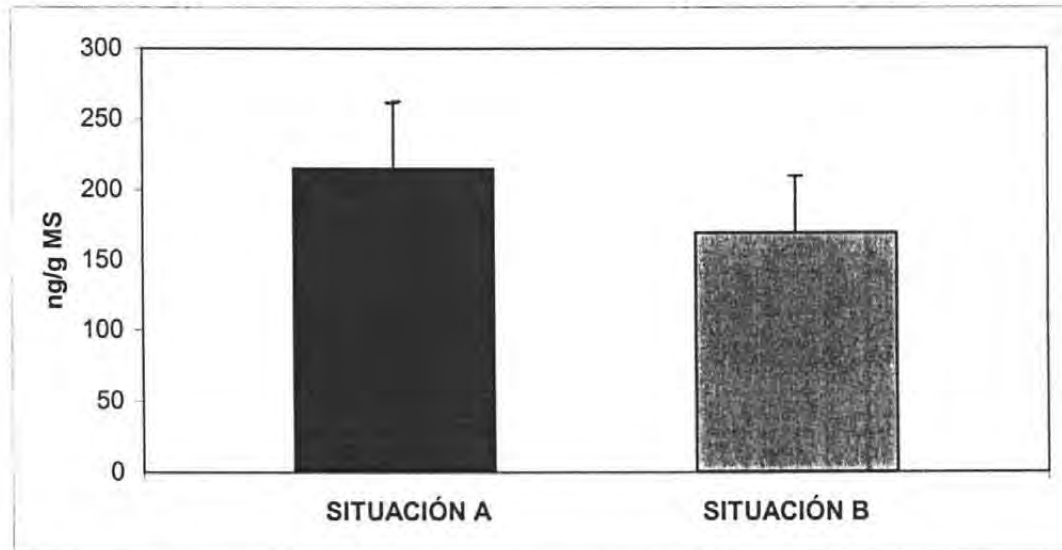


Figura 7. Niveles promedio de cortisol fecal (N=84) de los 14 lobos mexicanos en las dos condiciones de afluencia de público (\pm ES).

Debido que a en otros estudios se encontraron variaciones altas de la concentración de cortisol inter-individuos (Palme *et al.*, 2002), para evaluar el efecto de la cantidad de público sobre la actividad adrenocortical independientemente de otras variables, como semana, sexo, edad y albergue, se compararon las medias de cortisol fecal de cada lobo por semana en la condición A y B como muestras dependientes. Se observó que en la condición A los niveles de cortisol promedio son significativamente mayores que en la condición B ($t=3.75$, $p<0.001$) (APÉNDICE VII).

5.3. Relación de pautas de comportamiento con actividad adrenocortical

Al relacionar las conductas de todos los individuos con los niveles de cortisol fecal correspondientes se encontró una correlación positiva entre el tiempo en cuidado corporal y cortisol fecal ($R_s= 0.57$, $p<0.05$). Cuando se

calculó por separado la conducta de cuidado corporal de la hembra que presentaba conducta redirigida de lamido, se obtuvo una correlación positiva entre cortisol fecal y conducta de cuidado corporal ($R_s = 0.8$, $p < 0.05$). Al comparar la media de cortisol de esta hembra (251.98 ± 68.71 ng/g; $N = 35$) con el promedio del resto de los sujetos experimentales (194.12 ± 48.01 ng/g; $N = 223$), se detectó una diferencia estadística ($t = -2.82$, $p < 0.05$). Existió una correlación negativa entre los valores de cortisol fecal y la conducta trófica ($R_s = -0.31$, $p < 0.05$), locomoción al paso ($R_s = -0.43$, $p < 0.05$), locomoción al galope ($R_s = -0.32$, $p < 0.05$), locomoción total ($R_s = -0.41$, $p < 0.05$) y juego ($R_s = -0.33$, $p < 0.05$). No se encontró correlación con los niveles de cortisol en la visibilidad del animal ni en las conductas de descanso, estáticas, locomoción al trote, escarbar, afiliativas, agonísticas, sexuales y de marcaje ($p > 0.05$).

6.1. Efecto del público sobre el comportamiento

En estudios anteriores realizados en carnívoros de zoológico, concretamente en felinos, no se encontró ningún cambio conductual debido a la presencia de gente (O'Donovan *et al.*, 1993; Margulis *et al.*, 2003). En cánidos de zoológico aún no se había hecho ningún estudio al respecto. En el presente trabajo se pudo observar que varios de los comportamientos cambiaron según la cantidad de público que visitaba los zoológicos. En situaciones de poca afluencia de público los lobos mexicanos estaban más activos, lo que se evidenció con un aumento de locomoción total durante los días lunes y martes, días de baja afluencia de público, en los que se encontraban más visibles para los visitantes. En condiciones de mayor cantidad de público, fines de semana, estos animales dedicaron más tiempo al descanso en zonas no visibles y se observó un aumento de interacciones agonísticas.

Se encontraron resultados parecidos en gatos de laboratorio sujetos a estrés crónico, donde la respuesta conductual principal fue la de esconderse (Carlstead *et al.*, 1993). Las conductas de esconderse, quedarse inmóviles u otras para evitar ciertos estímulos, se consideran respuestas de miedo (Jones, 1987; Hemsworth y Barnett, 2000) y éstas se han relacionado positivamente con niveles de cortisol (Wielebnoski *et al.*, 2003). Sorprendentemente, en animales de producción, a pesar de haber sido domesticados durante muchas generaciones, se han descrito altos índices de respuestas de miedo al contacto con los humanos (Hemsworth y Barnett, 2000), por lo que es de esperar que en animales silvestres éstas sean aún más frecuentes. De hecho, en orangutanes (*Pongo pygmeus*) se han descrito respuestas de miedo, sobretodo en las crías, delante de grupos numerosos de gente (Birke, 2002). En rinocerontes negros (*Diceros bicornis*) se encontró una correlación positiva entre la cantidad de público y conductas de miedo, así mismo la tasa de mortalidad fue mayor en los albergues más accesibles a los visitantes (Carlstead *et al.*, 1999). La estrecha cercanía de los humanos da como resultado una respuesta de miedo que a su vez desencadena una respuesta biológica, tanto conductual como

fisiológica, para intentar enfrentar este factor de estrés (Hemsworth y Barnett, 2000). Todo ello nos hace pensar que para los lobos mexicanos la presencia de público es un factor de estrés crónico y que el hecho de esconderse es una posible respuesta de miedo. En animales de producción se ha demostrado que altos grados de miedo hacia las personas disminuyen el crecimiento y la reproducción de éstos (Hemsworth y Barnett, 2000).

Por otro lado, una de las funciones de los zoológicos es la educación y se ha visto que la motivación de la gente para visitar estos centros es el contacto más directo con los animales (Reade y Waran, 1996). Según lo observado en el presente estudio, los lobos mexicanos están menos visibles cuanto más público hay, en este caso la exhibición de éstos animales perdería toda función educativa ya que el público no puede observarlos. Además, estos lobos pasan la mayor parte del tiempo en descanso durante los fines de semana, de hecho ya se había visto que los animales reaccionan delante de multitudes expresando un repertorio conductual más pobre, y dejan de presentar las conductas que, paradójicamente, son más atractivas y más educativas para el público (Wood, 1998; Margulis *et al.* 2003). Si los visitantes no pueden ver un amplio repertorio conductual, se llevan la impresión de que los animales están aburridos o tristes, y bajo estas circunstancias el público no puede apreciar la diversidad biológica y la necesidad de conservar a las especies (Carlstead, 1996).

Se han descrito explosiones de agresividad como conducta redirigida a congéneres en situaciones de pérdida de control del medio (Carlstead, 1996). En los animales confinados los cambios en patrones de conductas agonísticas son una repuesta a factores^{de} estrés (Moodie y Chamove, 1990). En algunos estudios primatológicos ya se había relacionado la presencia y la cantidad de gente con un aumento en las conductas agonísticas, dirigidas hacia individuos del propio grupo y hacia la gente (Glatston *et al.*, 1984; Maki *et al.*, 1987; Chamove *et al.*, 1988; Mitchell *et al.*, 1991a; Wormell *et al.*, 1996; Fa, 1992; Lambeth *et al.* 1997) y concretamente en chimpancés se han observado

directamente una disminución de las conductas afiliativas (Chamove *et al.*, 1988). En hienas (*Crocuta crocuta*) se ha visto un aumento de cortisol relacionado con un aumento de encuentros agonísticos (Goymann *et al.*, 1999). Es por eso que el aumento de la agresividad observado en los lobos mexicanos expuestos al público, puede ser indicativo de un nivel pobre de bienestar, aunque no siempre sea así (Broom y Johnson, 1993). Podemos añadir que el exceso de estos encuentros agresivos pueden dar lugar a traumatismos y daños físicos indeseables en el manejo de estos animales.

Uno de los problemas del cautiverio es que los animales tienen una capacidad muy limitada de alterar la estimulación externa a la que están expuestos ya que muchos de los estímulos relevantes son simplemente impuestos y no pueden ser modulados por ellos (Carlstead, 1996), como es el caso de la afluencia de público. Como ya se ha descrito en primates, otros carnívoros, y concretamente en lobos europeos (Carlstead *et al.*, 1993; Norcup, 2000; Frézard y Le Pape, 2003), para los lobos mexicanos es de gran importancia proveerlos de lugares de refugio y de barreras visuales con el público. De este modo el animal podrá tener más control sobre el ambiente que le rodea (Wielebnowski *et al.*, 2002).

Dos de los dieciséis individuos del estudio presentaban conductas anormales, cosa que nos indica que probablemente tienen un nivel de bienestar más pobre que los demás (Broom and Johnson, 1993). Se ha dicho que la aparición de conductas anormales está relacionada con un ambiente probablemente inadecuado y presumiblemente adverso (Mason, 1991). Una de las lobas presentaba dermatitis acral por lamido debido a una conducta redirigida de excesivo acicalamiento en la zona lateral del abdomen y metacarpiana. Esta conducta de lamerse las patas y flancos, está considerada en perros como una conducta de tipo compulsivo que puede llegar a causar úlceras (Manteca, 2002). Este individuo presentaba un aumento de la conducta de acicalamiento durante fines de semana, la cual llegaba a desaparecer durante los días de menor afluencia de público, lo que nos indica que la gran

afluencia de visitantes podría ser un estímulo desencadenante de esta conducta indeseable. De hecho ya se había propuesto una posible relación entre la aparición de conductas de automutilación y la incapacidad de huir de los visitantes (Hediger, 1964, en Carlstead 1996). Este comportamiento además de causar daños dermatológicos, también incide en problemas digestivos (Fraser y Broom, 1990). Aunado a eso, los efectos detrimentales de las estereotipias no son solo físicos, también pueden prevenir el aprendizaje y la interacción social (Mason, 1991), lo cual nos indica que individuos con estas características no pueden ser aptos para programas de conservación.

El otro individuo que presentaba conductas anormales, desarrollaba estereotipias de caminata. En muchas especies de carnívoros en cautiverio se ha pensado que la aparición de estereotipias de caminata podría ser la expresión de la frustración de realizar conductas de forrajeo o predatorias (Hughes y Duncan, 1988; Carlstead y Seidensticker, 1991a; Terlouw *et al.*, 1991b). Por otro lado, también se ha sugerido el miedo como estado de aparición de estereotipias (Duncan y Wood-Gush, 1974), y que los movimientos estereotipados parecen, en muchos casos, movimientos para intentar escapar de un estímulo adverso (Ödberg, 1986; Carlstead, 1998). Este lobo aumentaba el tiempo dedicado a la conducta de estereotipia durante los fines de semana, llegando a ser del 33.56% (± 2.25), comparado con los días entre semana que era del 24.69% (± 0.54). Se ha dicho que estados de estrés severo en perros inducen el desarrollo de estereotipias entre otras alteraciones de comportamiento (Beerda *et al.*, 1997). En lobos mexicanos se consideran signos de estrés el desarrollo de estereotipias de caminata y el acicalamiento excesivo entre otros, lo cual nos lleva a pensar que las multitudes de visitantes pueden ser un factor de estrés para estos animales. Uno de los factores de estrés crónico de los animales confinados es la incapacidad de responder, evitar o escapar a situaciones que les provoquen miedo, ya sea causado por las personas o por los propios congéneres (Carlstead, 1996). Se considera que, a partir de un 40% del tiempo total de actividad dedicado a conductas anormales, el bienestar del individuo que las realiza es realmente pobre (Broom

y Johnson 1993). Eso nos indica que el nivel de bienestar de este lobo era realmente bajo los días que había una gran cantidad de público. Además, concretamente en lobo mexicano se han relacionado las conductas estereotipadas con una baja calidad de semen (Rivera, 2003). Esto nos indica que la exposición de los lobos mexicanos al público repercute en su reproducción. Si el objetivo principal del cautiverio, de esta especie en situación crítica, es lograr alcanzar en un período relativamente corto números de población lo más elevados posibles, para una rápida reintroducción, la exhibición de estos animales hace que el programa de conservación *ex-situ* pierda funcionalidad y con ello se ponga en duda su justificación.

6.2. Rango de valores de cortisol fecal en lobo mexicano

Debido a que la combinación de medidas de comportamiento y fisiológicas nos pueden dar más información y una evaluación más integral del bienestar animal (Wielebnowski *et al.*, 2002) , también medimos concentraciones de cortisol fecal para evaluar la actividad adrenocortical. En lobo mexicano los niveles de cortisol en sangre oscilaban entre 2.93 y 11.87 $\mu\text{g/dl}$ (Rivera, 2003). Nunca antes se había obtenido un rango de niveles de cortisol fecal en esta subespecie. Nosotros encontramos unos niveles que oscilan entre 27.87 y 706.52 ng/g de MS de heces de lobo mexicano en cautiverio. Se han reportado valores de cortisol fecal en lobo gris de vida libre que oscilan entre 872 a 1468 ng/g de MS de heces (Creel *et al.*, 2002; Sands y Creel, 2004) la diferencia de resultados, puede ser debida a varias razones.

En primer lugar, Sands y Creel trabajaron con lobo gris de Norteamérica (*Canis lupus lupus*), que es una subespecie genéticamente muy diferente a la del lobo mexicano (García-Moreno *et al.*, 1996). Se ha visto que la síntesis específica de glucocorticoides y el patrón de liberación varía según especies (Broom y Johnson, 1993). Además se han descrito diferencias sustanciales en la excreción de cortisol entre especies de carnívoros (Schatz and Palme, 2001).

En segundo lugar se utilizó un método de extracción, anticuerpo, marcador y prueba de RIA diferente en ambos estudios. Por lo tanto es difícil poder realizar la comparación de las concentraciones de cortisol fecal obtenidas en diferentes estudios de la misma especie, debido a que se necesitan unas técnicas de recolección y análisis idénticas (von der Ohe y Servheen, 2002). En tercer lugar, la composición de la dieta así como el tiempo de tránsito intestinal tienen un efecto importante en la concentración de cortisol fecal (von der Ohe y Servheen, 2002). Variaciones en el tiempo de tránsito intestinal tienen un efecto directo sobre la acumulación de heces en los intestinos y con ello, en la excreción de esteroides (Palme *et al.* 1996). Los lobos grises de Norteamérica son una subespecie diferente de los lobos mexicanos y aunque parecidos, sus hábitos alimenticios varían sustancialmente en el tipo y tamaño de la presa. Además, los lobos en vida libre, como los del estudio de Sands y Creel, no comen cada día, sino que la ingesta varía dependiendo de la accesibilidad de las presas (Servín, 1997), mientras que los ejemplares de zoológico son alimentados diariamente y por lo tanto tienen un patrón de eliminación más constante que los individuos en libertad. Es por eso que es de esperar que las concentraciones de cortisol fecal de los lobos de vida libre sean más elevadas que la de los lobos de cautiverio.

Los valores de cortisol encontrados en heces de lobo mexicano constituyen un aporte original, puesto que aún no se había reportado la medición de este esteroide en heces. La validación de la técnica en cuestión mostró paralelismo con la curva de cortisol frío. Este hecho, sumado a una prueba de desafío (restricción física) realizada anteriormente con estos lobos, demuestran que la técnica está realmente reconociendo diferentes concentraciones de cortisol en heces. Esto hace que se convierta en una herramienta de gran valor para poder realizar un muestreo rutinario. En todo caso sería de gran utilidad uniformar criterios entre laboratorios para poder estandarizar las diferentes técnicas de evaluación de esteroides fecales (Möstl y Palme, 2002).

6.3. Efecto del público sobre la respuesta adrenocortical

Se determinaron los valores de cortisol fecal en situaciones de alta y baja afluencia de visitantes para evaluar la respuesta adrenocortical en ambos casos. Las concentraciones fecales de los metabolitos del cortisol muestran una estimación del estado del eje HHA, suavizando los efectos del ritmo pulsátil de eliminación (Goymann et. al. 1999).

En este estudio observamos que los lobos mexicanos presentaron un aumento de las concentraciones de cortisol fecal durante los fines de semana, es decir cuando hubo mayor cantidad de visitantes. Se sabe que el cortisol es liberado en sangre cuando el organismo necesita energía disponible para superar algún reto de origen diverso (Nelson, 2000). Es por eso que los niveles de cortisol pueden variar por multitud de razones, ya sea por un aumento de actividad física, por gestación o por algún tipo de estímulo negativo, entre otros (Wielebnowski, 2003). Nosotros hemos encontrado un incremento de la conducta de descanso y de la concentración de cortisol fecal en fines de semana, cosa que nos sugiere que el aumento de cortisol no es debido a un aumento de actividad, sino al intento fisiológico de enfrentar una situación percibida como adversa. Si consideramos que la presencia de gente en los zoológicos es un estímulo prolongado, entonces podemos decir que los aumentos de cortisol serían parte de un proceso de adaptación o de estrés crónico. En ambos casos se vería comprometida la habilidad inclusiva individual, estado totalmente indeseable en animales en peligro de extinción que se encuentran en un programa de conservación de la especie.

Lo encontrado concuerda con un estudio realizado en panteras nebulosas (*Neofelis nebulosa*), donde también se encontró que el cortisol fecal aumentaba en individuos expuestos al público o a otros animales (Wielobnowski et al., 2002). La respuesta de estrés desencadenada se puede derivar de una respuesta antidepredatoria (Blanchard et al., 1998).

Los cuatro animales que no estaban expuestos visualmente al público, contrario a lo esperado inicialmente, también presentaron los mismos cambios en la actividad adrenocortical relacionados con la cantidad de público. Se ha descrito en otros estudios que, según la especie, la exposición visual puede no ser el estímulo más importante. El aumento de ruido, que es obvio en los fines de semana, y otras señales auditivas y olfatorias (que probablemente nosotros no captamos) pueden inducir miedo en los animales que las perciben (Carlstead y Shepherdson, 2000). Por ejemplo, en orangutanes (*Pongo pygmeus*) se ha observado que reaccionaban más frente a grupos ruidosos y numerosos de visitantes, es decir, les afectaba particularmente el ruido (Birke, 2002). En leopardos (*Felis bengalensis*) la concentración de cortisol urinario aumenta cuando están albergados en exhibidores cercanos a otros depredadores sin que exista contacto visual (Carlstead *et al.*, 1993). Se sabe que en los lobos los sentidos más desarrollados son el olfato y el oído, comparado con éstos, podemos decir que su vista es más pobre (Busch, 1995). Parece ser que para los animales en cautiverio, los estímulos auditivos persistentes de diferente intensidad, frecuencia o contenido pueden ser factores de estrés comunes en ellos (Stoskopf, 1983). La exposición a estímulos olfatorios, auditivos o visuales de depredadores, (conespecíficos agresivos o humanos), se sabe que provocan comportamientos de miedo y respuestas fisiológicas de estrés (Blanchard *et al.*, 1998). Aunque algunos autores creen que no hay una relación clara entre el ruido y una respuesta de estrés en estos animales (Stoskopf, 1983; Bakken *et al.* 1999), los resultados obtenidos en este estudio hacen pensar que debido a la sensibilidad de estos animales, el ruido del público es realmente un factor importante a tener en cuenta para el desarrollo de una respuesta de estrés.

Otros trabajos relacionados con el efecto del público sobre los animales confinados en zoológicos, no habían relacionado variables conductuales y fisiológicas de estrés. Los resultados de esta tesis adquieren mayor peso debido a que la combinación de varias medidas proporciona una información

más completa sobre el nivel de bienestar de los animales (Broom y Johnson, 1993; Cook *et al.*, 2000).

6.4. Relación de las pautas de comportamiento con la actividad adrenal

Es lógico pensar que debe existir una correlación positiva entre cortisol y conductas agonísticas, puesto que se ha visto un incremento de las dos en estados mayor afluencia de público, pero el hecho es que no se encontró que estas variables estuvieran relacionadas. En otras especies de carnívoros, perros licaones (*Lycaon pictus*) y mangostas (*Helogale parvula*), sí se encontró una relación positiva (Creel *et al.*, 1996); Sin embargo en otros trabajos conductuales realizados sobre la dominancia en lobos grises tampoco se observó correlación alguna entre niveles de cortisol y conductas agonísticas (Sands y Creel 2004). Estos resultados nos indican que hay variabilidad en la relación de la actividad adrenal y los comportamientos expresados dentro del mismo taxón, y que ésta disminuye si trabajamos en la misma especie. Esto puede ser debido a las diferentes estrategias de interacciones sociales características de cada especie.

La relación existente entre conductas anormales y niveles de cortisol lleva aún bastante controversia. Así como algunos estudios señalan una relación positiva entre conductas anormales y niveles de cortisol (Redbo, 1993), otros han encontrado una relación negativa (Kostal *et al.*, 1992) y otros no han encontrado relación (Pell y McGreevy, 1999). En este estudio no se pudieron comparar los niveles de cortisol fecal del individuo que presentaba conducta estereotipada de caminata por la dificultad de recolecta de muestras fecales en este animal. Sin embargo, la loba con comportamiento anormal de excesivo acicalamiento, se encontró que esta conducta estaba correlacionada positivamente con sus niveles de cortisol fecal, y era la que presentaba los niveles de cortisol fecal más elevado de todos los individuos a estudio. Resultados parecidos se obtuvieron en felinos de zoológico, donde se vio una

relación positiva entre niveles de cortisol y conductas de automutilación (Wielobnowski *et al.*, 2002), lo cual nos indica que los resultados encontrados en lobo mexicano, es probable que se puedan extrapolar a varios de los carnívoros de zoológico, donde esta conducta va acompañada de niveles hormonales indicativos de situaciones de estrés. Con este estudio hemos visto asimismo que estas situaciones pueden ser debidas a la presencia de público visitante.

A pesar de que las comparaciones entre condiciones de público son claramente diferentes, independientemente de variables de los individuos como sexo, edad, o del ambiente, como albergues, se recomienda a futuro realizar un análisis multivariado para conocer las interacciones entre estas variables y su efecto sobre comportamiento y cortisol fecal.

6.5. Comentarios finales

Los zoológicos tienen una tremenda responsabilidad con aquellas especies que han desaparecido del medio natural, de las que solo existen poblaciones en cautiverio (Kreger *et al.*, 1998). Si estas especies tienen la oportunidad de sobrevivir y restablecerse en su hábitat natural, un punto crítico a tener en cuenta es el de mantener comportamentalmente intacta la población (Wiese y Hutchins, 1994). Mientras algunos autores mencionan que probablemente los animales de zoológico están habituados a la presencia de gente (Robinson, 1998) otros afirman que esto no se puede asumir (Hosey y Druck, 1987). En el presente estudio se ha observado que en el lobo mexicano la presencia de público es un factor que hace variar algunas pautas de comportamiento así como aumentar el cortisol fecal, resultados indicativos de que la presencia humana es percibida por este animal como un factor de estrés. La principal función de que estos animales estén albergados en zoológicos es llevar a cabo un programa de conservación. Algunos de los individuos de estas poblaciones cautivas serán, en un futuro, para la reintroducción en libertad, es por esta

razón que el mantenimiento de la diversidad conductual es uno de los objetivos importantes de los zoológicos (Carlstead y Shepherdson, 2000). Por otro lado, los visitantes tienen más empatía con los animales de zoológico con los que interactúan más directamente, pero esto crea un fuerte conflicto con la misión de conservación que tienen estos centros (Kreger y Mench, 1995). Parece ser que los propios visitantes de los zoológicos consideran la conservación como la principal función de estos centros (Reade y Waran, 1996) y que cada vez se preocupan más por el bienestar de los animales albergados en ellos (Seidensticker y Forthman, 1998). Por estas razones se propone revisar el plan de colección de esta especie, y que se especifique el propósito del cautiverio de cada uno de los individuos (educación, reproducción y reintroducción) para albergarlos de acuerdo al objetivo a alcanzar. Si realmente el lobo mexicano es una especie prioritaria de recuperar y proteger, todos los esfuerzos deben ir destinados a mantenerlos en óptimas condiciones para este fin.

En el programa de conservación del lobo mexicano se indica mantener a los individuos en condiciones de cautiverio con una rutina predecible y un grado de aislamiento y privacidad tan grande como sea posible (Servín y Lindaker, 1992). El manejo de estos animales debe ir encarado a que los animales exhiban conductas naturales y restringir al máximo la interacción humano-animal (Servín y Lindaker, 1992). Como se ha demostrado en este estudio, el número de visitantes puede ser un factor de estrés para este tipo de especies, es por este motivo que podría ser beneficioso la creación de albergues apartados de la exhibición al público para los programas de conservación *ex-situ*, y de este modo poder preservar las conductas típicas de la especie y aumentar su bienestar.

VII. REFERENCIAS

1. Amit Z, Galina Z.H. 1986. Stress-induced analgesia: adaptive pain suppression. *Physiological Reviews*. 66: 1091-1120.
2. Astheimer L.B, Buttermer W.A, Wingfield J.C. 1994. Gender and seasonal differences in the adrenocortical response to ACTH challenge in an arctic passerine, *Zonotrichia leucophrys gambelli*. *General and Comparative Endocrinology*. 94: 33-43.
3. Bakken M, Braastad B.O, Harri M, Jeppesen L.L, Pedersen V. 1994. Production conditions, behaviour and welfare of farm foxes. *Scientifur*. 18: 233-248.
4. Bakken M, Moe R.O, Smith A. J, Selle G-M. E. 1999. Effects of environmental stressors on deep body temperature and activity levels in silver fox vixens (*Vulpes vulpes*). *Applied Animal Behaviour Science*. 64: 141-151.
5. Bedolla, N, Ulloa-Aguirre A, Landeros J, Pérez-Palacios G. 1984. Análisis de datos y control de calidad en el radioinmunoanálisis. I. Guía para la evaluación de resultados. *Revista de Investigación Clínica (Méx)*. 36: 179-192.
6. Beerda B, Schilder M.B.H, Bernadina W, Van Hoof J.A.R.A.M, de Vries H.W, Mol J.A. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. Hormonal and immunological responses. *Physiology and Behaviour*. 66: 243-254.
7. Beerda B, Schilder M.B.H, Van Hoof J.A, De Vries H. 1997. Manifestations of cronic and acute stress in dogs. *Applied Animal Behaviour Science*. 52: 307-319.
8. Bernal J.F, Packard J.M. 1997. Differences in Winter Activity, Courtship, and Social Behaviour of Two Captive Family Groups of Mexican Wolves (*Canis lupus baileyi*). *Zoo Biology*. 16: 435-443.

9. Berridge C.W, Dunn A.J. 1989. Restraint-stress-induced changes in exploratory behaviour appear to be mediated by norepinephrine-stimulated release of CRF. *Journal of Neuroscience*. 9: 3513-3521.
10. Birke L. 2002. Effects of Brouse, Human visitors and Noise on the behaviour of captive orangutans. *Animal Welfare*. 11: 189-202.
11. Blanchard R.J, Nikulina J.N, Sakai R.R, McKittrick C, McEwans D, Blanchard D.C. 1998. Behavioral and endocrine change following predatory stress. *Physiology and Behaviour*. 61: 693-699.
12. Broom D.M, Johnson K. G. 1993. *Stress and Animal Welfare*. Chapman and Hall editions, London. pp 57-144.
13. Broom D.M. 1988. The Scientific Assessment of animal Welfare. *Applied Animal Behaviour Science*. 20: 5-19.
14. Brousset, D.M. 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 Zootécnia. 171 p.
15. Brown J.L, Wasser S.K, Wildt D.E, Graham L.H. 1994. Comparative aspects of steroid hormone metabolism on ovarian activity in felids measured noninvasively in feces. *Biology of Reproduction*. 51: 776-786.
16. Brownie A.C. 1992. The metabolism of adrenal cortical steroids. In: *The adrenal gland*. Raven Press LTD. pp 209-224.
17. Busch R.H. 1995. *The wolf almanac*. The Lyons Press. pp 27-31.
18. Campbell, S. 1980. Is reintroduction a realistic goal? In *Conservation Biology. An Evolutionary-Ecological Perspective*. (eds.) Soulé E, Wilcox B.A. Sinauer Associates, Inc. pp 263-269.
19. Carlstead K, Brown J.L, Monfort S.L, Killens R, Wildt D.E. 1992. Urinary monitoring of adrenal responses to psychological stressors in domestic and nondomestic felids. *Zoo Biology*. 11: 165-176.
20. Carlstead K, Brown J.L, Seidensticker J. 1993. Behavioural and adrenocortical responses to environmental changes in leopard cats (*Felis bengalensis*). *Zoo biology*. 12: 321-333.

21. Carlstead K, Fraser J, Bennett C, Kleiman D.G. 1999. Black rhinoceros (*Diceros bicornis*) in U.S zoos: II. Behavior, breeding success and mortality in relation to housing facilities. *Zoo Biology*. 18: 35-52.
22. Carlstead K, Seidensticker J. 1991a. Seasonal variation in stereotypic pacing in black bear (*Ursus americanus*). *Behavioural Processes*. 25: 155- 161.
23. Carlstead K, Shepherdson D. 2000. Alleviating Stress in Zoo Animals with Environmental Enrichment. In: *The Biology of Animal Stress*. (eds) Moberg G.P, Mench J.A. pp 337-354.
24. Carlstead K. 1991b. Husbandry of the Fennec fox, *Fennecus zerda*: Environmental conditions influencing stereotypic behaviour. *International zoo Yearbook*. 30: 202-207.
25. Carlstead K. 1996. Effects of Captivity on the Behaviour of Wild Mammals. In: *Wild Mammals in Captivity. Principles and Techniques*. (eds.) Kleiman D.G, Allen M.E, Thompson K.V, Lumpkin S. The University of Chicago Press. p 317-333.
26. Carlstead K. 1998. Determining the causes of stereotypic behaviors in zoo carnivores. In: *Second Nature*. (eds) Shepherdson D.J, Mellen J.D, Hutchins M. Smithsonian Institution Press. pp 172-201.
27. Castro M.I, Beck B, Kleiman D.G, Ruiz-Miranda C.R, Rosenberger A.L. 1998. Environmental enrichment in a reintroduction program for golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). In: *Second Nature*. (eds) Shepherdson D.J, Mellen J.D, Hutchins M. Smithsonian Institution Press. pp 113-128.
28. Cavigelli S.A. 1999. Behavioural patterns associated with faecal cortisol levels in free-ranging female ring-tailed lemurs, *Lemur catta*. *Animal Behaviour*. 57: 935-944.
29. Chamove A.S, Hosey G.R, Schaetzel P. 1988. Visitors excite primates in zoos. *Zoo Biology*. 7: 359-369.
30. Chrousos G.P, McCarty R, Pacak K, Cizza G, Sternberg E, Gold P.W, Kvetnansky R. 1995. Stress: basic mechanisms and clinical implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 771p.

31. Church D.B, Nicholson A.I, Ilkiw J.E, Emslic D.R. 1994. Effect of non-adrenal illness, anaesthesia and surgery on plasma cortisol concentrations in dogs. *Research in Veterinary Science*. 56: 129-131.
32. Clark J. D, Rager D.R, Calpin J.P. 1997b. Animal well-being III: Specific assesment criteria. *Laboratory animal Science*. 47: 586-596.
33. Clark J. D, Rager D.R, Crowell-Davis S, Evans D.I. 1997a. Housing and Exercise of Dogs: Effects on Behavior, Immune Function, and Cortisol Concentration. *Laboratory Animal Science*. 47: 500-510.
34. Conway W.G. 1980. An overview of captive propagation. In *Conservation Biology. An Evolutionary-Ecological Perspective*. (eds.) Soulé E, Wilcox B.A. Sinauer Associates, Inc. pp 199-208.
35. Cook C.J, Mellor D.J, Harris P.J, Ingram J.R, Matthews L.R. 2000. Hands-on and Hands-off Measurement of stress. In: *Biology of Animal Stress*. (eds) Moberg G.P, Mench J.A. CAB International. pp 123-146.
36. Creel S, Creel N.M, Mills M.G.L, Monfort S.L. 1997. Rank and reproduction in cooperatively breeding African wild dogs: behavioral and endocrine correlates. *Behavioral Ecology*. 8: 298-306.
37. Creel S, Creel N.M, Monfort S.L. 1996. Social stress and dominance. *Nature*. 379: 212.
38. Creel S, Fox J.E, Hardy A, Sands J, Garrott B, Peterson R.O. 2002. Snowmobile Activity and Glucocorticoid Stress Responses in Wolves and Elk. *Conservation Biology*. 16: 809-814.
39. Creel S. 2001. Social dominance and stress hormones. *Trends in Ecology and Evolution*. 16(9): 491-497.
40. Crocket C.M. 1998. Psychological well-being of captive nonhuman primates. In: *Second Nature*. (eds) Shepherdson D.J, Mellen J.D, Hutchins M. Smithsonian Institution Press. pp 131-132.
41. Cronin G. M, Barnett J.L. 1987. An association between plasma corticosteroids and performance of stereoype behaviours of tethered sows. In: Barnett J.L. et al., *Manipulating Pig Production*. Australian Pig Science Association. pp 26.

42. Cronin G. M, Wiepkema P.R, vanRee J.M. 1985. Endogenous opioids are involved in abnormal stereotype behaviours of tethered sows. *Neuropeptides*. 6: 527-530.
43. Cuarón A.D. 2004. Fuera de lugar, sobre la conservación *ex situ*. *Especies*. 13: 18-23.
44. Dawkins M. 1980. *Animal Suffering: the Science of Animal Welfare*. London: Chapman and Hall.
45. Dawkins M. 1990. From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. *Behavioural and Brain Sciences*. 13: 1-61.
46. Dobson H, Smith R.F. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction? *Animal Reproduction Science*. 60-61: 743-752.
47. Dodman, N.H, Shuster L, Court M.H, Dixon R. 1987. Investigation into the use of narcotic antagonists, in the treatment of a stereotypic behaviour pattern (crib-biting) in horse. *American Journal of Veterinary Research*. 48: 311-319.
48. Duncan I.J.H, Wood-Gush D.G.M. 1974. The effect of rauwoina tranquilizer on stereotyped movements in frustrated domestic fowl. *Applied Animal Ethology*. 1: 67-76.
49. Fa J.E. 1992. Visitor-Directed Aggression Among the Gibraltar Macaques. *Zoo Biology*. 11: 43-52.
50. Fox S.M, Mellor D.J, Firth E.C, Hodge H, Lawoko C.R.O. 1994. Changes in plasma cortisol concentrations before, during and after analgesia, anaesthesia and anaesthesia plus ovariohysterectomy in bitches. *Research an Veterinary Science*. 57: 110-118.
51. Frankel O.H, Soulé M.E. 1981. *Conservation and evolution*. Cambridge University Press. pp 133-162.
52. Fraser A.F, Broom D.M. 1990. *Farm Animal Behaviour and Welfare*. London: Baillière Tindall. pp 318-322.
53. Frézard A, Le Pape G. 2003. Contribution to the Welfare of Captive Wolves (*Canis lupus lupus*): A Behavioural Comparison of Six Wolf Packs. *Zoo Biology*. 22: 33-44.

54. Friend T.H. 1991. Behavioural aspects of stress. *Journal of Dairy Science*. 74: 292-303.
55. Gandelman R. 1992. *Psychobiology of Behavioural Development*. Oxford University Press. pp 220-223.
56. Ganswindt A, Palme R, Heistermann M, Borragan S, Hodges J.K. 2003. Non-invasive assessment of adrenocortical function in the male African elephant (*Loxodonta africana*) and its relation to musth. *General and Comparative Endocrinology*. 134: 156-166.
57. Garcia-Moreno J, Matocq M.D, Roy M.S, Geffen E, Wayne R.K. 1996. Relationships and genetic purity of the endangered Mexican wolf based on analysis of microsatellite loci. *Conservation biology*. 10(2): 376-389.
58. Garnier F, Benoit E, Virat M, Ochoa R, Delatour P. 1990. Adrenal cortical response in clinically normal dogs before and after adaptation to a housing environment. *Laboratory Animals*. 24: 40-43.
59. Glatstone A.R, Geilvoet-Soeteman E, Hora-Pecek E, VanHooff J.A.R.A.M. 1984. The influence of the zoo environment on social behaviour of groups of cotton-topped tamarins, *Sanguinus oedipus oedipus*. *Zoo Biology*. 3: 241-253.
60. Goymann W, Möstl E, Van't Hof T, East M.L, Hofer H. 1999. Noninvasive Fecal Monitoring of Glucocorticoids in Spotted Hyenas, *Crocuta crocuta*. *General and Comparative Endocrinology*. 114: 340-348.
61. Graham L.H, Brown J.L. 1996. Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for non-invasive monitoring of adrenocortical function in endangered felids. *Zoo Biology*. 15: 71-82.
62. Gran Enciclopedia Catalana. 1988. 8:177, 11:447, 13:287, 14:151,375, 17: 287, 23:111,121,
63. Harré R, Lamb R. 1991. *Diccionario de Etología y Aprendizaje Animal*. Ediciones Paidós. p 45-107.
64. Hediger H. 1950. *Wild animals in captivity*. Butterworths, London. 166 p.
65. Hemsworth P.H, Barnett J.L. 2000. Human- Animal Interactions and Animal Stress. In: *The Biology of Animal Stress*. (eds) Moberg G.P, Mench J.A. pp 309-335.

66. Hennessy M.B, Davis H.N, Williams M.T, Mellott C, Douglas C.E. 1997. Plasma cortisol levels of dogs at a country animal shelter. 62: 485-490.
67. Hopster H, van der Werf J.T.N, Erkens J.H.F, Blokuis H.J. 1999. Effects of repeated jugular puncture on plasma cortisol concentrations in loose – housed dairy cows. Journal of Animal Science. 77: 708-714.
68. Hosey G.R, Druck P.T. 1987. The Influence of Zoo Visitors on the Behaviour of Captive Primates. Applied Animal Behaviour Science. 18: 19-29.
69. Hosey G.R. 2000. Zoo animals and their human audiences: what is the visitor effect? Animal Welfare. 9: 343-357.
70. Hughes B.O, Duncan I,J,H.1988. The notion of ethological "need", models of motivation and animal welfare. Animal Behaviour. 36: 1696-1707.
71. Hutchins M, Smith B, Allard R. 2003. In defense of zoos and aquariums: the ethical basis for keeping wild animals in captivity. JAVNA. 223: 958-966.
72. INE-SEMARNAP. 1994. Primer Simposium Nacional del Lobo Gris Mexicano. Fes-Cuautitlan, U.N.A.M.
73. Jensen P, Algers B, Ekesbo I. 1986. Methods of Sampling and Analysis of Data in Farm Animal Ethology. Thierhaltung, Bang 17. Animal Management, Birkhäuser Verlag. 17: 30-77.
74. Johnson E.O, Kamilaris T.C, Chrousos G.P, Gold P.W. 1992. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioural homeostasis. Neuroscience and Biobehavioural Reviews. 16: 115-130.
75. Jones R.B. 1987. Fear and fear responses: a hypothetical consideration. Medical Science Research. 15: 1287-1290.
76. Jurke M.H, Czekala N.M, Lindburg D.G, Millard S.E. 1997. Fecal corticoid measurement in cheetahs (*Acinonyx jubatus*). Zoo biology. 16: 133-147.

77. Kennes D, Ödberg F.O, Bouquet Y, Rycke P.H. 1988. Changes in Naloxone and haloperidol effects during the development of captivity-induced jumping stereotypy in bank voles. *European Journal of Pharmacology*. 153: 19-24.
78. Kleiman D.G. 1980. The sociobiology of captive propagation. In *Conservation Biology, An Evolutionary-Ecological Perspective*. (eds.) Soulé E, Wilcox B.A. Sinauer Associates, Inc. pp 243-261.
79. Kleiman, D.G. 1992. Behavior Research in Zoos: Past, Present and Future. *Zoo Biology*, 11: 301-312.
80. Knol B.W. 1991. Stress and the endocrine hypothalamus-pituitary-testis system: a review. *The veterinary Quarterly*, 13(2): 104-114
81. Kostal L, Savory C.J, Hughes B.O. 1992. Diurnal and individual variation in behaviour of restricted-fed broiler breeders. *Applied Animal Behaviour Science*. 32: 361-374.
82. Kreeger T.J, Pereira D.L, Callahan M, Beckel M. 1996. Activity Patterns of Gray Wolves Housed in Small Vs. Large Enclosures. *Zoo Biology*. 15: 395-401.
83. Kreger M.D, Hutchins M, Fascione N. 1998. Context, ethics, and environmental enrichment in zoos and aquariums. In: *Second Nature*. (eds) Shepherdson D.J, Mellen J.D, Hutchins M. Smithsonian Institution Press. pp 59-81.
84. Kreger M.D, Mench J.A. 1995. Visitor-animal interactions at the zoo. *Anthrozoös*, 8: 143-158.
85. Ladewing J, de Passille A.M, Rushen J, Schouten W, Terlow E.M.C, vonBorell E. 1993. Stress and the Physiological Correlates of Stereotypic Behaviour. In: *Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Applications to Welfare*. (eds.) Alistair B.L. and Rushen J. CAB INTERNATIONAL. pp 97-118.
86. Ladewing J. 2000. Chronic Intermittent Stress: A Model for the Study of Long-Term Stressors. In: *Biology of Animal Stress*. (eds) Moberg G.P, Mench J.A. CAB International. pp 159-186.

87. Lambeth S.P, Bloomsmith M.A, Alford P.L. 1997. Effects of Human Activity on Chimpanzee Wounding. *Zoo Biology*. 16: 327-333.
88. Maki S, Alford P.L, Bramblett C. 1987. The effect of unfamiliar humans on aggression in captive chimpanzee groups. *American Journal of Primatology*. 12: 358.
89. Manning A, Dawkins M.S. 1992. *An Introduction to Animal Behaviour*. Cambridge University Press. pp 71-79.
90. Manteca J. 2002. *Etología Clínica Veterinaria del perro y del gato*. Multimédica. pp 194-197.
91. Margulis S.W, Hoyos C, Anderson M. 2003. Effect of Felid Activity on Zoo Visitor Interest. *Zoo Biology*. 22: 587-599.
92. Martin P, Bateson P. 1993. *Measuring behaviour; an introductory guide*. Cambridge University Press, 2nd edition. p 56-112.
93. Mason G. J. 1990. Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour*. 41:1015-1037.
94. Mason G.J. 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behavior*. 41: 1015-1037.
95. Mason G.J. 1993. Age and context affect stereotypies of mink. *Behaviour*. 127: 191-229.
96. McBride R.T. 1980. The Mexican Wolf. A historical review observation on it's status and distribution. Curtis J.C. and Sharon Wherle editors. U.S. Fish and Wildlife Service. 8:38.
97. McBride S.D, Cuddelford D. 2001. The putative welfare reducing effects of preventing equine stereotyping behaviour. *Animal Welfare*. 10:173-189.
98. Mech L.D. 1982. The UICN-SSC wolf specialist group. In F.H. Harrington and P.C. Paquet editors. *Wolves of the world*. Noyes Publications, New Jersey. p 327- 333.
99. Mellen J.D. 1991. Factors influencing reproductive success in small captive exotic felids (*Felis* spp.): A multiple regression analysis. *Zoo biology*. 10: 95-110.

100. Mitchell G, Herring F, Obradovich S, Tromborg C, Dowd B, Neville L.E, Field L. 1991b. Effects of Visitors and Cage Changes on the Behaviors of Mangabeys. *Zoo Biology*. 10: 417-423.
101. Mitchell G, Herring F, Tromborg C, Dowd B, Steiner S, Obradovich S. 1991a. Targets of aggressive facial displays by golden-bellied mangabeys (*Cercocebus galeritus chrysogaster*). *Applied Animal Behaviour Science*. 33: 249-259.
102. Mitchell G, Tromborg C.T, Kaufman J, Bargabus S, Simoni R, Geissler V. 1992. More on the "influence" of zoo visitors on the behaviour of captive primates. *Applied Animal Behaviour Science*. 35: 189-198.
103. Moe R.O, Bakken M. 1997. Effects of handling and physical restraint on rectal temperature, cortisol, glucose and leucocyte counts in the silver fox (*Vulpes vulpes*). *Acta Veterinaria Scandinavica*. 38:29-39.
104. Monfort S.L, Mashburn B.S, Brewer B.A, Creel S.R. 1998. Evaluating adrenal activity in african wild dogs (*Lycaon pictus*) by fecal corticosteroid analysis. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 29(2): 129-133.
105. Moodie E.M, Chamove A.S. 1990. Brief threatening events beneficial for captive tamarins. *Zoo Biology*. 9: 275-286.
106. Morris M, Salmon P, Steinberg H, Sykers E.A, Bouloux P, Newbould E, McLoughlin L, Besser G.M, Crossman A. 1990. Endogenous opioids modulate the cardiovascular response to mental stress. *Psychoneuroendocrinology*. 15: 185-192.
107. Morrow-Tesch J.L, McGlone J.J, Norman R.L. 1993. Consequences of restraint stress on natural killer cell activity, behavior, and hormone levels in rhesus macaques (*Macaca mulata*). *Psychoneuroendocrinology*. 18: 383-395.
108. Möstl E, Palme R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology*. 23: 67-74.
109. Munck A, Guyre P.M, Holbrook N.I. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relationship to pharmacological actions. *Endocrinology Review*. 5:25-44.

110. Nelson R.J. 2000. An Introduction to Behavioural Endocrinology. Sinauer Associates, Inc. pp 557-591.
111. Nimon A.J, Broom D.M. 2001. The Welfare of farmed foxes *Vulpes vulpes* and *Alopex lagopus* in relation to housing and management: a review. *Animal Welfare*. 10: 223-248.
112. Nimon A.J, Dalziel F.R. 1992. 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 Behaviour Science*. 33: 261- 272.
113. Norcup S. 2000. Camouflaged gorillas. Barriers as enrichment for apes. *The shape of enrichment*. 9: 5.
114. O'Donovan D, Hindle J.E, McKeown S, O'Donovan S. 1993. Effect of visitors on the behaviour of female cheetahs *Acinonyx jubatus* and cubs. *International Zoo Yearbook*. 32: 238-244.
115. Ödberg F. 1986. The jumping stereotypy in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Biology Behaviour*. 11: 130- 143.
116. Ogburn P, Crouse S, Martin S, Haupt K. 1998. Comparison of behavioural and physiology responses of dogs wearing two different types of collars. *Applied Animal Behavioural Science*. 61: 133-142.
117. Pagano R.R. 1998. Understanding Statistics in the Behavioural Sciences. Brooks Cole Publishing Company, 5th edition. 548 p.
118. Palme R, Fisher P, Schildorfer H, Ismail M.N. 1996. Excretion of infused ¹⁴C-steroid hormones via faeces and urine in domestic livestock. *Animal Reproduction Science*. 43: 43-63.
119. Palme R, Robia C, Baumgartner W, Möstl E. 2000. Transport stress in cattle as reflected by increase in faecal cortisol metabolite concentrations. *The Veterinary Record*. 22: 108-109.
120. Pell S.M, McGreevy P.D. 1999. A Study of cortisol and beta-endorphin levels in stereotypic and normal Thoroughbreds. *Applied Animal Behaviour Science*. 64: 81-90.

121. Pérez M.M, Mendoza M.E, Romano M.C. 1999. Exfoliative vaginal cytology and plasma levels of estrone and estradiol 17- β in young and old adult goats. *Small Ruminant Research*. 33: 153-158.
122. Pifarré M. 2002. Métodos de registro conductual como herramienta de diagnóstico y evaluación de un programa de enriquecimiento ambiental. *Simposium anual del A.Z.C.A.R.M.*
123. Pottinger T.G. 1999. The impact of stress on animal reproductive activities. In: *Stress physiology in animals*. (eds.) Paul H, Balm M. Sheffield Biological Sciences. pp 130-177.
124. Price E.O. 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behaviour Science*. 65: 245-271.
125. Reade L.S, Waran N.K. 1996. The modern zoo: How do people perceive zoo animals? *Applied Animal Behaviour Science*. 47: 109-118.
126. Redbo I. 1993. Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering. *Applied Animal Behaviour Science*. 38: 213-225.
127. Rivera J.A, Gual F, Cifuentes P, Cué A.I. 2003. Animal Welfare in the Mexico City Zoo's. *XI International Symposium in Animal Hygiene*.
128. Rivera J.A. 2003. Efecto del estrés sobre la calidad del semen del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. Tesis de Maestría. UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 98 p.
129. Rivier C, Rivest S. 1991. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanism; a review. *Biology of Reproduction*. 45: 523-532.
130. Rushen J, de Passillé A.M, Schouten W. 1990. Stereotyped behaviour, endogenous opioids and post-feeding hypoalgesia in pigs. *Physiology and behaviour*. 48: 91-96.
131. Sambrook T.D, Buchanan-Smith H.M. 1997. Control and complexity in novel object enrichment. *Animal Welfare*. 6: 207-216.
132. Sands J, Creel S. 2004. Social dominance, aggression and faecal glucocorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*. *Animal Behaviour*. 67: 387-396.

133. Sapolsky R.M, Romero L.M, Munck A.U. 2000. How do Glucocorticoids Influence Stress Response? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews*. 21(1): 55-89.
134. Sapolsky R.M. 1992. *Stress, the Aging Brain and the Mechanisms of Neuron Death*. MIT Press, Cambridge.
135. Schatz S, Palme R. 2001. Measurement of Faecal Cortisol Metabolites in Cats and Dogs: A Non-invasive Method for Evaluating Adrenocortical Function. *Veterinary Research Communications*. 25: 271-287.
136. Schouten W, Rushen J. 1992. Effects of naloxone on stereotypic and normal behaviour of tethered and loose housed sows. *Applied Animal Behaviour Science*. 33: 17-26.
137. Schouten W.G.P, Rushen J, de Passillé A.M. 1991. Stereotypic behaviour and heart rate in pigs. *Physiology and Behaviour*. 50: 617-624.
138. Schouten W.G.P, Wiepkema P.R. 1991. Coping stress of tethered sows. *Behavioural Processes*. 25: 125-132.
139. Scott J.P, Fuller J.L. 1965. *Genetics and the social behaviour of the dog: The social behaviour of dogs and wolves*. University of Chicago Press. p 57-79.
140. Seidensticker J, Forthman D.L. 1998. Evolution, Ecology, and Enrichment; Basic Considerations for Wild Animals in Zoos. In: *Second Nature*. Smithsonian Institution Press. p 15-30.
141. Semarnap. 2000. Proyecto de recuperación del lobo mexicano. Instituto de Ecología. p 120.
142. Servín J, Lindaker S. 1992. Behavioural and social characteristics. Mexican Gray Wolf Keeper Training Worksheet. pp 6.1-6.6.
143. Servín J. 1991. Algunos aspectos de la conducta social del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. *Acta Zoológica Mexicana*. 45: 1-43.
144. Servín J. 1997. El periodo de apareamiento, nacimiento y crecimiento del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*). *Acta Zoológica Mexicana*. 71: 45-56.

145. Shepherdson D.J. 1998. Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In: *Second Nature*. (eds) Shepherdson D.J, Mellen J.D, Hutchins M. Smithsonian Institution Press. pp 1-12.
146. Smith J.D, Allen S.W, Quandt J.E. 1999. Changes in cortisol concentrations in response to stress and postoperative pain in client owned cats and correlation with objective clinical variables. *American Journal of Veterinary Research*. 60: 432-436.
147. Stoskopf M.K. 1983. The physiological effects of psychological stress. *Zoo Biology*. 2: 179-190.
148. Tennessen T. 1989. Coping with Confinement-Features of the Environment that Influence Animals' Ability to Adapt. *Applied Animal Behaviour Science*. 22: 139-149.
149. Terio K.A, Citino S.B, Brown J.L. 1999. Fecal cortisol metabolite analysis for noninvasive monitoring of adrenocortical function in cheetas (*Acinonyx jubatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 30: 484-491.
150. Terlouw E.M.C, Lawrence A.B, Ladewing J, De Passillee A.M, Rushen J, Schouten G.P. 1991a. Relationship between plasma cortisol and stereotypic activities in pigs. *Behavioural Processes*. 25: 133-153.
151. Terlow C, Laurence A.B, Illius A.W. 1991b. Influence of feeding level and physical restriction on development of stereotypies in sows. *Animal Behaviour*. 42: 981-991.
152. Thompson V.D. 1989. Behavioral response of 12 ungulate species in captivity to the presence of humans. *Zoo Biology*. 17: 211-297.
153. Tiefenbacher S, Novak M.A, Jorgensen M.J, Meyer J.S. 2000. Physiological correlates of self-injurious behavior in captive, socially-reared rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology*. 25: 799-817.
154. Tiefenbacher S, Novak M.A, Marinus L.M, Chase W.K, Miller J.A, Meyer J.S. 2004. Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical function in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) with self-injurious behavior. *Psychoneuroendocrinology*. 29: 501-515.

155. Toates F. 2000. Multiple Factors Controlling Behaviour: Implications for Stress and Welfare. In: *Biology of Animal Stress*. (eds) Moberg G.P, Mench J.A. CAB International. pp 199-227.
156. Tuinier S, Verhoeven W.M.A, Thijssen J.H.H. 1997. The role of stress hormones in stereotyped and selfinjurious behavior. *Biological Psychiatry*. 42: 87S.
157. Valádez R, Rodríguez B, Viniegra F, Olmos K, Blanco A, Tejeda S, Casas M. 2002. Híbridos de lobos y perros en cuevas teotihuacanas. *Crónica de un desubrimiento*. AMMVEPE. 13(1): 6-23.
158. von Borell E, Hurnik J.F. 1990. Stereotypic behavior, adrenocortical function, and open field behavior of individually-confined gestating sows. *Physiology and Behaviour*. 49: 709-714.
159. von der Ohe C.G, Servheen C. 2002. Stress and fecal glucocorticoids. *Wildlife Society Bulletin*. 30: 1215-1225.
160. Wasser S.K, Hunt K.E, Brown J.L, Cooper K, Crockett C.M, Bechert U, Millspaugh J.J, Larson S, Monfort S.L. 2000. Generalized fecal glucocorticoid assay for use in a diverse assay of nondomestic mammalian and avian species. *General and Comparative Endocrinology*. 120: 260-275.
161. Wemelsfelder F, Birke L. 1997. Environmental challenge. In: *Animal Welfare*. (eds) Appleby M.C, Hughes B.O. CAB International: Wallington. pp 35-48.
162. Wielebnowski N. 2003. Stress and distress: evaluating their impact for the well-being of zoo animals. *JAVMA*. 223: 973-977.
163. Wielobnowski N.C, Fletchall N, Carlstead K, Busso J.M, Brown J.L. 2002. Noninvasive Assessment of Adrenal Activity Associated with Husbandry and Behavioral Factors in the North American Clouded Leopard Population. *Zoo Biology*. 21: 77-98.
164. Wiepkema P.R, Koolhas J.M. 1993. Stress and animal welfare. *Animal Welfare*. 2: 195-218.

165. Wiese R, Hutchins M. 1994. Species Survival Plans: Strategies for Wildlife Conservation. Bethesda, Md: American Zoo and Aquarium Association.
166. Wingfield J.C, Deviche P, Sharbaugh S, Astheimer L.B, Holberton R, Suydam R, Hunt K. 1994. Seasonal changes of the adrenocortical responses to stress in redpolls, *Acanthis flammea*, in Alaska. Journal of Experimental Zoology. 270: 372-380.
167. Wingfield J.C, Ramenofsky M. 1999. Hormones and the behavioural ecology of stress. In Stress physiology in animals. Balm PHM, Sheffield Academic Press-CRC Press England. p 1-41.
168. Wood W. 1998. Interactions among environmental enrichment, viewing crowds and zoo chimpanzees (*Pan troglodytes*). Zoo Biology. 17: 211-230.
169. Wormell D, Brayshaw M, Price E, Herron S. 1996. Pied tamarins *Sanguinus bicolor bicolor* at the Jersey's Wildlife Preservation Trust: management, behaviour and reproduction. Dodo Journal of the Wildlife Preservation Trust. 32: 76-97.

1. CONDUCTAS DE MANTENIMIENTO

2. **D. Descanso:** Estar en reposo, solo cuando el individuo se encuentre echado. Puede estar con los ojos abiertos atento al medio, con los ojos cerrados o dormido.
3. **E. Estático:** Estado en que el individuo se encuentra parado o sentado, puede estar haciendo las acciones de buscar, rastrear, oler u observar sin que exista desplazamiento.
4. **T. Trófico:** comportamiento alimenticio de comer y beber.
5. **L. Locomoción:** Desplazamiento de un lugar a otro, dependiendo de la velocidad y del tipo de marcha de caracterizó la locomoción en:
Paso (Lp): avanzar a ritmo lento, caminando.
Trote (Lt): manera rápida de andar donde se apoyan de manera alterna los pares de extremidades anterior derecha con posterior izquierda y anterior izquierda con posterior derecha.
Galope (Lg): progresión rápida y con saltos donde tocan sucesivamente con el suelo la extremidad posterior izquierda, la derecha, la anterior izquierda y la derecha, sin haber más de dos patas en contacto con el suelo.
6. **Est. Estereotipia:** Conjunto de movimientos de patrón repetido y sin ninguna función obvia.
7. **Cc. Cuidado corporal:** Acicalamiento propio, donde pueden verse las acciones de rascarse, lamerse, frotarse, mordisqueo de pelo y sacudirse.
8. **Ec. Escarbar:** Conducta de escarbar, enterrar y desenterrar.

2. CONDUCTAS SOCIALES

➤ **Afiliativas:**

1. **Af. Afiliativas en general:** Interacciones entre individuos donde pueden aparecer movimientos oscilantes de la cola, lamidos en cualquier parte del otro individuo, haloacicalamiento, toque de hocicos o tocar con el hocico cualquier parte del cuerpo, olfateo de los genitales y cara.
2. **J. Juego:** Conductas de solicitud de juego, juego con contacto corporal y persecuciones descritas en el etograma de Servín, 1991.

3. **Sex. Sexuales:** aquellas que van destinadas a un apareamiento. Levantar la cola por parte de la hembra y pasear enfrente del macho con esta postura. Ladeación de la cola y andar junto al macho. Olfateo y lamido de genitales del macho a la hembra. Persecuciones del macho a la hembra, muchas veces acompañado de vocalizaciones parecidas a chillidos e intentos de monta.
4. **M. Monta:** el macho coloca las dos patas delanteras encima del lomo de la hembra e intenta colocarse detrás de ella sin dejar de abrazarla.
5. **C. Cópula:** Cuando existe monta con acoplamiento del macho y la hembra.
6. **Mar. Marcaje:** señalar con orines con o sin vaciado de vejiga, frotar genitales contra el suelo, rascado del suelo con las patas delanteras y traseras, restregarse contra el suelo empezando con cara y cuello y terminando con el cuerpo entero.

➤ **Agonísticas:**

1. **Ag. Agonísticas:** Cuando existen encuentros ofensivos y/o defensivos entre individuos, donde podremos encontrar conductas de sumisión (activa, pasiva, en grupo) o de dominancia (Fuller, 1965), agresión sin contacto corporal (amenaza ofensiva, ataque, acecho, acoso, acorralamiento), agresión con intento de mordida (mordida de hocico, salto o levantamiento y mordisco), agresión con mordida (leve o grave) y agresión defensiva (huida, mantener distancia, mordida, amenaza, mordisco ruidoso, en círculo), descritas por Servín 1991.

APÉNDICE II Planilla de observaciones utilizada en el lobo mexicano

DIA: HORA:		CLIMA: OBSERVADOR:						COLORANTE: Canek: Maria:						Nancy: Unahcú:		COMENTARIOS
CANEK			NANCY			MARIA			UNAHCÚ			GENTE				
C	L	V	C	L	V	C	L	V	C	L	V	T	Q			
:	00															
:	05															
:	10															
:	15															
:	20															
:	25															
:	30															
:	35															
:	40															
:	45															
:	50															
:	55															

LOBOS: Barridos cada 5 minutos, Entre barridos las sociales

Individuales: D. Descanso: Echado ojos abiertos u ojos cerrados
 E. Estático: parado, sentado.
 T. Trófico: Comer y beber
 L. Locomoción: Lp: paso, Lt: trote, Lg: galope
 Est. Estereotipia: básicamente de caminata.
 CC. Cuidado corporal: Rascarse, lamerse, frotarse.
 Ji. Juego individual: carreras, comportamiento dirigido a objetos del albergue.
 EC. escarbar: enterrar, desenterrar, rascar
 O. Otras: especificar en comentarios

Sociales: Af. Afiliativas en general: Toque de hocicos, frotarse, lamerse
 J. Juego: solicitud de juego, con contacto corporal, persecución.
 Sex. Sexuales: presentación, cortejo .M. montas. C. copulas
 Mar. Marcaje: con orines, o restregándose.
 Ag. Agonistas: . Sumisión, amenaza, ataque, acoso, acorralado
 Añadir Visibilidad: V. Animal visible para el público
 NV. Animal no visible para el público
GENTE: Barrido cada cinco minutos
 Q Q. CANTIDAD: Núm. de gente que pasa delante del albergue.
 T. T. TIPO: E. Escuelas An. Adultos con niños A. adultos

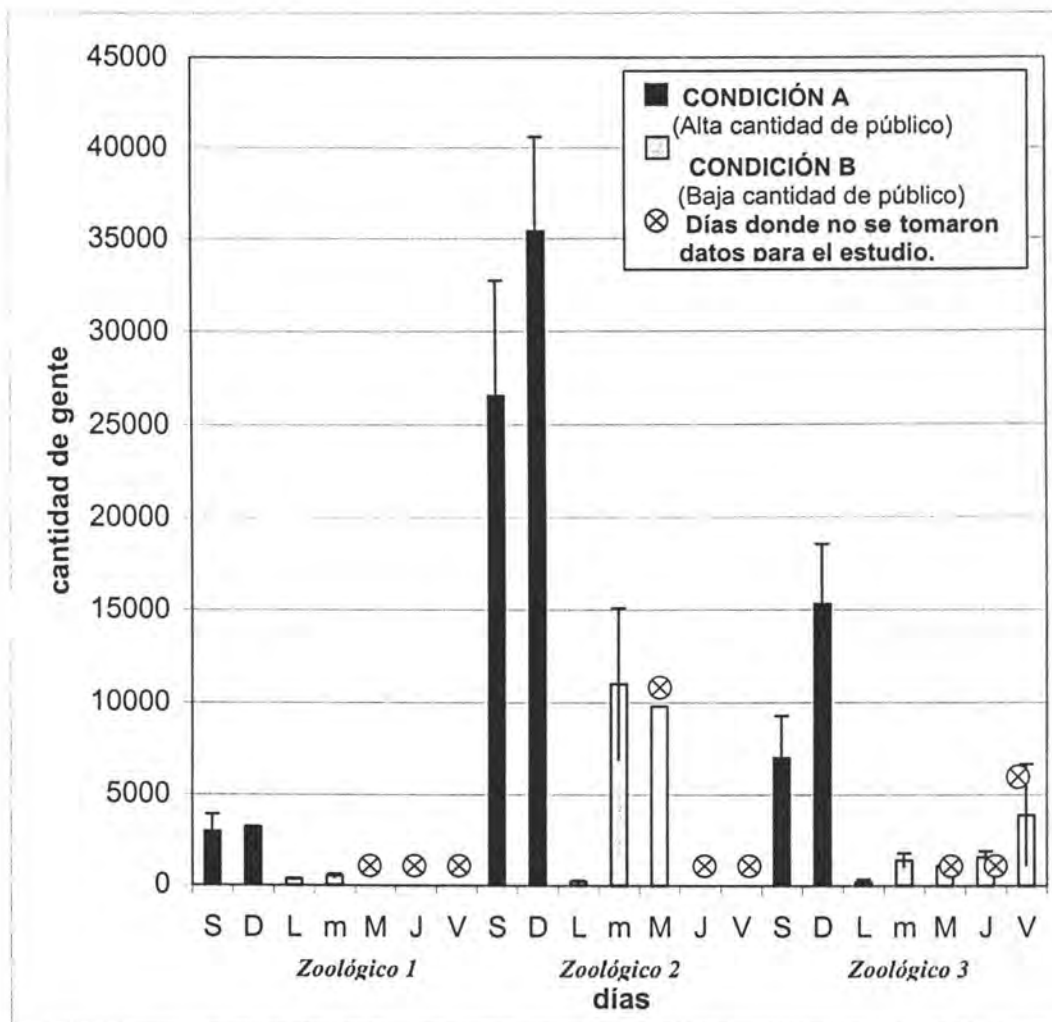


Figura 8. Cantidad de público visitante que entró en los tres zoológicos a estudio. La cantidad de visitantes en fin de semana fue más alta que durante los días lunes y martes ($p < 0.001$). Se obtuvo una correlación entre el total de visitante diarios y la cantidad de público situado delante de los albergues de lobo mexicano de $R > 0,90$ ($p < 0.05$). En base a estos datos se dividieron los días en condición A y condición B de público.

Cuadro 4. Características individuales de cada uno de los 16 lobos a estudio y sus características de albergue.

Nº de Identif. del Animal	Sexo	Edad (años)	Zoo	Nº de Albergue	Nº de Animales en el Albergue	m ² del Albergue	m ² / Animal	m ² no visibles
1	M	6	Af	1	4	680	170	227
2	H	9	Af	1	4	680	170	227
3	H	4	Af	1	4	680	170	227
4	M	1	Af	1	4	680	170	227
5	M	1	Ch	2	4	776	194	518
6	H	1	Ch	2	4	776	194	518
7	H	1	Ch	2	4	776	194	518
8	H	1	Ch	2	4	776	194	518
9	M	5	Ch	3	2	604	302	201
10	H	6	Ch	3	2	604	302	201
11	M	9	Ar	4	2	700	350	700
12	H	3	Ar	4	2	700	350	700
13	M	9	Ar	5	1	580	580	580
14	H	15	Ar	6	1	200	200	200
15	M	7	Ar	7	2	790	395	263
16	H	8	Ar	7	2	790	395	263

M: Machos; H: Hembras.

Af: Africam Safari; Ch: Chapultepec; Ar: Aragón.

APÉNDICE V. PORCENTAJE DE TIEMPO EN ESTADOS DE CONDUCTA

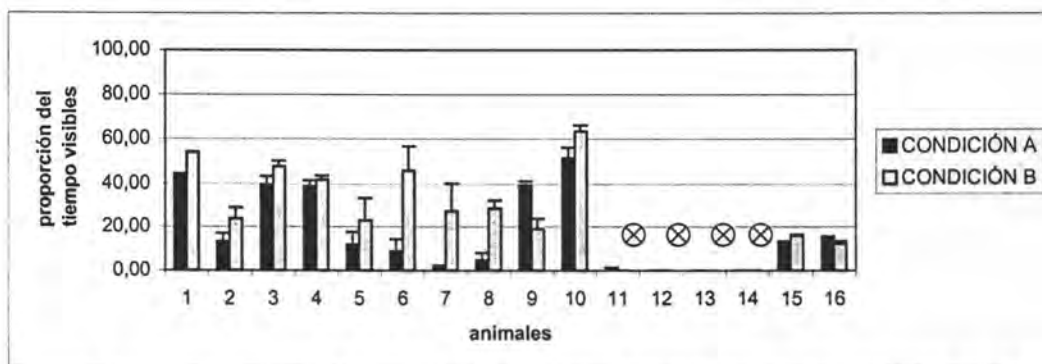


Figura 9. Promedio (\pm ES) de visibilidad de cada uno de los 16 lobos mexicanos para los visitantes en las dos condiciones de público¹. En la condición B, los lobos mexicanos están más visibles para los visitantes (Wilcoxon, $p < 0.05$). Los únicos animales que están más visibles en la condición A (9 y 16) son los que presentan conductas anormales.
 ⊗ Animales sin contacto visual con el público.

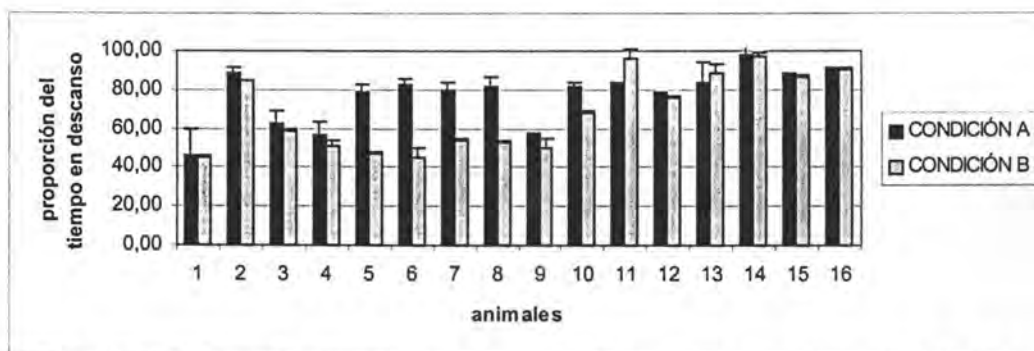


Figura 10. Porcentaje de tiempo (\pm ES) dedicado al descanso en cada uno de los lobos mexicanos ($n=16$) en las dos condiciones de público¹. Los lobos mexicanos dedican más tiempo al descanso en la condición A (Wilcoxon, $p < 0.05$). Los machos 11 y 13, sin contacto visual con el público, son los únicos que descansan más en la condición B.

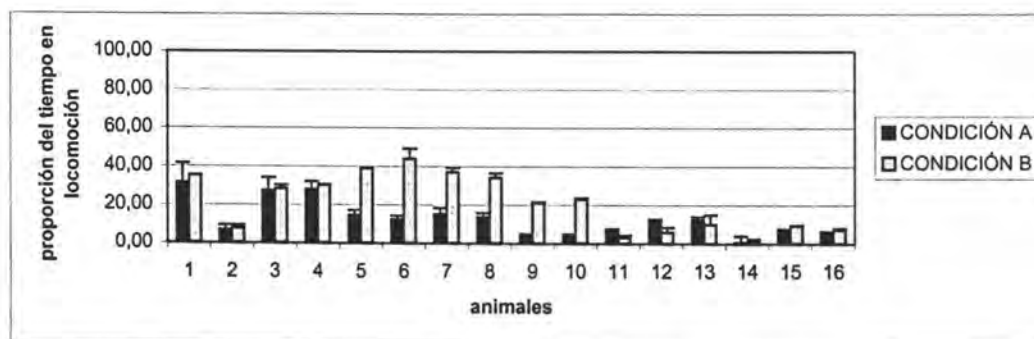


Figura 11. Porcentaje de tiempo (\pm ES) dedicado a locomoción por cada uno de los individuos ($n=16$) en las dos condiciones de público¹. En la condición B, los lobos mexicanos están más tiempo en locomoción (Wilcoxon, $p < 0.05$).

¹ Los individuos 11, 12, 13 y 14 no tenían contacto visual con el público. Los individuos 9 y 16 presentaban conductas anormales.

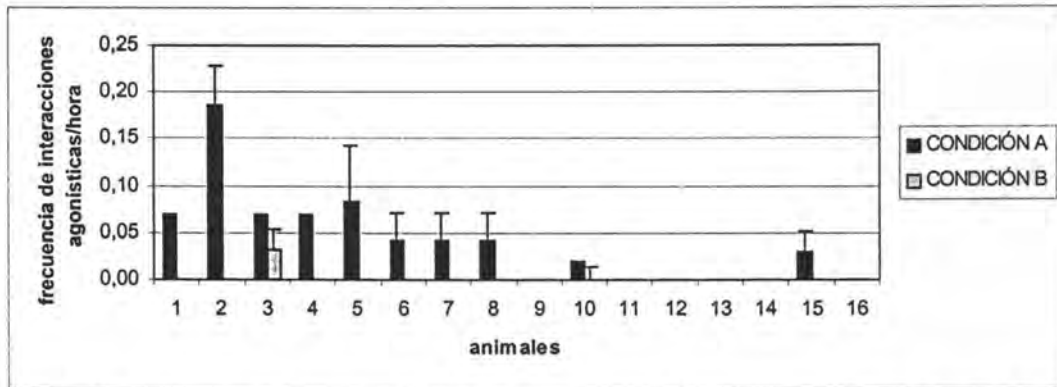


Figura 12. Frecuencia promedio (\pm ES) de interacciones agonísticas de cada uno de los 16 lobos mexicanos en las dos condiciones de público². Los lobos mexicanos presentan más conductas agonísticas los días de alta cantidad de público (Wilcoxon, $p < 0.05$).

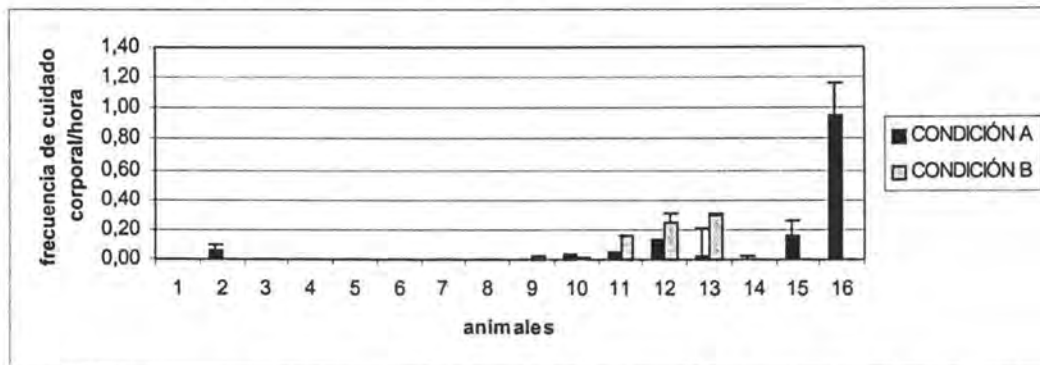


Figura 13. Frecuencia promedio (\pm ES) de cuidado corporal de cada uno de los 16 lobos mexicanos en las dos condiciones de público². En la condición A, la loba con conducta redirigida-compulsiva de acicalamiento (16), presenta más comportamiento de cuidado corporal (Wilcoxon, $p < 0.05$).

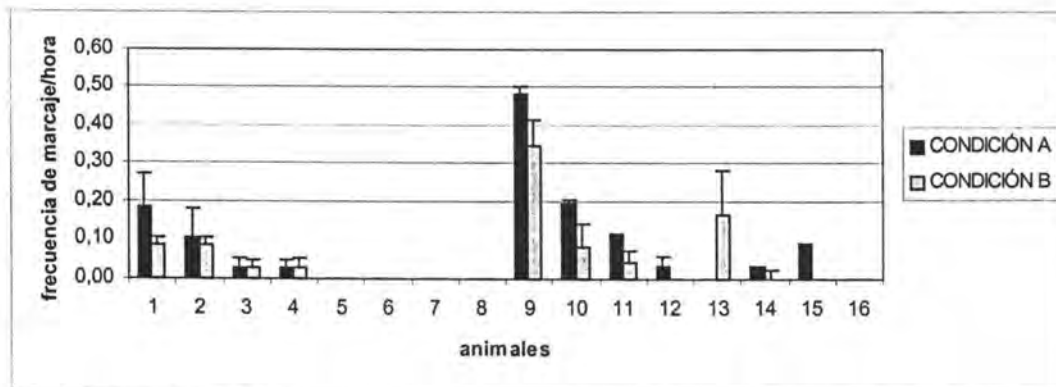


Figura 14. Frecuencia promedio (\pm ES) de marcaje de cada uno de los lobos ($n=16$) en las dos condiciones de público². Aunque no se encontró diferencia en el marcaje según la cantidad de público (Wilcoxon, $p > 0.05$), existe una tendencia a marcar más en la condición A.

² Los individuos 11,12,13 y 14 no tenían contacto visual con el público. Los individuos 9 y 16 presentaban conductas anormales.

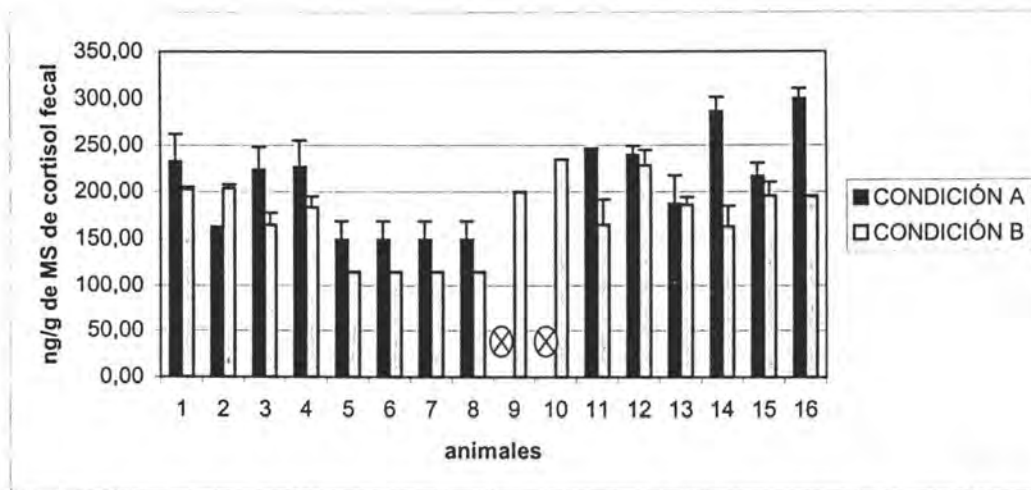


Figura 15. Medias (\pm ES) de cortisol fecal de cada uno de los 16 lobos mexicanos en días de alta y baja cantidad de público³. Los lobos mexicanos tienen más concentración de cortisol fecal los días de condición A de público ($p < 0.05$). Sólo el animal 2 no mostró un aumento de cortisol en los días de alta cantidad de público.

⊗ No se tienen datos de estos individuos en la condición A.

³ Los individuos 11,12,13 y 14 no tenían contacto visual con el público. Los individuos 9 y 16 presentaban conductas anormales.