UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

CARACTERIZACIÓN DEMOGRÁFICA, GENÉTICA Y REPRODUCTIVA DE JAGUARES (*Panthera onca*) EN CAUTIVERIO EN PARQUES ZOOLÓGICOS DE COLOMBIA

SANTIAGO JIMÉNEZ GONZÁLEZ M.V

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y DE ZOOTECNIA

Departamento de Salud Animal

Bogotá, Colombia

2017

CARACTERIZACIÓN DEMOGRÁFICA GENÉTICA Y REPRODUCTIVA DE JAGUARES (*Panthera onca*) EN CAUTIVERIO EN PARQUES ZOOLÓGICOS DE COLOMBIA

SANTIAGO JIMÉNEZ GONZÁLEZ M.V

TRABAJO PARA OBTAR PARA EL TITULO DE

DOCTOR EN CIENCIAS SALUD ANIMAL

Directora:

CLAUDIA JIMENEZ ESCOBAR M.V M.Sc DVSc

Línea de Investigación:

FISIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y DE ZOOTECNIA

Departamento de Salud Animal

Bogotá, Colombia

2017

DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD

Declaro que todos los resultados de esta tesis son totalmente originales.

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Rector:	Ignacio Mantilla Prada
Vicerrector General:	Carlos Alberto Garzón
Vicerrector Académico:	Juan Manuel Tejeiro Sarmiento
Vicerrector de Investigación:	Dolly Montoya Castaño
Vicerrector Sede Bogotá:	Jaime Franky Rodriguéz
Secretario general:	Catalina Ramírez Gómez
Secretaria de sede:	Gladys Aminta Mendoza Barón

DIRECTIVAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DECANO	Luis Gabriel Quintero
VICEDECANO ACADEMICO	Jesús Alfredo Cortés Vecino
VICEDECANO DE BIENESTAR	Gregorio Piñeros Gómez
SECRETARIO ACADEMICO	Oscar David Turmequé Hernández
DIRECTORA DE LA TESIS	Claudia Jimenez Escobar
JURADO	Manuel Fernado Ariza Botero
JURADO	Aneke Moresco
JURADO	Angélica M. Giraldo

Dedicado a mi madre Julia E González
Mi hijo Tomás Jiménez
Mis hermanos David Jiménez y Carlos Soles
Mis sobrinos Alejandro, Lukas, Antton, Olivia, Shelby, Josephine and James
A mi abuela Rita Patiño
A mis amigos y amigas

A la memoria de mi padre Humberto Jiménez,
Mi mentor Jesús María Hermida,
Mi primo Diego Andrés Asenjo,
De la Dra. JoGayle Howard

.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a Julia González, Carlos Soles, David Jiménez, Jennifer Soles, Roger Soles, Minna Matero, Tomás Jiménez, Roger Soles, Andrew Soles, David Soles, Samantha Byrd, Rebecca Lawrence, Diego Felipe González, Ana Isabel González, Dr. Alberto Sánchez, Dr. Jesús Alberto Hermida, Dunia Casas de Hermida, Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios (ACOPAZOA), Parque zoológico Piscilago: Dra Ana Carolina Falla, Dra Paula A Valencia; Fundación Zoológico Santacruz: Dra. Haydy Monsalve, Dra. Angélica Moreno, John Vidal, Sandra Marcela Castellanos; Diana Rubio, Liz Rubio, Jorge Dávila, Fundación Zoológico Matecaña: Sandra Correa, Dr. Delio Orjuela, Fundación Zoológico Santafé: Dra. Marta Ocampo, Fundación zoológica de Cali: Maria Clara Dominguez, Dr. Jorge Gardeazabal, Carlos Galvis, Dra Juliana Peña; SCBI Instituto Smithsonian: Dra. JoGayle Howard, Dra. Janine Brown, Dr. David Wildt, Dr. Budhan Pukazhenthi, Dra. Rebecca Hobbs, Nicole Presley, Sarah Putman, Jenny Santiestevan, Dr. Bernardo Mesa, Dra. Astrith Rubiano, Dra. Christine Bozarth, Dr. Jesús Maldonado, Dr. Joseph Kolowski, Dr. Francisco Dallmeier, DSI Italy: Dra. Carolina Ramírez, Dr. Viviana Becerra, Dr. Alejandro Urbina, International Species Information System (ISIS): Dra. Laurie Bingaman, Instituto de Genética de la Universidad Nacional: Dr. Victor Vera, Dr. Luis Fernando Cadavid, Dr. Jimmy Vargas, Sonia Rocío Quintanilla, Miguel Novoa, Dra Rita Baldrich; Dr. Earl Pope, Dra. Marta Gómez, Dra. Liliana Chacón, Dr. Jorge Zambrano, Dr. Harvey Lozano, Dr. Jorge Pinzón, Dr. Henry Grajales, Amparo Cortés, Dra. Arlen Patricia Gómez, Dr. Benjamin Doncel, Dra. Lucia Botero, Dra Nadia Ariza, Dr. Fernando Nassar, Dra. Victoria Pereira, Dra. Ximena Gómez, Dr. Germán Afanador, Dra. Adriana Muñoz, Dr. Carlos Manrique, Laboratorio clínico Universidad Nacional de Colombia: Dr. Carlos Moreno, Dr. Daniel Acosta, Dr. Pedro Gamboa, Jorege Iván Dávila. National Cancer Institute: Dr. Stephen J O'Brien, Dr. Warren Johnson, Bailey Douglas Kessing, Dra. Melody Roelke, Dra. Marylin Mennotti, Dra. Claire Holleley, Joane Pontius, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC: Dra. Kate Rodriguez-Clark; Euclides de la Vega, César Mendoza, Dra. Angélica Giraldo, Dr. Fernando Ariza, Dra. Aneke Moresco, Dra. Marta Olivera: Pontificia Universidad Javeriana: Dr. Manuel Ruiz-García, Dra. Diana Alvárez; Angela Checa, Erandi Jiménez, Mancel Martínez, Centro de especialidades veterinarias: Dr. Daniel Rodríguez Crespo, programa de becas estudiantes sobresalientes Universidad Nacional de Colombia.

Contenido

Lista de figuras ..... **VII**

Lista de tablas ..... **IX**

1. Introducción **1**

1. Capítulo 1 ..... **3**

2. Capítulo 2 ..... **19**

3. Capítulo 3 ..... **51**

4. Capítulo 4 ..... **93**

5. Conclusiones generales **117**

Lista de figuras

Capítulo 2

Figura 1. Distribución de jaguares (*Panthera onca*) vivos por sexo, edad y número de individuos 2009. 27
Figura 2. Censo de jaguares (*Panthera onca*) cautivos machos, hembras y totales 1970-2010 29
Figura 3. Censo comparativo de jaguares (*Panthera onca*) nacidos en vida silvestre vs. Cautiverio 1970-2010 29
Figura 4. Tasa de Fecundidad (Mx) Actual vs Modelo jaguares machos. 32
Figura 5. Tasa de Fecundidad (Mx) Actual vs Modelo jaguares hembras. 33
Figura 6. Tasa de supervivencia (Px) Actual vs Modelo jaguares machos. 34
Figura 7. Tasa de supervivencia (Px) Actual vs Modelo jaguares hembras. 34
Figura 8. Tasa de sobrevivencia (Lx) Actual vs Modelo jaguares machos. 35
Figura 9. Tasa de sobrevivencia (Lx) Actual vs Modelo jaguares hembras. 36
Figura 10. Tasa de sobrevivencia (Lx) jaguares machos vs hembras. 36
Figura 11. Expectativa de vida media (Ex) jaguares hembras y machos. 37
Figura 12. Tasa de Mortalidad (Qx) Actual vs Modelo jaguares machos. 38
Figura 13. Tasa de Mortalidad (Qx) Actual vs Modelo jaguares hembras. 39
Figura 14. Valor reproductor (Vx) jaguares hembras y machos. 40
Figura 15. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 5 años 41
Figura 16. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 10 años 42
Figura 17. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 15 años 42

Figura 18. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 20 años.....43
Figura 19. Proyección a 100 años de las metas poblacionales para jaguares (*Panthera onca*) sin manejo reproductivo. 45
Figura 20. Proyección a 100 años de las metas poblacionales para jaguares (*Panthera onca*) con manejo reproductivo. 46

Capítulo 3

Figura 1. Número de descendientes por cada fundador.....60
Figura 2. Contribución genética de los fundadores a la población.....60
Figura 3. Retención alélica de los fundadores en la población. 61
Figura 4. Retención alélica potencial de los fundadores en la población. 61
Figura 5. Diversidad genética de jaguares cautivos en el tiempo. 62
Figura 6. Equivalente del genoma fundador de jaguares en el curso del tiempo. 63
Figura 7. Consanguinidad de jaguares en el curso del tiempo. 63
Figura 8. Media de parentesco (MK) para la población viva de jaguares cautivos.....65
Figura 9. Frecuencias alélicas encontradas para el microsatélite Fca 075, Fca 441 y Fca 220.....70
Figura 10, Frecuencias alélicas encontradas para el microsatélite Fca 043, Fca 224 y Fca 736.....70
Figura 11. Frecuencias alélicas encontradas para el microsatélite Fca 008, Fca 096 y Fca 391.....70
Figura 12. Pedigrí de la población de jaguares (*Panthera onca*) cautivos en parques zoológicos de Colombia obtenida por SPARKS, CERVUS y KINSHIP 1.2.....77

Capítulo 4

Figure 1. Natural and induced ovarian activity in three female Jaguars in captivity at the Santacruz zoological foundation. 101
Figure 2. In the left, mean estradiol concentrations + SEM in captive female jaguars (n=3) in different seasons, different letters (a, b) indicate significant differences (p<0.01). In the right, mean progestogens concentrations + SEM in different seasons, different letters (a, b) indicate significant differences (p<0.05). 102

Lista de tablas

Capítulo 2

Tabla 1. Lista de instituciones zoológicas pertenecientes a la Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios (ACOPAZOA). 23
Tabla 2.Studbook regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia 24
Tabla 3. Distribución actual y estable de machos y hembras por edades 26
Tabla 4. Censo de la población de Jaguares (*Panthera onca*) cautivos en Colombia 1970-2009 28
Tabla 5. Características demográficas para la población actual de jaguares y población modelo 30
Tabla 6. Tabla de vida para jaguares machos y hembras..... 31
Tabla 7. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo 41
Tabla 8. Selección de apareamientos de jaguares (*Panthera onca*) vivos ordenados según el valor de la media de parentesco MK 44
Tabla 9. Metas poblacionales para jaguares (*Panthera onca*) en Colombia sin manejo reproductivo y con manejo reproductivo a 100 años..... 45

Capítulo 3

Tabla 1. Panel de 9 Microsatélites fluoromarcados 57
Tabla 2. Estadísticas generales de los fundadores de la población. 59
Tabla 3. Estadísticas Individuales de la población viva de jaguares (*Panthera onca*) en cautiverio con pedigrí conocido. 64
Tabla 4. Genotipos de jaguares (*Panthera onca*) cautivos (n=20) con 9 microsatélites FCA. D= Dinucleótido, T= Tetranucleótido 66
Tabla 5. Valores promedios de heterocigocidad observada y esperada, información de contenido polimórfico (PIC) y probabilidad de presentación de alelos nulos por locus.... 67
Tabla 6. Frecuencias alélicas de heterocigotos y homocigotos por locus. 68
Tabla 7. Test exacto de equilibrio Hardy-Weinberg, donde se presenta valores P, error estándar (SE) y estima de *Fis* por los métodos de Weir & Cockerham's (1984) (W&C), y Robertson & Hill's (1984) (R&H). 72
Tabla 8. Asignación de maternidad de jaguares (*Panthera onca*) (n=20) con el programa CERVUS basados en el valor Par LOD Score. * Intervalo al 85%, *** Intervalo al 95%.. 73
Tabla 9. Asignación de paternidad de jaguares (*Panthera onca*) (n=20) con el programa CERVUS basados en el valor Par LOD Score. * Intervalo al 85%, *** Intervalo al 95%.. 74
Tabla 10. Cálculos de verosimilitud de parentesco y relación de jaguares (*Panthera onca*) cautivos (n=20) por medio de KINSHIP en 10000 simulaciones.* relación significativa ($p<0.05$), ** relación altamente significativa ($p<0.01$), *** altamente significativa ($p<0.001$) 75
Tabla 11. Prueba de paternidad y maternidad en jaguares (*Panthera onca*) asignada por el programa CERVUS con una relación altamente significativa ($p<0.001$) encontrada en

el programa KINSHIP entre individuos de un trío completo de padre madre e hijo, empleando 9 microsatélites.....78
Tabla 12. Studbook Regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia 2011. Paternidades y ***Maternidades asignadas por CERVUS y KINSHIP (p<0.001).....79

1. Introducción

El Jaguar (*Panthera onca*) en Colombia se encuentra catalogada como una especie amenazada en el Apéndice I de la Convención Internacional para el Comercio y Tratado de Especies Amenazadas de Fauna y Flora –CITES–, acogida por el Gobierno colombiano mediante la Ley 17 de 1981. En este apéndice figuran las especies de animales y plantas sobre las que pesa un mayor peligro de extinción, y sobre las que generalmente se prohíbe el comercio internacional de especímenes, salvo bajo condiciones excepcionales. Adicionalmente, se encuentra clasificada como una especie *Casi Amenazada* según la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) (IUCN) (IUCN, Red List 2011).

Con el crecimiento exponencial de la especie humana, los félidos han pasado de predadores a víctimas. Las 36 especies diferentes de félidos que viven en el planeta llevan millones de años utilizando diferentes estrategias reproductivas para garantizar una descendencia apta que afronte las diferentes condiciones adversas a las que se enfrentan. Condiciones que son causadas en la actualidad por actividades humanas como la tala de bosques y de selvas húmedas, avance de la frontera agropecuaria, explotación de cultivos ilícitos, cacería indiscriminada, tráfico ilegal y comercio de pieles, entre otros. Adicionalmente, la pérdida de selvas y bosques los ha forzado a cazar animales domésticos, siendo esto un pretexto más para que sean aniquilados.

Los esfuerzos de conservación -*in situ*- deben estar encaminados al mantenimiento y uso sostenible de poblaciones de fauna y flora silvestres y sus ecosistemas en su estado natural, por otro lado la conservación -*ex situ*- surge a partir de la extracción de animales de su hábitat natural y las limitantes que se presentan para reubicarlos en sus lugares de origen, como consecuencia de esto se ha generado un modelo de conservación -*ex situ*- que garantice la vitalidad de sus poblaciones como importantes reservorios genéticos. En general, los zoológicos a nivel mundial deben cumplir con tres lineamientos principales: investigación, educación y conservación (ALPZA, 2003). Ninguna de éstas es independiente de la otra y son complementarias entre sí. En términos de conservación -*ex situ*-, los centros de investigación y rehabilitación de fauna, los zoológicos y las universidades deben dirigir esfuerzos conjuntos a mantener poblaciones viables de especies amenazadas, las cuales sirven como reservorio para reintroducción, en caso de extinción de tales poblaciones en la vida silvestre, o para revitalizar, por medio de investigaciones aplicadas, poblaciones disminuidas (Knowell et al.1996).

En Colombia, aunque la comunidad científica acepta que la conservación *ex situ* es un factor determinante a futuro y que contribuye positivamente a la conservación *in situ*, aún no se ha realizado un análisis detallado sobre el mantenimiento de poblaciones cautivas de grandes carnívoros como el jaguar y las implicaciones como una alternativa seria de conservación. Por consiguiente es importante formular la siguiente pregunta -*¿Cómo se debe realizar un plan de conservación ex situ para el jaguar en Colombia que garantice la sostenibilidad de la población a través del tiempo a nivel demográfico, genético y reproductivo?*-. Para responder esta pregunta es necesario proponer un plan de manejo poblacional para la especie el cual consta de tres partes: 1. Análisis demográfico, 2. Análisis genético, 3. Análisis reproductivo. En el capítulo 1 se realiza el análisis demográfico retrospectivo y prospectivo, basándose en las características demográficas actuales de la población cautiva. Se establecen las proyecciones futuras en un contexto

general, tanto a nivel genético como a un nivel reproductivo para la especie, estableciendo metas reproductivas y realizando simulaciones computacionales de apareamientos para poder estimar el mantenimiento del 90% de la variabilidad genética de la población por un periodo de 100 años. En el capítulo 2 se desarrolla el análisis genético de la población a partir de los registros encontrados y el análisis de ADN empleando marcadores moleculares de tipo microsatélite. Se busca identificar los individuos que la conforman y conocer la estructura genética de la población para poder realizar la construcción del pedigrí o árbol familiar estableciendo el grado de parentesco entre los animales. De esta manera se podrá programar, en forma controlada, su participación en un programa de reproducción y así garantizar la auto-sostenibilidad de la población. En el capítulo 3 se aborda la caracterización reproductiva del macho del jaguar mediante un análisis no invasivo de seguimiento hormonal para testosterona por un periodo de un año junto un análisis seminal para determinar si los jaguares machos presentan diferencias estacionales o entre sí. Por último, en el capítulo 4 se presenta la caracterización reproductiva de la hembra del jaguar, mediante un análisis no invasivo de seguimiento hormonal para estradiol y progesterona por un periodo de un año y determinar si los jaguares presentan diferencias estacionales en sus ciclos estrales. También se presenta el análisis no invasivo de seguimiento hormonal para estradiol y progesterona después de la aplicación de gonadotropinas para determinar si los jaguares pueden presentar ovulaciones controladas.

Siguiendo este curso, se presentarán las conclusiones generales como una fuente importante de información para que los parques zoológicos del país puedan en primer lugar comprender a profundidad el alcance y la proyección del mantenimiento sostenible de sus poblaciones cautivas como reservorio de material genético variable y con un alto potencial reproductivo; y en segundo lugar, para que al contar con las herramientas desarrolladas puedan participar activamente en los programas nacionales de conservación para la especie, planteando recomendaciones y soluciones frente al problema de la extinción de especies animales en sus hábitats naturales. Es por esto que la caracterización demográfica, genética y reproductiva de la población permitirá la implementación y proyección de un plan de manejo reproductivo que aportará las herramientas necesarias para establecer un plan sostenible de conservación *ex situ* para el jaguar en Colombia.

1. Capítulo 1

Revisión de literatura

1.1 Origen de la especie

Los registros fósiles encontrados en África, Europa y América del Norte y los recientes análisis genéticos realizados en la última década (Johnson et al. 2006) sugieren que el origen de la familia de los félidos se remonta al Mioceno tardío, hace unos 10.2 millones de años (Ma) atrás. Hace 6,37 Ma la subfamilia *pantherinae* o linaje de las Panteras divergen de la subfamilia *felinae* y de la *acinonyxinae* (guepardos o cheetahs). Dentro de la subfamilia *pantherinae* la divergencia del Jaguar de los demás félidos ocurre hace 6.37 Ma, y específicamente con el leopardo ocurrió hace 2,87 Ma; la divergencia más reciente ocurre con el león (*Panthera leo*) hace 2.06 Ma (Johnson et al. 2006). En cuanto a los registros fósiles, el más antiguo se ha encontrado en Olivola, Italia y data de hace 1.6 millones de años. De esta forma Kurten B. (1965) sugiere que el origen de los jaguares ocurre en Eurasia durante el Mioceno tardío o en el pleistoceno temprano, con poblaciones que se extendieron en el circumpolar Blancano-Irvingtoniano y que posteriormente migraron desde Eurasia al continente americano a principios del pleistoceno. Basándose en los registros fósiles encontrados y su localización geográfica, se han denominado a los antecesores de los jaguares americanos del pleistoceno así: *Panthera onca augusta,* al jaguar norteamericano (Simpson 1941) modificándolo de la primera denominación de Leidy (1872) del *Felis augusta*; *Panthera onca andina*, al jaguar del ecuador (Hoffsteter, 1952); y *Panthera onca palustris,* al jaguar de Argentina (Cabrera, 1934). Sin embargo, Seymour (1989) propone a partir de análisis témporo-espaciales de los jaguares del pleistoceno que todos deberían ser denominados como *Panthera onca augusta* (Arroyo-Cabrales. 2002).

1.2 Descripción

El Jaguar (*Panthera onca*) descrito por Linnaeus (1758) es el tercer félido más grande del mundo después del tigre y el león y el más grande de América; es el único representante viviente del género Panthera que se encuentra en el nuevo mundo. El macho es robusto y musculoso con un cráneo grande y mandíbulas fuertes, orejas medianas, cuello ancho, tórax y abdomen rectangular en su vista lateral; el pliegue del ijar es colgante y la cola es medianamente larga con anillos negros. Su peso oscila entre los 50 y 80 Kg. La hembra es de menor talla y pesa entre 35 y 45 kg (Rabinowitz et al. 1986).

Presenta diferentes coloraciones del pelaje según la subespecie con dos patrones generales fenotípicos. El jaguar moteado, que se caracteriza por la presentación del pelaje de color pardo rojizo, con vientre y cuello blanquecinos y con rosetas negras con puntos negros en su interior y, el jaguar melánico o negro, el cual presenta diferentes tonos desde el gris oscuro en el manto general al negro azabache como coloración principal de las rosetas. La presentación de melanismo es una condición que se presenta en jaguares al igual que en otras especies de félidos; ésta se ha documentado y se ha registrado en las colecciones zoológicas colombianas (Velez et al. 1979). Hasta hace poco se pensaba que en los jaguares era una característica transmitida por un gen recesivo al igual como ocurre

en los leopardos (*Panthera pardus*). Sin embargo, desde mediados de los años setenta se reportó que el melanismo en los jaguares es el resultado de un gen autosómico dominante (Dittrich, 1979). Biólogos de campo como Mondolfi, Hoogesteijn (1986) consideraron la condición como recesiva, posiblemente porque la frecuencia de presentación de la fase melánica no ocurre ampliamente en una gran porción de la distribución natural geográfica del jaguar (Nowak, 1983). En el estudio publicado por Eizirik et al. (2003), reportan que el melanismo en los jaguares es una condición dominante asociada al gen MC1R (Melanocortin-1 receptor) y obedece a la deleción de 15pb (Pares de Bases) que remueve cinco aminoácidos del receptor de la membrana celular y a la sustitución de dos pares de base (Eizirik et al. 2003).

1.3 Hábitat y distribución

El jaguar está fuertemente asociado a la presencia de fuentes de agua. Se encuentran desde el nivel del mar hasta los 2.000 m, desde el sur-oeste de México hasta el norte de Argentina, con una densidad mayor de población en la selva Amazónica y menor en los límites de su distribución (Crawshaw et al. 1991; Emmons, 1991). Por la incidencia de las poblaciones humanas que día a día avanzan más hacia el centro de las selvas y bosques de nuestro continente, su distribución ha disminuido notablemente en los últimos 15 años. El jaguar se distribuye ampliamente en Colombia por toda la Costa Pacífica hasta el departamento de Bolívar; en la Costa Atlántica pasando por Antioquia, Córdoba y Sucre; en el oriente desde Arauca hasta la selva del Orinoco y Amazonas abarcando todos los Llanos Orientales hasta el Putumayo (Ruiz-Garcia et al. 2006).

1.4 Organización social

Son animales solitarios, donde cada individuo es dueño de un territorio; demarcan su dominio por medio de olor, orina, heces y rasguños en los árboles. Los territorios de los machos se extienden entre 28 - 168 km^2; mientras que el de las hembras se extiende entre 10 - 152 km^2. Con frecuencia el territorio de un macho abarca el de varias hembras siendo por lo general frecuente la cópula entre éstos. Por lo general las hembras establecen sus territorios cerca al de la madre y los machos mucho más lejos. Los territorios de los individuos jóvenes oscilan entre 10 y 70 km^2. Aunque el jaguar se ha caracterizado por ser principalmente nocturno (Nowak et al. 1983), se ha mostrado que ellos son a menudo activos durante el día, con variaciones de actividad alrededor del alba y crepúsculo. Se han encontrado jaguares activos durante el 50-60% del día (Rabinowitz et al. 1986; Crawshaw et al. 1991). Se conocen más de 85 especies en la dieta del jaguar (Seymour, 1989). Las presas grandes, como saínos (*Tayasu sp.*), dantas (*Tapirus sp*.) y ciervos (*Odocoyleus virginianus*, *Mazama sp.*) son de su predilección, pero un jaguar se alimenta comúnmente de lo que sea capaz de cazar más rápidamente, sin importar el tamaño de las presas, las que tienden a ser medianas (Rabinowitz et al. 1986; Emmons, 1987). La dieta del jaguar en la selva y en bosques de la sabana está sujeta a la disponibilidad de la presa y su vulnerabilidad (Emmons, 1991). En muchas áreas, el ganado es pastoreado, en lo que inicialmente era el hábitat del jaguar, siendo el ganado una de las especies de presa más documentadas (Hoogesteijn et al. 1992).

La condición de cautiverio la modificado tanto la organización social como la dieta de los jaguares en cautiverio. En todos los zoológicos del país la dieta está calculada según las demandas metabólicas de cada uno de los animales y son calculadas con el software ZOOTRITION. La alimentación se basa principalmente en carne de caballo y es administrada cada día de por medio, alternándose en carne pulpa, carne con hueso y vísceras rojas. El promedio de consumo por cada jaguar en cada ración administrada es de 6 kg. (Gómez, 2009)

1.5 Análisis demográficos

Uno de los principales objetivos de los programas de manejo poblacional de animales en zoológicos es el establecimiento de poblaciones auto sostenibles. Se trabaja particularmente con animales amenazados o en peligro, manteniendo altos estándares en cuanto a bienestar animal y manejo adecuado, realizando estudios aplicados como lo son los estudios genéticos destinados a fortalecer los programas de cría en cautiverio. Esta es la base para la realización e implementación de los “Planes de Supervivencia de Especies” (Species Survival Plans) que buscan tener poblaciones cautivas con alta variabilidad genética, bajas tasas de consanguinidad y establecimiento de programas que favorezcan el mantenimiento de poblaciones viables en cautiverio (Ballou et al, 1996) El manejo del pool genético de especies cautivas se basa en la construcción de un pedigrí completo y acertado, lo cual permite la determinación precisa de la estructura poblacional, coeficientes de consanguinidad, y de las probabilidades de la posesión de alelos de parentales fundadores y la retención de variabilidad genética dentro de la población. El rango de las posibilidades de manejo práctico al determinar el pedigrí de una población cautiva dirigido a preservar dicha población depende de múltiples factores reproductivos principalmente de la manipulación de parámetros reproductivos y de la capacidad de implementar técnicas para la colección y almacenaje de gametos, producción de embriones *in vitro* y la transferencia de los mismos a hembras aptas para desarrollar una gestación exitosa (Roelke et al. 1993)

La realización de un análisis genético en una población en cautiverio requiere de pasos sistemáticos para obtener la mayor cantidad de información posible como: la construcción de un “pedigrí” en la población, la identificación de parentales fundadores, la contribución genética de cada parental a toda la población (ley de segregación mendeliana), el cálculo de la pérdida de alelos debidos a endogamia o efectos de “cuellos de botella”, cálculos de coeficientes de consanguinidad y realización de pruebas empleando marcadores moleculares. De esta manera se pueden implementar las técnicas genéticas adecuadas para esclarecer los vacíos de información sobre ejemplares desconocidos (Ballou et al. 1996).

En una serie de documentos basados en registros de zoológicos de varias especies de mamíferos, Ralls y Ballou (1970) demostraron que la consanguinidad reduce el tiempo de supervivencia de animales juveniles, y que la continua práctica de cruzar parentales con su descendencia, deteriora la capacidad de conservación de los zoológicos. El uso de programas sofisticados de computador hace que las decisiones a nivel genético-demográfico, así como el éxito en reproducir especies en cautiverio, hayan resultado en el desarrollo de programas de manejo a “Cero Crecimiento Poblacional” (CCP). El CCP provee el potencial de manejo de poblaciones a largo plazo al mantener el máximo de diversidad genética manteniendo un control de la población (Ballou et al. 1996).

Para algunas especies donde las poblaciones silvestres se encuentran altamente disminuidas, la supervivencia de la especie depende de la propagación de animales cautivos. En estos casos, el pool genético entero de una especie, representada por la contribución genética de los fundadores cautivos a siguientes generaciones de individuos criados en cautiverio, se presenta como un sistema cerrado. En estos casos las nuevas mutaciones que ocurren dentro de la población, proveen la única nueva fuente de variación genética. Este proceso ocurre a una tasa extremadamente baja y provee cambios significativos solo en largos intervalos de tiempo o cuando las poblaciones son extremadamente grandes. En los casos en que las poblaciones silvestres se encuentran estables en número y distribución y que potencialmente puedan proveer migrantes a la población cautiva, permite el acceso a nuevas fuentes de variación y provee la oportunidad de preservar mayores proporciones de pool genético silvestre. (Ryder, 1982; Lacy, 1989).

1.6 Análisis genéticos

Los mapas genéticos generalmente son hechos con dos tipos diferentes de marcadores, estos son los Tipo I y los Tipo II. Los marcadores tipo I son genes y los marcadores tipo II son bits (la unidad mínima de información posible) anónimos (funciones desconocidas). La mayoría de mapas tienen muchos marcadores tipo II pero las posiciones exactas y las identidades de los genes son menos exactamente establecidas actualmente. Las pruebas de “Fingerprinting” están hechas con marcadores tipo II, no con genes. Como los genes, los marcadores pueden tener diferentes alelos con secuencias de bases ligeramente diferentes. Los marcadores que tienen cortas cadenas repetitivas son denominados microsatélites o STRP (Short Tandem Repeat Polymorphisms), estos se encuentran en todos los cromosomas, tiene varios alelos y son altamente polimórficos. Esta clase de marcadores se emplean para crear la huella digital del ADN y son los marcadores de elección para la identificación, pruebas de paternidad y determinar la diversidad del pool genético. Los microsatélites se han empleado en la identificación de individuos; esta clase de análisis se ha realizado exitosamente en gatos domésticos (*Felis catus*) (Coomber et al. 2007). En el caso de los jaguares, la individualidad genética está definida por la información genética que heredó de sus padres, cuyo material genético está contenido en 38 cromosomas (19 pares homólogos) del núcleo celular y el ADN mitocondrial. De esta manera, en cada individuo como consecuencia de la reproducción sexual, una copia de cada par de cromosomas es derivada del padre y la otra de la madre. Actualmente se conocen tres tipos de marcadores genéticos que se utilizan para identificar individuos: los marcadores de variación de secuencia, los minisatélites y los microsatélites. El último tipo de marcadores permite representar en una placa de gel de electroforesis, aspectos de la estructura del DNA en forma de bandas paralelas. Una vez se ha realizado la prueba de la huella digital del ADN para determinar casos de paternidad, existirían tres tipos de resultados posibles. Primero la prueba puede ser no concluyente ya sea por problemas técnicos o cantidad de muestra insuficiente; segundo, se puede encontrar que las muestras analizadas no corresponden y no coinciden y se define como negativa; tercero, cuando coinciden los patrones genéticos de las muestras que van a ser analizadas, en cuyo caso se define como concluyente (Lyons, 2001).

Los microsatélites se encuentran en la eucromatina y son muy polimórficos en la población, Los genes y el ADN repetido están localizados en posiciones (locus) particulares de los cromosomas y muchos de ellos pueden existir en formas variables llamadas alelos. Si un individuo posee dos copias de un alelo particular es homocigoto en ese locus y un individuo que tiene alelos diferentes en ese locus es heterocigoto. Los locus microsatélite pueden tener hasta 30 alelos y se heredan de acuerdo a las leyes mendelianas. De esta manera las frecuencias genotípicas pueden ser establecidas y analizadas estadísticamente de acuerdo a la frecuencia alélica de una población Por otro lado, los análisis empleando microsatélites se han llevado a cabo en diferentes especies de félidos silvestres para resolver interrogantes con respecto al origen y la evolución de las especies. Uno de los primeros reportes de su empleo se hizo para determinar el tiempo en el que ocurrió la primera gran disminución poblacional del guepardo o cheetah (*Acinonyx jubatus*), el cual ocurrió hace 10.000 años aproximadamente demostrado por un efecto denominado “cuello de botella” (Menotti-Raymond M. and O'Brien 1993). Posteriormente fueron empleados por el mismo grupo de investigadores, esta vez para determinar el nivel de diversidad genética de cuatro especies de félidos: el gato doméstico (*Felis catus*), el guepardo (*Acinonyx jubatus*), el puma (*Puma concolor*) y el león africano (*Panthera leo*) (Menotti-Raymond M. A. and O'Brien 1995). En 2001 se condujo un estudio en pumas el cual logró demostrar la presencia de homoplasia (fragmentos que tienen el mismo tamaño pero no la misma secuencia de bases) en 10 microsatélites en el puma (*Puma concolor*) (Culver et al. 2001).

En cuanto a los jaguares (*Panthera onca*), el primer análisis con microsatélites determinó una alta variación de tamaño en 29 locus analizados, encontrando evidencias moleculares de una reciente expansión poblacional y sugiriendo diferencias debido a la presencia de barreras geográficas como el tapón del Darién y el río Amazonas (Eizirik et al. 2001). Así mismo la varianza del tamaño de los alelos de los microsatélites han permitido desarrollar estimados genómicos para fenómenos ocurridos en tiempos ancestrales como los efectos fundadores presentados en pumas (*Puma concolor*) de Norte América, leones asiáticos (*Panthera leo persicus*) y los guepardos (*Acinonyx jubatus*) (Driscoll et al. 2002). Es sólo hasta el 2006 en el que se realiza el análisis del jaguar (*Panthera onca*) en Colombia empleando microsatélites en el cual se encontró una ligera subdivisión entre las subespecies presentes, compuestas principalmente por jaguares centro americanos (*Panthera onca centralis*) y los jaguares amazónicos (*Panthera onca onca*) (Ruiz-Garcia et al. 2006). Los microsatélites también se han empleado para detectar diferencias entre subespecies de las panteras nebulosas (*Neofelis nebulosa nebulosa*) presentes en Tailandia y las panteras nebulosas (*Neofelis nebulosa diardi*) encontradas en la isla de Borneo (Buckley-Beason et al. 2006) y las subespecies de tigres cautivos a nivel mundial (Luo et al. 2008).

1.7 Análisis reproductivos

En las últimas décadas en Latinoamérica se han incrementado los esfuerzos investigativos dirigidos a la conservación de félidos silvestres. Los casos más notables son los avances realizados en Brasil y México, gracias a la colaboración directa de instituciones como el Centro para la Conservación e Investigación de Fauna Silvestre en Peligro del Zoológico de Cincinnati (CREW) y el Centro de Investigación y Conservación del Instituto Smithsonian (CRC) (Brown et al. 2001). Los científicos de estos países han recibido capacitación y entrenamiento en ciencias reproductivas, han conducido en conjunto estudios de investigación básica y aplicada en reproducción de félidos latinoamericanos y han promovido el desarrollo de proyectos reproductivos independientes enfocados a la conservación (Swanson and Brown 2004). En el caso de Colombia el interés creciente por parte de investigadores por la conservación de félidos silvestres colombianos ha propiciado el inicio de esta clase de cooperación. Tal es el caso del entrenamiento de estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia en el zoológico nacional del Instituto Smithsonian, así mismo como en el Centro AUDUBON de investigación de especies amenazadas (AUDUBON Center for Endangered Species (ACRES)) donde investigadores colombianos reportaron el primer nacimiento de un clon de gato silvestre africano (*Felis silvetris lybica*) gestado en una gata doméstica, producto de la aplicación de técnicas de transferencia nuclear, en donde un fibroblasto de gato silvestre africano fue introducido en un oocito de gata doméstica.(Gomez et al. 2000, Gomez et al. 2004)

1.7.1 Análisis del macho felino

El análisis del macho felino es fundamental para el desarrollo de técnicas de reproducción asistida. En Colombia los primeros ensayos fueron realizados por Oyuela et al. (2002) donde se reportaron morfologías espermáticas normales por encima del 70% y se conformó el primer banco de semen de jaguares en el país. Morato et al (2001) reportó resultados similares; sin embargo es necesario conducir más estudios encaminados a fortalecer y enriquecer con muestras de nuevos ejemplares fuera de las colecciones de jaguares presentes en la asociación colombiana de parques zoológicos y acuarios (ACOPAZOA), para así tener un reservorio mayor de animales que puedan enriquecer la variabilidad genética de las poblaciones cautivas.

1.7.1.1 Análisis seminales y criopreservación de semen

Las diferentes metodologías desarrolladas para el análisis seminal de félidos silvestres involucran protocolos especie-específicos que necesitan ser desarrollados para identificar los diferentes factores que pueden afectar el éxito reproductivo. Tal es el caso de las especies pequeñas pertenecientes al género *Leopardus*, en los cuales se ha encontrado que su eficiencia reproductiva aumenta si éstos se encuentran en hábitats individuales y no en exhibiciones grupales. Reportes de Swanson y Brown (2004) resaltan la baja tasa reproductiva que tienen los félidos silvestres en los zoológicos latinoamericanos; cerca del 80% de los animales estudiados no se han reproducido. También se reporta una alta presentación de espermatozoides morfológicamente anormales (>50%). En el caso del ocelote (*Leopardus pardalis*), margay (*Leopardus wiedi*) y tigrillo (*Leopardus tigrina*), se ha podido determinar que bajo condiciones ambientales óptimas y de adecuada suplementación nutricional, las variaciones en las características seminales y endocrinas,

medidas por medio de metabolitos de testosterona, son mínimas a pesar de la diferente estacionalidad encontrada en Brasil; así mismo se ha encontrado una alta calidad en los eyaculados de estos pequeños félidos (Morais et al. 2002, Moreira et al. 2001)

En estudios realizados por Morato et al. (2004), se analizó la variación de la función endocrina y testicular de jaguares cautivos en Brasil por medio de radioimunoensayo (RIA) y midiendo concentraciones fecales de andrógenos. En el estudio no se encontraron diferencias significativas en la función endocrina-testicular durante las estaciones (verano, otoño, invierno, primavera). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($p<0.05$) en las concentraciones de andrógenos entre periodos de sequía (380 + 28 ng/g) y de lluvias (483 + 32.3 ng/g). En cuanto al análisis seminal en el que se evaluaron las variables volumen, concentración, motilidad progresiva y morfología, tampoco se encontraron diferencias significativas (Morato et al. 2004). También se han conducido estudios con el fin de determinar la organización y cuantificación del espacio intertubular en el testículo del jaguar adulto para determinar la producción media de espermatozoides diaria (Azevedo et al. 2008). En los estudios reproductivos preliminares (Morato et al. 2001) se compararon las concentraciones de testosterona entre animales nacidos en cautiverio vs animales provenientes de vida silvestre. Aunque los animales cautivos presentaron un volumen seminal mayor, los animales de vida silvestre presentaron concentraciones de espermatozoides más elevadas y porcentajes más elevados de espermatozoides morfológicamente normales, lo cual permitió inferir que alguna condiciones del cautiverio podrían afectar negativamente estas variables. En cuanto a las concentraciones hormonales no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre las dos clases de animales objeto de estudio (Swanson, 2003)

Análisis seminales en guepardos (*Acinonyx jubatus*) demostraron que los defectos con mayor prevalencia eran la presencia de gota citoplasmática proximal y anormalidades en el acrosoma. Ambas anormalidades comprometían cerca del 40 % de los defectos estructurales observados (Crosier et al. 2006). Aunque se han producido crías de cheetahs por medio de inseminación artificial (Howard and Wildt 2009), las muestras de semen empleadas solo poseían 45% de motilidad y 40% de membranas acrosomales intactas. Con la adición de glicerol a temperatura ambiente antes de la refrigeración y posterior congelación, se ha aumentado la proporción de motilidad de los espermatozoides (40-50) y de presencia de acrosomas intactos (50-60) en semen criopreservado (Crosier et al. 2006).

La conformación de bancos de germoplasma, y la criopreservación de gametos, pueden facilitar el mantenimiento de la heterocigosidad, mientras se disminuye el movimiento de animales vivos entre diferentes instituciones (Wildt et al. 1987) Como un ejemplo del potencial de conservación, se realizó el análisis de 59 eyaculados de alta calidad de ocho especies de félidos latinoamericanos, basándose en concentraciones antes de congelación. Las muestras potencialmente deberían ser adecuadas para realizar cerca de 100 procedimientos de inseminación artificial o 26000 procedimientos de fertilización in Vitro (Swanson and Brown 2004)

Morato et al. (2004) reportó aumentos en los niveles de cortisol en materia fecal de jaguares machos después de procedimientos de electro-eyaculación bajo restricción química. En todos los machos (n=4) los niveles de cortisol aumentaron. Reportes similares fueron encontrados en guepardos y panteras nebulosas. Se puede inferir de estos resultados que los jaguares son susceptibles bajo eventos estresantes a elevar sus niveles de actividad adrenal lo cual ampliamente se ha empleado como una medida del nivel de

estrés que algunos animales sufren en cautiverio. En esta caso la elevación de cortisol depende directamente de los procedimientos médicos; sin embargo a partir de esto surge la pregunta: es posible que en el caso necesario de reproducir dos individuos ubicados en ciudades diferentes, el transporte o el manejo de los animales pueda influir directamente en la función reproductiva?, y la respuesta probablemente es positiva, los félidos son animales altamente susceptibles a los cambios en su ambiente; es por esto que al realizar procedimientos de inseminación artificial con semen conservado, es muy posible que se minimice el estrés de la manipulación de los machos, al no tener que transportarlos, siendo más práctico el traslado de pajillas de semen criopreservadas. (Herrick et al. 2010) (Pukazhenthi et al. 2006) (Morais et al. 2002)

1.7.1.2 Electroeyaculación

La recolección de semen se ha realizado en 28 de las 36 especies de félidos silvestres utilizando el protocolo estándar desarrollado por Wildt et al. (1983), que consiste en la aplicación de 80 estímulos divididos en tres series, la primer y segunda serie consta de 30 estímulos, la tercera de 20 estímulos; cada estímulo oscila entre 4 y 6 voltios. (Morato 2002). Este procedimiento debe ser realizado bajo anestesia general, Utilizando una mezcla como tiletamina-zolazepam con una dosis de 10 mg/kg. Otros protocolos emplean una premedicación anestésica con xilacina (0.8-1.8 mg/kg) y ketamina (2.8-6 mg/kg) como inductor de la anestesia en procedimientos realizados en Colombia (Jiménez-González et al., 2003).

1.7.2 Análisis en la hembra felina

El análisis de la hembra felina implica diferentes técnicas que pueden ser empleadas para diferentes propósitos. En primer lugar es necesario conocer los patrones de ciclicidad en los ciclos estrales, su correlación con las estaciones o épocas climatológicas y a partir de este conocimiento es posible realizar una aproximación a los diferentes mecanismos de intervención empleando gonadotropinas exógenas que actualmente son empleadas para promover el desarrollo folicular ovárico ya sea para realizar procedimientos de recuperación de oocitos y/o para inducir la ovulación en procedimientos de inseminación artificial. Sin embargo para tener la certeza de que dichos eventos ocurran, es necesario llevar a cabo un monitoreo hormonal y así determinar la eficacia de los procedimientos y determinar los momentos en que ocurren dichos cambios. Así mismo, es importante para controlar el tiempo de gestación en el caso de que la fertilización ocurra ya sea por monta natural, inseminación artificial o transferencia de embriones (Comizzoli et al. 2009). Se ha reportado para el jaguar que el estro tiene una duración de 6 a 17 días; el ciclo estral un promedio de 37 días con variaciones de los 22 hasta los 65 días(Wildt et al. 1979). La gestación promedio dura de 91 hasta 111 días (Hemmer, 1976) con un tamaño de la camada entre 1 y 4 cachorros (Hoogesteijn et al. 1992). Su periodo de vida promedio es de 11 - 12 años a más de 20 años (Green, 1991).

1.7.2.1 Monitoreo hormonal

Los estudios de fisiología reproductiva para evaluar la función endocrina tanto en machos como en hembras son esenciales para la realización de diferentes procedimientos a nivel de biotecnología reproductiva. El monitoreo hormonal, permite la identificación de

individuos con una mejor función reproductiva y también ayuda a detectar animales con problemas de fertilidad dentro de una población; también permite realizar diagnósticos de preñez o pseudopreñez en los casos en que se haya presentado una ovulación durante una cópula no fértil, o en el caso de que se haya presentado una ovulación espontánea (Graham et al. 1993). También permite determinar cuándo es necesaria y cómo llevar a cabo adecuadamente un programa de reproducción por monta natural o y/o la transferencia de embriones (Johnston et al. 1994). Diferentes estudios comparativos se han realizado para comprender la dinámica de los ciclos estrales en las hembras de félidos silvestres. Ensayos realizados en guepardos (*Acinonyx jubatus*) demostraron tiempos de pseudopreñez de 67 días (53-78), lo que equivale a dos tercios del tiempo de gestación (92-94), midiendo progestágenos en materia fecal (Brown et al. 1996). En posteriores estudios compararon la excreción de metabolitos de E2 y P4 en gato leopardo (*Felis bengalensis*), cheetah (*Acinonyx jubatus*), pantera nebulosa (*Neofelis nebulosa*), y pantera de las nieves (*Panthera uncia*). Los análisis longitudinales demostraron que los cambios en las concentraciones fecales de E2 y P4 reflejan actividad ovárica natural o artificial en las diferentes especies (Brown et al. 1994). En el caso del aumento de los niveles de E2, la excreción de estrógenos estaba relacionada con presentación de estro o la aplicación de tratamientos con gonadotropinas exógenas; las concentraciones de P4 confirmaron la presentación de fases luteales en pseudopreñez o preñez (Swanson et al. 1995).

1.7.2.2 Tratamiento con gonadotropinas exógenas

Para la realización de procedimientos de inseminación artificial en félidos no domésticos se han empleado ampliamente gonadotropinas, principalmente la gonadotropina coriónica equina (eCG) y la gonadotropina coriónica humana (hCG), para inducir desarrollo folicular ovárico y la ovulación respectivamente, para así realizar procedimientos como inseminación laparoscópica directamente en los cuernos uterinos (Howard et al. 1999). Sin embargo, la dosis necesaria para inducir el desarrollo folicular y la posterior ovulación es especie-específico. Tal es el caso de los ocelotes en los que se ha encontrado que son “casi” insensibles comparado con las otras especies de félidos a la administración de gonadotropinas exógenas. Las dosis empleadas pueden llegar a ser 400% por peso corporal superiores a las empleadas en otras especies (Swanson et al. 1996). En estudios en zoológicos brasileros se han realizado inseminaciones artificiales exitosas por laparoscopía en margays y tigrillos, después de monitoreos hormonales de estrógenos y progesterona (Morais et al. 1997).

1.7.2.3 Inseminación artificial

La inseminación artificial (IA) en felinos, surge como una alternativa para la conservación de individuos de alto valor genético, para felinos con dificultad de preñez y para la conservación de felinos no domésticos en vía de extinción, entre otras. La gran mayoría de procedimientos involucran la deposición del semen del macho a nivel intrauterino, intratubal e intravaginal. Para felinos domésticos se reportan tasas de concepción por encima del 50% en IA con semen fresco en deposición intravaginal, del 50-80% en deposición intrauterina y del 43% a nivel intratubal, con concentraciones similares de espermatozoides para los tres sitios de IA (Toshihiko Tsutsui 2006). Para felinos silvestres existen reportes de inseminación artificial por medios quirúrgicos con la obtención de un cachorro (Moore et al, 1981). B.L. Dresser (1982) realiza la primera IA en una hembra de leopardo persa *(Panthera pardus saxicolor)*, sin realizar procedimiento quirúrgico, con la

obtención de un cachorro que fallece por problemas al parto (distocia). Ann M. Donoghue (1993) realiza la IA a través de laparoscopía en una hembra de tigre siberiano (*Panthera tigris altaica*) con la obtención de un cachorro de tigre tras 111 días de gestación, demostrando la viabilidad de este sistema para la conservación de especies a partir de animales en cautiverio y la obtención de descendencia genéticamente valiosa.

1.7.2.4 Recuperación de oocitos por laparoscopia y fertilización in vitro

El tratamiento con gonadotropinas exógenas forma parte de las bases para realizar exitosamente la recuperación de oocitos por vía laparoscópica destinados a proyectos de fertilización *in vitro*, aunque la eficiencia varía. Estas técnicas desarrolladas en gatos domésticos han probado ser eficientes en la mayoría de gatos salvajes (Pope et al. 2006). A la fecha se han podido realizar exitosamente fertilizaciones *in vitro* en jaguares (Lamprea et al.), pumas (Miller et al. 1990), ocelotes (Swanson et al. 2003), tigrillos (Swanson et al. 2003), gato de geoffroy y jaguarundi (Pope et al. 1998). En el caso de los jaguares, la estimulación con FSH /LH porcina puede producir cerca de 25 folículos por hembra, de los cuales cerca del 80% son de alta calidad y son recuperables por laparoscopía. Sin embargo las tasas de fertilización *in vitro* aún son bajas (<25%) (Morato et al. 2000). Estos avances han conducido a la producción de cerca de 75 embriones de ocelotes (*Leopardus pardalis*) y 50 de tigrillos (*Leopardus tigrina*) producto de fertilizaciones in vitro en Brasil que han sido criopreservados. De éstos, dos preñeces se han llevado a cabo en ocelotes después de la transferencia de embriones descongelados (Swanson et al. 2004).

1.7.2.5 Criopreservación y transferencia de embriones

Los estudios realizados por Pope (2000), sugieren que la única forma de preservar la contribución genética de la hembra felina es la congelación de embriones, cuya eficacia se ha medido en las tasas de división post congelación (>70%). Aunque se ha encontrado que los embriones de gato doméstico no tienen dificultades para ser criopreservados, si se ha demostrado que la viabilidad de los embriones después de ser trasferido a receptoras, depende principalmente de las dificultades al sincronizar las hembras para lograr el ambiente más propicio para el reconocimiento materno del embrión por parte de la hembra receptora (Swanson et al. 2004). Hasta el momento tal vez ésta es una de las áreas menos exploradas en el uso de herramientas biotecnológicas aplicadas a la reproducción. Solo se han documentado pocos intentos de transferencia de embriones en especies de félidos silvestres. Hasta el momento sólo se han producido camadas de ocelotes, gato salvaje africano y caracal (*Lynx caracal*) (Pope et al. 2000; Swanson, 2001). Un estudio en ocelotes, realizó monitoreo hormonal de estrógenos para detectar las diferentes fases del ciclo estral usando protocolos de estimulación ovárica e inducción de la ovulación con gonadotropinas y empleando técnicas de laparoscopía basados en estudios preliminares en gatos domésticos. Se han producido dos preñeces con parto natural de dos camadas. En otro ensayo en U.S.A, tres embriones de ocelotes criopreservados fueron depositados en el oviducto vía laparoscópica con el resultado de un nacimiento de un solo cachorro (Swanson, 2001).

1.7.2.6 Inyección de espermatozoides Intracitoplasmática (ICSI)

La inyección intacitoplasmatica de semen (ICSI por sus siglas en inglés) surge como alternativa en casos de subfertilidad de machos de gatos domésticos también se ha reportado la utilización de este método como modelo experimental, para aplicación a grandes felinos y animales en peligro de extinción, con tasas de éxito variables. En felinos domésticos se han realizado experimentos en donde se reportan frecuencias de fertilización del 58% con ICSI y en donde el 93,7% de los embriones alcanzaron la etapa de mórula (50,8%) o blastocisto (42,9%). Y de estos embriones en etapa de mórula se realizó un traspaso de embriones a 4 receptoras, en donde se obtuvo 3 cachorros en 2 de las receptoras a los 66 y 67 días de gestación respectivamente (Pope et al 1998). También se han realizado estudios comparativos en donde se han puesto a prueba el ICSI y la inseminación subzonal (SUZI por sus Siglas en Inglés), en donde se logró demostrar que la inseminación subzonal fue mucho más efectiva al tener evidencias de fertilización en el 33% de los embriones inseminados por esta técnica, mientras que la inseminación por ICSI solo obtuvo un 5% de evidencias de fertilización. Sin embargo también se logró demostrar que era posible obtener embriones fértiles por cualquiera de las 2 técnicas y obteniendo similares resultados a los obtenidos con fertilización in vitro (Pope et al 1995). En una hembra de yaguarundí *(Herpailurus yaguarondi),* se realizó un experimento similar en donde se pudo obtener 18 embriones en dos ocasiones, los cuales se inseminaron por medio de esta técnica con semen fresco y congelado, posteriormente fueron implantados en receptoras de felinos domésticos, en los cuales no se obtuvo cachorros (Pope et al 1998).

1.7.2.7 Clonación

Después de la primera clonación exitosa que se logra en el año de 1997 con el nacimiento de Dolly la oveja, la cual se logra a través de la transferencia nuclear al fusionar células somáticas cultivadas con oocitos enucleados como recipientes. Este mismo tipo de técnica se ha desarrollado con el fin de preservar genética de animales silvestres en peligro de extinción. También se han realizado ensayos con transferencias nucleares interespecies, utilizando como recipientes, oocitos de especies distintas a las que se desea “clonar”. Este experimento ha sido exitoso al generar descendencia de gaúres (Chen et al. 2002). En el caso específico en felinos silvestres, este proceso se ha realizado con éxito en el gato africano salvaje africano (*Felis silvestris líbica*). Decidió realizarse transferencia nuclear partiendo de ADN somático de gato africano salvaje y utilizando oocitos de gato doméstico como recipiente. Se logró demostrar que era posible la generación de embriones a partir de ADN de gato salvaje africano y en el cual se realizaron transferencias de estos embriones a hembras sincronizadas, pero que después de 67 días no se obtuvo cría alguna (Gomez et al. 2003). Sin embargo Gómez et al. (2004) reportó el nacimiento de los primeros clones de gatos silvestres africanos donde por medio del método de transferencia nuclear de células somáticas de un ejemplar macho de gato silvestre africano a oocitos de gatas domésticas como fue descrito anteriormente, y después de ser gestados en hembras recipientes se obtuvieron 17 cachorros de los cuales solo sobrevivieron dos ejemplares. En dicho estudio se pudo demostrar que los cachorros fueron clones del donante gracias a análisis de ADN empleando microsatélites.

Bibliografía

1. Arroyo-Cabrales J. 2002. El jaguar en el Nuevo Milenio, Registro Fósil del Jaguar. Fondo de de Cultura económica, Universidad Nacional Autónoma de México, Wildlife Conservation Society. pag 343-354.
2. Azevedo MH, Paula TA, Balarini MK, Matta SL, Peixoto JV, Guiao Leite FL, Rossi JL, Jr., da Costa EP. 2008. Organization and quantification of the elements in the intertubular space in the adult jaguar testis (*Panthera onca*, LINNAEUS, 1758). Micron 39: 1166-1170.
3. Ballou J, Foose T. 1996. Demographic and Genetica Managementof Captive Populations. Wild Mammals in Captivity. The University of Chicago Press. Pag 263-283.
4. Brown JL, Wasser SK, Wildt DE, Graham LH. 1994. Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. Biol Reprod 51: 776-786.
5. Brown JL, Graham LH, Wielebnowski N, Swanson WF, Wildt DE, Howard JG. 2001. Understanding the basic reproductive biology of wild felids by monitoring of faecal steroids. J Reprod Fertil Suppl 57: 71-82.
6. Buckley-Beason VA, et al. 2006. Molecular evidence for species-level distinctions in clouded leopards. Curr Biol 16: 2371-2376.
7. Cabrera A. 1934. Los yagures vivientes y extinguidos. Notas preliminares del Museo de la Plata. 2:9-39
8. Chen DY, Wen DC, Zhang YP, Sun QY, Han ZM, Liu ZH. 2002. Interspecies implantation and mithocondria fate of panda-rabbit doned embryos. Biol Reprod;67:637-642.
9. Comizzoli P, Crosier AE, Songsasen N, Gunther MS, Howard JG, Wildt DE. 2009. Advances in reproductive science for wild carnivore conservation. Reprod Domest Anim 44 Suppl 2: 47-52.
10. Coomber N, David VA, O'Brien SJ, Menotti-Raymond M. 2007. Validation of a short tandem repeat multiplex typing system for genetic individualization of domestic cat samples. Croat Med J 48: 547-555.
11. Crawshaw PG. Jr and Quigley HB. 1991. Jaguar spacing, activity and habitat use in a seasonally flooded evironment in Brazil. J. Zool. Lond 223: 357-370,
12. Crosier AE, Pukazhenthi BS, Henghali JN, Howard J, Dickman AJ, Marker L, Wildt DE. 2006. Cryopreservation of spermatozoa from wild-born Namibian cheetahs (Acinonyx jubatus) and influence of glycerol on cryosurvival. Cryobiology 52: 169-181.
13. Culver M, Menotti-Raymond MA, O'Brien SJ. 2001. Patterns of size homoplasy at 10 microsatellite locus in pumas (*Puma concolor*). Mol Biol Evol 18: 1151-1156.
14. Dittrich, L. 1979. Die vererbung des melanismus beim Jaguar (*Panthera onca*). Zool . Gaarten. 49, 417-428.
15. Donoghue AM, Johnston LA. Armstrong DL. Simmons LG. Wildt DE. 1993. Birth of a siberian tiger cub (*Panthera tigris altaica*) following laparoscopic intrauterine artificial insemination. Journal of zoo and Wildlife Medicine 24(2): 185-189.
16. Dresser, B.L.; Kramer, L.; Reece, B.; Russell, P.T. 1982. Induction of ovulation and successful artificial insemination in a persian leopard (*Panthera pardus saxicolor*). Zoo Biology, v.1, p. 55-57.
17. Driscoll CA, Menotti-Raymond M, Nelson G, Goldstein D, O'Brien SJ. 2002. Genomic microsatellites as evolutionary chronometers: a test in wild cats. Genome Res 12: 414-423.

18. Eizirik E, Kim JH, Menotti-Raymond M, Crawshaw PG, Jr., O'Brien SJ, Johnson WE. 2001. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). Mol Ecol 10: 65-79.
19. Eizirik E, Yuhki N, Johnson WE, Menotti-Raymond M, Hannah SS, O'Brien SJ. 2003. Molecular genetics and evolution of melanism in the cat family. Curr Biol 13: 448-453.
20. Emmons LH. 1987. Comparative feeding ecology of felids in a neotropical rainforest. Beba. Ecol. Sociobiol 20: 271-283.
21. Emmons LH. 1991. Jaguars. Pp 116-123 in J. Seidensticker and S. Lumpkin, Eds. Great cats. Merehurts, London.
22. Gómez S.M. 2009. Nutrición de felinos silvestres en cautiverio. Memorias Primer Seminario Nacional de Felinos Silvestres, Universidad San Martin.
23. Gomez MC, Jenkins JA, Giraldo A, Harris RF, King A, Dresser BL, Pope CE. 2003. Nuclear transfer of synchronized african wild cat somatic cells into enucleated domestic cat oocytes. Biol Reprod 69: 1032-1041
24. Gomez MC, Pope CE, Giraldo A, Lyons LA, Harris RF, King AL, Cole A, Godke RA, Dresser BL. 2004. Birth of African Wildcat cloned kittens born from domestic cats. Cloning Stem Cells 6: 247-258.
25. Good KM, Houser A, Arntzen L, Turnbull PC. 2008. Naturally acquired anthrax antibodies in a cheetah (Acinonyx jubatus) in Botswana. J Wildl Dis 44: 721-723.
26. Graham LH, Raeside JI, Goodrowe KL, Liptrap RM. 1993. Measurements of faecal oestradiol and progesterone in non-pregnant and pregnant domestic and exotic cats. J Reprod Fertil Suppl 47: 119-120.
27. Green R. 1991. Wild cat species of the world. Basset,Plymouth.
28. Hemmer H. 1977. Gestation period and postnatal development in felids. In: Eaton RL (Eds.), The world's cats 3. Carnivore Research Institute, Univ. Washington, Sattle, pp. 146-165.
29. Herrick JR, et al. 2010. Fecal endocrine profiles and ejaculate traits in black-footed cats (Felis nigripes) and sand cats (*Felis margarita*). Gen Comp Endocrinol 165: 204-214.
30. Hoffstetter, R. 1952. Les mammifères pléistocènes de la republique de Le'Équteur. Mémories de la société Géologique de France (vouvelle série), 66:1-391
31. Hoogesteijn R and Mondolfi E. 1992.The jaguar. Ediciones Armitano, Caracas, Venezuela,
32. Howard J. 1999. Assisted reproductive techniques in non domestic carnivores. Zoo and Wild Animal Medicine, current therapy 4. Fowller y Miller. Ed. W.B Saunders Company.
33. Howard JG, Wildt DE. 2009. Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. Theriogenology 71: 130-148.
34. IUCN [International Union for Conservation of Nature and Natural Resources]. 2011 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland, Switzerland. IUCN official website (www.redlist.org)
35. Jiménez-González, S., Moreno W. F. 2004. Physical Management And Anesthesia In Five Wild Felidae Species In Three Zoological Parks In Colombia. Revista U.D.C.A, Actualidad y Divulgación Científica. 6(2):73-83.
36. Johnson WE, Eizirik E, Pecon-Slattery J, Murphy WJ, Antunes A, Teeling E, O'Brien SJ. 2006. The late Miocene radiation of modern Felidae: a genetic assessment. Science 311: 73-77.
37. Johnston LA, Armstrong DL, Brown JL. 1994. Seasonal effects on seminal and endocrine traits in the captive snow leopard (Panthera uncia). J Reprod Fertil 102: 229-236.

38. Knowell K, Jackson. 1996. Status Survey a Conservation Action Plan, SILVESTRE Cats. IUCN Cat Specialist Group.
39. Lacy, R.C. Analysis of founder represntation in pedigrees: Founder equivalents anf founder genome equivalents. Zoo Biology 8:111-124.1989.
40. Linnaeus C. Systema Naturae, 10th Edn. Stockholm, 1758
41. Lohse CL, Baba YM. 1982. Comparative anatomy of intervertebral discs and related structures in the cat (Felis catus) and jaguar (*Panthera onca*). Anat Histol Embryol 11: 334-342.
42. Luo SJ, Johnson WE, Martenson J, Antunes A, Martelli P, Uphyrkina O, Traylor-Holzer K, Smith JL, O'Brien SJ. 2008. Subspecies genetic assignments of worldwide captive tigers increase conservation value of captive populations. Curr Biol 18: 592-596.
43. Lyons L. 2001. Understanding de feline genome. Feline Internal Medicine, Current therapy 4. W.B Sounders company,pag 600-613.
44. Menotti-Raymond M, O'Brien SJ. 1993. Dating the genetic bottleneck of the African cheetah. Proc Natl Acad Sci U S A 90: 3172-3176.
45. Menotti-Raymond MA, O'Brien SJ. 1995. Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae. J Hered 86: 319-322.
46. Miller, A.M., Roelke, M.E., Goodrowe, K.L., Howard, J.G., Wildt, D.E., 1990. Oocyte recovery, maturation and fertilization in vitro in the puma (*Felis concolor*). J. Reprod. Fertil. 88, 249–258.
47. Mondolfi E and Hoogesteijn R. 1986. Notes on the biology and status of the jaguar in Venezuela. In: Miller SD and Everett DD (Eds.), Cats of the world: Biology, conservation and management. National Wildlife Federation, Washington, D.C, pp. 125-146,
48. Moore, H.D.M.; Bonney, R.C.; Jones, D.M. 1981. Succesful induced ovulation and artificial insemination in the puma (*Felis concolor). Veterinary Record* 108:282-283.
49. Morais RN, Mucciolo RG, Gomes ML, Lacerda O, Moraes W, Moreira N, Graham LH, Swanson WF, Brown JL. 2002. Seasonal analysis of semen characteristics, serum testosterone and fecal androgens in the ocelot (Leopardus pardalis), margay (L. wiedii) and tigrina (L. tigrinus). Theriogenology 57: 2027-2041.
50. Morato, R.G., Crichton, E.G., Paz, R.C.R., Zuge, R.M., Moura, C.A., Nunos, A.V.L., Teixeira, R.H., Porto, L.,Priscila, M., Guimaraes, M.A.B.V., Correa, S.H.R., Barnabe, R.C., Armstrong, D.L., Loskutoff, N.M., 2000. Ovarian stimulation and successful in vitro fertilization in the jaguar (*Panthera onca*). Theriogenology 53, 339 (abstr.).
51. Morato RG, Conforti VA, Azevedo FC, Jacomo AT, Silveira L, Sana D, Nunes AL, Guimaraes MA, Barnabe RC. 2001. Comparative analyses of semen and endocrine characteristics of free-living versus captive jaguars (*Panthera onca*). Reproduction 122: 745-751.
52. Morato RG, Bueno MG, Malmheister P, Verreschi IT, Barnabe RC. 2004. Changes in the fecal concentrations of cortisol and androgen metabolites in captive male jaguars (*Panthera onca*) in response to stress. Braz J Med Biol Res 37: 1903-1907.
53. Nowak RM and Paradiso JL. 1983. Walker's mammals on the world, Vol. II. John Hopkins Univ. press, Baltimore.
54. Oyuela A, Khüne P. Gaviria M, Arias L. 2004. Recolección, Evaluación y Criopreservación del semen de jaguares (*Panthera onca*). Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de la Salle

55. Pope CE, Johnston CA, McRae MA, Keller GL, Dresser BL. 1995. In vitro and In vivo development of domestic cat oocytes following intracitoplasmatic sperm injection or subzonal insemination. Theriogenology; 43:202.
56. Pope, C.E., Johnson, C.A., McRae, M.A., Keller, G.L., Dresser, B.L., 1998. Development of embryos produced by intracytoplasmic sperm injection of cat oocytes. Anim. Reprod. Sci. 53, 221–236.
57. Pope, C.E., 2000. Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. Theriogenology 53, 163–174.
58. Pope, C.E., Gomez, M.C., Mikota, S.K., Dresser, B.L., 2000. Development of in vitro produced African wildcat (*Felis silvestris*) embryos after cryopreservation and transfer into domestic cat recipients. Biol. Reprod. 62,311 (abstr.).
59. Pukazhenthi BS, Neubauer K, Jewgenow K, Howard J, Wildt DE. 2006. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. Theriogenology 66: 112-121.
60. Rabinowitz AR and Nothingham BG. 1986. Ecology and behavior of the jaguar (*Panthera onca*) in Belize, Central America. J. Zool. Lond 210: 149-159.
61. Roelke ME, Martenson JS, O'Brien SJ. 1993. The consequences of demographic reduction and genetic depletion in the endangered Florida panther. Curr Biol 3: 340-350.
62. Ruiz-Garcia M, Payan E, Murillo A, Alvarez D. 2006. DNA microsatellite characterization of the jaguar (*Panthera onca*) in Colombia. Genes Genet Syst 81: 115-127.
63. Ryder. O.A., Wedermeyer, E.A. 1982. A cooperative breeding program for the mongolian horse *Equus Przewalskii* in the United States. Biological Conservation, 22 259-71.
64. Seymour KL. 1989. *Panthera onca*. Mammalian Species 340: 1-9,
65. Simpson, G.G. 1941. Large Pleistocene Felines of North America. American Museum Novitates.1136:1-27
66. Swanson WF. 2003. Research in nondomestic species: experiences in reproductive physiology research for conservation of endangered felids. ILAR J 44: 307-316.
67. Swanson WF, Brown JL. 2004. International training programs in reproductive sciences for conservation of Latin American felids. Anim Reprod Sci 82-83: 21-34.
68. Swanson WF, Horohov DW, Godke RA. 1995. Production of exogenous gonadotrophin-neutralizing immunoglobulins in cats after repeated eCG-hCG treatment and relevance for assisted reproduction in felids. J Reprod Fertil 105: 35-41.
69. Toshihiko Tsutsui. 2006. Artificial insemination in domestic cats (*Felis catus*).; Theriogenology 66 122–125
70. Velez G, Ocampo M. 1979. Revista Facultad Nal. De Agronomía Vol XXXII, No 2, Medellin Antioquia.
71. Wildt DE, Platz CC, Chakraborty PK, Seager SW. 1979. Oestrous and ovarian activity in a female jaguar (*Panthera onca*). J Reprod Fertil 56: 555-558.
72. Wildt DE, O'Brien SJ, Howard JG, Caro TM, Roelke ME, Brown JL, Bush M. 1987. Similarity in ejaculate-endocrine characteristics in captive versus free-ranging cheetahs of two subspecies. Biol Reprod 36: 351-360

2. Capítulo 2

Análisis demográfico y de manejo reproductivo de jaguares (*Panthera onca*) cautivos en parques zoológicos de Colombia a partir de registros.

Resumen

Por primera vez en Colombia se realizó la construcción del Studbook Regional para Jaguares (*Panthera onca*) (n=38) por medio del programa (SPARKS). El objetivo de éste proyectofue realizar una análisis demográfico, genético y reproductivo de la población de jaguares cautivos a partir de registros por medio del programa Population Managment 2000 (PM 2000). Se obtuvo el censo de los animales que han estado presentes en las colecciones zoológicas de Colombia desde el año de 1970 hasta el año 2009. Se estableció la distribución de los ejemplares vivos en la actualidad por clases de edades. Se obtuvieron las características demográficas para las poblaciones actuales y poblaciones modelos de jaguares machos y hembras; también se construyó la tabla de vida para machos y hembras. En el análisis genético, a partir de los registros, se calcularon las estadísticas poblacionales. Se encontró que en la población se encuentran 2 nuevos posibles fundadores potenciales (n=2). Se realizaron las proyecciones reproductivas para un tiempo de 5, 10, 15 y 20 años con el fin de incrementar la pobalción de 25 individuos a 40. Se realizó la selección de apareamientos empleando el valor de la media de parentesco MK, y la ubicación geográfica. Se realizó una propuesta de meta poblacional para los jaguares en Colombia de conservar el 90% de la diversidad genética durante un periodo de 100 años, teniendo en cuenta las siguientes variables: Tiempo generacional (T =12), Tasa de crecimiento poblacional (λ= 1.02), Tamaño poblacional actual (N =25), Número efectivo poblacional actual (Ne =6.5), Relación Ne/N (0.26), Diversidad genética actual (GD =0.78), Población máxima permitida (n=40), Población requerida para alcanzar metas (n=37), FGE reclutado por cada nuevo fundador (FGE =0.4). El plan de manejo poblacional para el jaguar (*Panthera onca*) en parques zoológicos de Colombia fue propuesto estableciendo metas de manejo poblacional para los siguientes 100 años.

Palabras claves: Jaguar, *Panthera onca*, Studbook, demografía, Zoológicos, Colombia

Abstract

The Regional Studbook for Jaguars (*Panthera onca*) (n=38) was constructed using the software SPARKS for the first time in Colombia. The objective of this project was to analyze the demographic and reproductive status of captive jaguars in Colombia. The studbook data were analyzed by the software population management 2000 (PM2000). The census of the animals that had been present in the zoological collections of Colombia from the year of 1970 until the year 2009 was collected. The distribution of the living animals by age classes was established and the demographic characteristics were obtained for the current population and model population of male and female jaguars, as well as the life table for males and females. The reproductive projections were obtained for 5, 10, 15 and 20 years in order to increase the captive population from 25 individuals to 40. The selection of matings was based on the Mean KINSHIP (MK) value, and the geographical location. It is presented the population goals for the jaguars in Colombia to conserve 90% of the genetic diversity during a 100 year period, for the variables: Generational Time (T =12), populational growth rate (λ = 1.02), current populational size (N =25), current populational effective Number (Ne =6.5), Relationship (Ne/N =0.26), current genetic Diversity (GD =0.78), allowed maximum Population (n=40), required Population to reach goals (n=37), FGE recruited by each new founder (FGE =0.4). The population management plan for the Jaguar (*Panthera onca*) in Colombia was proposed for the Colombian Zoological Parks establishing population management goals for the next 100 years.

Key words: Jaguar, *Panthera onca*, Studbook, demography, Zoological parks, Colombia

2.1 Introducción

Los jaguares de Colombia se encuentran catalogados como una especie amenazada. Se encuentran en el Apéndice I de la Convención Internacional para el Comercio y Tratado de Especies Amenazadas de Fauna y Flora –CITES–, acogida por el Gobierno colombiano mediante la Ley 17 de 1981. En este apéndice figuran las especies de animales y plantas sobre las que pesa un mayor peligro de extinción, y sobre las que generalmente se prohíbe el comercio internacional de especímenes, salvo cierto tráfico legal bajo condiciones excepcionales. Adicionalmente se encuentra en las listas rojas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) (IUCN) (IUCN, Red List 2011).

El mantenimiento de poblaciones genéticamente viables cautivas de especies en peligro o amenazadas ha sido desde los años 80 un objetivo primordial de los zoológicos a nivel mundial. Así, uno de los principales objetivos de los programas de preservación de animales presentes en los parques zoológicos es el establecimiento de poblaciones auto sostenibles, particularmente de animales amenazados o en peligro, manteniendo altos estándares en cuanto a bienestar animal y manejo adecuado, realizando estudios aplicados como lo son los estudios demográficos, genéticos y reproductivos destinados a fortalecer los programas de cría en cautiverio. Esta es la base para la realización e implementación de los “Planes de Supervivencia de Especies” (Species Survival Plans) que buscan tener poblaciones cautivas con alta variabilidad genética, bajas tasas de consanguinidad y establecimiento de programas que favorezcan el mantenimiento de poblaciones viables en cautiverio. (Ballou et al., 1996)

En general, el SSP intenta mantener tanta diversidad genética como sea posible, fijando como objetivo razonable el mantener el 90% de esa variabilidad durante un periodo de 100 o 200 años mediante la realización de análisis demográficos, genéticos y reproductivos en una población en cautiverio. De esta manera se pueden establecer metas de manejo poblacional que permitan la auto-sostenibilidad de las poblaciones cautivas dándole las facultades como modelo investigativo para que éstas sean consideradas como un reservorio genético invaluable a nivel -*ex situ*- para que contribuya a la conservación de las especies en las áreas de distribución naturales. Sin embargo en Colombia aunque la comunidad científica acepta que la conservación *ex situ* es un factor determinante a futuro y que contribuye positivamente a la conservación *in situ*, aún no se ha realizado un análisis detallado sobre el manejo de poblaciones cautivas de grandes carnívoros como lo es el caso del jaguar.

Por consiguiente sigue abierto el interrogante: -*¿Cómo se debe realizar un plan de conservación ex situ para el jaguar en Colombia que garantice la sostenibilidad de la población a través del tiempo tanto a nivel genético como reproductivo?*-. Para responder esta pregunta es necesario seguir una ruta crítica que se inicia con la construcción del libro de registro para la especie denominado internacionalmente como Studbook, que en este caso sería denominado Studbook regional de jaguares para Colombia, en el cual es consignada toda la información concerniente a cada animal presente en una colección zoológica desde su nacimiento o entrada a la institución hasta su destino final ya sea por muerte natural, eutanasia o por reintroducción a la vida silvestre.

Una vez realizado el studbook, es posible proponer un plan de manejo poblacional para la especie que se basa en tres análisis: 1. Análisis demográfico, 2. Análisis genético, y 3. Análisis reproductivo. Así, los parques zoológicos del país podrán en primer lugar

comprender a profundidad el alcance y la proyección del mantenimiento sostenible de sus poblaciones cautivas como reservorio de material genético variable y con un alto potencial reproductivo, y en segundo lugar que al contar con las herramientas desarrolladas puedan participar activamente en los programas nacionales de conservación para la especie, planteando recomendaciones y soluciones frente al problema de la extinción de los animales en sus hábitats naturales. Por lo tanto, la caracterización demográfica y genética de la población es fundamental para la implementación de un plan de manejo poblacional que proveerá las herramientas necesarias para establecer un programa de conservación *ex situ* sostenible para el jaguar en los parques zoológicos de Colombia.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Colección de datos

Se realizó la construcción del Studbook Regional de Jaguares (*Panthera onca*) (n=40) para Colombia por medio del programa Single Population Analysis and Record Keeping System (SPARKS) desarrollado por el International Species Information System (ISIS) y se organizó por número de Studbook asignado para cada animal, este número comienza con el prefijo T el cual significa temporal mientras cada animal recibe un número o código definitivo en el Studbook Internacional para la especie. Para este propósito se contactaron todos los diferentes parques zoológicos del país, pertenecientes a ACOPAZOA (Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios) (Tabla 1). Se recopiló la información de los registros de los últimos 30 años encontrados en los parques zoológicos por medio de una encuesta donde se consignó toda la información general y médica de los ejemplares en 8 instituciones pertenecientes a la asociación. La encuesta para la construcción del Studbook Regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia estuvo compuesta por las siguientes variables: 1. Especie, 2. Número de Registro, 3. Tipo de Marca o Identificación (Tatuaje, Chip, Otro), 4. Localización del Marcaje, 5. Número de Marcaje, 6. Características Individuales, 7.Nombre del Animal, 8. Sexo, 9. Estado Reproductivo, 10. Procedencia (Vida Silvestre, Cautiverio), 11. Institución de procedencia (si fue trasladado), 12. Fecha de nacimiento, 13. Tipo de crianza, 14. Edad (estimada en caso de ser necesario), 15. Fecha de ingreso a la colección, 16. Institución del padre (zoológico, vida silvestre, desconocido), 17. Identificación del padre, 18. Institución de la madre (zoológico, vida silvestre, desconocido), 19. Identificación de la madre, 20. Fecha de egreso de la institución (causa: muerte/ traslado/liberado), 21. Institución receptora (en caso de traslado), 22. Lugar (en caso de liberación), y 23. Observaciones.

2.2.2 Análisis de datos

Una vez recopilada la información se procedió a ingresar cada registro en SPARKS donde se realizó el análisis preliminar, posteriormente la información fue exportada al programa Population Managment 2000 (PM 2000) con el fin de llevar a cabo el análisis demográfico en el que se evaluaron: censo, distribución por sexo y por edades, tasa de fecundidad la

cual provee información relevante en cuanto al momento en que ocurre la primera y última reproducción así como el momento de máxima reproducción, tasa de supervivencia la cual es calculada a partir de la probabilidad que un individuo de la clase de edad (x) llegue con vida a la siguiente clase de edad, tasa de sobrevivencia la cual es calculada a partir de la probabilidad que un individuo sobreviva a la clase de edad (x), expectativa de vida media la cual se calcula a partir del promedio de años de vida restante que un individuo en una clase de edad (x) puede alcanzar y por último la tasa de mortalidad, la cual corresponde a la proporción de individuos que mueren durante una clase de edad (x). Una vez obtenida esta información se llevaron a cabo las proyecciones reproductivas de la población tanto para los machos como para las hembras, se realizó la selección de apareamientos y se establecieron las metas poblacionales con el fin de mantener el 90% de la diversidad genética en un periodo de 100 años. (Lacy et al, 2002; Pollak et al, 2005)

Tabla 1. Lista de instituciones zoológicas pertenecientes a la Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios (ACOPAZOA).

NOMBRE DE LA LOCALIDAD DE ESTUDIO	MUNICIPIO	DEPARTAMENTO	COORDENADAS GEOGRÁFICAS	JAGUARES MACHOS VIVOS EN LA POBLACIÓN	JAGUARES HEMBRAS VIVOS EN LA POBLACIÓN
Parque Zoológico Santa Fe	Medellín	Antioquia	Latitud 6°13'23.93"N Longitud 75°34'48.81"W	2	3
Fundación Zoológico Santacruz	San Antonio del Tequendama	Cundinamarca	Latitud 4°35'0.65"N Longitud 74°20'1.25"W	1	2
Zoológico de Barranquilla	Barranquilla	Atlántico	Latitud 11° 0'39.84"N Longitud 74°47'53.69"W	1	2
Parque Recreativo y Zoológico Piscilago	Nilo	Cundinamarca	11° 0'39.84"N Longitud 74°47'53.69"W	1	2
Zoológico Matecaña	Pereira	Risaralda	Latitud 4°49'0.30"N Longitud 75°44'15.04"W	3	2
Bioparque los Ocarros	Villavicencio	Meta	4°11'9.72"N Longitud 73°36'33.61"W	1	2
Zoológico Jaime Duque	Tocáncipa	Cundinamarca	Latitud 4°57'45.20"N Longitud 73°55'9.34"W	2	1

2.3 Resultados

2.3.1 Análisis demográfico

Studbook

Cada jaguar fue rastreado hasta el punto de determinar su origen. Se presenta el sexo, la fecha de nacimiento, el origen de los padres el cual puede ser silvestre, de una pareja con números temporales asignados o desconocidos. Se presentan los eventos más relevantes en la vida del ejemplar como nacimiento, transferencias, préstamos y muerte con su respectiva ubicación y fecha de ocurrencia de los eventos, si ésta es estimada en años, meses y días aparece el prefijo (~) (Tabla 2).

Tabla 2.Studbook regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia

Studbook Regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia										
Stud #	Sexo	Fecha de Nacimiento	Año	Padre	Madre	Evento	Ubicación	Día	Mes	Año
T1	M	~	1967	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	ANTIOQUIA		~	1967
						Transferencia	SANTAFE		~	1968
						Muerte			~	1990
T2	H	~	1967	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	ANTIOQUIA		~	1970
						Transferencia	SANTAFE		~	1971
						Muerte			~	1990
T3	M	~	1979	T1	T2	Nacimiento	SANTAFE		~	1979
						Transferencia	SANTACRUZ		~	1980
						Muerte			~	2005
T4	H	~	1979	T1	T2	Nacimiento	SANTAFE		~	1979
						Transferencia	SANTACRUZ		~	1983
						Prestamo	CALI		~	2003
						Muerte	CALI		~	2004
T5	M	~	1975	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA		~	1975
						Transferencia	SANTACRUZ		~	1977
						Muerte			~	2006
T6	H	~	1975	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA		~	1975
						Transferencia	SANTACRUZ		~	1976
						Muerte		~10	May	2008
T7	M	~29 Nov	1994	T5	T6	Nacimiento	SANTACRUZ	~29	Nov	1994
T8	H	~29 Apr	1996	T5	T6	Nacimiento	SANTACRUZ	~29	Apr	1996
T9	H	~29 Apr	1996	T5	T6	Nacimiento	SANTACRUZ	~29	Apr	1996
						Transferencia	JAIME DUQUE		~	2000
T10	H	~ 2 Jan	2000	T3	T6	Nacimiento	SANTACRUZ	~ 2	Jan	2000
T11	M	~	1996	T5	T6	Nacimiento	SANTACRUZ		~	1996
						Transferencia	PISCILAGO	~25	Dec	1997
						Muerte		~30	Apr	2004
T12	H	~	1996	T3	T6	Nacimiento	SANTACRUZ		~	1996
						Transferencia	PISCILAGO	~ 1	Mar	1998
T13	H	~ 4 Mar	1999	T11	T12	Nacimiento	PISCILAGO	~ 4	Mar	1999
T14	H	~ 4 Mar	1999	T11	T12	Nacimiento	PISCILAGO	~ 4	Mar	1999
						Transferencia	MATECAÑA	~15	Jan	2001
						Muerte			~	2007
T15	H	~	1998	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T16	M	~	1998	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T17	M	~	1998	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Captura	MATECAÑA		~	1998
T18	M	~	1998	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T19	H	~	1998	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T20	M	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	AMAZONASC		~	2000
						Transferencia	PISCILAGO	~ 6	Aug	2007
T21	H	~ 9 Aug	2003	T22	T35	Nacimiento	SANTAFE	~ 9	Aug	2003
T22	M	~15 Jun	1997	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	ANTIOQUIA	~15	Jun	1997
						Transferencia	SANTAFE	~16	Jun	1997
T23	H	~	1990	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	1990
						Muerte			~	2006
T24	H	~	1986	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	1986

						Muerte			~	2006
T25	H	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	2000
						Transferencia		~ 9	Aug	2003
T26	M	~15 Jun	1994	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE	~15	Jun	1994
						Transferencia		~16	Mar	2001
T27	M	~	1992	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA		~	1992
						Transferencia	JAIME DUQUE		~	1993
T28	M	~22 Jun	2002	T27	T9	Nacimiento	JAIME DUQUE	~22	Jun	2002
T29	M	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	2000
						Transferencia	META	~ 3	Jul	2003
T30	H	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	2000
						Transferencia	OCARROS	~ 3	Jul	2003
T31	H	~	2004	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	OCARROS		~	2004
T32	M	~ 1 Jul	1991	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA	~ 1	Jul	1991
						Transferencia	BARRANQULLA		~	1992
T33	H	~ 1 Jul	1990	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA	~ 1	Jul	1990
						Transferencia	BARRANQULLA		~	1991
T34	H	~11 May	1997	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTACRUZ	~11	May	1997
						Transferencia	BARRANQULLA	~20	Jul	1999
T35	H	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	2000
						Transferencia		~16	Mar	2001
T36	M	~15 Jun	1980	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTACRUZ	~15	Jun	1980
						Transferencia	SANTAFE	~29	Jun	1990
						Muerte		~ 3	Jan	2003
T37	M	~	1990	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	DESCONOCIDO		~	1990
						Muerte	SANTAFE	~31	May	2002
T38	M	~	1990	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	1990
						Muerte		~10	Jan	2002

Distribución por sexo, edad y fenotipo

Según los datos registrados en el studbook regional de jaguares para Colombia en el año 2009, la población de jaguares vivos (n=25) (Tabla 1) estaba compuesta por un 44% de machos (n=11) y un 56 % de hembras (n=14). En cuanto al fenotipo se encontró que el 80% de la población correspondía a ejemplares de fenotipo moteado (n=20) y el 20% de los individuos corresponde a ejemplares hembras de fenotipo melánico (n=5). Se encontró que la población está compuesta, a nivel reproductivo, por hembras enteras (100%), machos enteros (81.8%) (n=9) y machos vasectomizados (18.2%) (n=2). Así, la relación de machos y hembras está en el orden de 3 hembras por cada 2 machos enteros. En cuanto a la relación de machos/hembras/edad se obtuvo la distribución de los ejemplares vivos en la actualidad (n=25) por sexo y por edades (Tabla 3), donde se encontró que el 76% de la población se encuentra ubicado entre los 9 y 16 años de edad. Las líneas rojas muestran la tendencia de la distribución de las edades estable; una distribución de edades estable es el promedio del número de animales en cada clase de edad que se esperarían si las proporciones de la tabla de vida hubieran sido constantes en el tiempo (Hardy, 1908; Caughley, 1977) y éstas se definen por la tasa de supervivencia para cada edad presentada en la tabla de vida por sexo. La distribución por sexo y por edades se determina con los números actuales, y la distribución de edades esperadas con los números estables. En la población en estudio las líneas de tendencia estable muestran una estructura de tipo romboide la cual se caracteriza en las poblaciones con ausencia de individuos jóvenes, un gran número de individuos en edades medias y pocos en edades avanzadas (Figura 1).

Tabla 3. Distribución actual y estable de machos y hembras por edades

	MACHOS		HEMBRAS	
Edad (años)	Actual	Estable	Actual	Estable
0	0	0,25	0	0,4
1	0	0,27	0	0,42
2	0	0,28	0	0,44
3	0	0,29	0	0,46
4	0	0,31	0	0,49
5	0	0,33	0	0,51
6	0	0,34	1	0,54
7	0	0,36	1	0,56
8	1	0,38	0	0,59
9	0	0,4	0	0,62
10	2	0,42	4	0,65
11	0	0,45	1	0,68
12	3	0,47	2	0,71
13	1	0,49	1	0,73
14	0	0,52	3	0,76
15	1	0,54	0	0,77
16	1	0,56	0	0,76
17	0	0,57	0	0,73
18	1	0,58	0	0,69
19	1	0,57	0	0,63
20	0	0,55	1	0,54
21	0	0,5	0	0,42
22	0	0,43	0	0,32
23	0	0,35	0	0,23
24	0	0,28	0	0,15
25	0	0,21	0	0,09
26	0	0,15	0	0,05
27	0	0,08	0	0,03
28	0	0,04	0	0,01
29	0	0,02	0	0,01
30	0	0,01	0	0

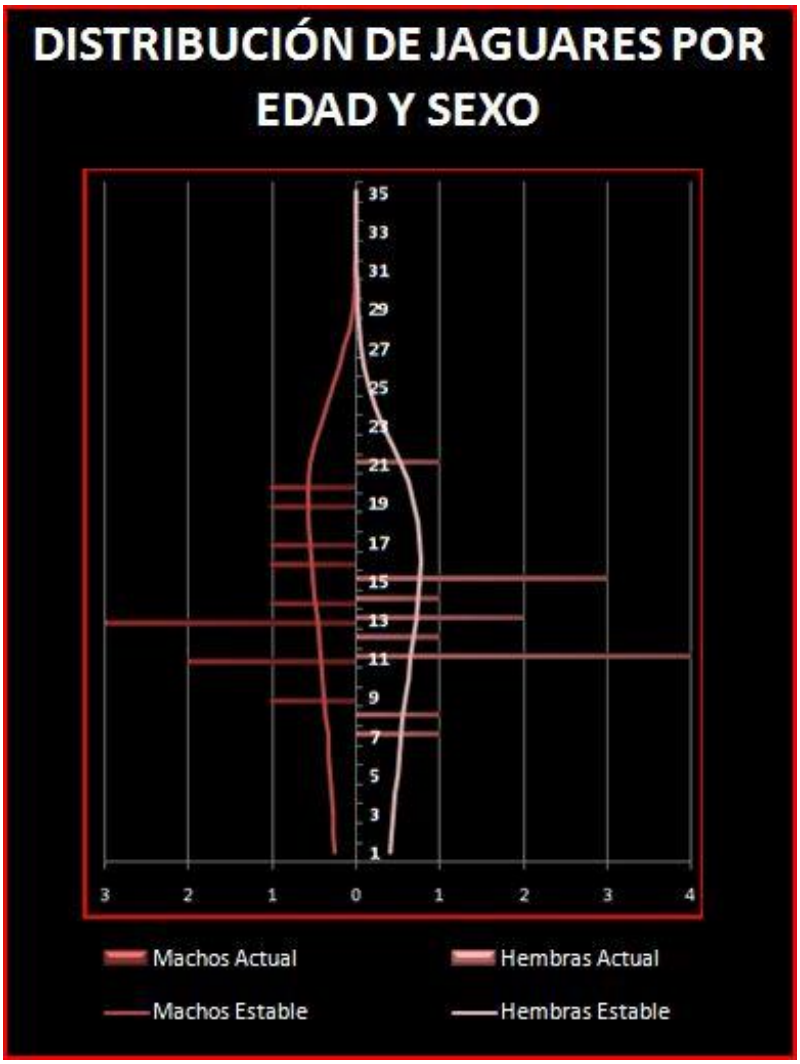


Figura 1. Distribución de jaguares (*Panthera onca*) vivos por sexo, edad y número de individuos 2009. En ésta figura se muestran a los machos en el eje Y superior y a las hembras en el eje Y inferior y las diferentes clases de edades en el eje X. Cada barra muestra una clase de edad que difiere de la otra en un año y muestra el número de individuos por cada año de edad. Las líneas muestran la tendencia estable de la distribución de las edades.

Censo

Se obtuvo el censo total y el censo comparado de la población de jaguares que han ingresado provenientes de vida silvestre y los que han nacido en cautiverio a través del tiempo (Tabla 4). Se encontró un incremento poblacional general más notable en los jaguares machos que en las hembras, al inicio del año de 1990 hasta el año 2000, a partir de éste año se puede apreciar un descenso del número poblacional principalmente en el grupo de los machos (Figura 2). También se presenta el censo total de ejemplares tanto de machos como de hembras a través del tiempo donde se observa que el incremento poblacional se debe principalmente al nacimiento de animales cautivos, mientras que el número de individuos provenientes de vida silvestre se mantiene constante y se observa un descenso poblacional a partir del año 2000 (Figura 3).

Tabla 4. Censo de la población de Jaguares (*Panthera onca*) cautivos en Colombia 1970-2009

Año	Total	Machos	Hembras	Nacido en Vida Silvestre acumulado	Nacido en Cautiverio acumulado
1970	2	1	1	2	0
1971	2	1	1	2	0
1972	2	1	1	2	0
1973	2	1	1	2	0
1974	2	1	1	2	0
1975	4	2	2	4	0
1976	4	2	2	4	0
1977	4	2	2	4	0
1978	4	2	2	4	0
1979	6	3	3	4	2
1980	7	4	3	4	3
1981	7	4	3	4	3
1982	7	4	3	4	3
1983	7	4	3	4	3
1984	7	4	3	4	3
1985	7	4	3	4	3
1986	8	4	4	4	4
1987	8	4	4	4	4
1988	8	4	4	4	4
1989	8	4	4	4	4
1990	10	5	5	3	7
1991	11	6	5	4	7
1992	12	7	5	5	7
1993	12	7	5	5	7
1994	14	9	5	5	9
1995	14	9	5	5	9
1996	18	10	8	5	13
1997	20	11	9	5	15
1998	25	14	11	5	20
1999	27	14	13	5	22
2000	33	16	17	6	27
2001	33	16	17	6	27
2002	32	15	17	6	26
2003	32	14	18	6	26
2004	31	13	18	6	25
2005	30	12	18	6	24
2006	27	11	16	5	22
2007	26	11	15	5	21
2008	25	11	14	4	21
2009	25	11	14	4	21

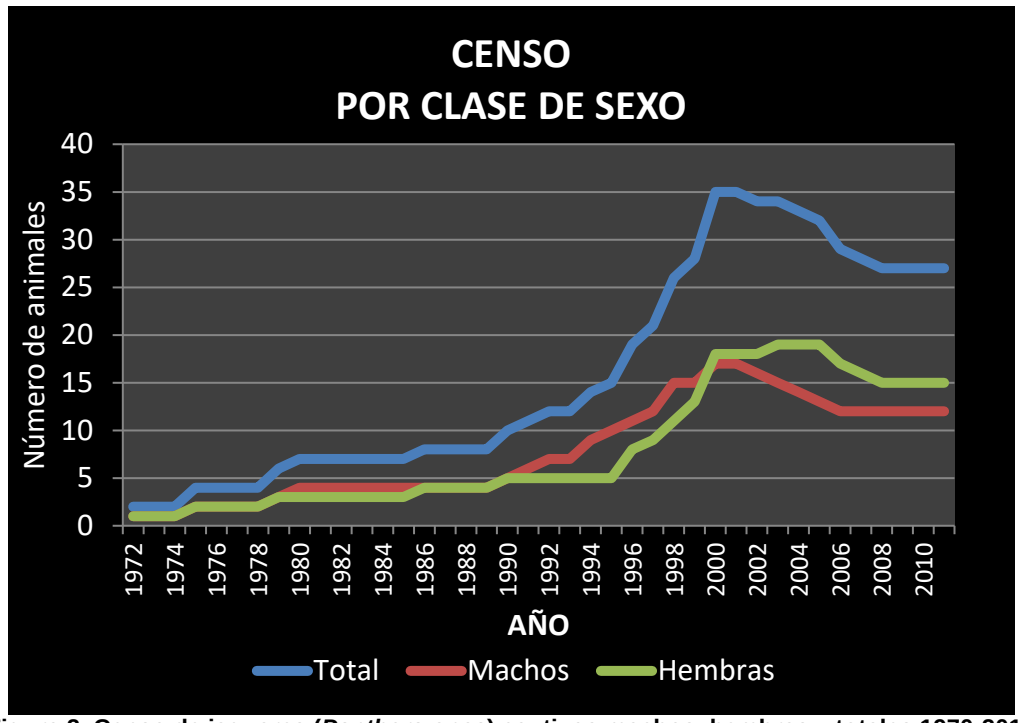


Figura 2. Censo de jaguares (*Panthera onca*) cautivos machos, hembras y totales 1970-2010

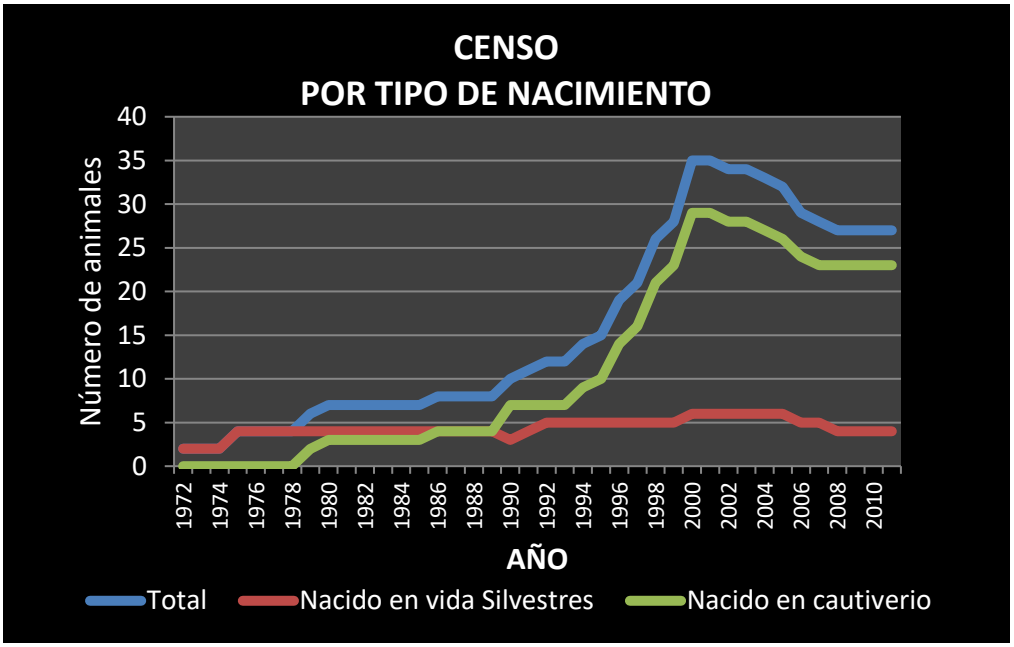


Figura 3. Censo comparativo de jaguares (*Panthera onca*) nacidos en vida silvestre vs. Cautiverio 1970-2010

Características demográficas

Las características demográficas para las poblaciones actuales y poblaciones modelos de jaguares machos y hembras en Colombia están compuestas por el cálculo de la proporción de crecimiento demográfico anual comparado con el año inmediatamente anterior y es denotado por lambda (λ) y/o por la reducción demográfica r = (1- λ) para una población bajo condiciones estables. Se encontró que la población actual representa el 98% de la población del año inmediatamente anterior (λ= 0,9876) y que ésta ha decrecido en 1,3% r=-0.0124. El tiempo generacional (T), tiempo transcurrido entre el primer evento reproductivo de una generación y de la siguiente (Pollack et al, 2005) o el promedio de edad en el que un padre prduce descendencia (Hedrick, 1983), se encontró que es mayor para las hembras T=18,21 años que para los machos T= 17,46 años. De esta forma incluyendo estas variables y teniendo en cuenta el número actual de machos y hembras (N) se puede estimar el número proyectado de machos y hembras a veinte años (N20). En cuanto a la población modelo sin involucrar manejo reproductivo los datos muestran que habría un descenso de la población de machos en un 7% (λ= 0.9313, r=-0.0712) y de hembras en un 3.3% (λ= 0.9667, r-0.03380), así como un incremento del tiempo generacional tanto para los machos (T=20.64) como para las hembras (T=21.92). También se encontró que el número estimado proyectado de machos y hembras a veinte años (N20) sería de 2.65 machos y 7.1 hembras (Tabla 5).

Tabla 5. Características demográficas para la población actual de jaguares y población modelo

	MACHOS		***HEMBRAS***	
	POBLACION ACTUAL	POBLACION MODELO	POBLACION ACTUAL	POBLACION MODELO
λ	0.9876	0.9313	0.9917	0.9667
r	-0.0124	-0.0712	-0.0124	-0.03380
T	17.46	20.64	18.21	21.92
N	11	11	14.00	14.00
N20	8.58	2.65	11.86	7.11

λ = Lambda, r= (1- λ), T= Tiempo generacional, N= número poblacional, N20=número estimado a 20 años

Tasas poblacionales

Las tasas poblacionales tanto para machos como para hembras según la edad se presentan en la tabla de vida (Caughley, 1977) (Tabla 6). En ésta, se presentan los resultados obtenidos de los cálculos ajustados para las tasas de fecundidad (Mx), supervivencia (Px), sobrevivencia (Lx), expectativa de vida media (Ex), tasa de mortalidad (Qx), riesgo de mortalidad y riesgo de fecundidad. El número en riesgo es usado para calcular las tasas de fecundidad y mortalidad dividiendo el número de nacimientos y muertes que ocurren durante una clase de edad (x) por el número de animales en riesgo de morir o de reproducirse durante esa clase de edad (Pollak et al, 2005).

Tabla 6. Tabla de vida para jaguares machos y hembras.

MACHOS							HEMBRAS					
Edad (Años)	Tasa de Mortalidad "Qx"	Tasa de Super-vivencia "Px"	Sobre-vivencia "lx"	Tasa de Fecundi-dad "Mx"	"Riesgo (Qx)"	Riesgo (Mx)	Tasa de Mortali-dad "Qx"	Tasa de Super-vivencia "Px"	Sobre-vivencia "Lx"	Tasa de Fecundidad Mx	Riesgo (Qx)	Riesgo (Mx)
0	0	1	1	0	17	17	0	1	1	0	19	19
1	0	1	1	0	17	17	0	1	1	0.05	19	19
2	0	1	1	0.06	17.4	17.4	0	1	1	0	19	19
3	0	1	1	0	18	18	0	1	1	0.03	19.6	19.6
4	0	1	1	0	18	18	0	1	1	0	19.4	19.4
5	0	1	1	0	18	18	0	1	1	0	18.3	18.3
6	0	1	1	0.03	17.4	17.4	0	1	1	0.03	18	18
7	0.06	0.94	1	0	17	16.9	0	1	1	0	18	18
8	0	1	0.94	0	14.9	14.9	0.06	0.94	1	0	16.2	15.4
9	0	1	0.94	0	14	14	0	1	0.94	0	12.7	12.7
10	0	1	0.94	0.04	12.3	12.3	0	1	0.94	0	10.9	10.9
11	0.19	0.81	0.94	0	10.4	10	0	1	0.94	0	8.9	8.9
12	0	1	0.761	0.13	8	8	0	1	0.94	0.14	7.1	7.1
13	0	1	0.761	0	7.9	7.9	0	1	0.94	0	6	6
14	0	1	0.761	0	6.4	6.4	0	1	0.94	0	6	6
15	0	1	0.761	0	6	6	0	1	0.94	0	6	6
16	0	1	0.761	0	5.4	5.4	0.17	0.83	0.94	0	6	5
17	0	1	0.761	0	4.4	4.4	0	1	0.78	0	5	5
18	0	1	0.761	0.13	4	4	0	1	0.78	0	4.4	4.4
19	0	1	0.761	0.13	4	4	0	1	0.78	0.13	4	4
20	0	1	0.761	0.38	4	4	0.25	0.75	0.78	0.33	4	3
21	0	1	0.761	0.13	4	4	0	1	0.585	0.17	3	3
22	0.25	0.75	0.761	0	4	3.6	0	1	0.585	0.17	3	3
23	0.33	0.67	0.571	0	3	2	0.33	0.67	0.585	0	3	2.5
24	0	1	0.383	0	2	2	0	1	0.392	0.25	2	2
25	0	1	0.383	0	2	2	0.5	0.5	0.392	0	2	1
26	0.5	0.5	0.383	0	2	1.1	0	1	0.196	0	1	1
27	0	1	0.191	0	1	1	0	1	0.196	0	1	1
28	0	1	0.191	0	1	1	0	1	0.196	0	1	1
29	0	1	0.191	0	1	1	0	1	0.196	0	1	1
30	0	1	0.191	0	1	1	0	1	0.196	0	1	1
31	1	0	0.191	0	1	0	0	1	0.196	0	1	1

- **Tasa de fecundidad**

La tasa de fecundidad es un reflejo de la fertilidad de la población. Provee información relevante en cuanto al momento en que ocurre la primera y última fertilización así como el momento de máxima fertilidad (Lacy, 2002; Albers, 2005; Wilcken et al. 2005). Se presentan los valores reales graficados en líneas azules y la línea de tendencia en rojo, mostrando en los machos que el primer evento reproductivo con fecundación ocurre a los 2 años de edad y el último a los 22 años; también se observa que el momento de máxima reproducción ocurre entre los 16 y los 23 años (Figura 4). En cuanto a las hembras el primer evento reproductivo fértil también ocurrió a los 2 años, el último a los 24 años y el momento de máxima reproducción ocurre entre los 17 y 25 años. (Figura 5). La línea roja muestra los datos de tendencia estimados para la población modelo después de que los datos actuales han sido suavizados el cual es el proceso de de eliminar picos extremos en series de datos, en el cual se reemplazan cada punto con la media del valor predecesor y del número siguiente. Dicho procedimiento puede ser realizado múltiples veces y según el número de veces realizado se denota 1x, 2x...etc. (Pollak et al, 2005)

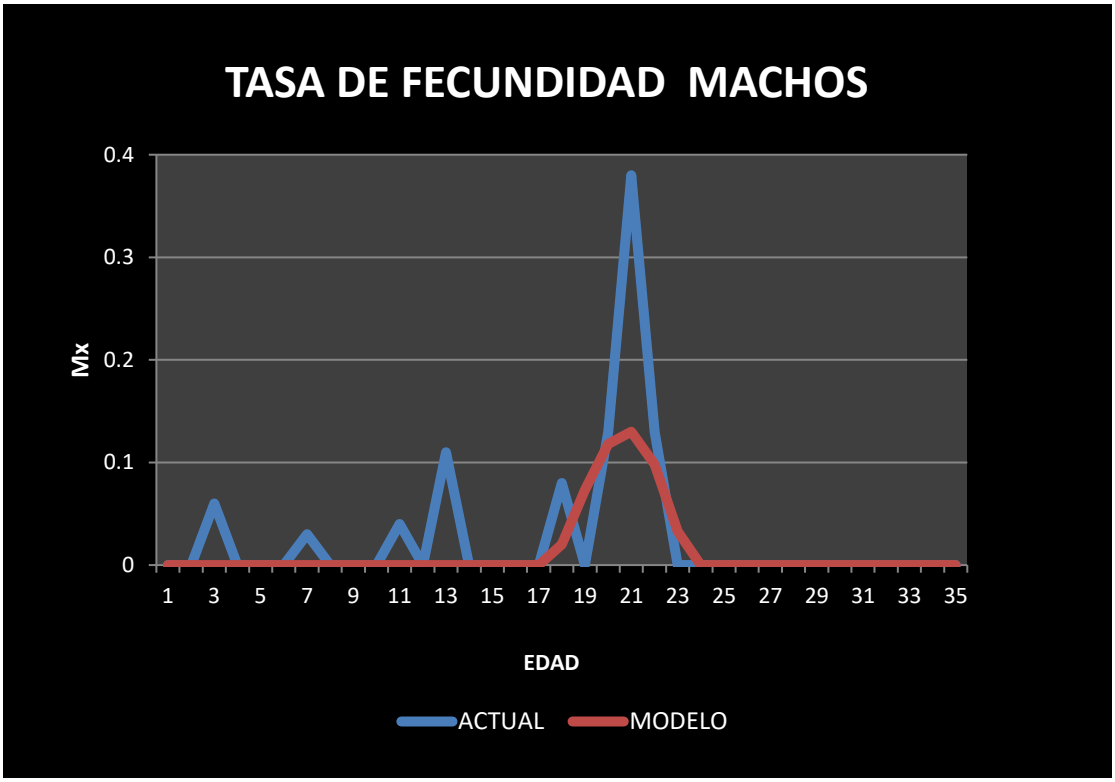


Figura 4. Tasa de Fecundidad (Mx) Actual vs Modelo jaguares machos.

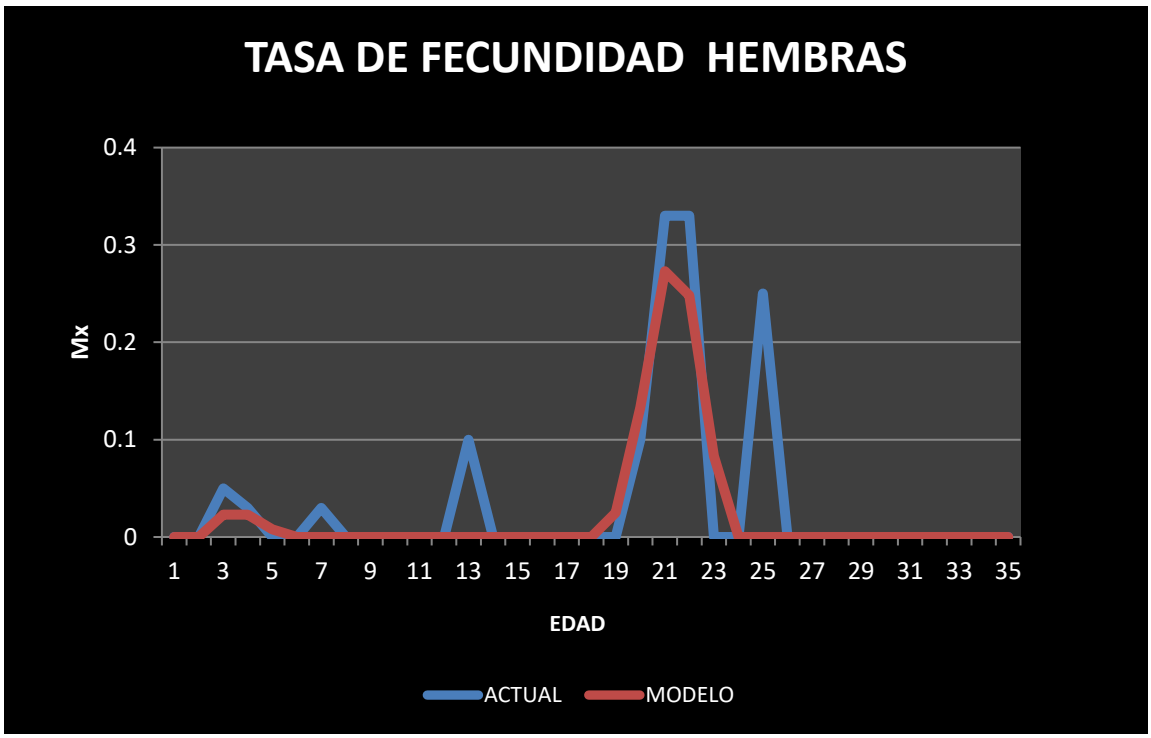


Figura 5. Tasa de Fecundidad (Mx) Actual vs Modelo jaguares hembras.

- **Tasa de supervivencia**

La tasa de supervivencia es la probabilidad de que un individuo de la clase de edad (x) llegue con vida a la siguiente clase de edad (x+1). Se obtuvo la supervivencia tanto para los machos como para las hembras (Lacy, 2002; Albers, 2005; Wilcken et al. 2005). Se presentan los valores reales graficados en líneas azules y las línea de tendencia en rojo, mostrando en los machos que a partir de los 16 años de edad, la probabilidad de supervivencia es diferente de 1, cerca de los 22 años (P_{22}=0,5) solo el 50% de los animales pasarán a la siguiente clase de edad y después de los 31años (P_{31}=0) no se esperan supervivientes (Figura 6). En cuanto a las hembras se encontró que a partir de los 14 años de edad la probabilidad de supervivencia es menor de 1 y continúa en forma decreciente; cerca de los 24 años (P_{24}=0,5), solo el 50% de los animales pasarán a la siguiente clase de edad y después de los 32 años (P_{32}=0) no se esperan supervivientes La línea verde muestra los datos de tendencia estimados para la población modelo después de que los datos actuales han sido suavizados 1x (Figura 7).

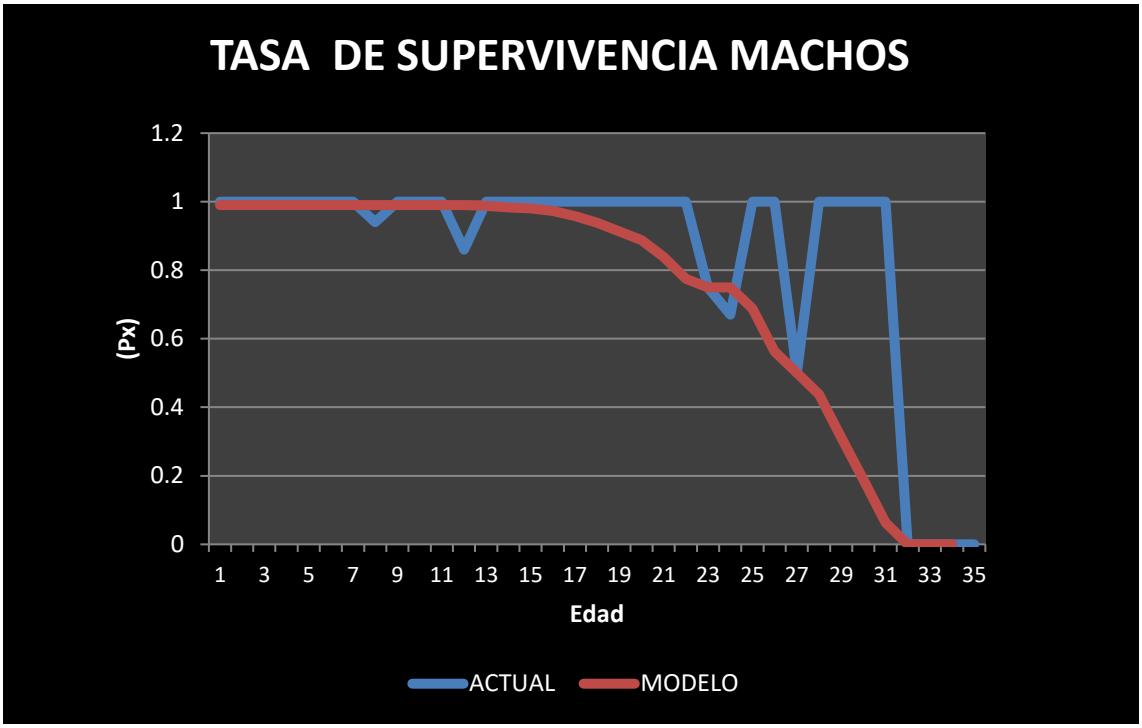


Figura 6. Tasa de supervivencia (Px) Actual vs Modelo jaguares machos.

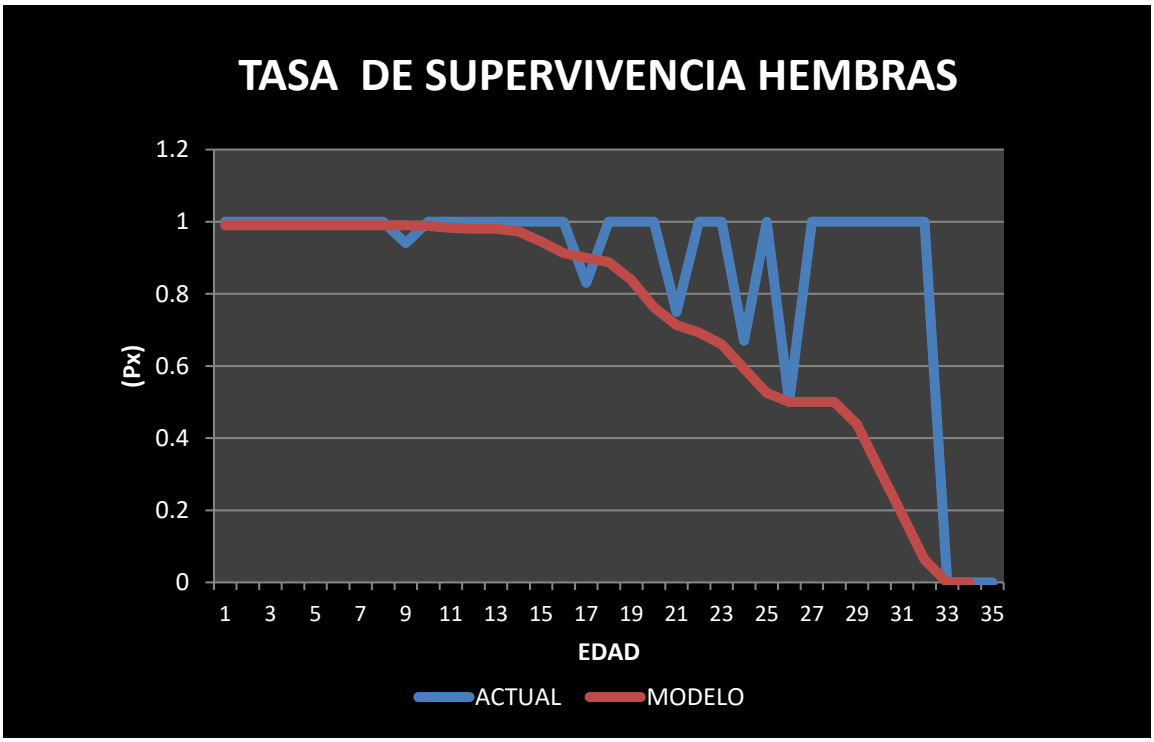


Figura 7. Tasa de supervivencia (Px) Actual vs Modelo jaguares hembras.

- **Tasa de sobrevivencia**

Es la probabilidad de que un individuo sobreviva a la clase de edad x, la sobrevivencia a la edad 0 está definida como L(0) = 1 (Lacy, 2002; Albers, 2005; Wilcken et al. 2005). Se obtuvo la sobrevivencia tanto para los machos como para las hembras. Se presentan los valores reales graficados en líneas azules y la línea de tendencia en rojo. En los machos, la sobrevivencia disminuye a partir de los 7 años y ninguno ha sobrevivido después de los 32 años (L_{32}=0) (Figura 8). En cuanto a las hembras, la disminución de la tasa de sobrevivencia ocurrió después de los 8 años, y ninguna ha sobrevivido después de los 33 años (L_{33}=0) (Figura 9). También se presenta las tasas de sobrevivencia comparada entre machos y hembras en la cual se observa que la sobrevivencia de los machos es ligeramente mayor entre los años 15 y 29 años (Figura 10). La línea roja muestra los datos de tendencia estimados para la población modelo después de que los datos actuales han sido suavizados 1x

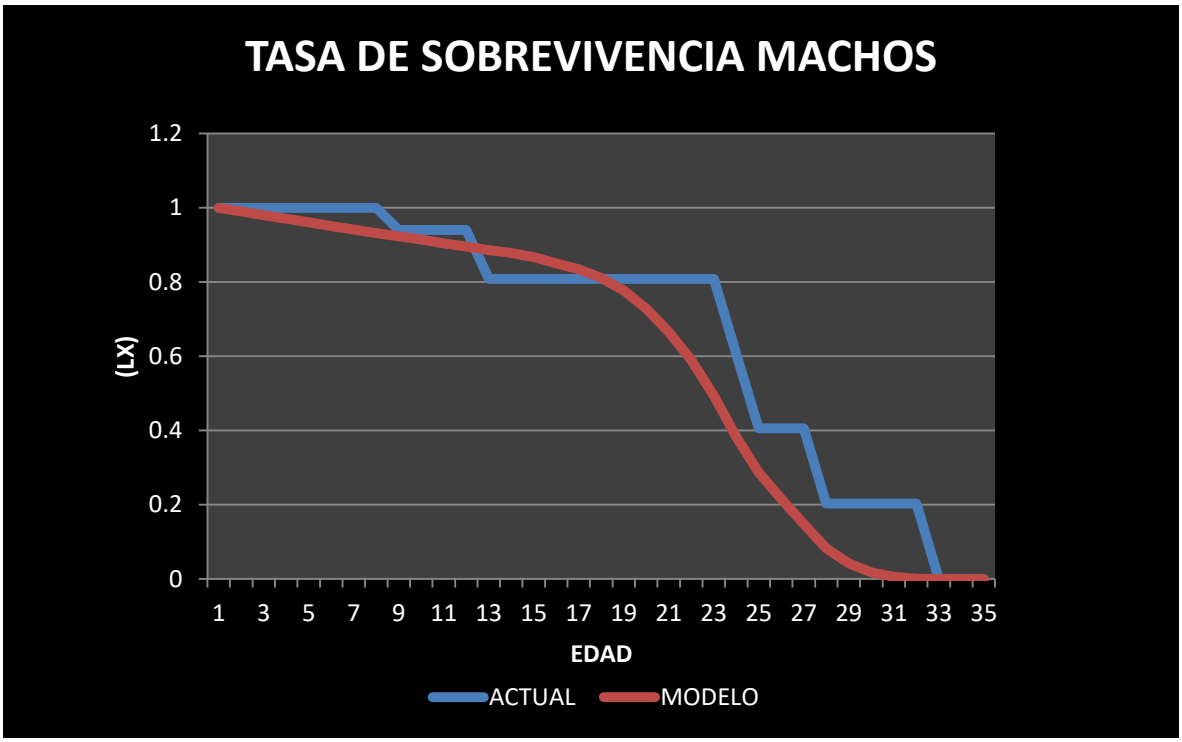


Figura 8. Tasa de sobrevivencia (Lx) Actual vs Modelo jaguares machos.

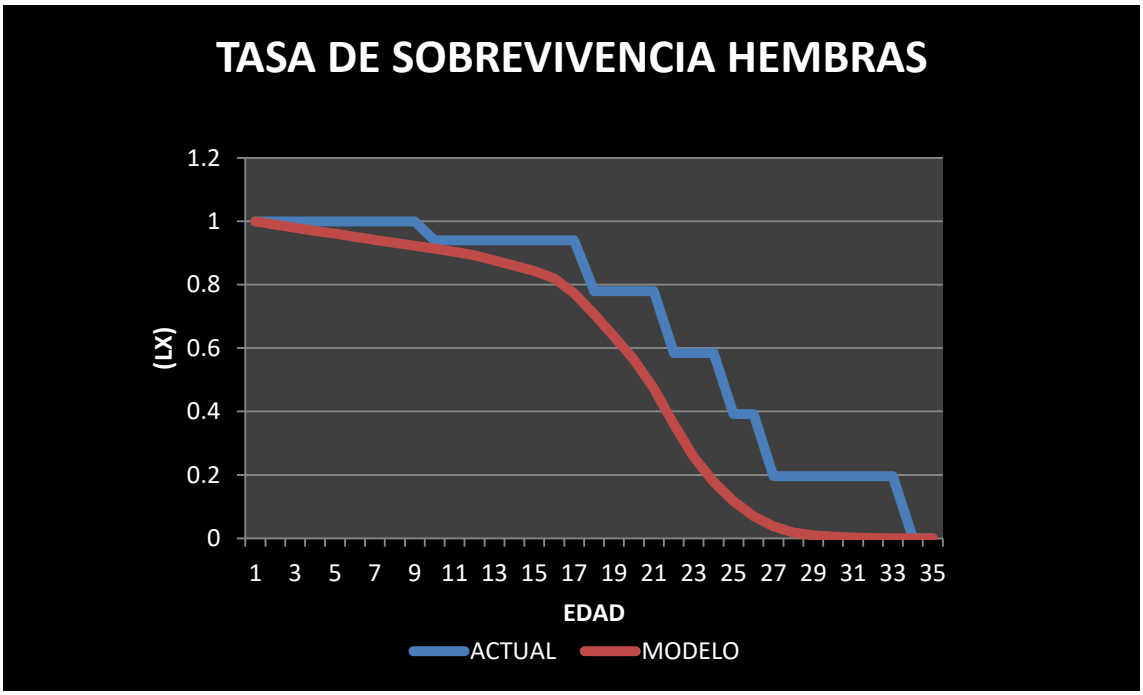


Figura 9. Tasa de sobrevivencia (Lx) Actual vs Modelo jaguares hembras.

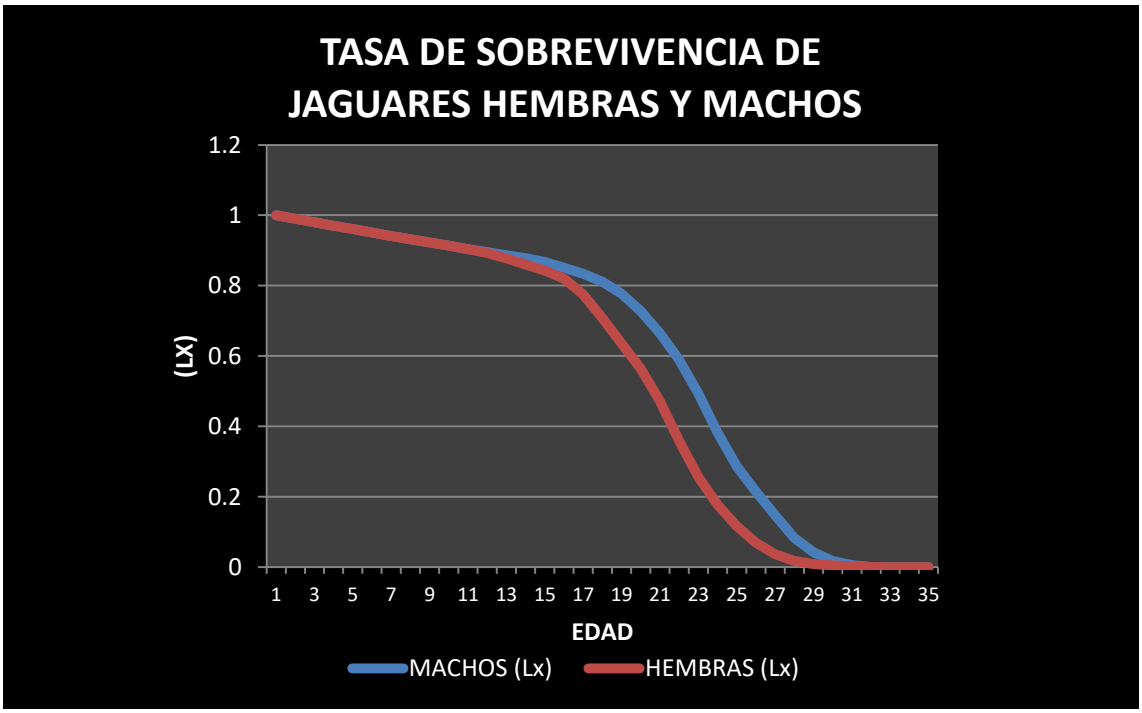


Figura 10. Tasa de sobrevivencia (Lx) jaguares machos vs hembras.

- **Expectativa de vida media**

La expectativa de vida media es el promedio de años de vida restante que un individuo en una clase de edad (x) puede alcanzar (Lacy, 2002; Albers, 2005; Wilcken et al. 2005). Se calculó la expectativa de vida media tanto para los machos como para las hembras. Se presentan los valores graficados para los machos en líneas azules y para las hembras en rojo, mostrando que la expectativa de vida media en los hembras es menor que para los machos en los primeros 24 años de vida. Se puede observar que a los 10 años de vida, la vida restante esperada para las hembras es de 10 años mientras que para los machos es cercana a 12 años; después de los 20 años la expectativa de vida restante tanto para machos como para hembras es menor a 5 años (Figura 11).

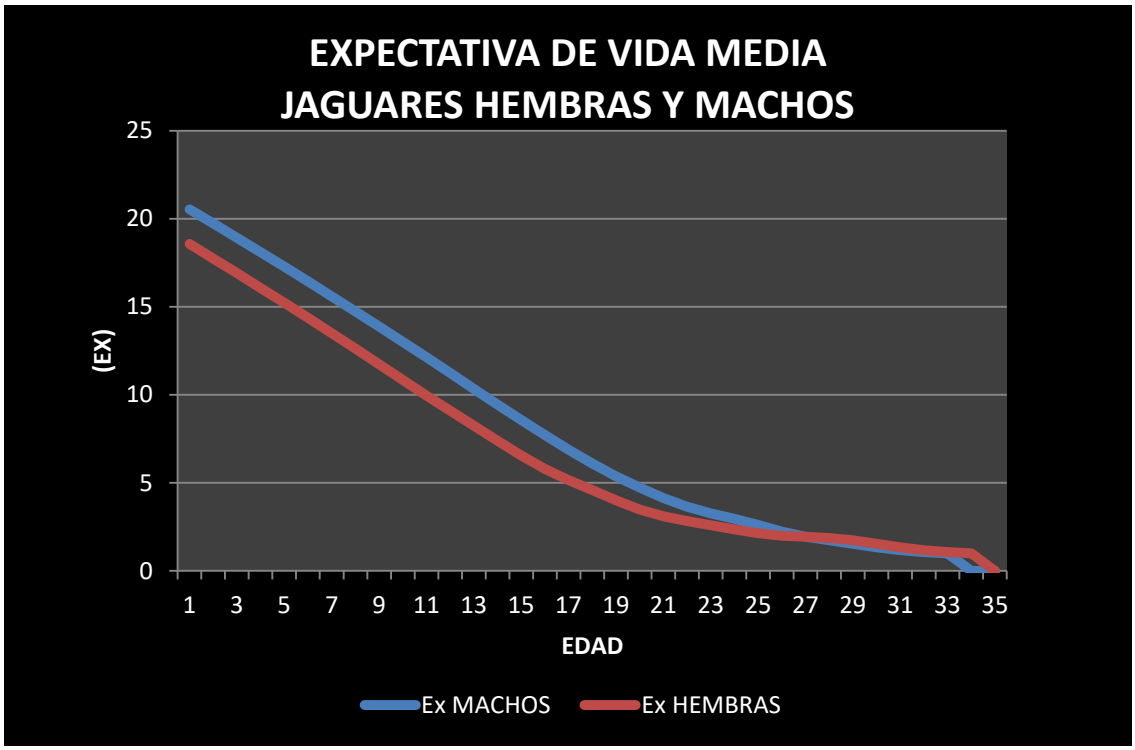


Figura 11. Expectativa de vida media (Ex) jaguares hembras y machos.

- **Tasa de mortalidad**

La tasa de mortalidad (Qx) es la proporción de individuos que mueren durante una clase de edad (x). Es calculada a partir del número de animales que murieron en una clase de edad (x) dividido por el número de animales que se encontraban vivos al inicio de la misma clase de edad y es inversamente proporcional a la tasa de supervivencia (Lacy, 2002; Albers, 2005; Wilcken et al. 2005). Se calculó la tasa de mortalidad tanto para los machos como para las hembras. Se presentan los valores reales graficados en líneas azules y las línea de tendencia en rojo, mostrando en los machos que la tasa de mortalidad es del 5% a partir de los 7 años (Q_7=0,05), 35% entre los 21 y los 24 (Q_{21-24}=0,35), 50% entre los 25 y los 27 (Q_{21-24}=0,5), y 100% después de los 30 años (Q_{30}=1) (Figura 12). En cuanto a las hembras la tasa de mortalidad es del 3% a partir de los 8 años (Q_8=0,03), 20% a los 16 años (Q_{16}=0,2), 30% a los 20 años (Q_{20}=0,3), 38% entre los 22 y los 24 años (Q_{22-24}=0,38), 50% entre los 24-26 (Q_{24-26}=0,5) y 100% después de los 31 (Q_{31}=1) (Figura 13).

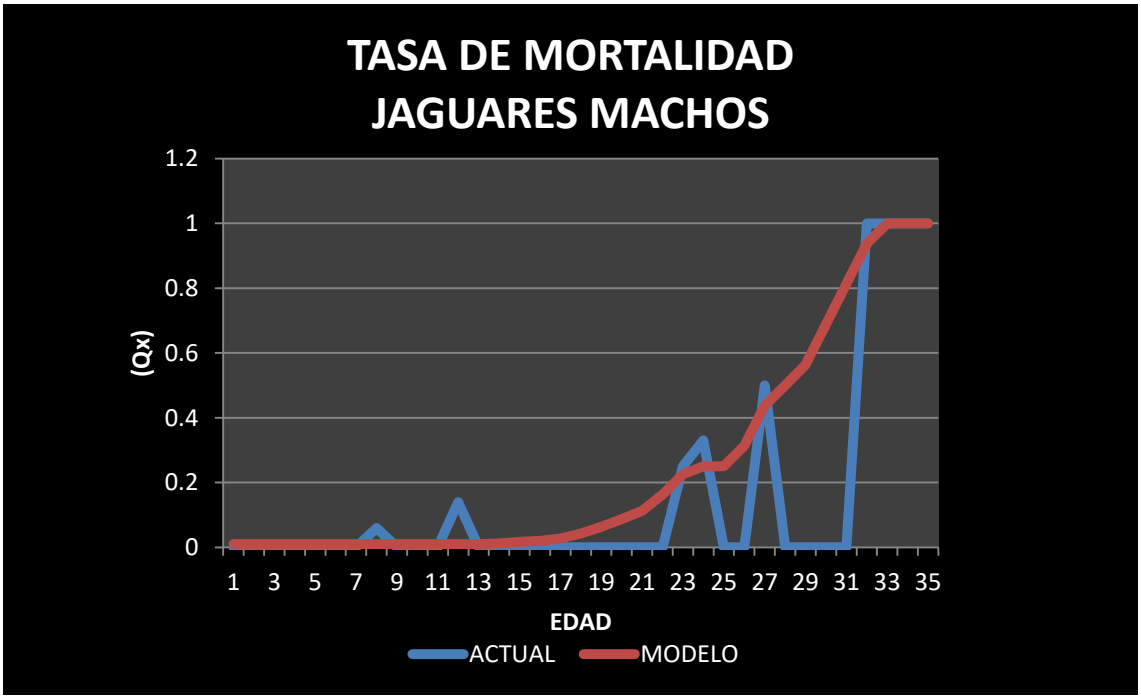


Figura 12. Tasa de Mortalidad (Qx) Actual vs Modelo jaguares machos.

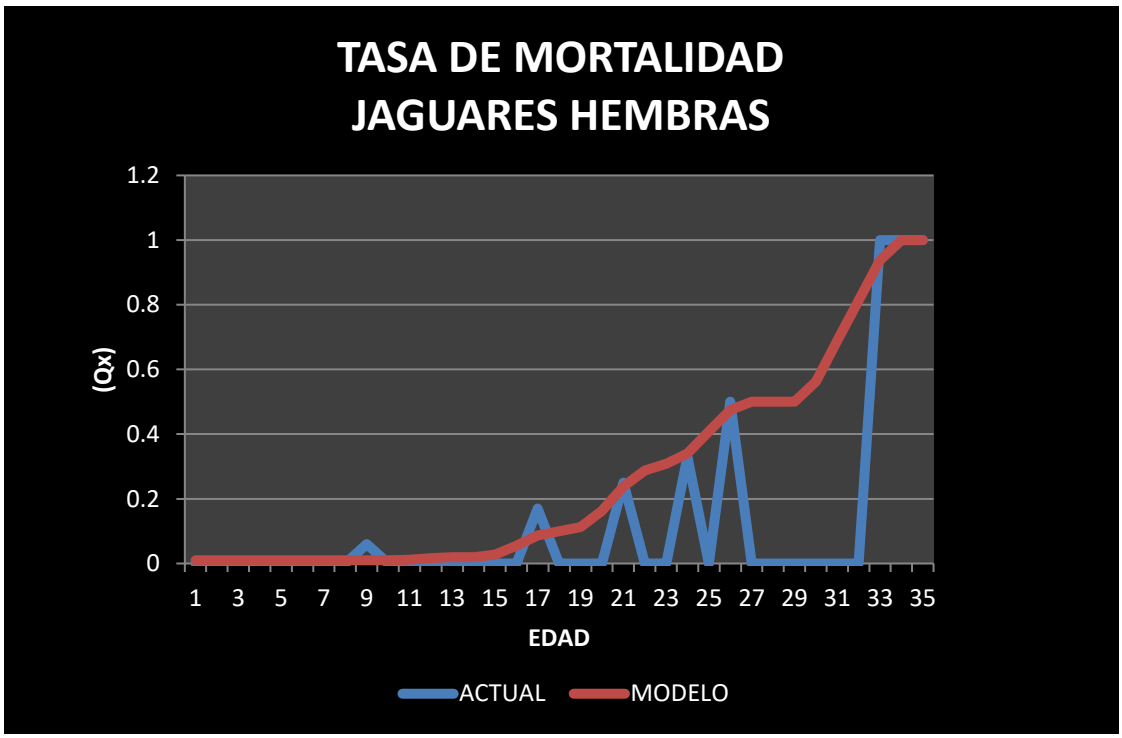


Figura 13. Tasa de Mortalidad (Qx) Actual vs Modelo jaguares hembras.

El valor reproductor es una medida sobre el número de descendientes del mismo sexo que animales de edades especificas pueden esperar para producir durante el remanente de su tiempo de vida. El valor reproductor mide un promedio de expectativa (Wilcken et al, 2005). En éste caso sobre el número esperado de descendientes el año actual y en años futuros por un animal de clase de edad (x) (Pollak et al, 2005). En éste estudio se encontró que el valor reproductor de las hembras tiende a ser mayor entre los 15 y 23 años. Por lo tanto se esperaría que la reproducción de los jaguares después del año 23 de vida difícilmente se lleve a cabo (Figura 14).

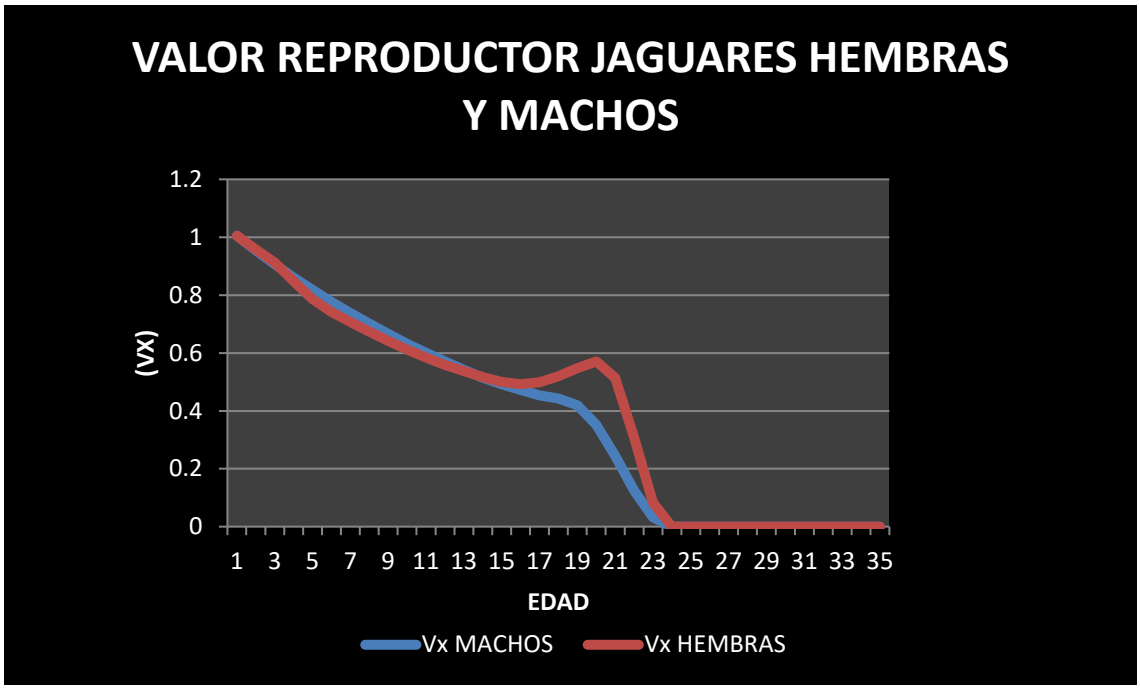


Figura 14. Valor reproductor (Vx) jaguares hembras y machos.

2.3.2 Proyecciones reproductivas para machos y hembras

Se calculó el número esperado de machos y hembras en un tiempo de proyección de 20 años sin manejo reproductivo y se comparó la tabla de vida del ejemplar del modelo actual con la estructura por edades de la población modelo estable. Las diferencias entre las proyecciones sin manejo y con manejo reproductivo muestran el impacto que ocurre debido a la acción de la distribución por las clases de edades. Se presenta la gráfica de proyecciones totales donde se incluyen tanto los machos como las hembras sin un plan de manejo reproductivo donde se observa el descenso de la población a menos de 10 individuos teniendo en cuenta la tasa de mortalidad. Por otro lado se realizó una proyección del crecimiento de la población a 20 años con manejo reproductivo incrementando el número actual de 25 ejemplares vivos a 40 según la capacidad de carga en los parques zoológicos de Colombia y asumiendo que la proporción de sexos de las crías al nacer es del 50%. Estas proyecciones serían el reflejo de un manejo reproductivo constante durante un periodo de 5, 10 15 y 20 años (Tabla 7). A partir de esto se pudo determinar los nacimientos que se necesitan para alcanzar el tamaño de la población objetivo, el nivel de crecimiento demográfico (λ) y el número de parejas necesarias. Los resultados encontrados determinan que para alcanzar el número poblacional esperado con manejo reproductivo durante 5 años se necesitaría un crecimiento poblacional del 9.8% anual (λ=1.098) y se necesitarían 3.3 nacimientos al año y 6.6 parejas para llegar a la meta poblacional (Figura 15). Para alcanzar el número poblacional esperado con manejo reproductivo durante 10 años se necesitaría un crecimiento poblacional del 4.8% anual (λ=1.048) y se necesitarían 2.1 nacimientos al año y 4.2 parejas para llegar a la meta poblacional (Figura 16). Para alcanzar el número poblacional esperado con manejo reproductivo durante 15 años se necesitaría un crecimiento poblacional del 3.1% anual

(λ=1.031) y se necesitarían 1.7 nacimientos al año y 3.4 parejas para llegar a la meta poblacional (Figura 17). Para alcanzar el número poblacional esperado con manejo reproductivo durante 20 años se necesitaría un crecimiento poblacional del 2.3% anual (λ=1.023) y se necesitarían 1.5 nacimientos al año (en otras palabras se necesitarían 3 nacimientos en 2 años) y 3 parejas para llegar a la meta poblacional (Figura 18).

Tabla 7. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 5, 10, 15 y 20 años

	Manejo Reproductivo			
	5 años	10 años	15 años	20 años
Crecimiento Poblacional (λ)	1,098	1,048	1.031	1.023
Nacimientos anuales	3.3	2.1	1.7	1.5
Parejas	6.6	4.2	3.4	3

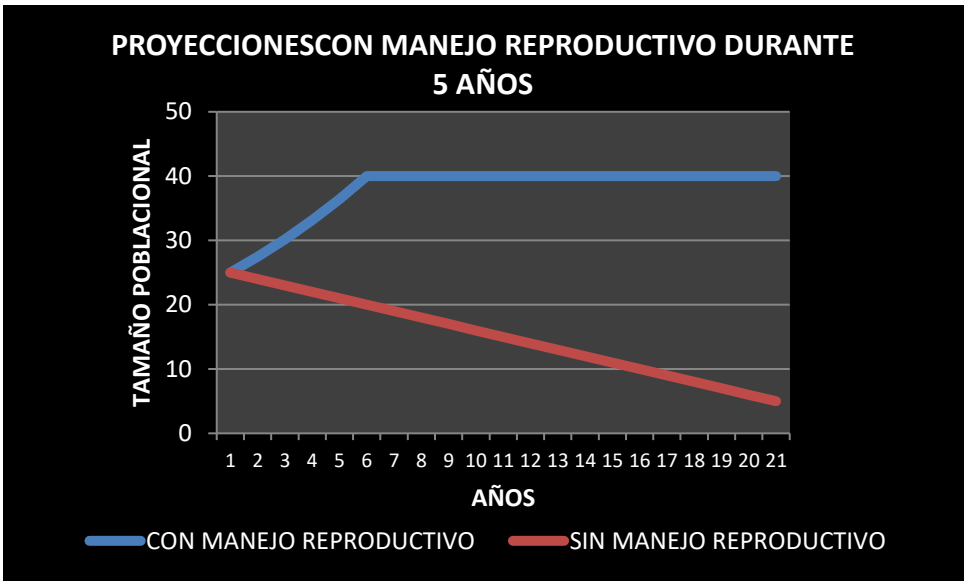


Figura 15. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 5 años

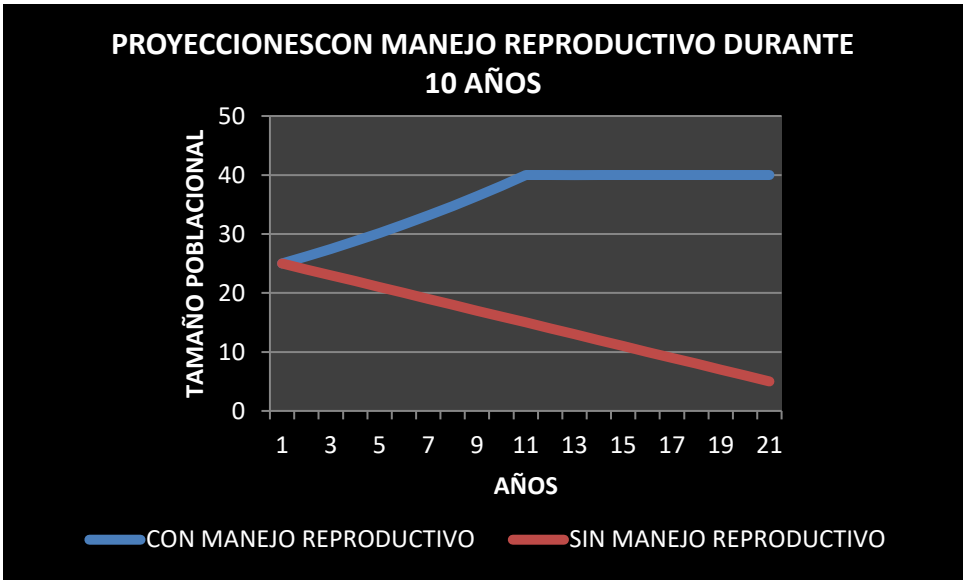


Figura 16. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 10 años

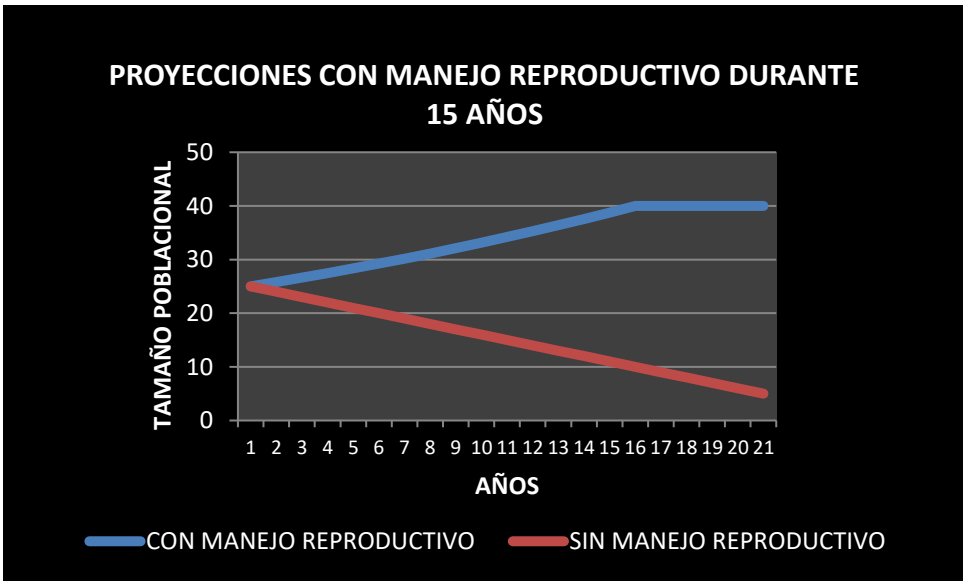


Figura 17. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 15 años

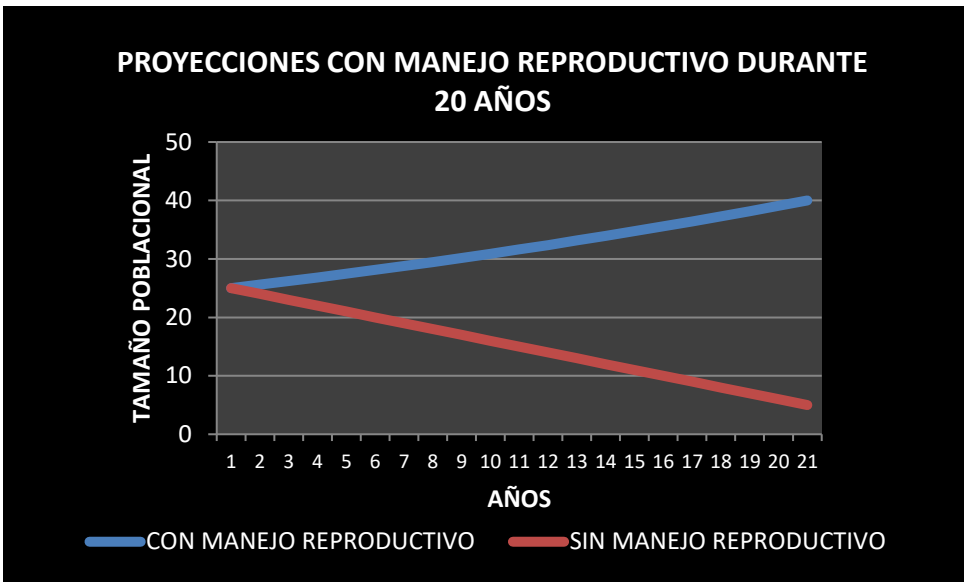


Figura 18. Proyecciones para la población de jaguares a 20 años con manejo reproductivo durante 20 años

2.3.3 Selección de apareamientos

El procedimiento para realizar la selección de apareamientos debe tener en cuenta diferentes factores dependiendo de las medidas de importancia genética presentadas en las estadísticas individuales de los animales vivos en la población. El criterio más utilizado para este procedimiento es el valor de la media de parentesco (MK) (MK en inglés Mean KINSHIP), que se define como el promedio de los coeficientes de relación que existe entre un individuo (incluyéndose así mismo) y la población viva de animales nacidos en cautiverio; también se puede decir que la media de parentesco es igual a la pérdida proporcional de la diversidad génica de la descendencia nacida en cautiverio relativa a los fundadores). También se empleó como criterio, la conveniencia de las instituciones zoológicas y la ubicación geográfica de los ejemplares. De esta manera se ordenan tanto los ejemplares machos como las hembras según su valor de MK. El programa muestra los cambios en el MK a medida que se realizan los cruzamientos posibles escogiendo los animales con valores más bajos de MK. El resultado que se obtiene para la modelación de las crías está dado por el coeficiente de consanguinidad F obtenido, buscando en la generación virtual, las crías con los valores F igual a cero. Así, a medida que se simulan apareamientos y se obtiene una descendencia virtual, las medidas genéticas se re-calculan para la población. En la Tabla 8 se presentan todos los machos y todas las hembras con pedigrí conocido que al aparearse entre sí tendrían una progenie con un F =0. Por ejemplo el macho T32 podría aparearse con todas las hembras en la tabla y su progenie tendría un F=0 y así sucesivamente.

Tabla 8. Selección de apareamientos de jaguares (*Panthera onca*) vivos ordenados según el valor de la media de parentesco MK

MACHOS					*HEMBRAS*				
IDENTIFICACION	MK	PEDIGRI CONOCIDO	EDAD	UBICACION	IDENTIFICACION	MK	PEDIGRI CONOCIDO	EDAD	UBICACION
T32	0	100	18	BARRANQULLA	T33	0	100	19	BARRANQULLA
T27	0.036	100	17	JAIME DUQUE	T10	0.196	100	9	SANTACRUZ
T28	0.174	100	6	JAIME DUQUE	T12	0.214	100	12	PISCILAGO
T7	0.223	100	14	SANTACRUZ	T8	0.223	100	13	SANTACRUZ
					T9	0.241	100	13	JAIME DUQUE
					T13	0.246	100	10	PISCILAGO

2.3.4 Metas poblacionales

Las metas poblacionales son un producto de la conjunción de metas genéticas específicas. Primero, se debe especificar una meta genética referente a la cantidad de diversidad genética que se desea retener en un lapso de tiempo dado. La meta planteada para los jaguares en Colombia es mantener 90% de la diversidad genética de la población de jaguares en vida silvestre durante un periodo de 100 años. El programa empieza determinando el tamaño de la población que se necesita para alcanzar esta meta. Las variables que se consideran para realizar el alcance de las metas poblacionales son: tiempo generacional (T), tasa de crecimiento poblacional (λ), tamaño poblacional actual (N), número efectivo poblacional actual (Ne), relación Ne/N, diversidad genética actual (GD), población máxima permitida, nuevos fundadores por evento de adición, año de inicio de introducción de nuevos fundadores, año de parada de introducción de nuevos fundadores, años entre eventos de adición. Se obtuvieron las metas poblacionales sin involucrar ningún tipo de manejo reproductivo (Tabla 9). En la Figura 19 se puede observar en la línea roja un descenso en el número poblacional constante y en línea azul la pérdida de diversidad genética que desciende del 75% entre los primeros 10 y 20 años. Por otro lado realizando manejo reproductivo (Tabla 9), se puede observar en la figura 20 que con solo incrementar la población de 25 a 37 ejemplares y al iniciar una introducción de 1 animal fundador cada año la diversidad genética se incrementaría de un 78% a un 90% en un tiempo entre 40 y 50 años de manejo, también se puede observar que el tiempo generacional disminuiría de 21 años a 12 años (Figura 20).

Tabla 9. Metas poblacionales para jaguares (*Panthera onca*) en Colombia sin manejo reproductivo y con manejo reproductivo a 100 años

	Sin Manejo Reproductivo	***Con Manejo Reproductivo***
Diversidad Genética Mantenida	6.3%	90%
Tiempo generacional (T)	21.3	12
Tasa de crecimiento poblacional (λ)	0.949	1
Tamaño poblacional actual (N)	25	25
Número efectivo poblacional actual (Ne)	6.5	6.5
Relación Ne/N	0.26	0.26
Diversidad genética actual (GD)	0.78	0.78
Población máxima permitida	25	40
Población requerida para alcanzar metas	37	37
Nuevos fundadores por evento de adición		1
Año de inicio de introducción de nuevos fundadores		1
Año de parada de introducción de nuevos fundadores		100
Años entre eventos de adición.		1
FGE reclutado por cada nuevo fundador		0.4

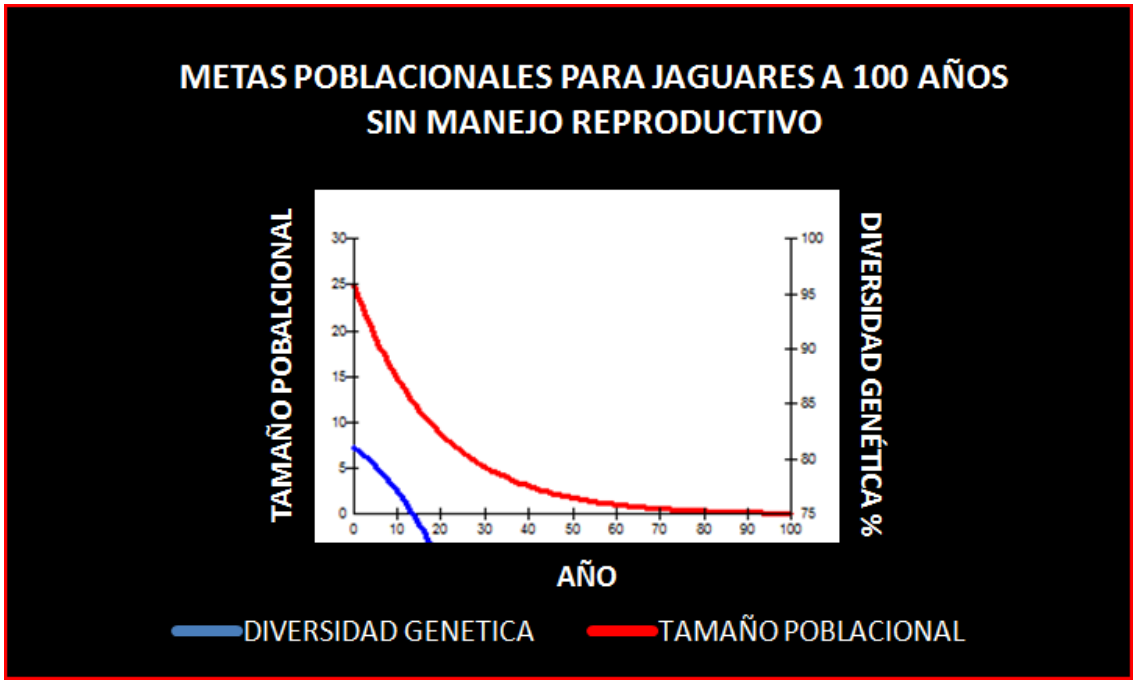


Figura 19. Proyección a 100 años de las metas poblacionales para jaguares (*Panthera onca*) sin manejo reproductivo.

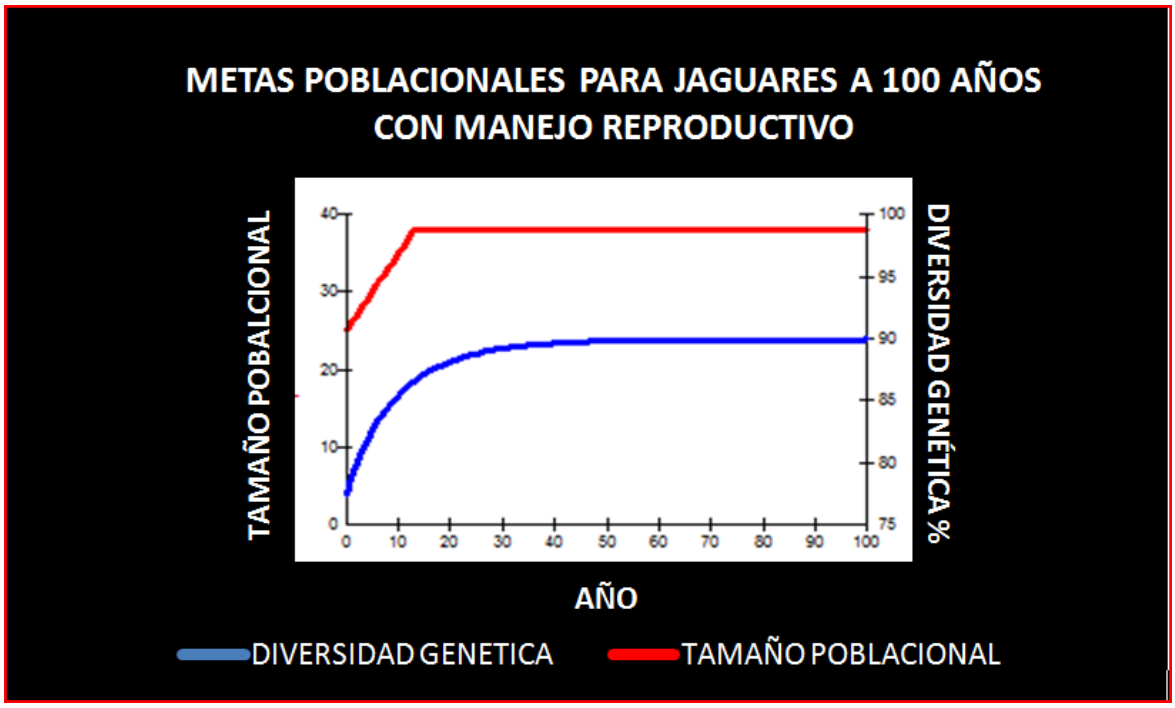


Figura 20. Proyección a 100 años de las metas poblacionales para jaguares (*Panthera onca*) con manejo reproductivo.

2.4 Discusión

Con esta investigación se realiza la primera construcción de un Studbook Regional para Jaguares en Colombia. En el proceso de investigación se encontraron limitantes en cuanto al tipo de registros manejados en los diferentes zoológicos. Los registros encontrados en los zoológicos datan de las décadas de los 80's y 90's, no comparten una uniformidad en el tipo de información colectada, dependían del criterio de cada profesional a cargo de las colecciones, dejando vacios con los cambios administrativos y no obedecían a un consenso general entre todos los zoológicos.

Es por esto que la pérdida de información es alta en cuanto al movimiento de animales, muertes y nacimientos; sin embargo esta situación cambia a partir del año 2000 donde todos los zoológicos unifican sus tipos de registros. Es a partir de esta fecha, donde se encuentra una información más completa en referencia a cada animal. Las limitantes encontradas durante la caracterización de la población de jaguares cautivos en Colombia son similares a las encontradas en la construcción del Studbook para jaguares en los zoológicos europeos reportadas por Drury (2005) a diferencia que en Europa estos datos llevan registrándose durante cerca de un siglo, en Colombia el desarrollo de esta actividad cuenta con solo 35 años.

La población actual de jaguares colombianos está compuesta principalmente por jaguares adultos mayores a los 10 años. Esto indica que en los años futuros podría presentarse un declive poblacional en los jaguares cautivos en Colombia al no encontrar un relevo generacional ya sea por la cría en cautiverio que provea una base poblacional de individuos

jóvenes o ya sea por el ingreso de ejemplares decomisados, víctimas del tráfico ilegal y de origen de vida silvestre por parte de las autoridades ambientales, y que posterior a una evaluación rigurosa se considere que no sobrevivirían en una eventual liberación.

En este estudio también se encontró que en la población de jaguares cautivos, la relación de macho:hembra es de 2:3, lo cual indica que es necesario incrementar el número de machos enteros para estabilizar la relación entre géneros si se considera que la relación de macho:hembra debería ser de 1:1 según lo reportado por Drury (2005). Esta proporción de 1:1 aseguraría que los posibles machos y hembras fundadores tengan las mismas probabilidades de transmitir sus gametos contribuyendo y siendo representados genéticamente en la descendencia y en el incremento de la variabilidad genética de la población a diferencia de cómo ocurriría en animales domésticos en donde la relación podría ser de 1 macho por varias hembras, en este caso sólo los alelos de éste macho estarían representados en la población, incrementando los riesgos de endogamia.

En cuanto a la composición fenotípica teniendo en cuenta que el melanismo es transmitido por dominancia (Ditrich, 1979) y (Eizirik et al. 2003) y que la expresión moteada se presenta en homocigosis recesiva, se puede inferir al cumplir con la ley de segregación mendeliana que al encontrar que el 87% de los jaguares cautivos en Colombia son moteados se presenta un exceso de homocigocis recesiva y un déficit de heterocigotos y homocigotos dominantes para la expresión fenotípica del melanismo.

Se encontraron evidencias de que los jaguares se reprodujeron efectivamente en cautiverio entre los años de 1990 y el año 2000 donde el número de ejemplares se incremento de 10 a cerca de 35. Éste incremento en la población se debió principalmente a la cría en cautiverio más que al ingreso de animales provenientes de vida silvestre. A partir del año 2000 se inicia un declive poblacional debido principalmente a la incidencia natural de la tasa de mortalidad, a la interrupción de apareamientos controlados y al bajo ingreso de ejemplares de vida silvestre.

El rango de años entre la ocurrencia del inicio de la tasa de fecundidad hasta la final puede ser considerada como un buen estimativo para determinar la vida reproductiva para la especie *Panthera onca*. Si se considera que ésta inicia a los 2 años y termina cerca de los 25 años, en la población cautiva, la edad inicial coincidiría con la edad en la que los cachorros se alejan de su madre para llevar una vida independiente y donde éstos son considerados aptos reproductivamente. Por otro lado, la tasa de fertilidad máxima encontrada para los machos, entre los 16 y los 23 años y para las hembras, entre 17 y 25 años, sugiere ser un reflejo de los momentos de reproducción controlada o influenciada por el hombre según las condiciones de manejo de cada parque zoológico más que un reflejo de una condición natural que se presentaría en vida silvestre. En la actualidad al encontrar pocos animales entre esas edades haría necesario emplear los ejemplares más jóvenes en los procesos de monta controlada o asistida desplazando progresivamente el pico de la tasa de fertilidad a edades más tempranas.

Para determinar un valor más preciso sobre la tasa máxima de fecundidad se necesitaría realizar un seguimiento de una población natural por un largo periodo de tiempo, los resultados posiblemente arrojarían que los jaguares en vida silvestre al tener una expectativa de vida más baja que en cautiverio sus máximas tasas de fecundidad estarían ubicadas en edades más tempranas que las edades encontradas en este estudio. En cuanto a la tasa de supervivencia, sobrevivencia, mortalidad y expectativa de vida

encontrada, se puede inferir que ésta depende de diferentes factores relacionados tanto con la naturaleza directa de la especie como de manera indirecta (intervención humana), siendo estos factores la atención permanente, la administración de alimento constante y la atención médica de tipo preventivo y curativo. Teniendo en cuenta estas consideraciones y descartando patologías idiopáticas o accidentes presentados, se encontró que la expectativa de vida de los jaguares cautivos en Colombia es similar a la expectativa de vida reportada para jaguares en zoológicos europeos por Drury (2005) de 25 años.

En general los planes de supervivencia de especies intentan mantener tanta diversidad genética como sea posible. Pero debido a las limitaciones de espacio en los parques zoológicos de Colombia se ha fijado como objetivo razonable el mantener el 90% de esa variabilidad durante un periodo de 100 años para los jaguares; en otros félidos como lo es el caso de los tigres siberianos (*Panthera tigris altaica*) se ha fijado un tiempo de 200 años. Los análisis de población en cautiverio del tigre de Siberia indican que éstos tienen un periodo generacional de siete años (número de años que transcurre desde su nacimiento hasta el momento de nacer su primer cachorro) mientras que en los jaguares cautivos, este número es cercano a 20 años debido a las condiciones actuales de manejo, pero podría disminuir mucho más al cambiar la estrategia reproductiva. Otra similitud encontrada es que la proporción de sexos al nacer en los jaguares y en tigres, es cercano a 2.5. El número de fundadores en el plan de tigres siberianos es de 34 animales mientras que en Colombia es de 7. Con base en estos números, para el caso de los jaguares, al ser tan bajo el número inicial de fundadores se necesitarían entre 12 y 15 nuevos fundadores para conservar la diversidad genética del 90% en 100 años, mientras que en el caso de los tigres se necesitan otros 10 o 12 fundadores no emparentados para que una población de 175 tigres conserve el 90% de su diversidad genética durante los próximos 200 años (Tilson, 1996).

2.5 Conclusiones y Recomendaciones

Al realizar la caracterización demográfica y genética de la población de jaguares cautivos en Colombia se ha abierto la posibilidad de implementar un plan sostenible de conservación *ex situ* para la especie, que permitirá contar a futuro con una población modelo, genéticamente variable y con alto potencial reproductivo. Esta población estará en capacidad de servir como reservorio genético en caso de extinción de poblaciones y como una población proveedora de gametos viables de fácil acceso para ser usado en casos de revitalización de poblaciones silvestres.

Para cumplir con este objetivo es necesario continuar y mejorar las bases de datos de los registros para mantener el Studbook actualizado. Al encontrar que la población de jaguares cautivos en Colombia está decreciendo, se hace imprescindible implementar un plan de manejo reproductivo como el que se propone en este estudio para estabilizar la población. Así, es necesario promover la cría controlada y el ingreso de nuevos fundadores, especialmente de machos para restablecer el balance de relación de sexos con el fin de mantener una pirámide poblacional donde la base este conformada por individuos jóvenes y su ápice por los individuos ancianos. También es necesario reducir el tiempo generacional siendo éste el número de años que transcurre desde el nacimiento de un individuo hasta el momento de nacer su primer cachorro o progenie. Esto se puede realizar incluyendo a los individuos jóvenes en los programas de reproducción. Al realizar esto la

tasa de fecundidad máxima se ubicara en una edad más temprana lo cual se verá reflejado en un incremento de los años de vida reproductiva de cada ejemplar.

Los hallazgos encontrados en el análisis demográfico han permitido realizar las futuras proyecciones a nivel tanto genético como reproductivo para la población cautiva. Estableciendo metas reproductivas concretas y realizando simulaciones computacionales de apareamientos y cruces controlados para estimar el mantenimiento del 90% de la variabilidad genética de la población por un periodo de 100 años.

Sin embargo, para llevar a cabo la implementación de este proceso de una manera exitosa es necesario realizar una caracterización genética de los animales utilizando ADN en pruebas de identificación empleando micro-satélites. De esta forma se podrá conocer la estructura genética poblacional y construir un pedigrí completo y se optimizarán los resultados encontrados en este estudio.

Así mismo es necesario programar los apareamientos con un conocimiento previo de la fisiología reproductiva de la especie, lo cual hace necesario llevar a cabo investigaciones enfocadas a caracterizar el ciclo estral del jaguar en condiciones tropicales por medio de análisis endocrinológicos y también investigaciones enfocadas al análisis de gametos tanto de machos como de hembras. De esta manera, articulando los análisis genéticos de la población cautiva con las herramientas de biotecnología reproductiva podemos garantizar que actualmente se están realizando avances en el desarrollo de la conservación ex situ de los félidos silvestres en Colombia.

2.6 Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios ACOPAZOA, Fundación Zoológico Santacruz, International Species Information System (ISIS), Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, (IVIC), National Zoological Park Smithsonian Institution.

Bibliografía

1. Albers B.M. 2005. Demography and breeding programs. National Foundation for Research in Zoological Gardensc/o Amsterdam Zoo.
2. Ballou JD, Foose TJ. 1996. Demographic and genetic management of captive populations. Wild Mammals in captivity principles and techniques, Ed DG Kleinman, M. Allen, K Thompson, and S Lumpkin. Chicago. University of Chicago Press 263-283
3. Caughley, G. 1977. *Analysis of vertebrate populations.* New York:John Wiley and Sons.
4. CITES [Convention on International Trade of Endangered Species of Wild Fauna and Flora]. 2011. Appendices I, II and III. CITES official website (www.cites.org)
5. maintained by the CITES Secretariat.
6. Dittrich, L. 1979. Die vererbung des melanismus beim Jaguar (*Panthera onca*). Zool . Gaarten. 49, 417-428.
7. Drury H., Hill S. SaccheriIJ. 2005 Investigation into inbreeding en European Zoo Population of jaguars (*Panthera onca*). Zoo Research News. Vol 6 no 4.
8. Eizirik E, Yuhki N, Johnson WE, Menotti-Raymond M, Hannah SS, O'Brien SJ. 2003. Molecular genetics and evolution of melanism in the cat family. Curr Biol 13: 448-453
9. Eizirik., O´Brien S.J. 2003. Evolution of Melanism in the felidae. CAT NEWS No 38. Pag 37-39.
10. Hardy GH. 1908. Mendelian proportions in a mixed population. Science 28:49-50
11. Henkel JR, Jones KL, Hereford SG, Savoie ML, Leibo SP, Howard JJ. 2011. Integrating microsatellite and pedigree analyses to facilitate the captive management of the endangered Mississippi sandhill crane (Grus canadensis pulla). Zoo Biol.
12. Hedrick, P. W. 1983. *Genetics of populations.* Boston: Science Books International.
13. IUCN [International Union for Conservation of Nature and Natural Resources]. 2011 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland, Switzerland. IUCN official website (www.redlist.org)
14. ISIS, 2005. User manual for SPARKS single population analysis and records keeping system.
15. Lacy, R.C., and J.D. Ballou. 2002. Population Management 2000 User“s Manual. Chicago Zoological Society, Brookfield, IL
16. Lockyear KM, Waddell WT, Goodrowe KL, MacDonald SE. 2009. Retrospective investigation of captive red wolf reproductive success in relation to age and inbreeding. Zoo Biol 28: 214-229.
17. Mucha S, Wolc A, Gradowska A, Szwaczkowski T. 2011. Inbreeding rate and genetic structure of cat populations in Poland. J Appl Genet 52: 101-110.
18. Pollak, J.P, R C. Lacy and J. D. Ballou. 2005. Population Management 2000, version 1.213. Chicago Zoological Society, Brookfield, IL.
19. Wilcken J. Lees C. 2005. Managing zoo populations, compiling and analyzing studbook data. ARAZPA
20. Tilson R. 1996. Felinos. Ed Seidensticker J, Lumpkin S. Felinos. Plaza & Janes, Barcelona,

3. Capítulo 3

Caracterización genética de jaguares (*Panthera onca*) en cautiverio en parques zoológicos de Colombia

Resumen

Se realizó un análisis genético de la población de jaguares (*Panthera onca*) cautivos en parques zoológicos de Colombia mediante el análisis tanto de registros del Studbook Regional para Jaguares como de muestras de ADN obtenidas de 20 animales vivos (n=20), con el cual se construyó el pedigrí para la población empleando 9 microsatélites. Las paternidades y maternidades fueron asignadas por el programa CERVUS y las relaciones de parentesco fueron obtenidas por el programa KINSHIP. El análisis del Studbook se realizó por medio del programa PM2000 en donde se obtuvo el valor de la diversidad genética (GD) actual de la población (GD=0.7832), el valor de diversidad genética potencial (GDp=0.9113), valor génico (GV=0.7846), el valor del equivalente del genoma fundador actual (FGE=2.31) y potencial (FGEp=5.64), el valor del genoma fundador sobreviviente actual (FGS=3.14) y potencial (FGSp=5.64), el coeficiente medio de consanguinidad (F=0.0179), el número efectivo poblacional (Ne=5.26), al igual que la relación (Ne/N =0.2667) y la media de parentesco MK (Mean KINSHIP) para cada individuo. En el análisis de los microsatélites se calcularon las frecuencias alélicas por cada microsatélite y se encontró un promedio de alelos por locus de 5.67. El promedio de la heterocigocidad observada general fue de 0,687 y el de la heterocigocidad esperada 0,684. Se encontró que todos los locus se encuentran en equilibrio Hardy–Weinberg. Para esta población se encontró un exceso de heterocigotos en los locus FCA075, FCA043, FCA736, FCA220 y FCA391 y exceso de homocigotos solo para los locus FCA 441, FCA 008, FCA 224 mediante los estimados de *Fis* de Weir y Cockerham's (W&C), y Robertson y Hill's (R&H). El promedio de *Fis* para la población fue (*Fis* W&C= -0,0157) y (*Fis* R&H=-0,0109) indicando que la población se encuentra en exogamia. No se encontraron diferencias significativas para la prueba de desequilibrio por ligamiento. Los análisis de verosimilitud obtenidos en CERVUS resultaron con asignaciones de la maternidad y de paternidad. Los asignamientos se realizaron según el logaritmo natural de la tasa de verosimilitud (LOD). Se obtuvieron las probabilidades de relación y parentesco asignadas por KINSHIP de las simulaciones y se encontraron relaciones significativas ($p<0.05$) en 6 parejas de jaguares, relaciones altamente significativas ($p<0.01$) para 3 parejas y relaciones muy altamente significativas ($p<0.001$) para 11 parejas. Con este estudio se logró establecer la relación entre individuos y se logró construir el pedigrí de la población de jaguares cautivos en parques zoológicos de Colombia como base fundamental para el establecimiento de un plan de conservación ex situ para el Jaguar en parques zoológicos de Colombia.

PALABRAS CLAVES: Jaguar, *Panthera onca*, Pedigrí, Genética de poblaciones, microsatélites, ADN, Studbook.

Abstract

A genetic analysis for the captive population of jaguars (*Panthera onca*) was done in zoological parks of Colombia based upon the Colombian Regional Studbook for Jaguars and from DNA obtained form 20 living animals (n=20) in order to establish the pedigree for the captive population using 9 microsatellites. The assignments for paternities and maternities were done with for the program CERVUS and the relationship between animals were established with the KINSHIP program. The analysis of the Studbook was done with the PM2000 program generating the following values: genetic diversity for the population (GD=0.7832), potential genetic diversity (GD=0.9113), genic value (GV=0.7846), current founder genome equivalent (FGE=2.31) and potential p(FGE=5.64), current and potential founder genome survivor (FGS=3.14; pFGS=5.64 respectively). Other values calculated were, mean coefficient of consanguinity (F=0.0179), population effective number (Ne=5.26) and the Mean KINSHIP (MK) for each individual. With the microsatellites analysis, the allelic frequencies were calculated for each locus with an average of alleles per loci of 5.67. The averages of the observed and expected heterozigocity were 0.687 and 0.684 respectively. It was found that all loci are in Hardy-Weinberg equilibrium. For this population an excess of heterozygous was found for the locus FCA075, FCA043, FCA736, FCA220 and FCA391 and an excess of homozygous for the locus FCA 441, FCA 008, FCA 224 by *Fis* of Weir and Cockerham's (W&C), and Robertson and Hill's (R&H). The average of *Fis* for the population was (*Fis* W&C = -0.0157) and (*Fis* R&H=-0.0109) indicating that the population is in exogamy. No significant differences were found for the linkage disequilibrium test. The likelihood analyses obtained in CERVUS assigned maternities and paternities. The assignments were done according to the value Pair Top LOD. The relationship probabilities were obtained by KINSHIP. Iin the simulations, a significant relationship ($p < 0.05$) were found in 6 couples of jaguars, highly significant relationships ($p < 0.01$) and very highly significant relationships ($p < 0.001$) for 11 couples. With this study the relationships between animals was established and the pedigree of the captive population of jaguars was build in order to develop an ex situ conservation plan for the species in the Colombian zoological parks.

Key words: Jaguar, *Panthera onca*, Pedigree, Genetics, Microsatellites, DNA, Studbook.

3.1 Introducción

El desconocimiento general del cambio evolutivo de las especies en tiempos históricos y de los múltiples factores que han intervenido en él, han sido la fuerza motora para el desarrollo y la creación de nuevos métodos y técnicas para resolver éstas incógnitas. Por medio de la genética se ha podido construir un mapa sobre el curso y los eventos históricos más importantes que han influido en el cambio constante y evolutivo de los seres vivos en el planeta. Debido a los cambios generados por el hombre que amenazan la supervivencia de los grandes carnívoros, la genética también presenta una visión prospectiva sobre el manejo genético-reproductivo de de las especies cautivas como reservorios genéticos importantes que podrían brindar una mayor diversidad genética a poblaciones deterioradas por el aislamiento y la endogamia.

En las últimas décadas se han llevado a cabo análisis genéticos empleando microsatélites en diferentes especies de félidos silvestres para resolver interrogantes con respecto al origen y la evolución de los miembros de la familia *Felidae*. Uno de los primeros reportes del empleo de microsatélites se hizo para determinar el tiempo en el que ocurrió la primera gran disminución poblacional del guepardo (*Acinonyx jubatus*) fue demostrado al haberse encontrado evidencias de un efecto de “cuello de botella” en la poblaciòn hace 10.000 años aproximadamente (Menotti-Raymond M. and O'Brien 1993). Posteriormente fueron empleados por el mismo grupo de investigadores para determinar el nivel de diversidad genética de cuatro especies de félidos: el gato doméstico (*Felis catus*), el guepardo (*Acinonyx jubatus*), el puma (*Puma concolor*) y el león africano (*Panthera leo*) (Menotti-Raymond M. A. and O'Brien 1995). En 2001 se condujo un estudio en pumas, el cual logró demostrar la presencia de homoplasia (fragmentos que tienen el mismo tamaño pero no la misma secuencia de bases) en 10 microsatélites en el puma (*Puma concolor*) (Culver et al. 2001). Los microsatélites también se han empleado para detectar diferencias entre subespecies de las panteras nebulosas (*Neofelis nebulosa nebulosa*) presentes en Tailandia y las panteras nebulosas (*Neofelis nebulosa diardi*) encontradas en la isla de Borneo (Buckley-Beason et al. 2006). Así, los microsatélites se han convertido también en una herramienta fundamental para diferenciar las subespecies de tigres (*Panthera tigris*) cautivos a nivel mundial que puedan ser empleados eventualmente como importantes reservorios genéticos (Luo et al. 2008).

En cuanto a los jaguares (*Panthera onca*), el primer análisis con microsatélites demostró una alta variación de tamaño en 29 locus analizados, encontrando evidencias moleculares de una reciente expansión poblacional y sugiriendo diferencias debido a la presencia de barreras geográficas como el tapón del Darién y el río Amazonas (Eizirik et al. 2001). Así mismo, la varianza del tamaño de los alelos de los microsatélites ha permitido desarrollar estimados genómicos para fenómenos ocurridos en tiempos ancestrales como los efectos fundadores presentados en pumas (*Puma concolor*) de Norte América, leones asiáticos (*Panthera leo persicus*) y los guepardos (*Acinonyx jubatus*) (Driscoll et al. 2002).

Los primeros reportes sobre la filo-geografía y la historia natural del jaguar fueron realizados con análisis de microsatélites y de ADN Mitocondrial por Eizirick (2001)

En el año 2003 se reporta el análisis molecular del jaguar (*Panthera onca*) en Colombia empleando microsatélites en el cual se encontró una gran variabilidad alélica en los microsatélites analizados y se sugiere el empleo de éstos para caracterizar ejemplares de diferentes orígenes y así determinar posibles cruzamientos de ejemplares cautivos que representan los mismos acervos genéticos (Ruiz-García et al. 2003). En un estudio posterior reportó una alta diversidad genética y muy bajas diferencias entre las subespecies presentes en Colombia, compuestas principalmente por jaguares centro americanos (*Panthera onca centralis*) y los jaguares amazónicos (*Panthera onca onca*) (Ruiz-Garcia et al. 2006).

En Colombia se desconoce la estructura genética de los jaguares cautivos en parques zoológicos de Colombia así como tampoco se conoce su pedigrí, su importancia como posibles reservorios genéticos y su posible participación en un plan de conservación *ex situ* que considere la viabilidad y vitalidad de la población tanto a nivel genético como reproductivo. Realizando un análisis genético retrospectivo a partir de registros del Studbook regional de jaguares (*Panthera onca*) para Colombia y conociendo las características genéticas actuales de la población cautiva se pueden establecer futuras proyecciones sostenibles a nivel reproductivo para la población cautiva. Así mismo, construyendo el pedigrí de la población mediante la identificación de individuos empleando microsatélites como marcadores moleculares se podrá determinar la estructura genética poblacional, se podrán llenar los vacíos de información y se podrán incluir los ejemplares que tengan un alto potencial genético y reproductivo en un plan de conservación que contribuya a la conservación *ex situ* en los parques zoológicos de Colombia como reservorio genético y así mismo que contribuya a la conservación *in situ* de la especie en su hábitat natural.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 Análisis genético a partir de registros

Se analizaron los registros de jaguares cautivos con la información recopilada en el Studbook Regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia por medio del programa Single Population Analysis and Record Keeping System (SPARKS 1.5) desarrollado por el International Species Information System (ISIS). Posteriormente con el fin de llevar a cabo el análisis genético a partir de registros, la información fue exportada y analizada en el programa Population Managment 2000 (PM 2000) (Pollak et al. 2005).

Se calcularon las estadísticas individuales de los jaguares fundadores de la población y de sus descendientes. Se cálculo la **retención alélica**, la cual se define como la probabilidad de que un gen proveniente de un animal fundador se encuentre en la población actual existente. Se obtuvo el **valor de la diversidad génica (GD)** actual de la población que corresponde a la heterocigocidad esperada y que se define como la varianza de las frecuencias alélicas en un locus determinado y es igual a la heterocigocidad esperada en una población en equilibrio Hardy-Weinberg con unión de gametos al azar (Wright, 1969; Nei, 1973; Willis et al. 1993). Se calculó para la población, el **coeficiente medio de**

consanguinidad F (Wright, 1922) en el curso del tiempo, siendo éste, el descenso de la heterocigocidad observada relativa a la heterocigocidad esperada de la población fundadora. También se obtuvo el **valor génico (GV)** que corresponde a la heterocigosis que se esperaría en la siguiente generación si todos los animales se reproducen y tienen una progenie igual a los valores esperados, basándose en la **tasa de fecundidad (Mx)**, **tasa de mortalidad (Px)** y **valor reproductivo (Vx)** (Pollak et al, 2005).
Se obtuvo el valor del **equivalente del genoma fundador actual y potencial**, el cual se define como el número de fundadores igualmente representados en la población sin la pérdida aleatoria de alelos en la descendencia que se esperaría para producir la misma diversidad genética en la población en estudio. Así mismo se obtuvo el valor del **equivalente del genoma fundador sobreviviente actual y potencial**, el cual se define como la suma de las retenciones alélicas de los individuos fundadores (Lacy, 1989).

Se calcularon las estadísticas individuales de los jaguares cautivos con pedigrí conocido y la **media de parentesco (MK** en inglés Mean KINSHIP), que se define como el promedio de los coeficientes de relación que existe entre un individuo (incluyéndose así mismo) y la población viva de animales nacidos en cautiverio. La media de parentesco es igual a la pérdida proporcional de la diversidad génica de la descendencia nacida en cautiverio relativa a los fundadores. También se calculó: el **valor de parentesco (KV** en inglés KINSHIP Value), el cual predice la pérdida de diversidad del gen esperado en la generación subsecuente si todos los animales se reproducen al azar y todos produjeran los números de descendencia esperados para cada clase de edad; la **Singularidad Genómica Total** (GU–All en inglés Genome Uniqueness), que es la probabilidad de tomar un alelo al azar de un individuo que no está presente y que este alelo sea idéntico por descendencia en otro individuo vivo en la población; **Singularidad Genómica Descendientes** (Singularidad Genómica relativa a la población de los descendientes de animales no fundadores); **Probabilidad de Pérdida de la Singularidad Genómica**, **Equivalente de Parientes de primer Orden (FOKE,** First Order Kin Equivalent), el cual es el número de parientes de primer orden (hermanos, hijos) que deberían contener el número de copias de los alelos de los individuos (idénticos por descendencia) que están presentes en la población nacida en cautiverio. Por ejemplo: Un hijo o un hermano contribuyen 1 al FOKE; cada nieto contribuye 1/2 al FOKE; cada primo contribuye 1/4 al FOKE. Siendo el FOKE = 4*N*MK. También se calculó el tamaño de la población efectiva o **número efectivo poblacional (Ne)** basándose en la historia de la población, el **número poblacional actual (N)** denota el número de animales vivos en la población, incluyendo tanto machos como hembras (Pollak et al, 2005).

3.2.2 Análisis genético con microsatélites

ANIMALES

Con el fin de construir el pedigrí de la población se obtuvieron muestras de sangre de jaguares cautivos (n=15) bajo anestesia general en tres parques zoológicos: Fundación Zoológico Santacruz (n=8) ubicado en el municipio de San Antonio del Tequendama en el departamento de Cundinamarca con coordenadas Latitud 6°13'23.93"N Longitud 75°34'48.81"W, Zoológico Matecaña (n=6) ubicado en la ciudad de Pereira en el departamento de Risaralda con coordenadas Latitud 4°49'0.30"N Longitud 75°44'15.04"W, Parque Recreativo y Zoológico Piscilago (n=1) ubicado en el municipio de Nilo en el departamento de Cundinamarca con coordenadas 11° 0'39.84"N Longitud 74°47'53.69"W;

también se obtuvieron folículos pilosos de los jaguares presentes en la Fundación Zoológico Santafé (n=5) ubicado en la ciudad de Medellín, en el departamento de Antioquia con coordenadas Latitud 6°13'23.93"N Longitud 75°34'48.81"W. Así mismo para la construcción del pedigrí también se incluyó la información recopilada en el Studbook Regional de Jaguares para Colombia de los animales que no fueron muestreados presentes en el Zoológico Piscilago (n=2) el Zoológico de Barranquilla (n=3), Bioparque los Ocarros (n=2), Fundación Zoológico de Cali (n=2) y Fundación Zoológico Parque Jaime Duque (n=3).

ANESTESIA

Después de un periodo de ayuno de 24 horas se realizó un protocolo anestésico con el uso de la combinación Xilacina – Ketamina. La xilacina, sedante agonista alfa 2 adrenérgico se administró en una inyección inicial. Después de 5 minutos de su aplicación y una vez se observaron signos de sedación, se aplicó una segunda inyección con un anestésico fijo disociativo derivado de las ciclohexylaminas (Ketamina). La administración de los fármacos se realizó usando dispositivos de inyección de fármacos a distancia (DIDD). El sitio del impacto del dardo se localizó en las masas musculares de los miembros posteriores y anteriores, siendo preferidos los primeros, buscando que el dardo o la inyección fueran aplicados en la porción más caudal de la masa muscular y evitando un posible impacto en el hueso femoral o el nervio ciático. Las dosis de fármacos administrados fueron calculadas, teniendo en cuenta los reportes de peso consignados en las historias clínicas y las dosis reportadas para jaguares por Jiménez-González et al. (2003).

TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena femoral o de la vena safena, previa desinfección del área con alcohol. Las muestras fueron colectadas en viales con EDTA (10 ml) y fueron mantenidas a 4ºC, hasta su llegada al laboratorio.

PRIMERS

Los primers seleccionados fueron diseñados para gatos domésticos (Menotti-Raymond M. A. and O'Brien 1995) (Tabla 1). Los criterios para la selección de los microsatélites se basaron en que todos los microsatélites deberían estar en cromosomas diferentes y que estuviera reportado su empleo en Jaguares (Eizirik et al. 2001, Ruiz-Garcia et al. 2006). Los microsatélites seleccionados fueron fluoromarcados con fluorocromos que no se sobrelaparan entre sí dependiendo del microsatélite seleccionado. Sólo se fluoromarcó la secuencia Forward del primer.

Tabla 1. Panel de 9 Microsatélites fluoromarcados

Nombre	Forward	Reverse	Fluorocromo	Temperatura de anillamiento	Peso molecular NCBI
FCA075	ATGCTAATCAGTGGCATTTGG	GAACAAAAATTCCAGACGTGC	PET	57.0	104-146
FCA043	AGACGGGATTGCATGAAAAG	GAGCCACCCTAGCACATATACC	6-FAM	57.0	106-128
FCA441	ATCGGTAGGTAGGTAGATATAG	GCTTGCTTCAAAATTTTCAC	VIC	58.0	113–137
FCA008	ACTGTAAATTTCTGAGCTGGCC	TGACAGACTGTTCTGGGTATGG	NED	57.0	114-148
FCA224	CTGGGTGCTGACAGCATAGA	TGCCAGAGTTGTATGAAAGGG	6-FAM	57.0	148-180
FCA096	CACGCCAAACTCTATGCTGA	CAATGTGCCGTCCAAGAAC	NED	58.0	180–220
FCA736	TCAATGTCTTGACAACGCATAA	AGGATTGCATGACCAGGAAC	6-FAM	53.0	196-280
FCA220	CGATGGAAATTGTATCCATGG	GAATGAAGGCAGTCACAAACTG	VIC	57.0	210-224
FCA391	GCCTTCTAACTTCCTTGCAGA	TTTAGGTAGCCCATTTTCATCA	NED	57.0	222-238

EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN

La extracción del ADN se realizó a partir de los leucocitos aislados de las muestras de sangre mediante la técnica de Salting out (Apendice 1). La concentración de ADN se cuantificó por medio de espectrofotometría a 260 nm. En cuanto a la temperatura para cada microsatélite se calculó por medio de la fórmula de termodinámica y se obtuvo que la temperatura media de anillado necesaria para realizar el apareamiento de bases era de 55.5°C. En cuanto a las muestras de pelo se empleo el kit de extracción Dneasy Blood and tissue de QIAGEN, en el cual se siguieron los pasos del instructivo.

PCR

Las reacciones de PCR para todos los marcadores fueron llevadas a un volumen total de 20 µL. Estas consistieron en 1.5 mM de $MgCl_2$, 1.25mM para cada uno de los dNTPs (dATP, dGTP, dCTP y dTTP) más 0.4 unidades de ADN polimerasa Tth (*Thermus thermophilus*) y 10 pmol de cada primer (Alfaro et al.), 0.5 mg/ml de BSA así como 4µl de ADN genómico (10 ng). Las muestras fueron amplificadas bajo las siguientes condiciones: denaturación inicial a 95ºC por 5 min; 35 ciclos de denaturación a 95ºC por 1 minuto; temperatura de anillamiento correspondiente a cada marcador (Tabla1) por 2 min; extensión a 72 ºC por 2 min y posteriormente 1 ciclo de extensión final a 72 ºC por 5 min usando un termociclador PCR Multigene Gradient (Labnet, International).

AGAROSA

Después de realizadas los procedimientos de PCR, los productos de amplificación fueron evaluados en geles de agarosa al 1.5 % teñidos con SYRB-GREEN (Invitrogen, USA). Una vez se verificó la amplificación de los productos por visualización directa fueron llevados a electroforesis en capilar.

ELECTROFORESIS EN CAPILAR

La electroforesis en capilar fue realizada en ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer. Los resultados de la electroforesis en capilar y el nombramiento de los alelos se determinaron por visualización directa de los cromatogramas en el programa Softgenetics Gene Marker Version 1.97. Todas las muestras fueron amplificadas y genotipificadas al menos 2 veces para minimizar problemas de no asignación (Drop out).

3.3 Análisis Estadístico

Para el análisis de la información obtenida se empleó el programa *Genepop on the web* (Raymond et al. 1995; Rousett F. 2008). Se realizó el cálculo de las frecuencias alélicas para cada microsatélite, heterocigocidad esperada y observada, la estima de equilibrio Hardy-Weinberg, desequilibrio de ligamiento, determinación de consanguinidad mediante el cálculo de *Fis*. Para la asignación de paternidad y maternidad y para la construcción del pedigrí de la población, se empleó el programa CERVUS versión 3.0.3 y KINSHIP 1.2. Para la construcción final del pedigrí se tuvieron en cuenta las siguientes variables: información obtenida del Studbook (sexo, fecha de nacimiento, conocimiento previo de padres y madres), valores de Logaritmo natural de las relaciones de verosimilitud (LOD) asignado por CERVUS con intervalos de confianza flexibles al 80% y estrictos al 95%.

Así mismo se consideraron las probabilidades de relación y parentesco asignadas por KINSHIP para H_1 Rp=0.5 y Rm=0.5 vs H_0 Rp=0 y Rm=0 (α=0.05, 0.01 y 0.001) donde Kinship es usado para probar hipótesis de relaciones de pedigrí entre individuos empleando datos de análisis de marcadores genéticos. Después de especificar la hipótesis de relación usando dos variables Rp y Rm y de especificar los diferentes niveles de significancia p=0.05, 0.01 y 0.001. Las variables definen las probabilidades de que una pareja comparta un alelo por descendencia directa proveniente de su padre o de su madre respectivamente. Por ejemplo, si la relación hipotética de dos hermanos completos, ambos valores r serían de 0.5. Después de dada la hipótesis, Kinship usa los valores r, las frecuencias alélicas y los genotipos de dos individuos bajo consideración para calcular la verosimilitud de que esa combinación de genotipos podría haber sido producida como fue especificada (Goodnight, 2004).

3.4 Resultados

3.4.1 Análisis genético a partir de registros del Studbook regional de jaguares para Colombia

ESTADISTICAS POBLACIONALES E INDIVIDUALES

Se calcularon las estadísticas poblacionales que determinan las características genéticas de la población de jaguares cautivos en Colombia. Por medio del análisis genético a partir de registros, realizado con el programa PM2000, se encontró que se conoce el origen del 28.9 % de la población desde el año de 1968, y que han habido 5 animales fundadores (T1, T2, T5, T6, T27) para la población; así mismo se encontraron tres posibles fundadores potenciales (n=3) (debido a que estos animales aún no se han reproducido), los individuos T32 y T33 presentes en el zoológico de Barranquilla, y el T20 en el parque zoológico de Piscilago. Estos animales fundadores, provenientes de la vida silvestre, fueron capturados o decomisados y representarían la genética más cercana a la que se encontraría en la población de jaguares en libertad. De esta forma se obtuvieron las estadísticas individuales de los jaguares fundadores de la población donde se presenta el número en el studbook, sexo, edad, representación (proporción de genes en la población descendiente viva derivada de ese fundador), contribución (número de copias del genoma del fundador que están presentes en los descendientes vivos, cada nueva generación de hijos contribuye 0.5, cada generación de nietos 0.25, etc.), retención alélica (la probabilidad de que un gen presente en un individuo fundador exista en los animales descendientes vivos), retención potencial y descendientes. Los jaguares T1 y T2 son los animales más antiguos de los que se tiene información, formaron parte de la colección del zoológico Santafé y sus restos son conservados en el museo de historia natural de la universidad de Antioquia; su representación genética en la población es del 8.9% y han contribuido con 2 descendientes. Los jaguares T5 y T6 son animales que permanecieron en la fundación zoológico Santacruz hasta su muerte, su representación genética en la población es del 28% y 46% y han contribuido con 4 y 6 descendientes respectivamente. El jaguar T27 ubicado en el parque Jaime Duque tiene una representación genética en la población del 7 % y ha contribuido con un descendiente en la población. (Tabla 2) (Figura 1).

Tabla 2. Estadísticas generales de los fundadores de la población.

Studbook #	*"Sexo"*	*Edad*	*"Representación"*	*"Contribución"*	*"Retención alélica."*	*"Retención potencial."*	*"Descendientes"*
T1	M	D	0.08930	0.62500	0.36950	0.36950	2,000
T2	F	D	0.08930	0.62500	0.37800	0.37800	2,000
T5	M	D	0.28570	200.000	0.91150	0.91150	4,000
T6	F	D	0.46430	325.000	0.98050	0.98050	6,000
T20	M	12	0.00000	0.00000	0.00000	100.000	0,000
T27	M	17	0.07140	0.50000	0.50000	100.000	1,000
T32	M	18	0.00000	0.00000	0.00000	100.000	0,000
T33	F	19	0.00000	0.00000	0.00000	100.000	0,000

Se encontró que 5 animales fundadores han producido descendencia (Figura 1) siendo el jaguar T6 el que presentó el mayor número de descendientes (n=7) seguido por el T5

(n=5). Así, la contribución genética de éstos fundadores, considerada como el porcentaje de genes de un individuo o población que han descendido de cada fundador y basándose en la ley de segregación de Mendel, oscila entre el 0,5 y el 3,5 % (Figura 2).

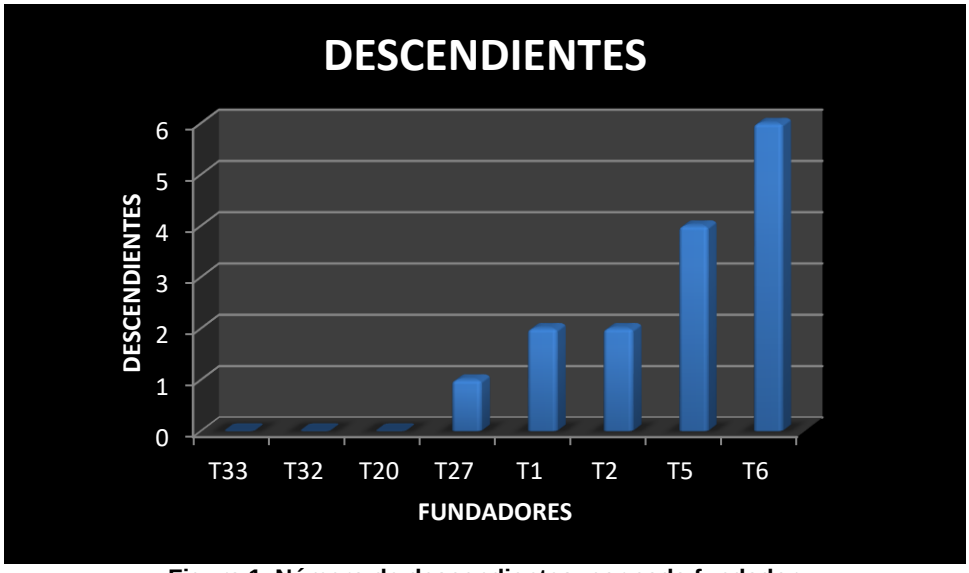


Figura 1. Número de descendientes por cada fundador

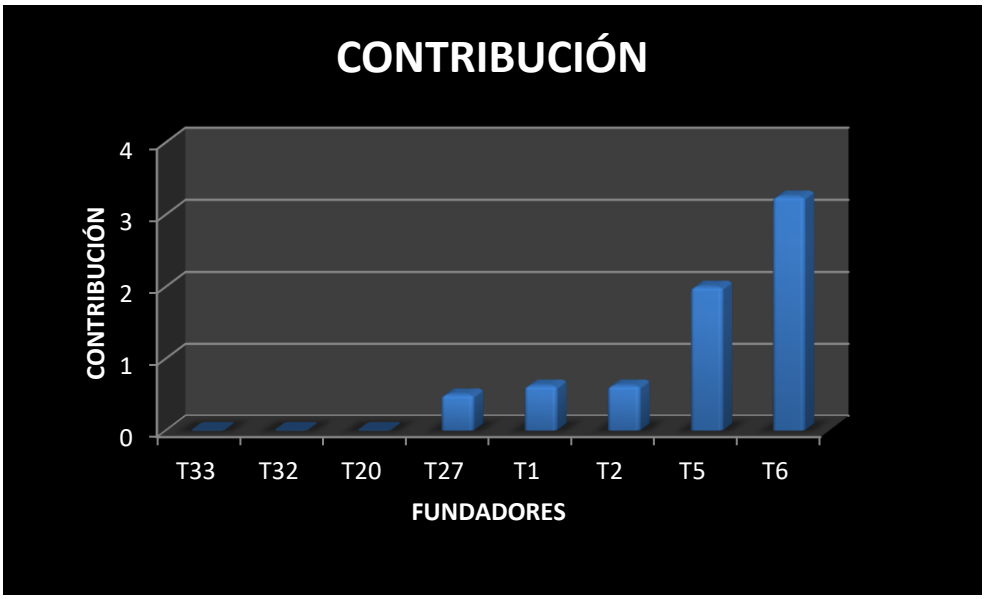


Figura 2. Contribución genética de los fundadores a la población.

Se calculó la retención alélica, actual y la potencial. En el caso de la retención alélica actual se puede observar que ésta depende principalmente de si los fundadores han producido descendencia y si ha habido contribución genética por parte de éstos (Figura 3). En el caso de la retención alélica potencial, se puede observar la capacidad de retención alélica de la población de los genes provenientes de los animales que aún no se han reproducido en la población (T33, T32, T20). También se puede observar que los individuos T1 y T2 aunque

han contribuido a la retención alélica no contribuyen a la retención alélica potencial, debido a que éstos ya han muerto (Figura 4).

Figura 3. Retención alélica de los fundadores en la población.

Figura 4. Retención alélica potencial de los fundadores en la población.

Se obtuvo el valor de la diversidad génica (GD) actual de la población (GD=0.7832). Así mismo se calculó el valor de diversidad génica potencial (GDp=0.9113), el cual se determina al realizar el control de la producción de las crías en la población y si se controla qué genes se transmiten a la descendencia con programas de manejo reproductivo a futuro. De esta manera se pudo determinar las variaciones de la diversidad genética en el curso del tiempo en el cual se puede apreciar que entre el año de 1995 y 1996 la diversidad genética de la población se incrementó de un 50 a un 75% debido al nacimiento y eventos reproductivos ocurridos en ésta época; también se aprecia un ligero incremento entre los años de 1999 y 2002 (Figura 5).

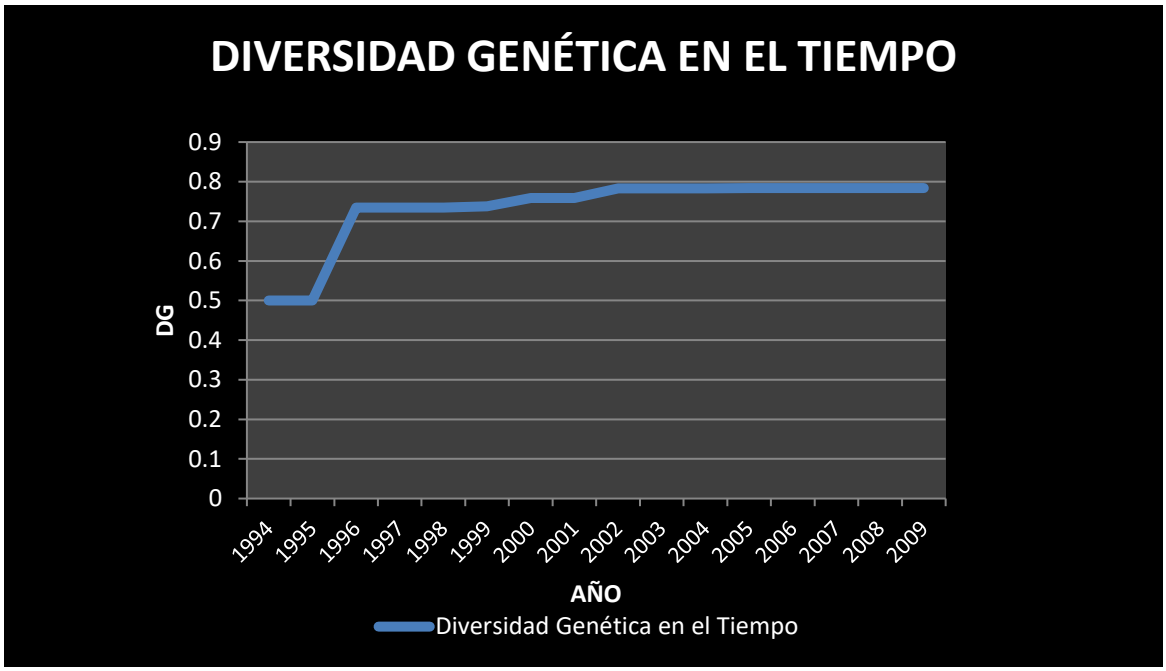


Figura 5. Diversidad genética de jaguares cautivos en el tiempo.

Se obtuvo un valor génico (GV) de 0.7846 así como también se obtuvo el valor del equivalente del genoma fundador actual (FGE=2.31) y potencial (FGEp=5.64). Así mismo se obtuvo el valor del equivalente del genoma fundador sobreviviente actual (FGS=3.14) y potencial (FGSp=5.64). En la gráfica se puede observar un incremento del FGE entre los años de 1995 y 2002 (Figura 6).

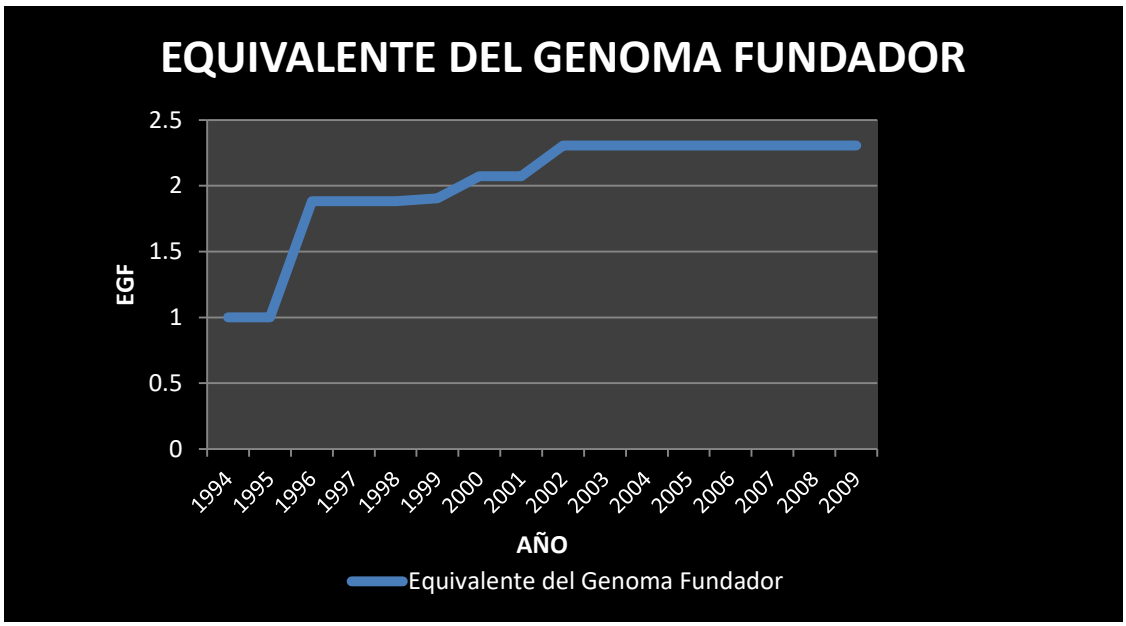


Figura 6. Equivalente del genoma fundador de jaguares en el curso del tiempo.

Se calculó para la población, el coeficiente medio de consanguinidad F (Wright, 1922) en el curso del tiempo encontrándose en promedio un F=0.0179, siendo éste el descenso de la heterocigocidad observada relativa a la heterocigocidad esperada de la población fundadora. Se encontró que el coeficiente de consanguinidad fue diferente de 0 a partir del año de 1998 (Figura 7).

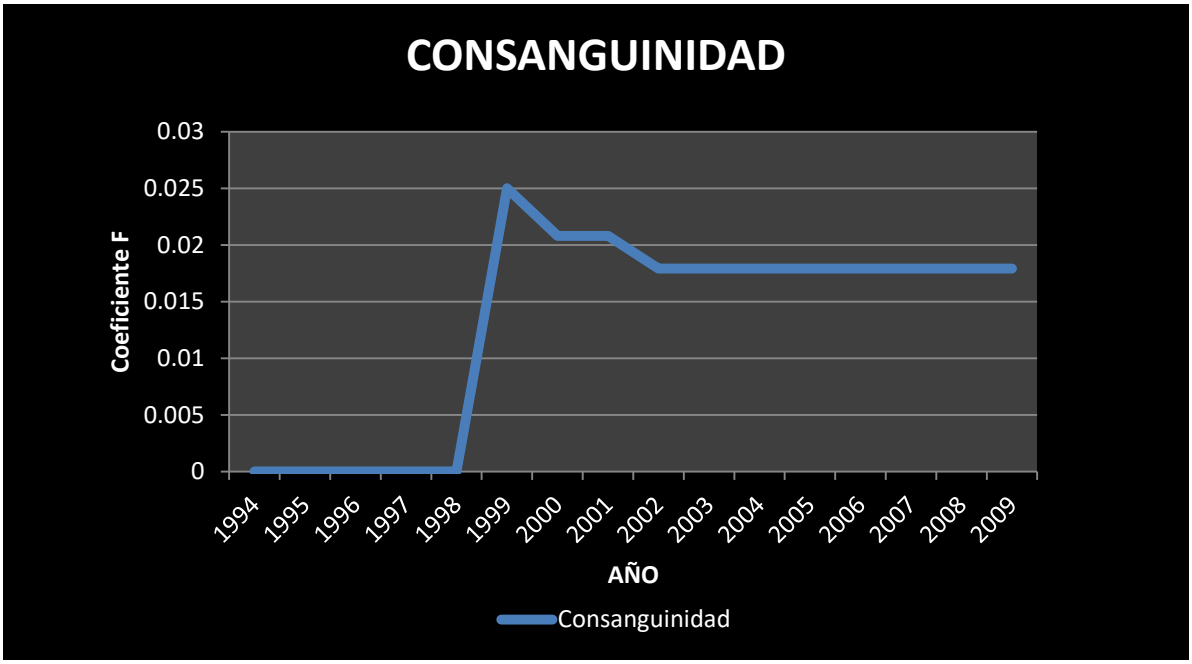


Figura 7. Consanguinidad de jaguares en el curso del tiempo.

También se calculó el tamaño de la población efectiva o número efectivo poblacional (Ne) basándose en la historia de la población, el número poblacional actual (N) denota el número de animales vivos en la población, incluyendo tanto machos como hembras. El uso primario del Ne predice los cambios genéticos futuros y su primera estimación está basada en la cantidad de diversidad de genes perdidos a través de las generaciones de cría en cautiverio. La segunda estimación del Ne simplemente está basada en el número de machos vivientes y las hembras vivientes que han producido la descendencia actual. La proporción de Ne y N se emplea en la fase de direccionamiento de la población, estimando el tamaño de la población que se necesitará para lograr las metas genéticas (Pollak et al. 2005) Considerando lo anterior en el análisis se encontró para la primera estimación que: Ne=5.26 sobre las pasadas 1.39 generaciones y para la segunda estimación que: Ne=2.667 a partir de 1.0 macho por cada 2.0 hembras reproductoras; al igual que la relación Ne/N =0.2667. La tabla 3 muestra las estadísticas individuales de los jaguares cautivos con pedigrí conocido; se incluyeron las siguientes variables: número de studbook, sexo, padre, madre, edad, ubicación, Valor reproductivo (Vx), porcentaje conocido del pedigrí, coeficiente de consanguinidad F, Media de parentesco (MK), el valor de parentesco (KV en inglés KINSHIP Value), singularidad Genómica Total (GU–All en inglés Genome Uniqueness), singularidad genómica descendiente, probabilidad de pérdida de la singularidad genómica, equivalente de parientes de primer orden (FOKE , En inglés First Order Kin Equivalent). El valor promedio de MK fue 0,217 (Figura 8).

Tabla 3. Estadísticas Individuales de la población viva de jaguares (*Panthera onca*) en cautiverio con pedigrí conocido.

Studbook #	*Sexo*	*Padre*	*Madre*	*Edad*	*Ubicación*	*Vx*	*% de Pedigrí*	*F*	*MK*	*KV*	*GU – All*	*GU – Descendiente*	*Prob Perdida*	*FOKE*
T33	H	SILVESTRE	SILVESTRE	19	BARRANQULLA	0.81	100	0	0	0	1.00	-1	0.324	0
T32	M	SILVESTRE	SILVESTRE	18	BARRANQULLA	0.79	100	0	0	0	1.00	-1	0.336	0
T27	M	SILVESTRE	SILVESTRE	17	JAIME DUQUE	0.8	100	0	0.035	0.038	0.50	-1	0.215	1
T7	M	T5	T6	14	SANTACRUZ	0.83	100	0	0.223	0.219	0.11	0.109	0.077	6.25
T8	H	T5	T6	13	SANTACRUZ	0.71	100	0	0.223	0.214	0.11	0.111	0.087	6.25
T9	H	T5	T6	13	JAIME DUQUE	0.71	100	0	0.241	0.233	0.07	0.066	0.065	6.75
T12	H	T3	T6	12	PISCILAGO	0.85	100	0	0.214	0.219	0.14	0.136	0.079	6
T13	H	T11	T12	10	PISCILAGO	0.87	100	0.125	0.245	0.248	0.03	0.034	0.047	6.88
T10	H	T3	T6	9	SANTACRUZ	0.88	100	0	0.196	0.201	0.27	0.268	0.109	5.5
T28	M	T27	T9	6	JAIME DUQUE	0.87	100	0	0.174	0.174	0.00	0.5	0.064	4.88

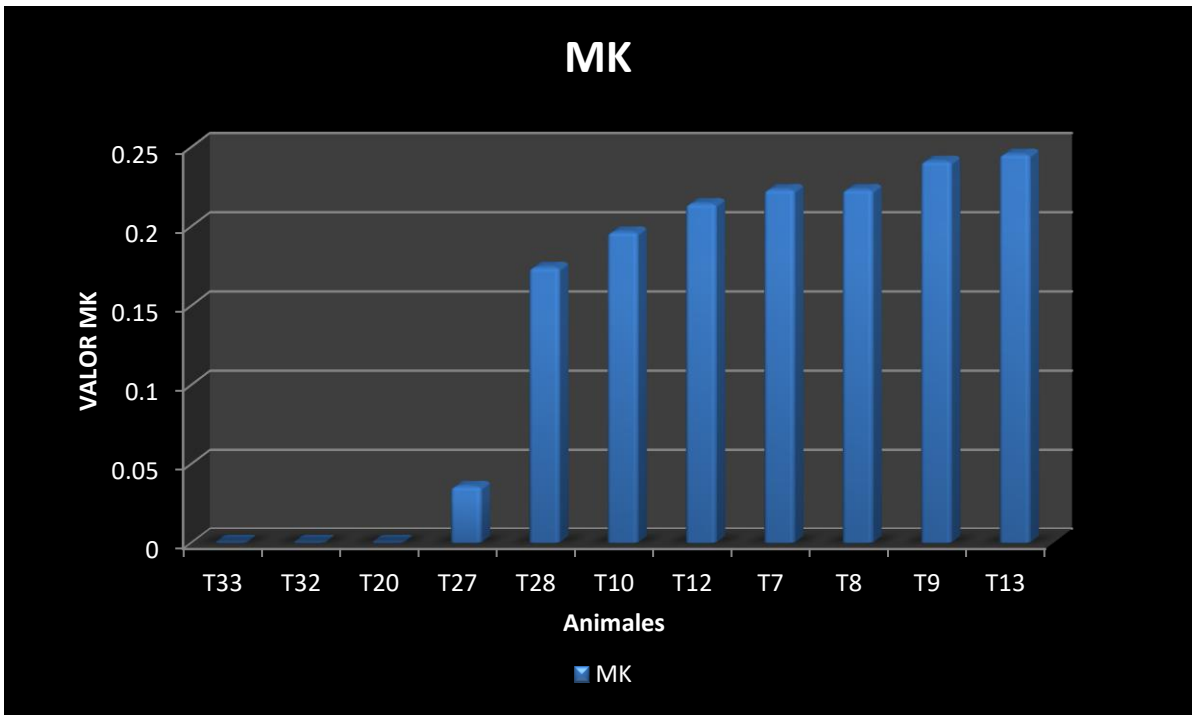


Figura 8. Media de parentesco (MK) para la población viva de jaguares cautivos.

3.4.2 Análisis genético con microsatélites

Genotipos

Se establecieron los genotipos de los jaguares muestreados a partir del análisis de los cromatogramas obtenidos después de la electroforesis en capilar (Apéndice 2). Los genotipos obtenidos de cada animal se presentan organizados por microsatélite con dos alelos por cada animal (Tabla 4). Se encontró que hubo amplificación de los fragmentos de ADN por medio de la PCR con las condiciones establecidas. Sin embargo, algunos de los microsatélites no resultaron en amplificación quedando algunos genotipos incompletos; los alelos no encontrados fueron considerados como datos perdidos y fueron denotados 0. Se pudo determinar que el microsatélite que amplificó en menos individuos fue el FCA008 presentando el mayor índice de presentación de alelos nulos (+0.16) (Tabla 5).

Tabla 4. Genotipos de jaguares (*Panthera onca*) cautivos (n=20) con 9 microsatélites FCA. D= Dinucleótido, T= Tetranucleótido

	FCA075		FCA043		FCA441		FCA008		FCA224		FCA096		FCA736		FCA220		FCA391	
	D		D		T		D		D		D		T		D		T	
Código	104-146		106-128		113–137		114-148		148-180		180–220		196-280		210-224		222-238	
T03	114	124	112	114	134	142	0	0	0	0	189	189	0	0	210	212	0	0
T05	116	124	114	116	142	150	124	126	152	168	189	189	125	125	208	212	200	200
T06	114	124	114	114	146	146	110	110	154	162	189	191	125	125	202	206	204	212
T07	114	124	114	116	146	150	110	126	154	168	189	191	125	125	202	212	200	204
T08	114	116	114	114	142	146	110	124	152	162	189	191	125	125	206	212	200	204
T10	114	126	112	114	134	146	110	110	154	168	189	189	125	125	202	210	200	212
T15	114	114	112	114	146	150	0	0	152	168	183	189	125	125	206	212	200	208
T16	114	114	112	114	0	0	126	126	152	152	183	187	125	125	206	212	200	208
T17	114	114	112	114	138	150	126	126	152	152	187	189	125	129	206	208	208	216
T18	114	114	0	0	146	146	110	116	152	156	185	187	125	125	0	0	204	208
T19	114	120	0	0	138	146	0	0	150	152	183	187	125	125	202	202	204	208
T20	114	126	0	0	142	134	0	0	154	154	189	193	125	129	206	210	204	212
T21	114	126	112	114	146	150	0	0	152	168	189	193	125	125	208	214	200	216
T22	120	126	0	0	146	146	0	0	152	164	193	193	125	125	210	212	208	216
T23	116	124	112	112	146	146	110	122	150	150	193	193	125	125	210	212	208	220
T24	114	114	0	0	146	150	0	0	156	162	187	191	125	125	210	212	200	216
T25	114	118	112	114	134	134	0	0	152	154	187	191	125	125	206	208	204	208
T26	112	120	112	114	142	142	0	0	152	164	193	193	125	125	210	212	204	208
T39	114	116	114	116	134	138	116	134	152	166	187	189	125	125	0	0	212	216
T40	0	0	0	0	134	146	128	128	152	152	185	197	125	125	0	0	208	216

Frecuencias alélicas

Se obtuvieron las frecuencias alélicas promedio por cada locus para la población de jaguares cautivos. Para los 20 jaguares analizados y los 9 microsatélites se encontró un promedio de alelos por locus de 5.67, encontrándose el mayor número de alelos para el locus FCA 224 y el menor para el FCA 736. El promedio de la heterocigocidad observada general fue de 0,687, más elevada que el de la heterocigocidad esperada 0,684. Los locus FCA 391 y FCA 220 presentaron los valores más altos de heterocigocidad e información de contenido polimórfico (PIC) y el locus con menor heterocigocidad y PIC fuel el FCA736. En cuanto a la probabilidad de presentación de alelos nulos se encontró la probabilidad más alta para el locus FCA 008. Se obtuvieron los valores de alelos heterocigotos y homocigotos por cada locus así como la frecuencia de presentación incluyendo y excluyendo la probabilidad de presentación de alelos nulos (Tabla 5 y 6)

Tabla 5. Valores promedios de heterocigocidad observada y esperada, información de contenido polimórfico (PIC) y probabilidad de presentación de alelos nulos por locus.

Locus	k	N	HObs	HEsp	PIC	F (Nulos)
FCA075	7	19	0.737	0.694	0.648	-0.0393
FCA043	3	14	0.786	0.595	0.491	-0.1779
FCA441	5	19	0.684	0.752	0.695	+0.0391
FCA008	7	11	0.545	0.801	0.732	+0.1692
FCA224	8	19	0.737	0.782	0.737	+0.0075
FCA096	7	20	0.700	0.803	0.753	+0.0580
FCA736	2	19	0.105	0.102	0.095	-0.0178
FCA220	6	17	0.941	0.816	0.761	-0.0939
FCA391	6	19	0.947	0.815	0.762	-0.0905
Promedio	5,66	17,444	0,687	0,684	0,630	-0,016

Tabla 6. Frecuencias alélicas de heterocigotos y homocigotos por locus.

	Alelos	Número	Heterocigotos	Homocigotos	Frecuencia	Frecuencia con alelos nulos
FCA075	112	1	1	0	0,0263	0,0266
	114	20	10	5	0,5263	0,5398
	116	4	4	0	0,1053	0,1113
	118	1	1	0	0,0263	0,0266
	120	3	3	0	0,0789	0,0822
	124	5	5	0	0,1316	0,1414
	126	4	4	0	0,1053	0,1113
FCA043	112	10	8	1	0,3571	0,3856
	114	15	11	2	0,5357	0,6825
	116	3	3	0	0,1071	0,1098
FCA441	134	7	5	1	0,1842	0,1725
	138	3	3	0	0,0789	0,0822
	142	6	4	1	0,1579	0,1414
	146	16	8	4	0,4211	0,3922
	150	6	6	0	0,1579	0,1725
FCA008	110	8	4	2	0,3636	0,3143
	116	2	2	0	0,0909	0,0926
	122	1	1	0	0,0455	0,0452
	124	2	2	0	0,0909	0,0926
	126	6	2	2	0,2727	0,1958
	128	2	0	1	0,0909	0,0452
	134	1	1	0	0,0455	0,0452
FCA224	150	3	1	1	0,0789	0,0541
	152	16	10	3	0,4211	0,438
	154	6	4	1	0,1579	0,1416
	156	2	2	0	0,0526	0,0541
	162	3	3	0	0,0789	0,0823
	164	2	2	0	0,0526	0,0541
	166	1	1	0	0,0263	0,0267
	168	5	5	0	0,1316	0,1416
FCA096	183	3	3	0	0,075	0,0778
	185	2	2	0	0,05	0,0511
	187	7	7	0	0,175	0,193
	189	14	8	3	0,35	0,3278
	191	5	5	0	0,125	0,1335
	193	8	2	3	0,2	0,1335
	197	1	1	0	0,025	0,0252
FCA736	125	36	2	17	0,9474	0,9627
	129	2	2	0	0,0526	0,054
FCA220	202	5	3	1	0,1471	0,1243
	206	7	7	0	0,2059	0,2307
	208	4	4	0	0,1176	0,1243
	210	7	7	0	0,2059	0,2307
	212	10	10	0	0,2941	0,3543
	214	1	1	0	0,0294	0,0296
FCA391	200	9	7	1	0,2368	0,2368
	204	8	8	0	0,2105	0,2368
	208	10	10	0	0,2632	0,3086
	212	4	4	0	0,1053	0,1105
	216	6	6	0	0,1579	0,1713
	220	1	1	0	0,0263	0,0264

Con la información recopilada se graficaron las frecuencias alélicas por cada microsatélite donde se puede observar el tamaño en el eje X y la frecuencia alélica en el eje Y; el color de la barra indica el flouromarcaje que recibió cada microsatélite así: Rojo para PET, Azul para 6-FAM, Verde para VIC y Amarillo para NED.

Para el microsatélite Fca 075 se encontraron 7 alelos siendo el 114 el más frecuente, con un 52.6%. Para el microsatélite Fca 441 se encontraron 5 alelos siendo el 146 el más frecuente con un 42.1%, seguido por el 134 con el 18.4% y el 150 con el 15.7%. Para el microsatélite Fca 220 se encontraron 6 alelos siendo el 212 el más frecuente con un 29.4%, seguido por el 206 y 210 con el 20.6% respectivamente (Figura 9).

Para el microsatélite Fca 043 se encontraron 3 alelos siendo el 114 el más frecuente con un 53.5%, seguido por el 112 con el 35.7% y el 116 con el 10.7%. Para el microsatélite Fca 224 se encontraron 8 alelos siendo el 152 el más frecuente con un 42.1%, seguido por el 154 con el 15.7. Para el microsatélite Fca 736 se encontraron 2 alelos siendo el 125 el más frecuente con un 94.7%, seguido por el 129 con el 5.3% (Figura 10).

Para el microsatélite Fca 008 se encontraron 7 alelos siendo el 110 el más frecuente con un 36.3%, seguido por el 126 con el 27.2%. Para el microsatélite Fca 096 se encontraron 7 alelos siendo el 189 el más frecuente con un 35%, seguido por el 193 con el 20 % y el 187 con el 17.5%.Para el microsatélite Fca 391 se encontraron 6 alelos siendo el 208 el más frecuente con un 26.3%, seguido por el 200 con el 23.6% y el 204 con el 21% (Figura 11).

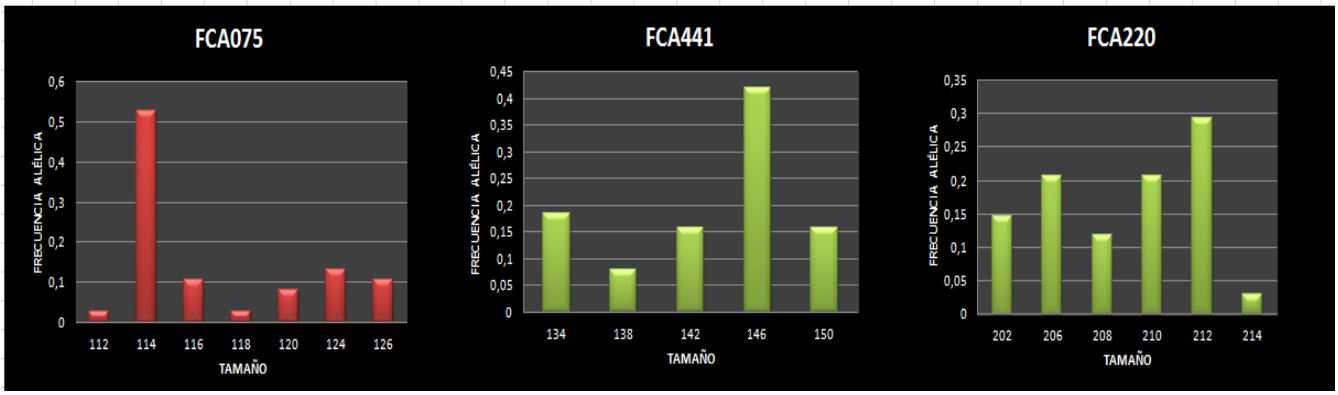


Figura 9. Frecuencias alélicas encontradas para el microsatélite Fca 075, Fca 441 y Fca 220

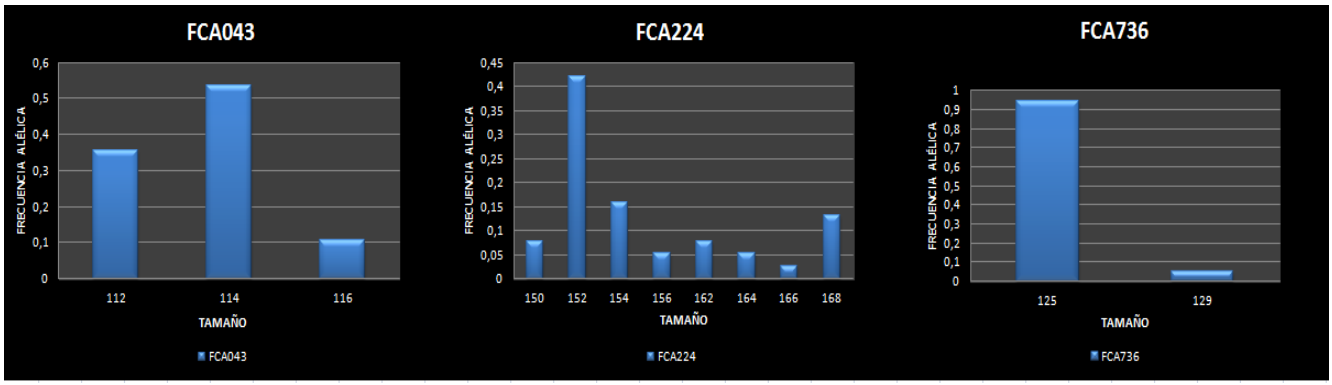


Figura 10, Frecuencias alélicas encontradas para el microsatélite Fca 043, Fca 224 y Fca 736

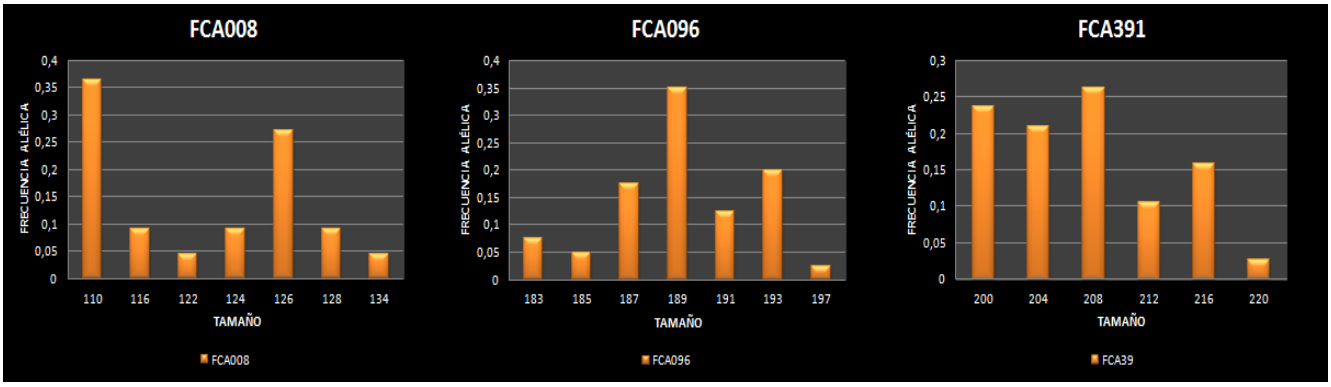


Figura 11. Frecuencias alélicas encontradas para el microsatélite Fca 008, Fca 096 y Fca 391

Equilibrio Hardy-Weinberg

El equilibrio Hardy-Weinberg es un modelo en el que se plantea que todas las poblaciones con una segregación de caracteres mendelianos AA, Aa, Aa y aa, después del paso de múltiples generaciones deberían seguir conservando las probabilidades de distribución original si la reproducción ocurre al azar y que los sexos están distribuidos entre las tres variedades de caracteres y que todos son igualmente fértiles (Hardy, 1908). Es decir que al cabo del tiempo la población se conservara en éste equilibrio y se verá reflejado en los locus analizados a menos de que ocurran desviaciones que alteren la distribución como el efecto de las subdivisiones poblacionales, endogamia, presencia de alelos nulos, selección natural a favor de la homocigicis y la deriva genética (Ruiz-García et al, 2006). En éste estudio se realizó el test de probabilidad para cada locus encontrándose exceso de homocigotos para los locus FCA 441, FCA 008, FCA 224 y FCA096 mediante los estimados de *Fis* de Weir & Cockerham's (1984) (W&C), y Robertson & Hill's (1984) (R&H), sin embargo el método de Fisher resultó no ser significativo para el exceso de homocigotos (Chi2:18.9872 GL: 18.0000, P=0.3926). Los valores exactos de P fueron calculados empleando el algoritmo de la cadena de Markov donde no se encontraron diferencias significativas para los locus analizados indicando que los locus analizados se encuentran en equilibrio Hardy –Weinberg (Tabla 7).

Consanguinidad

Al asumir el equilibro Hardy-Weinberg se calculó el estadístico poblacional Fis, el cual se determina con $(H_s - H_i)/H_s$ Siendo H_s el promedio de la heterocigocidad observada y H_i el promedio de la heterocigocidad esperada. En otras palabras es igual a la reducción en la heterocigocidad relacionada a la consanguinidad por endogamia. Para esta población se encontró un exceso de heterocigotos en los locus FCA075, FCA043, FCA736, FCA220 y FCA391 mediante los estimados de *Fis* de Weir & Cockerham's (1984) (W&C), y Robertson & Hill's (1984) (R&H), así mismo el resultado obtenido para el promedio de *Fis* para la población fue (*Fis* W&C= -0,0157) y (*Fis* R&H=-0,0109) (Tabla 7).

Desequilibrio por ligamiento

No se encontraron diferencias significativas para la prueba de desequilibrio por ligamiento donde se aceptó Ho= “Los genotipos de un locus son independientes del genotipo de los otros” lo cual quiere decir que cada locus, al ser independiente de los otros, se puede emplear como determinadores de la diversidad genética de la población.

Tabla 7. Test exacto de equilibrio Hardy-Weinberg, donde se presenta valores P, error estándar (SE) y estima de *Fis* por los métodos de Weir & Cockerham's (1984) (W&C), y Robertson & Hill's (1984) (R&H).

	Fis				
Locus	P	S.E.	W&C	R&H	Pasos
FCA075	0,6225	0,0199	-0,0633	-0,0579	6904
FCA043	0,2752	0,0045	-0,3364	-0,2385	29246
FCA441	0,5221	0,0075	0,0930	0,0584	25321
FCA008	0,1275	0,0107	0,3296	0,2542	5850
FCA224	7,02E-01	0,0176	0,0597	0,0828	7100
FCA096	5,17E-02	6,10E-03	0,1307	0,0569	11492
FCA736	1,00E+04	0,00E+00	-0,0286	-0,0293	2812
FCA220	2,82E-01	1,06E-02	-0,1584	-0,0925	17109
FCA391	6,45E-01	8,80E-03	-0,1676	-0,1321	1,81E+04
Promedio			-0,0157	-0,0109	

3.4.3 Pedigrí

Maternidad

Los análisis de verosimilitud obtenidos en CERVUS resultaron con asignamientos de la maternidad con desconocimiento del padre en un 34% para el intervalo de confianza estricto al 95% (LOD critico=4) y con un 100% de asignamientos para el intervalo flexible al 85%. Los asignamientos de maternidad con conocimiento del padre fueron de un 84% para el intervalo de confianza estricto al 95% (LOD=2.05). Solo se conocía el padre (T5) de los individuos T7, T8, y el padre (T3) de T10. Los asignamientos se realizaron según el puntaje LOD pareado (Tabla 8).

Tabla 8. Asignación de maternidad de jaguares (*Panthera onca*) (n=20) con el programa CERVUS basados en el valor Par LOD Score. * Intervalo al 85%, * Intervalo al 95%**

ID Descendiente	*Locus*	*Probabilidad de no-exclusión Primer Padre*	*Probabilidad de no-exclusión Segundo Padre*	*Puntaje LOD Pareado*	*ID Madre candidata*	*Locus*	*Pareja de Locus comparada*	*Pareja de Locus sin coincidir*	*Puntaje LOD Pareado*	*Intervalo de Confianza*	*Puntaje LOD trío*
T15	8	1,89E+13	1,89E+13	0	T8	9	8	0	-6,41E+13	*	0
T16	8	5,89E+12	5,89E+12	0	T15	8	7	0	3,60E+14	*	0
T17	9	2,80E+12	2,80E+12	0	T21	8	8	0	9,67E+13	*	0
T18	7	7,54E+12	7,54E+12	0	T19	7	6	0	7,63E+13	*	0
T19	7	4,08E+12	4,08E+12	0	T15	8	7	1	-3,79E+14	*	0
T24	7	3,79E+12	3,79E+12	0	T8	9	7	0	1,21E+14	*	0
T23	9	2,14E+11	2,14E+11	0	T19	7	7	3	-9,75E+14	*	0
T5	9	1,45E+12	1,45E+12	0	T8	9	9	0	2,71E+14	*	0
T6	9	2,56E+12	2,56E+12	0	T25	8	8	1	-3,16E+14	*	0
T7	9	9,40E+12	1,87E+11	3,63E+14	T6	9	9	0	3,45E+14	***	6,86E+14
T8	9	1,11E+13	1,19E+11	2,71E+14	T6	9	9	0	2,91E+14	***	7,38E+14
T10	9	4,03E+12	4,03E+12	0	T6	9	9	0	2,61E+14	*	0
T20	7	3,95E+12	3,95E+12	0	T10	9	7	0	3,25E+14	*	0
T39	8	2,15E+12	2,15E+12	0	T19	7	6	1	-3,60E+14	*	0
T40	6	9,32E+11	9,32E+11	0	T25	8	5	1	-2,76E+14	*	0
T21	8	7,72E+12	7,72E+12	0	T10	9	8	1	-2,15E+14	*	0
T22	7	2,88E+12	2,88E+12	0	T21	8	7	1	-1,99E+14	*	0
T25	8	4,34E+12	4,34E+12	0	T40	6	5	1	-2,76E+14	*	0
T26	8	8,07E+11	8,07E+11	0	T8	9	8	2	-7,21E+14	*	0
T3	5	2,14E+13	2,14E+13	0	T10	9	5	0	9,56E+13	*	0

Paternidad

Los análisis de verosimilitud obtenidos en CERVUS resultaron con asignamientos de paternidad con desconocimiento de la madre en un 32% para el intervalo de confianza estricto al 95% (LOD critico=4) y con un 100% de asignamientos para el intervalo flexible al 85%. Los asignamientos de paternidad con conocimiento de la madre fueron de un 81% para el intervalo de confianza estricto al 95% (LOD=2.05). Solo se conocía la madre (T6) de los individuos T7, T8, T10. Los asignamientos se realizaron según el puntaje LOD pareado (Tabla 9).

Tabla 9. Asignación de paternidad de jaguares (*Panthera onca*) (n=20) con el programa CERVUS basados en el valor Par LOD Score. * Intervalo al 85%, * Intervalo al 95%**

ID Descendiente	*Locus*	*Probabilidad de no-exclusión Primer Padre*	*Probabilidad de no-exclusión Segundo Padre*	*Puntaje LOD Pareado*	*ID Madre candidata*	*Locus*	*Pareja de Locus comparada*	*Pareja de Locus sin coincidir*	*Puntaje LOD Pareado*	*Intervalo de Confianza*	*Puntaje LOD trío*
T15	8	1,89E+13	1,89E+13	0	T16	8	7	0	3,60E+14	*	0
T16	8	5,89E+12	5,89E+12	0	T17	9	8	0	2,79E+14	*	0
T17	9	2,80E+12	2,80E+12	0	T16	8	8	0	2,79E+14	*	0
T18	7	7,54E+12	7,54E+12	0	T16	8	6	1	-2,76E+14	*	0
T19	7	4,08E+12	4,08E+12	0	T18	7	6	0	7,63E+13	*	0
T24	7	3,79E+12	3,79E+12	0	T18	7	6	1	-1,17E+14	*	0
T23	9	2,14E+11	2,14E+11	0	T22	7	7	2	-4,67E+14	*	0
T5	9	1,45E+12	1,45E+12	0	T3	5	5	0	1,22E+14	*	0
T6	9	2,56E+12	2,56E+12	0	T7	9	9	0	3,45E+14	*	0
T7	9	9,40E+12	9,13E+10	3,45E+14	T5	9	9	0	3,63E+14	***	7,04E+14
T8	9	1,11E+13	7,95E+10	2,91E+14	T5	9	9	0	2,71E+14	***	7,18E+14
T10	9	4,03E+12	5,09E+10	2,61E+14	T3	5	5	0	9,56E+13	***	5,91E+11
T20	7	3,95E+12	3,95E+12	0	T3	5	4	0	8,84E+13	*	0
T39	8	2,15E+12	2,15E+12	0	T3	5	4	0	-8,12E+13	*	0
T40	6	9,32E+11	9,32E+11	0	T18	7	6	1	-1,98E+14	*	0
T21	8	7,72E+12	7,72E+12	0	T17	9	8	0	9,67E+13	*	0
T22	7	2,88E+12	2,88E+12	0	T26	8	7	1	1,19E+14	*	0
T25	8	4,34E+12	4,34E+12	0	T16	8	7	0	8,14E+13	*	0
T26	8	8,07E+11	8,07E+11	0	T22	7	7	1	1,19E+14	*	0
T3	5	2,14E+13	2,14E+13	0	T5	9	5	0	1,22E+14	*	0

Parentesco

Se obtuvieron las probabilidades de relación y parentesco asignadas por KINSHIP para probar H_1 Rp=0.5 y Rm=0.5 vs H_0 Rp=0 y Rm=0 a un nivel de significancia α=0.05, 0.01 y 0.001, lo cual quiere decir que al encontrar relaciones significativas y altamente significativas se acepta H_1 donde Rp y Rm= 0.5 es la probabilidad de que dos individuos presenten una relación de primer grado ya sea padre y/o madre de hijo/hija o relación de hermano(a)/hermana(o). En los resultados obtenidos en las simulaciones encontraron relaciones significativas (p<0.05) en 6 parejas de jaguares, relaciones altamente significativas (p<0.01) en tres parejas y relaciones altamente significativas (p<0.001) para 11 parejas (Tabla 10).

Tabla 10. Cálculos de verosimilitud de parentesco y relación de jaguares (*Panthera onca*) cautivos (n=20) por medio de KINSHIP en 10000 simulaciones.* relación significativa (p<0.05), ** relación altamente significativa (p<0.01), * altamente significativa (p<0.001)**

		KINSHIP	Valor P
T23	T22	2,06E+05	*
T8	T7	2,39E+05	*
T20	T10	2,72E+05	*
T24	T22	3,18E+05	*
T19	T22	3,54E+05	*
T7	T10	1,08E+06	*
T15	T21	2,89E+06	**
T15	T16	5,68E+06	**
T10	T6	8,54E+06	**
T6	T7	1,74E+07	***
T5	T7	1,74E+07	***
T8	T6	1,80E+07	***
T16	T17	3,64E+07	***
T17	T20	1,41E+08	***
T19	T26	2,11E+08	***
T24	T18	4,77E+10	***
T39	T18	1,02E+11	***
T5	T8	4,21E+11	***
T40	T18	4,34E+12	***
T26	T22	5,58E+13	***

Teniendo en cuenta la información de los registros del Studbook, las asignaciones de paternidades y maternidades por el programa CERVUS y las relaciones de parentesco obtenidas por KINSHIP, se realizó la construcción del pedigrí para la población de jaguares cautivos en parques zoológicos de Colombia (Figura 19). Al realizar la construcción del pedigrí se encontró una gran asociación entre los animales presentes en el zoológico Matecaña y Santafé. Se pudo determinar una alta relación genética entre los jaguares presentes en la Fundación Zoológico Santacruz y además se encontraron conexiones en los registros del Studbook entre éste zoológico y los zoológicos de Piscilago, Barranquilla y Jaime Duque. En cuanto a la fundación zoológico de Cali se encontraron relaciones a partir de registros en sus colecciones históricas. En cuanto a los jaguares que se encuentran en los Ocarros no se encontraron asociaciones con otros individuos de la población cautiva en Colombia.

En resumen se asignaron por medio del programa CERVUS, 4 maternidades (T15, T25, y T19 en dos ocasiones) y 5 paternidades (T17, T26, T3 y T16 en dos ocasiones). Se asignaron tanto por CERVUS como por KINSHIP 4 paternidades ($p<0.001$) (T17, T18 y T5 en dos ocasiones) y una maternidad (T6). Así mismo se asignaron 4 maternidades por KINSHIP ($p<0.01$) para dos individuos (T15 en dos ocasiones y T6 en dos ocasiones). Se encontró una relación significativa ($p<0.05$) por medio de KINSHIP entre el jaguar T17 y los jaguares T23, T19 y T24 (Figura 12).

En la Tabla 11 se puede observar como ejemplo la segregación mendeliana de los alelos en una prueba de paternidad y maternidad en jaguares (*Panthera onca*) empleando 9 microsatélites asignada por CERVUS con una relación altamente significativa ($p<0.001$) encontrada en el programa KINSHIP entre padre e hijo y altamente significativa ($p<0.01$) entre madre e hijo El trío completo está compuesto por el padre (T5), la madre (T6) y el hijo (T7). Se presentan los resultados gráficamente mediante los cromatogramas de cada sistema de microsatélites empleados y numéricamente resaltando en gris el tamaño de los alelos heredados.

Posteriormente se actualizó el Studbook regional de Jaguares para Colombia donde se incluyeron las paternidades y maternidades que fueron asignadas por CERVUS que presentaron un cotejo exacto y relaciones por Kinship ($p<0.001$), no se incluyeron ni maternidades ni paternidades donde se presentaron parejas de locus sin coincidir, y los reportes de los años de nacimiento. (Tabla 12).

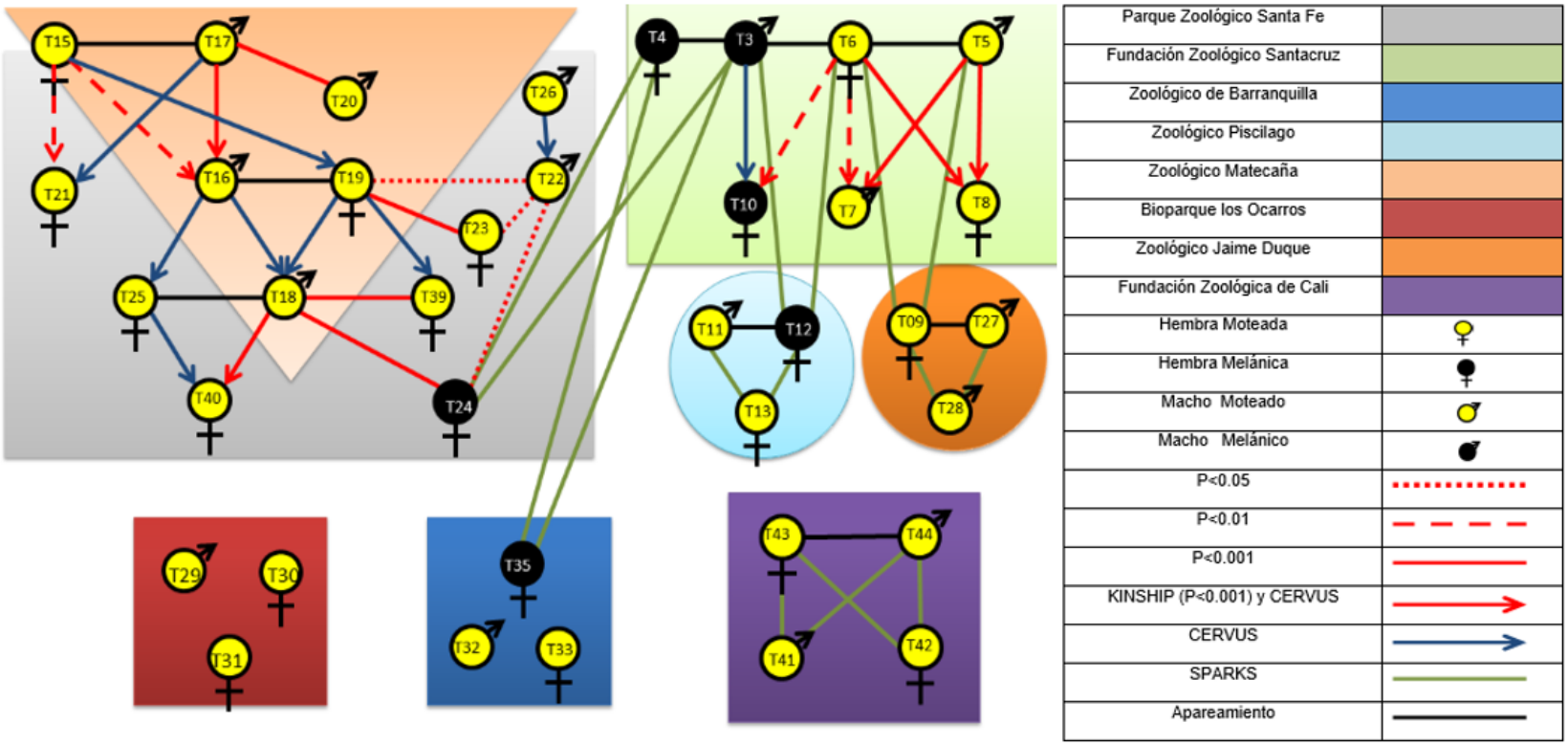


Figura 12. Pedigrí de la población de jaguares (*Panthera onca*) cautivos en parques zoológicos de Colombia obtenida por SPARKS, CERVUS y KINSHIP 1.2

Tabla 11. Prueba de paternidad y maternidad en jaguares (*Panthera onca*) asignada por el programa CERVUS con una relación altamente significativa (p<0.001) encontrada en el programa KINSHIP entre individuos de un trío completo de padre madre e hijo, empleando 9 microsatélites.

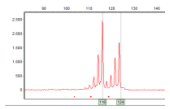
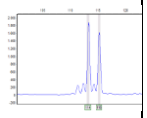
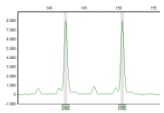
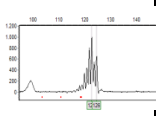
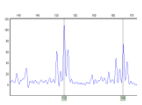
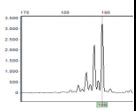
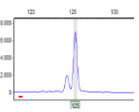
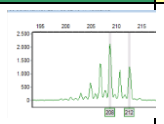
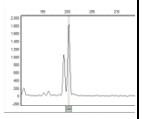
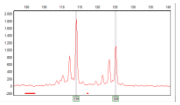
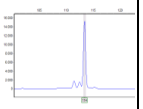
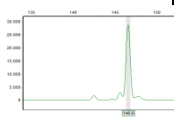
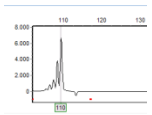
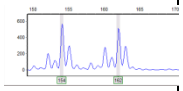
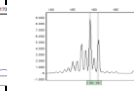
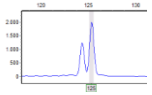
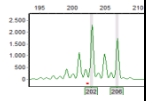
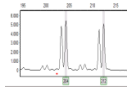
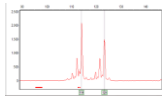
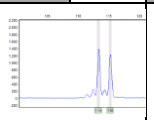
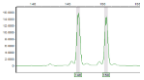
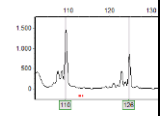
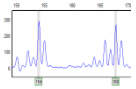
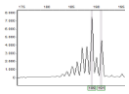
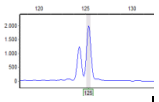
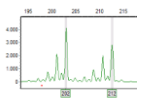
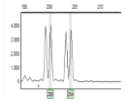
	FCA075		FCA043		FCA441		FCA008		FCA224		FCA096		FCA736		FCA220		FCA391	
PADRE T5																		
	116	124	114	116	142	150	124	126	152	168	189	189	125	125	208	212	200	200
MADRE T6																		
	114	124	114	114	146	146	110	110	154	162	189	191	125	125	202	206	204	212
HIJO T7																		
	114	124	114	116	146	150	110	126	154	168	189	191	125	125	202	212	200	204

Tabla 12. Studbook Regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia 2011. Paternidades y ***Maternidades asignadas por CERVUS y KINSHIP (p<0.001)

Studbook Regional de Jaguares (*Panthera onca*) para Colombia 2011

Stud. #	Nombre	Sexo	Fecha de Nacimiento	Año	Padre	Madre	Evento	Ubicación	Día	Mes	Año
T1	DIABLO	M	~	1967	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	ANTIOQUIA		~	1967
							Transferencia	SANTAFE		~	1968
							Muerte			~	1990
T2	DIABLA	H	~	1967	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	ANTIOQUIA		~	1970
							Transferencia	SANTAFE		~	1971
							Muerte			~	1990
T3	JOSE	M	~	1979	T1	T2	Nacimiento	SANTAFE		~	1979
							Transferencia	SANTACRUZ		~	1980
							Muerte			~	2005
T4	CONGA	H	~	1979	T1	T2	Nacimiento	SANTAFE		~	1979
							Transferencia	SANTACRUZ		~	1983
							Prestamo	CALI		~	2003
							Muerte			~	2004
T5	IVAN	M	~	1975	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA		~	1975
							Transferencia	SANTACRUZ		~	1977
							Muerte			~	2006
T6	LINA	H	~	1975	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA		~	1975
							Transferencia	SANTACRUZ		~	1976
							Muerte		~10	May	2008
T7	NOVY	M	~29 Nov	1994	**T5 *****	**T6*****	Nacimiento	SANTACRUZ	~29	Nov	1994
T8	MAFFY	H	~29 Apr	1996	**T5*****	**T6*****	Nacimiento	SANTACRUZ	~29	Apr	1996
T9	BUFFY	H	~29 Apr	1996	T5	T6	Nacimiento	SANTACRUZ	~29	Apr	1996
							Transferencia	JAIME DUQUE		~	2000
T10	MILENA	H	~ 2 Jan	2000	**T3*****	**T6*****	Nacimiento	SANTACRUZ	~ 2	Jan	2000
T11	BOCHICA	M	~	1996	T5	T6	Nacimiento	SANTACRUZ		~	1996
							Transferencia	PISCILAGO	~25	Dec	1997
							Muerte		~30	Apr	2004
T12	BAGHEERA	H	~	1996	T3	T6	Nacimiento	SANTACRUZ		~	1996
							Transferencia	PISCILAGO	~ 1	Mar	1998
T13	PECAS	H	~ 4 Mar	1999	T11	T12	Nacimiento	PISCILAGO	~ 4	Mar	1999
T14	MARYURI	H	~ 4 Mar	1999	T11	T12	Nacimiento	PISCILAGO	~ 4	Mar	1999
							Transferencia	MATECAÑA	~15	Jan	2001
							Muerte			~	2007
T15	SAMARA	H	~	1999	SILVESTRE	SILVESTRE	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T16	PERSEO	M	~	1998	**T17*****	**T15*****	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T17	MORGAN	M	~	1998	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	MATECAÑA		~	1998
T18	MUÑECO	M	~	1998	**T16*****	**T19*****	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T19	MUÑECA	H	~	1998	DESCONOCIDO	**T15*****	Nacimiento	MATECAÑA		~	1998
T20	JUNIOR	M	~	2000	**T3**	DESCONOCIDO	Nacimiento	AMAZONASC		~	2000
							Transferencia	PISCILAGO	~ 6	Aug	2007
T21	NINA	H	~ 9 Aug	2003	T22	T35	Nacimiento	SANTAFE	~ 9	Aug	2003
T22	JIMMY	M	~15 Jun	1997	**T26*****	DESCONOCIDO	Nacimiento	ANTIOQUIA	~15	Jun	1997
							Transferencia	SANTAFE	~16	Jun	1997
T23	SAPORRA	H	~	1990	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	1990
							Muerte			~	2006
T24	LA NEGRA	H	~	1986	T1	T2	Nacimiento	SANTAFE		~	1986
							Muerte			~	2006
T25	CHIQUI	H	~	2000	**T16*****	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	2000
							Transferencia		~ 9	Aug	2003
T26	PACHO	M	~15 Jun	1994	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE	~15	Jun	1994
							Transferencia		~16	Mar	2001
T27	MANCHAS	M	~	1992	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA		~	1992
							Transferencia	JAIME DUQUE		~	1993
T28	ORION	M	~22 Jun	2002	T27	T9	Nacimiento	JAIME DUQUE	~22	Jun	2002
T29	SHERKAN	M	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	2000
							Transferencia	META	~ 3	Jul	2003
T30	SHAKIRA	H	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	MATECAÑA		~	2000
							Transferencia	OCARROS	~ 3	Jul	2003
T31	LUNA	H	~	2004	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	OCARROS		~	2004
T32	REBOLO	M	~ 1 Jul	1991	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA	~ 1	Jul	1991
							Transferencia	BARRANQULLA		~	1992
T33	COSTENA	H	~ 1 Jul	1990	SILVESTRE	SILVESTRE	Captura	COLOMBIA	~ 1	Jul	1990
							Transferencia	BARRANQULLA		~	1991
T34	LA NEGRA	H	~11 May	1997	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTACRUZ	~11	May	1997
							Transferencia	BARRANQULLA	~20	Jul	1999
T35	ONIX	H	~	2000	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	2000
							Transferencia		~16	Mar	2001
T36	NEGRO1	M	~15 Jun	1980	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTACRUZ	~15	Jun	1980
							Transferencia	SANTAFE	~29	Jun	1990
							Muerte		~ 3	Jan	2003
T37	NEGRO2	M	~	1990	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	DESCONOCIDO		~	1990
							Muerte	SANTAFE	~31	May	2002
T38	CORRONCHO	M	~	1990	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO	Nacimiento	SANTAFE		~	1990
							Muerte		~10	Jan	2002
T39	JUANGO	M			**T19*****	DESCONOCIDO	Nacimiento	DESCONOCIDO			
							Muerte				
T40	JULIA	H			**T18*****	**T25*****	Nacimiento	DESCONOCIDO			

3.5 Discusión

En este estudio se pudo demostrar que la población de jaguares cautivo en parques zoológicos de Colombia es una población que presenta una alta variabilidad genética y que es una población con las condiciones necesarias para ser un importante modelo como reservorio genético para revitalizar poblaciones naturales dado el caso de que estas se encuentren aisladas y presenten bajos niveles de diversidad genética.

En cuanto al análisis genético a partir del Studbook regional de Jaguares se pudo determinar que en cuanto a la media de parentesco (MK) promedio (MK=0,217) que los valores encontrados para la población cautiva en Colombia son menores que el MK reportado por Drury (1995) para los jaguares cautivos en Europa (MK=0,238) lo que ofrece un gran indicativo como potencial futuro para reducir y/o prevenir eventos de consanguinidad. Se encontró que existe representación y contribución genética de los fundadores provenientes de vida silvestre en la población actual debido a la cría en cautiverio.

En cuanto a la diversidad genética según los registros encontrados en el Studbook regional se encontró una clara tendencia de aumento pasando del 50% en el año 1994 al 72% en el año de 1996 y llegando cerca del 78% en el año 2002, debido a los procesos reproductivos y nacimientos ocurridos en éste lapso de tiempo. En cuanto a la diversidad genética en el análisis de microsatélites se encontró que está en el orden del 68% resultado que se encuentra entre los niveles reportados por Eizirick (2001) donde reportó niveles de diversidad genética entre el 62% y 73% y contrasta con Ruiz-García (2006) el cual reportó un nivel de diversidad del 84%. Debido a esto se puede determinar que la diversidad genética de los jaguares cautivos en Colombia se encuentra en un nivel alto, sin embargo es necesario seguir los lineamientos de manejo poblacional reproductivo para la especie y así llegar a un nivel cercano al 90% y mantenerlo por un periodo de 100 años como es planteado en los planes de supervivencia de especies (Ballou et al, 1996)

En cuanto a los análisis de los microsatélites realizados se encontraron un menor número de alelos por locus FCA96 (7 alelos), FCA08 (7 alelos), FCA391 (6 alelos) que los reportados por Ruiz-García et al. (2001), donde se encontró un número de alelos mayor para FCA96 (15 alelos), FCA08 (15 alelos), FCA391 (13 alelos) y por Ruiz-García et al. (2006) donde se encontró para Fca96 (13 alelos), Fca08 (13 alelos), Fca391 (13 alelos). En cuanto al locus Fca96 se han reportado alelos de 185pb 187pb y 189pb, en jaguares amazónicos de la subespecie (*Panthera onca onca*) y de 183pb en Guatemala de la subespecie (*Panthera onca goldmani*) (Ruiz-Garcia et al. 2006) los cuales fueron encontrados en este estudio con una frecuencia alélica así: 185 pb =0.05, 187pb=0.175, 189 pb=0.35 y para el de 183 pb=0.075 encontrado sólo en los T15, T16 y T19 ubicados en el Zoológico Matecaña. En cuanto al locus Fca391 se reportó un alelo de 205pb solo en jaguares de Perú (Ruiz-Garcia et al. 2006) encontrado en este estudio en 8 ejemplares con una frecuencia alélica de 0.21. En cuanto al locus Fca008 se reportó un alelo de 124pb solo en jaguares de la Amazonía central (Ruiz-Garcia et al. 2006) encontrado en este estudio en 2 ejemplares con una frecuencia alélica de 0.09, en los ejemplares T5 y T8 ubicados en la Fundación Zoológico Santacruz. Lo cual quiere decir que la población de jaguares cautivos en Colombia está compuesta y hay representación de tres subespecies con un mayor predominio del jaguar amazónico *Panthera onca onca* (Pocock, 1939),

seguida por el jaguar Peruano la *Panthera onca ucayale* (Nelson et al, 1933) y por último *Panthera onca centralis* sin descartar la *Panthera onca goldmani* al haber encontrado alelos de esta subespecie. En cuanto al tamaño de los alelos se encontró que el locus Fca441 presentó alelos de mayor tamaño que el valor reportado para gatos domésticos en contra posición el locus Fca736 presentó alelos de menor tamaño que el valor reportado para gatos domésticos. Esto se debe principalmente a factores de especiación donde en el curso del tiempo y dependiendo principalmente de las tasas mutacionales ocurridas en la divergencia de las especies, entre mayores sean las diferencias, mayores habrán sido el número de mutaciones ocurridas desde el ancestro común (Hardy et al, 2003), en ésta caso se muestra claramente un diferencia importante que ocurre entre el gato doméstico y el jaguar.

En éste estudio se encontró que, para los locus analizados en la población de estudio, existe equilibrio Hardy-Weinberg lo cual contrasta con lo encontrado por Ruiz-García et al. (2003, 2006) quien reportó la inexistencia de equilibrio Hardy-Weinberg por exceso de homocigotos el cual fue atribuido a un efecto de subdivisión poblacional o efecto Wahlund (Ruiz-Garcia et al. 2006). Por otro lado, Eizirk (2001) reportó desviaciones del equilibrio Hardy–Weinberg en 6 locus de 29 analizados en la población de jaguares en el norte de América del sur (sin incluir animales de Colombia), sin embargo después de la corrección secuencial de Bonferroni aplicada sólo un locus mantuvo el desequilibrio. Así, la estima de equilibrio Hardy–Weinberg es un punto que necesita un mayor abordaje con el fin de clarificar y determinar si el desequilibrio encontrado por Ruiz García se debe al efecto de subdivisiones poblacionales o efecto Wahlund o si este hallazgo es un reflejo dependiente de los locus analizados. Sin embargo, a pesar que en éste estudio se encontrará la existencia del equilibrio para los locus analizados, el tamaño de la muestra es reducido por lo tanto la inferencia no podría ser extrapolada ampliamente a las poblaciones de jaguares silvestres. De ésta forma sería importante continuar ésta clase de análisis en investigaciones futuras.

En cuanto a la determinación de la heterogeneidad genética mediante los estadísticos *FST* y *RST* no pudo realizarse ya que los resultados determinaron que los animales muestreados son representantes de una sola población lo que indica la alta similitud entre las poblaciones de jaguares cautivos en Colombia a pesar de encontrar alelos característicos de los diferentes acervos genéticos estudiados.

Los resultados del análisis genético del Studbook Regional de Jaguares para Colombia en el programa PM2000 muestra claramente que según los registros en cuanto a la consanguinidad el valor máximo encontrado para F en Jaguares en Europa (F=0.08), valor muy superior al encontrado en el Studbook de Jaguares para Colombia (F=0.0179), evento que solo se registra a partir del año de 1998. Sin embargo posterior al análisis empleando los microsatélites se pudo determinar mediante el cálculo del estadístico F_{is} como un determinante de la consanguinidad de la población basándose en datos de análisis de ADN contrasta con los resultados obtenidos en el análisis de registros para el coeficiente de consanguinidad *F.* En cuanto al valor encontrado para F_{is} representa que en la población se encuentra exceso de heterocigotos el cual al ser promediado en todos los locus analizados y al ser un valor negativo indica que la población no se encuentra en endogamia por el contrario se encuentra en exogamia. El valor F_{is} es negativo si la heterocigocidad observada es mayor a la esperada, es decir que el promedio observado es mayor al esperado. Las poblaciones endogámicas se caracterizan por un incremento en su

homocigocis o una disminución en su heterocigocidad, así un valor negativo de F_{is} significa que existe un incremento en la heterocigosis y que la población se encuentra en exogamia (Allendorf et al. 2007).

Antes de realizar el estudio se conocía el origen del pedigrí de la población de jaguares en un 28,9 % (n=11) después de la construcción del pedigrí de la población mediante el análisis con los microsatélites se llego a conocer el 55.3% (n=21) posterior a la asignación de paternidades y maternidades por el programa CERVUS y KINSHIP lo cual demuestra una optimización de la información en un 98% ofreciendo grandes ventajas del uso de los microsatélites como un complemento en la actualización del Studbook. A partir de esto se logró obtener un registro preciso sobre el origen de los ejemplares vivos en la población el cual podrá ser empleado en los programas de manejo poblacional futuros involucrando cruces controlados para evitar la presentación de consanguinidad y así mantener la población de jaguares como una población variable en términos genéticos como modelo de investigación.

Para algunas especies donde las poblaciones silvestres se encuentran altamente disminuidas, la supervivencia de la especie depende de la propagación de animales cautivos. En estos casos, el pool genético entero de una especie, representada por la contribución genética de los fundadores cautivos a siguientes generaciones de individuos criados en cautiverio, se presenta como un sistema cerrado. En estos casos las nuevas mutaciones que ocurren dentro de la población, proveen la única nueva fuente de variación genética. Este proceso ocurre a una tasa extremadamente baja y provee cambios significativos solo en largos intervalos de tiempo o cuando las poblaciones son extremadamente grandes. En los casos en que las poblaciones silvestres se encuentran estables en número y distribución que potencialmente pueden ser muestreadas y que pueda proveer inmigrantes a la población cautiva, éste acceso a nuevas fuentes de variación provee la oportunidad de preservar mayores proporciones de pool genético silvestre, empleando menores individuos cautivos de una manera mayor que en poblaciones cerradas. Es en este punto donde a partir del conocimiento histórico de las poblaciones animales se pueden plantear soluciones concretas con fines de conservación para las especies al que el hombre ha puesto en amenaza como lo es el jaguar.

3.6 Conclusiones y Recomendaciones

La realización de programas de análisis genéticos en las colecciones presentes en cautiverio contribuye a la conservación de especies amenazadas mediante el mantenimiento de poblaciones viables como reservorios genéticos que pueden ser usados periódicamente para reforzar, revitalizar o restablecer poblaciones cautivas y en casos necesarios poblaciones silvestres con baja variabilidad genética. También permite la identificación de subespecies que aunque fenotípicamente parezcan similares tienen orígenes geográficos diferentes y han sufrido un proceso de especiación particular

El alcance de la instauración de programas de investigaciones genéticas en los parques zoológicos y centros de rehabilitación de fauna, contribuye al ordenamiento de las colecciones cautivas, brindando herramientas claras frente al movimiento de especímenes de un lugar a otro para garantizar procesos reproductivos eficientes y viables. Así mismo,

se contribuye a la liberación de animales después de procesos de rehabilitación en zonas correspondientes al origen natural genético de sus congéneres.

La realización de un análisis genético en una población en cautiverio requiere de pasos sistemáticos para obtener la mayor cantidad de información posible como: la construcción de un “pedigrí” en la población, la identificación de parentales fundadores, la contribución genética de cada parental a toda la población, el cálculo de la pérdida de alelos debidos a endogamia o efectos de “cuellos de botella”, cálculos de coeficientes de consanguinidad y realización de pruebas empleando marcadores moleculares. De esta manera se pueden implementar las técnicas genéticas adecuadas para esclarecer los vacíos de información sobre ejemplares desconocidos.

En este estudio se realizó el primer análisis de registros de jaguares cautivos en Colombia donde se pudo obtener información relevante en cuanto a la identificación de los individuos fundadores de la población y sus descendientes. Se obtuvieron estadísticos poblacionales de importancia genética como la retención alélica, determinando que es posible mediante manejo reproductivo retener más genes cercanos a las poblaciones silvestres provenientes de los individuos fundadores.

Se establecieron los genotipos de los jaguares muestreados a partir del análisis de los cromatogramas obtenidos después de la electroforesis en capilar. Se encontró que hubo amplificación de los fragmentos de ADN por medio de la PCR con las condiciones establecidas.

Se realizó la construcción del pedigrí de la población de jaguares cautivos en los zoológicos del país lo cual permitirá en un futuro tener un control más preciso sobre el destino, movimiento y reproducción de los ejemplares en un eventual plan de reproducción.

Se establecieron las frecuencias alélicas y al determinar la presencia de equilibrio Hardy-Weinberg en los locus analizados y al determinar que la población está en estado de exogamia se puede inferir que la población cautiva en parques zoológicos de Colombia es un reservorio genético que debe ser considerado en los planes nacionales de conservación para la especie en Colombia.

3.7 Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios ACOPAZOA, Fundación Zoológico Santacruz, Dra Haydy Monsalve, Dra. Angelica Moreno, John Vidal, Zoológico Santafé, Dra. Marta Ocampo, Zoológico Matecaña, Dr. Delio Orjuela, International Species Information System ISIS, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Laurie Bingaman, Dr. Fernando Ariza, Instituto de Genética de la Universidad Nacional, Dr. Víctor Vera, Dr. Luis Fernando Cadavid, Dr. Jimmy Vargas, Sonia Rocío Quintanilla, Miguel Novoa, Dr. Stephen J. O’Brien, Dr. Warren Johnson, Victor David, Bailey Kessing, Dr. Manuel Ruíz García, Dra. Carolina Corrales, Dr. Paul Bloor, Susan Castro, Dra. Ligia Jiménez, Dra. Christine Bozarth, Dr. Jesús Maldonado, Dr. Joseph Kolowski, Dr. Francisco Dallmeier.

Bibliografía

1. Allendorf FW, Luikart G. 2007. Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell Publishing, Oxford, UK,
2. Buckley-Beason VA, et al. 2006. Molecular evidence for species-level distinctions in clouded leopards. Curr Biol 16: 2371-2376.
3. Ballou JD, Foose TJ. 1996. Demographic and genetic management of captive populations. Wild mammals in captivity, principles and techniques. University of Chicago Press 263-283
4. Culver M, Menotti-Raymond MA, O'Brien SJ. 2001. Patterns of size homoplasy at 10 microsatellite loci in pumas (*Puma concolor*). Mol Biol Evol 18: 1151-1156.
5. Driscoll CA, Menotti-Raymond M, Nelson G, Goldstein D, O'Brien SJ. 2002. Genomic microsatellites as evolutionary chronometers: a test in wild cats. Genome Res 12: 414-423.
6. Drury H., Hill S. Investigation into inbreeding en European Zoo Population of jaguars (*Panthera onca*). Zoo Research News. Vol 6 no 4. 2005
7. Eizirik E, Kim JH, Menotti-Raymond M, Crawshaw PG, Jr., O'Brien SJ, Johnson WE. 2001. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). Mol Ecol 10: 65-79.
8. Goodnight KF. 2004. Kinship 1.2. User Manual.
9. Hardy GH. 1908. Mendelian proportions in a mixed population. Science 28:49-50.
10. Hardy OJ, Charbonnel N, FrevilleH, Heuertz M. 2002. Microsatellite Allele Sizes: A Simple Test to Assess Their Significance on Genetic Differentiation. Genetics Society of America.
11. Jiménez-González, S., Moreno W. F. 2004. Manejo y anestesia en cinco especies de félidos en cautiverio en parques zoológicos de Colombia. Revista U.D.C.A, Actualidad y Divulgación Científica. 6(2):73-83.
12. Lacy R.C. 1995. Clarification of Genetic Terms and Their use in the management of captive populations. Zoo Biology 14: 565-578.
13. Luo SJ, Johnson WE, Martenson J, Antunes A, Martelli P, Uphyrkina O, Traylor-Holzer K, Smith JL, O'Brien SJ. 2008. Subspecies genetic assignments of worldwide captive tigers increase conservation value of captive populations. Curr Biol 18: 592-596.
14. Menotti-Raymond M, O'Brien SJ. 1993. Dating the genetic bottleneck of the African cheetah. Proc Natl Acad Sci U S A 90: 3172-3176.
15. Menotti-Raymond MA, O'Brien SJ. 1995. Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae. J Hered 86: 319-322.
16. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the national academy of science USA 70:3321-3323
17. Nelson, E.W. Goldman EA. 1933. Revision of the jaguars. Journal of Mammalogy 14:221-240
18. Pollak, J. P., Lacy R. C., Ballou J. D. 2005. Population Management 2000, version 1.213. Chicago Zoological Society, Brookfield, IL.

19. Pocock, R.I. 1939. The races of the jaguar, *Panthera onca.* Novitates Zoology 41, 406-422.
20. Qiagen. 2006. Dneasy Blood and tissue handbook.
21. Robertson H, Hill WG. 1984 Deviation from Hardy-Weinberg proportions, sampling variances and use in estimation of inbreeding coefficients. Genetics 107 :703-718
22. Ruiz-García M., Orozco P., Payán C.E, Castellanos A. 2003. Genética molecular de poblaciones aplicada al estudio de dos grandes carnívoros neotropicales (*Tremarctos ornatos y Panthera onca*). Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. 98 (1-4): 135-158
23. Ruiz-Garcia M, Payan E, Murillo A, Alvarez D. 2006. DNA microsatellite characterization of the jaguar (*Panthera onca*) in Colombia. Genes Genet Syst 81: 115-127.
24. Willis, K, Wiese, R.J. 1993. Effect of new founders on retention of gene diversity in captive populations: A formalization of the nucleus population concept. Zoo Biology 12 535-548.
25. Wright, S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. American Naturalist 56:330-338,1922.
26. Wright, S. 1969. Evolution and the genetics of Populations, Vol II: The theory of gene frequencies. Chicago, University of Chicago Press.
27. Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38:1358-1370.

A. Apéndice 1

Procedimiento Salting Out

MATERIALES

Tubos Eppendorf de 1.5 ml
Micro-pipetas 2-20 20-200 200-1000
Hielo
Alcohol etílico al 70%
Agua DDE (destilada des ionizada estéril)
Solución de descarte
Hipoclorito agua 2:1

EQUIPOS

Vórtex
Micro centrífuga
Baño serológico 65°C

REACTIVOS

Buffer de lisis de glóbulos rojos (155 mM NaH_4Cl, 10 mM $NaHCO_3$, 0.1m M EDTA pH 7.4-8.0
Buffer de lisis de glóbulos rojos (10 mM Tris-Cl pH 8, 400 mM NaCl, 2 mM EDTA pH 8.2, 0.2% SDS, Solución Salina (5nM Naci)
Isopropanol a -20°C
Etanol al 70% a -20°C
Buffer T.E 1X

PROCEDIMIENTO

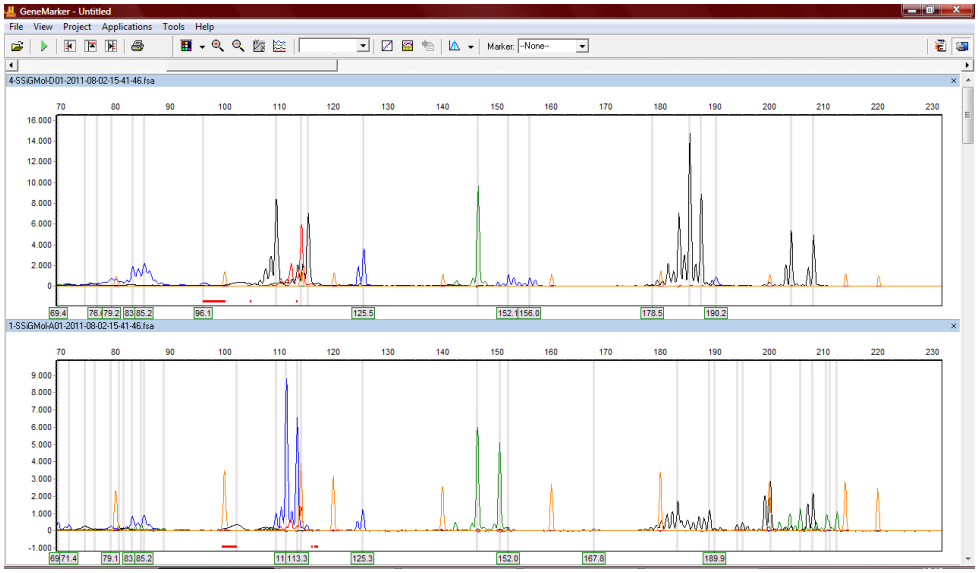
1. Homogenizar por inversión el tubo con la muestra
2. Agregar 900 µl de buffer de lisis de GR
3. Adicionar 400 µl de la muestra de sangre
4. Tapar el tubo y mezclar por inversión de 5 a 6 veces suavemente, hasta observar lisis de glóbulos rojos
5. Centrifugar a 14000 rpm por 2 min
6. Descarta el sobrenadante en el recipiente con el hipoclorito y dejar 20 µl con el pellet
7. Lavar 3 veces con 900 µl de buffer de lisis de GR
8. Re suspender el pellet con ayuda del vórtex por 30 segundos
9. Adicionar 500 µl de buffer de lisis de GB y vórtex por 20 segundos
10. Adicionar 500 µl de Naci 5M y vórtex por 30 segundos

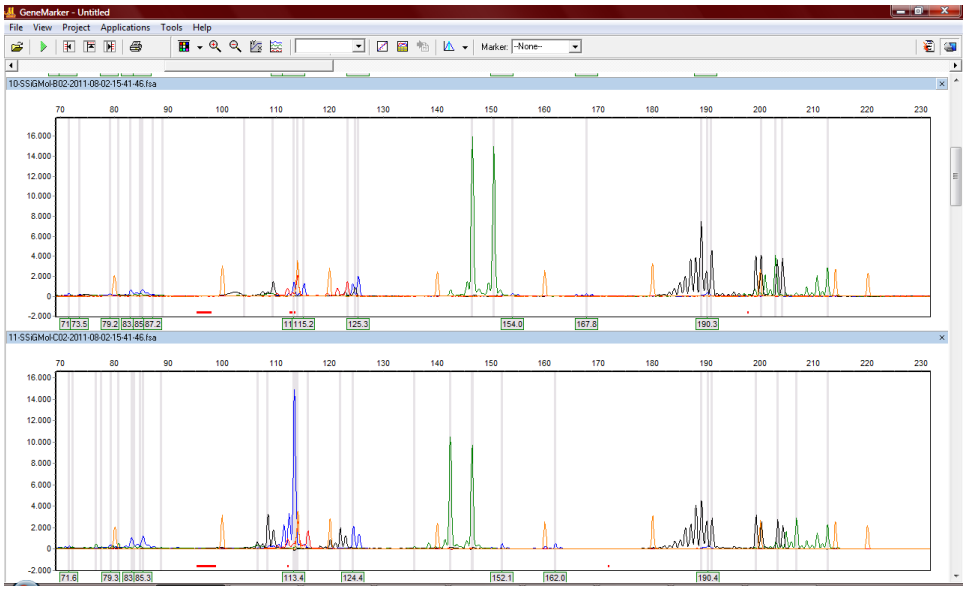
11. Incubar 5 min en hielo
12. Centrifugar a 14000 rpm por 10 min
13. Transferir el sobrenadante a un nuevo eppendorff de 1.5 ml previamente marcado con 500 µl de isopropanol, mezclar bien por inversión y observar la aparición de la mota blanca de ADN
14. Centrifugar a 14000 rpm por 5 min, El DNA se observa como pellet blanco
15. Descartar el sobrenadante y lavar el pellet con 1 ml de Etanol al 70 %
16. Mezclar por inversión dos veces
17. Centrifugar a 14000 rpm por 2 min
18. Descartar el etanol cuidadosamente, evitando desprender el pellet
19. Sacar los restos de etanol Speed vac por 15 min a 55°C, a temperatura ambiente por 60 minutos y a 37°C por 30 a 35 min
20. Re suspender con 100µl de agua DDE o buffer TE e incubar a 65°C por 1 hora o temperatura ambiente por toda la noche
21. Mezclar por inversión periódicamente
22. Almacenar el ADN a 4°C hasta el momento de la cuantificación por espectofotometría y el montaje de la PCR

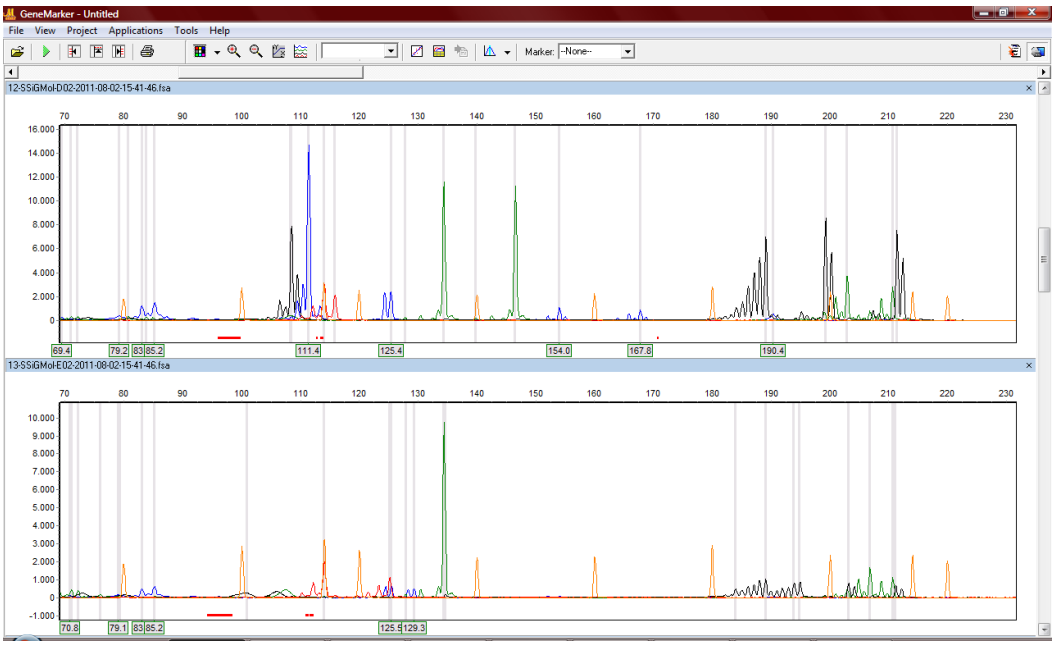
Manual de Procedimientos Instituto de Genética Universidad Nacional de Colombia

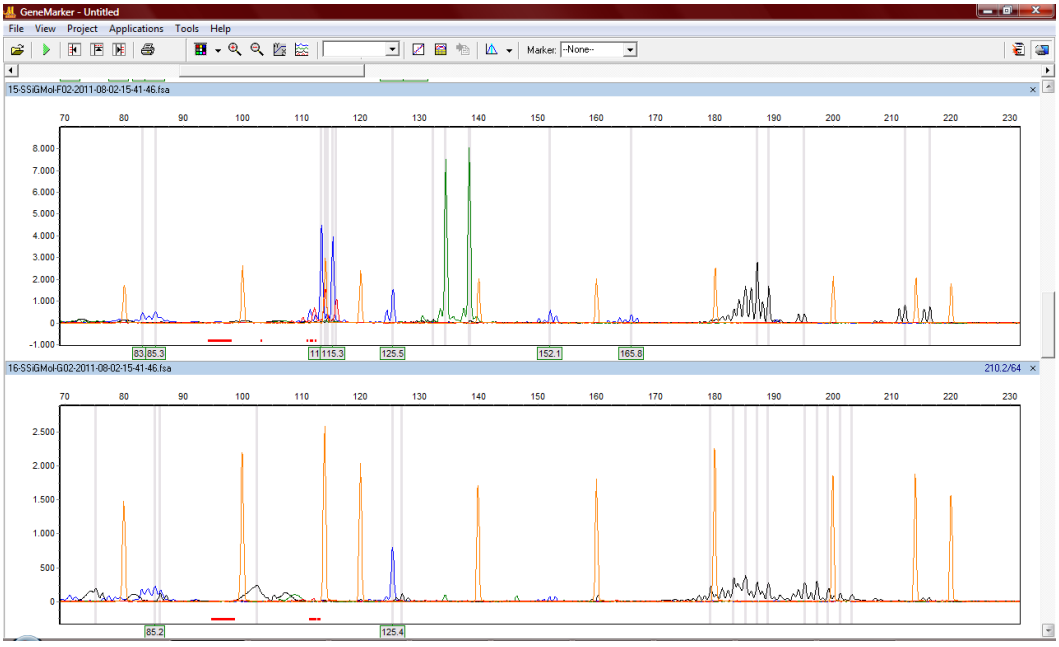
B. Apéndice 2

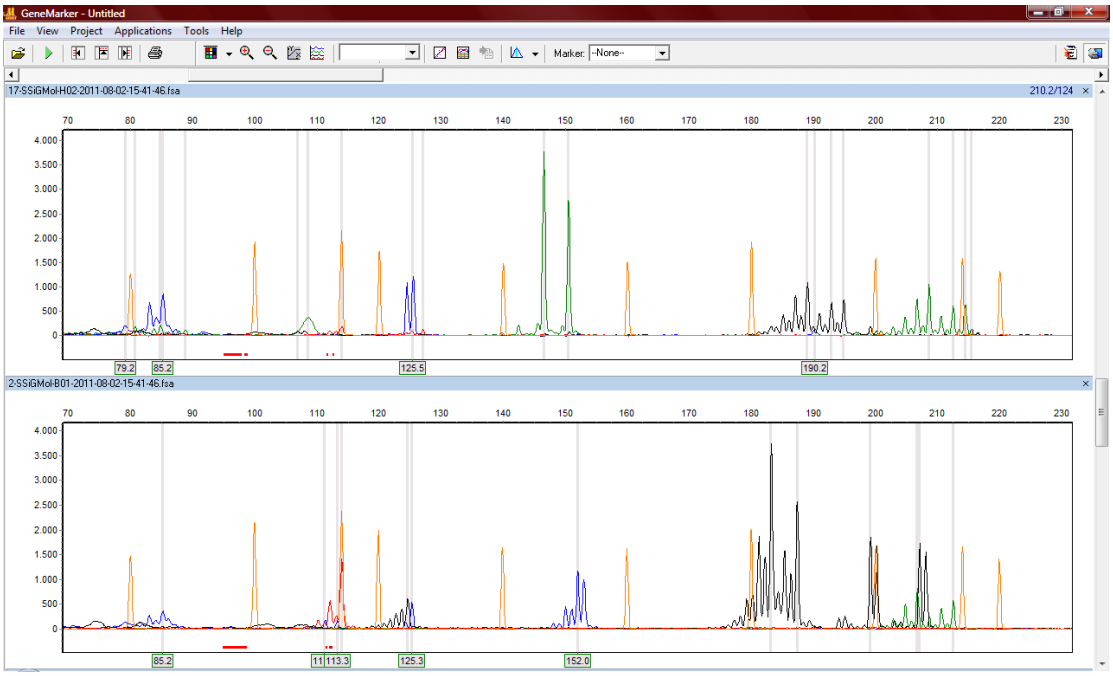
Cromatogramas de 9 microsatélites en jaguares cautivos (n=20)

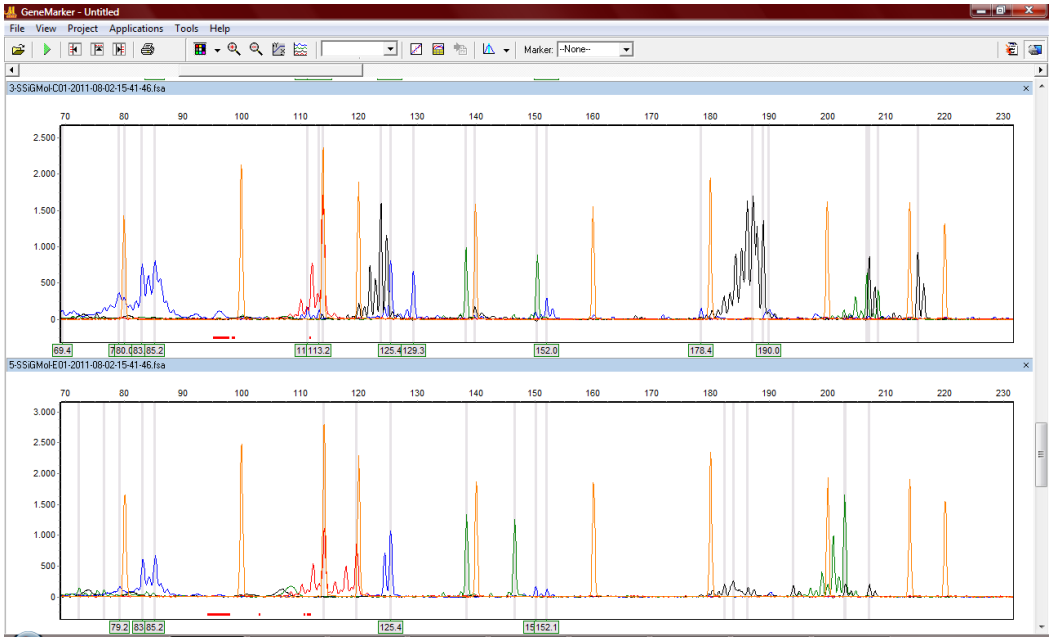


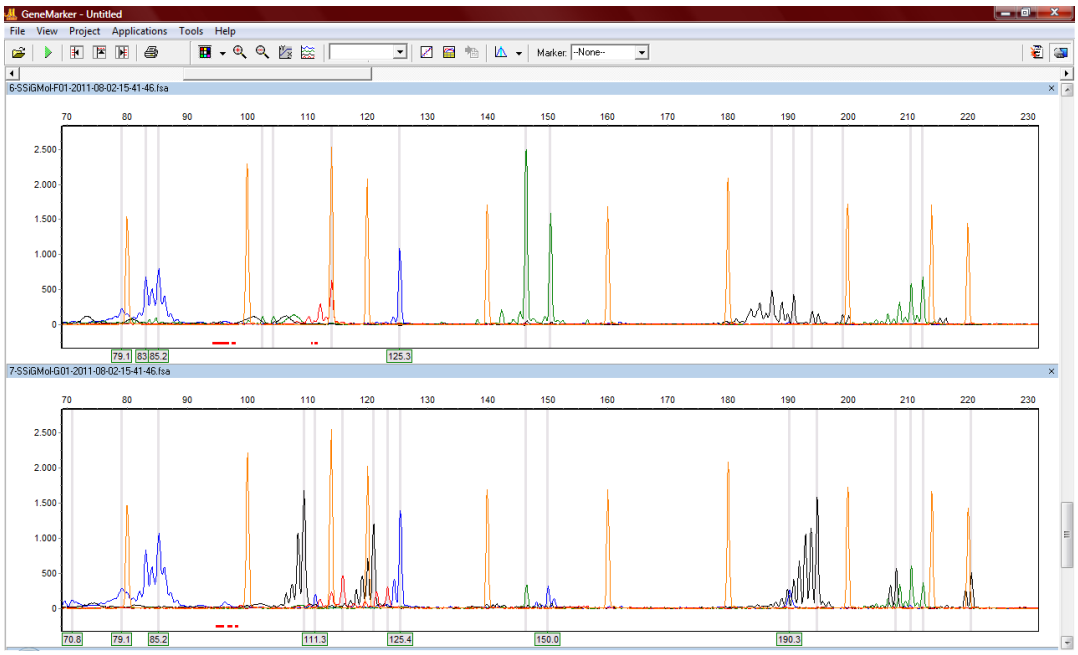


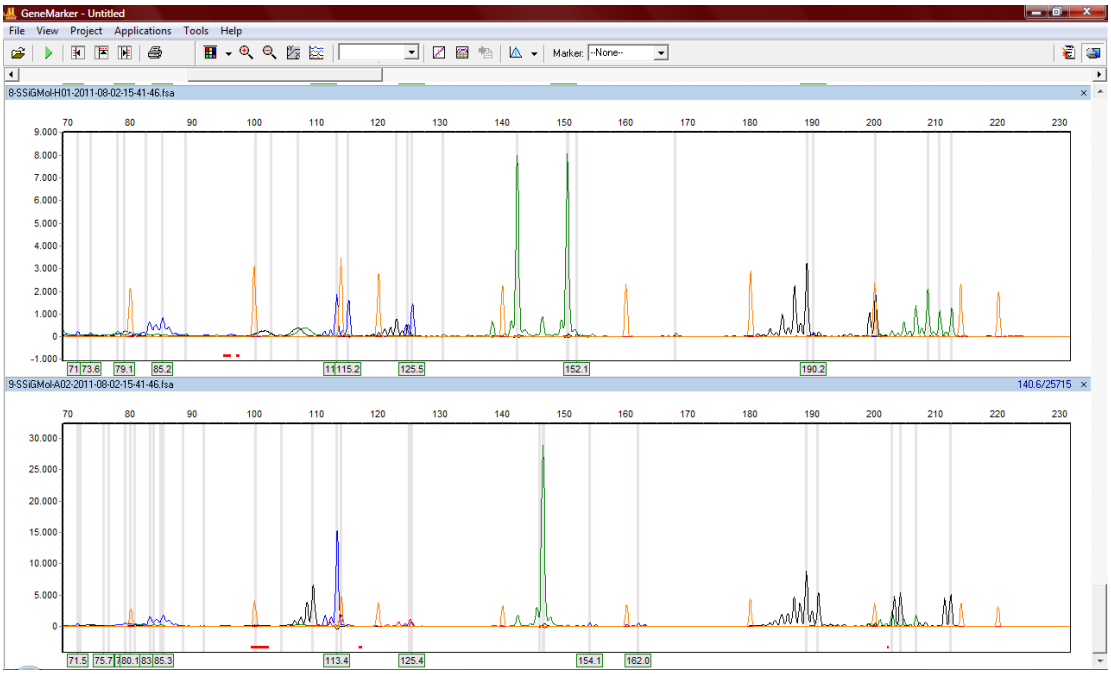

GeneMarker - Untitled
File View Project Applications Tools Help
Marker: --None--
12-SSiGMol-D02-2011-08-02-15-41-46.fsa
69.4
79.2
83
85.2
111.4
125.4
154.0
167.8
190.4
13-SSiGMol-E02-2011-08-02-15-41-46.fsa
70.8
79.1
83
85.2
125.5
129.3

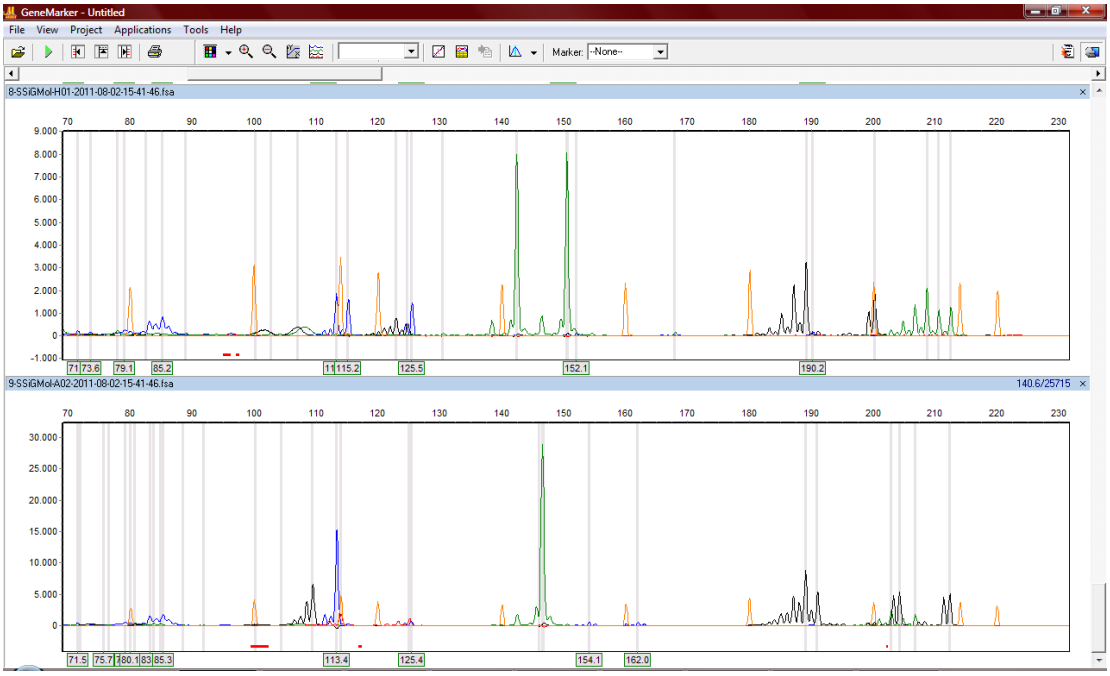

GeneMarker - Untitled
File View Project Applications Tools Help
Marker: --None--
15-SSiGMol-F02-2011-08-02-15-41-46.fsa
83
85.3
111
115.3
125.5
152.1
165.8
16-SSiGMol-G02-2011-08-02-15-41-46.fsa
210.2/64
85.2
125.4


GeneMarker - Untitled
File View Project Applications Tools Help
Marker: --None--
17-SSiGMol-H02-2011-08-02-15-41-46.fsa
210.2/124
79.2
85.2
125.5
190.2
2-SSiGMol-B01-2011-08-02-15-41-46.fsa
85.2
113.3
125.3
152.0


GeneMarker - Untitled
File View Project Applications Tools Help
Marker: --None--
3-SSiGMol-C01-2011-08-02-15-41-46.fsa
69.4
80.8
83
85.2
113.2
125.4
129.3
152.0
178.4
190.0
5-SSiGMol-E01-2011-08-02-15-41-46.fsa
79.2
83
85.2
125.4
152.1


GeneMarker - Untitled
File View Project Applications Tools Help
Marker: --None--
6-SSiGMol-F01-2011-08-02-15-41-46.fsa
7-SSiGMol-G01-2011-08-02-15-41-46.fsa


GeneMarker - Untitled
File View Project Applications Tools Help
Marker: --None--
8-SSiGMol-H01-2011-08-02-15-41-46.fsa
9-SSiGMol-A02-2011-08-02-15-41-46.fsa
140.6/25715


GeneMarker - Untitled
File View Project Applications Tools Help
Marker: --None--
8-SSiGMol-H01-2011-08-02-15-41-46.fsa
9-SSiGMol-A02-2011-08-02-15-41-46.fsa
140.6/25715

4. Capítulo 4

Reproductive Analysis of Male and Female Captive Jaguars (*Panthera onca*) in a Colombian Zoological Park

Resumen

Se realizó la caracterización reproductiva de un grupo de jaguares cautivos (n=6) en las instalaciones de la Fundación Zoológico Santa Cruz en Cundinamarca, Colombia, mediante un análisis longitudinal no invasivo de estradiol y progesterona en hembras y testosterona en machos. En un periodo de un 1 año dividido en cuatro épocas climatológicas las hembras confinadas en solitario fueron evaluadas con el objetivo de caracterizar la actividad ovárica y determinar la presentación de ovulaciones espontáneas. En los machos la actividad testicular. En las hembras se realizó un segundo seguimiento después de la aplicación de un protocolo convencional de gonadotropinas. La hormonas fueron extraídas de muestras de materia fecal de tres hembras (n=3) y dos machos (n=2). La medición de estradiol se realizó por medio de radioinmunoanálisis (RIA) y la medición de progesterona y testosterona por medio de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). El modelo lineal de regresión de efectos mixtos encontró diferencias significativas en las concentraciones de estadiol en las diferentes estaciones (Chi square = 15.97, DF = 3, $p < 0.01$). Las comparaciones de medias estacionales se realizó mediante el método de la diferencia significativa honesta de Tukey (DSH), revelando diferencias significativas entre las estaciones: Sequía 1 vs. Lluvias 2 ($p < 0.01$), Lluvias 1 vs. Lluvias 2 ($p < 0.05$), y Sequía 2 vs. Lluvias 2 ($p < 0.05$). En las tres jaguares hembras se encontraron elevaciones de progesterona compatibles con ovulaciones expontáneas y el modelo lineal de regresión de efectos mixtos también encontró diferencias significativas en las concentraciones de progesterona en las diferentes estaciones (Chi square = 28.56, DF = 3, $p < 0.01$). El DSH mostró diferencias significativas solo entre las estaciones: Sequía 2 vs.Lluvias 2 ($p < 0.01$). La estación con el nivel promedio más bajo fue lluvias 2 (Octubre, Noviembre, y Diciembre). Durante esta estación periodos de anestro fueron registrados entre 31 y 83 días. Las tres hembra mostraron picos de estradiol después de la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG). El análisis longitudinal no invasivo para los machos (Macho 1 y Macho 2) no mostró diferencias significativas en el curso del año de análisis. El análisis seminal de los tres machos adultos (*Panthera onca*) ($n = 3$) fue realizado por medio de electroeyaculación bajo anestesia general (Macho 1 and 2) y por lavado epididmal post mortem (Macho 3). La concentración media de espermatozoides encontrada fue $5.7 \times 10^6 \pm 1.1 \times 10^6$ espermatozoides/ml. La motilidad progresiva promedio fue de 80 %. El porcentaje de espermatozoides normales obtenidos por electro eyaculación + desviación estandar (DS) fue 80 ± 2.8%, y las anormalidades más frecuentemente encontradas fueron defectos de cabeza (7 ± 1.4%). El fluido obtenido en el lavado epididimal mostró 35 ± 1.4% de espermatozoides normales, y la anormalidad más frecuente fueron las gotas citoplasmáticas distales (39 ± 11.3%).

Palabras claves: Jaguar, estradiol, progesterona, testosterona, espermatozoide, endocrinología.

Abstract

A reproductive analysis of a captive group of jaguars (*Panthera onca*) (n = 6) at the Santacruz Zoological Foundation in Cundinamarca, Colombia, was conducted by performing a longitudinal, noninvasive, hormonal analysis of estradiol and progestogens in females and of androgens in males. During four seasons, female jaguars confined in solitary were evaluated for ovarian activity and spontaneous ovulation, male jaguars for testicular activity. A second hormonal follow-up was conducted in the females after administration of gonadotropins. Hormones were extracted from fecal samples of three females (n = 3) and two males (n = 2). Estradiol measurements were obtained by radioimmunoassay (RIA) and progestogens by enzyme immunoassay (EIA). The linear mixed-effect regression (LMER) showed that there was a significant effect of seasons in the concentrations of estradiol (Chi square = 15.97, DF = 3, $p < 0.01$). Post hoc comparisons of all pairs of seasonal means were conducted according to Tukey's honest significant difference (HSD), revealing significant differences between seasons: Dry 1 vs. Rains 2 ($p < 0.01$), Rains 1 vs. Rains 2 ($p < 0.05$), and Dry 2 vs. Rains 2 ($p < 0.05$). Elevations of progestogens compatible with spontaneous ovulation occurred in three jaguars and the LMER showed that there was also a significant effect of seasons (Chi square = 28.56, DF = 3, $p < 0.01$). Post hoc comparisons showed significant differences only between seasons: Dry 2 vs. Rains 2 ($p < 0.01$). The season with the lowest average concentration was Rains 2 (October, November, and December). During this season, periods of anestrous were registered that lasted between 31 and 83 days. The three females presented estradiol peaks after the administration of eCG. A noninvasive longitudinal analysis for androgens was also made (Males 1 and 2) over the course of one year, and no significant differences were found between the different seasons. A seminal analysis of three adult male jaguars (*Panthera onca*) (n = 3) was also performed after electro-ejaculation under general anesthesia (Male 1 and 2) and by a postmortem epididymal wash (Male 3). The mean concentration of spermatozoids was $5.7 \times 10^6 \pm 1.1 \times 10^6$ spermatozoa/ml. The progressive motility + SD averaged 80 %. The percentage of normal spermatozoids obtained by electro-ejaculation was 80 ± 2.8%, and the abnormalities found more frequently were head defects (7 ± 1.4%). The seminal fluid obtained by epididymal flush contained 35 ± 1.4% normal spermatozoids, and the most frequent abnormalities found corresponded to distal cytoplasmic droplets (39 ± 11.3%).

Key words: Jaguar, estradiol, progesterone, testosterone, spermatozoa, endocrinology

4.1 Introduction

The jaguar (*Panthera onca*) is the largest felid in the Americas. It is an emblematic animal for different cultures and an umbrella species that when protected provides protection to entire ecosystems. The jaguar is one of the most important top predators of Central and South America and has maintained the balance of tropical rain forest ecosystems for nearly three million years [1]. Nevertheless, this species has been classified as “near threatened” on the International Union for Conservation of Nature (IUCN) red list due to habitat reduction and fragmentation, illegal trafficking, and indiscriminate hunting [2]. Knowledge of the reproductive patterns of jaguars is a critical factor for predicting both the sustainability of their wild populations and the viability of reproductive programs in captivity [3].

Previous reproductive studies have focused on analyzing the seminal characteristics of male jaguars in Colombia [6], the analysis of the sperm production [10-12], and the interaction between endocrine and seminal level of jaguars in Brazil [7-9]. In female jaguars the estrous and ovarian activity was reported by Wildt et al. (1979) [4]. A more recent study by Barnes et al. (2015) characterized and manipulated the reproductive cycles in female jaguars showing spontaneous ovulation in this species, and multiple estrous cycles throughout the year and no notable seasonality. [5]. The hormonal characterization of the reproductive cycles of females has been conducted using noninvasive longitudinal monitoring techniques in feces of different species of felids in captivity, including the jaguar [4, 5], lions (*Panthera leo*), tigers (*Panthera tigris*), caracals (*Caracal caracal*), cheetahs (*Acinonyx jubatus*), and domestic cats (*Felis catus*) [13] to evaluate hypophysis-gonad function in lions roaming free in the Serengeti savannah and in the crater of the Ngorongoro [14, 15]. These noninvasive techniques permit learning about the physiological reproductive condition of animals found in zoological collections, with minimal human intervention, thus lowering animal stress and maintaining their well-being [16]. Some studies have determined the comparative aspects of hormonal metabolism and ovarian activity in leopard cats (*Felis bengalensis),* cheetahs*,* clouded leopards (*Neofelis nebulosa*) and snow leopards (*Uncia uncia*) [16].

Techniques such as radioimmunoassay (RIA) and enzyme immunoassay (EIA) allows the detection of hormonal metabolites. Its use has been successful in other felids such us tigers, lions, and caracals [13]; snow leopards [17]; clouded leopards [18] [19]; cheetahs [20]; ocelots (*Leopardus pardalis*) [21], margays (*Leopardus wieddi*) [21, 22], and oncilla (*Leopardus tigrinus*) [21] and jaguars [5, 8, 9]. Other studies have been conducted to evaluate the action of equine chorionic gonadotropin (eCG) as a promoter of follicular growth and human chorionic gonadotropin (hCG) as an inducer of ovulation in jaguars [5], clouded leopards [18, 19], domestic cats [13, 23-25], ocelots [26], cheetahs [19], snow leopards [27], and tigers [28, 29].

We conducted a one-year, noninvasive analysis through longitudinal hormonal monitoring for the reproductive hormones estradiol and progesterone in females and testosterone in males. We evaluated the action of equine chorionic gonadotropin (eCG) as a promoter of follicular growth and human chorionic gonadotropin (hCG) as an inducer of ovulation in jaguars. In addition, a seminal analysis was conducted, obtaining samples through electro-ejaculation protocols [30] and epididymal flush [31]. The objectives of this study were (1) to determine whether jaguars present seasonal changes in their reproductive

hormonal activity, (2) to determine whether jaguars ovulate spontaneously, (3) to determine whether the species responds to the administration of exogenous gonadotropins, and (4) to describe seminal characteristics in captive male jaguars.

4.2 Materials and methods

4.2.1 Animals

Reproductive characterization was conducted with a group of jaguars in captivity (*n* = 6) composed of three females (*n* = 3) and three males (*n* = 3) for a one year period at the Fundación Zoológico Santacruz (Santacruz Zoo Foundation) in the San Antonio del Tequendama municipality in the department of Cundinamarca, Colombia (latitude 4°35'0.65"N, longitude 74°20'1.25"W).

According to the Jaguar Regional Studbook for Colombia, Females 1 and 3 were born in captivity and Female 2 was born in the wild. Age range of the females was from 10 to 15 years. The weight average was 45.6 ± 2.5 (Female 1= 46 kg, Female 2 = 43 kg and Female 3 = 48 kg). Male 1 was born in captivity, Male 2 in the wild and the origin of Male 3 is unknown. The age range of the males was found to be between 10 and more than 20 years, with a weight average of 53 ± 2.6 (Male 1= 54 kg, Male 2 = 55 kg, Male 3 = 50 kg). All of the animals included in this study were in good health as well as in good physical condition. The jaguars were kept in individual confinement, with a separation den, tree trunks, and a bed to enrich the environment. All confinement spaces were outdoors. Due to the equatorial location, there are 12 hours of daylight with no seasonal variation throughout the year. The animals had access to fresh water *ad libitum* and were fed five times per week with horse or cow meat, bones, and other organs. All the protocols were reviewed and approved by the bioethics committee of the veterinary medicine department of the National University of Colombia. During the study, the oldest male (Male 3) died from natural causes and was excluded from the hormonal analysis but included in the seminal analysis.

4.2.2 Sample processing

Fecal samples were collected for a year from feces found in the enclosures of each jaguar; from two to seven samples (2 to 4 gr) per week were collected, depending on the frequency excreted. Plastic containers were employed for the collection of samples. Samples were frozen and stored at –20 ºC until the time of their processing. Fecal steroids were extracted from complete wet samples (*n* = 204) for males and (*n* = 411) for females, following the protocol described by Brown et al., 1994. Samples of 0.5 gr of feces were mixed by vortex with 5 ml of 90% ethanol for 3 minutes and then agitated in a Shaker Orbital-Thermo® for 3 hours at 37 ºC and then centrifuged in a Beckman Model J2-21 centrifuge at 3,000 rpm for 20 minutes. Supernatants were collected, dried, and suspended in 1 ml of methanol. A parallelism test of extracts of the feces was conducted, using a buffer (0.01 M PO4, 0.14 M NaCl, and 0.01% sodium azide Ph 7.0) to determine the proper dilutions for each immunoassay.

4.2.3 Analysis of females

Ovarian activity

The mean concentrations of estradiol and progesterone in the three female jaguars (*n* = 3) were compared to determine the seasonality of ovarian activity and to determine the presence of spontaneous ovulation through the presentation of non-pregnant luteal activity in four climatological seasons within the year as follows: (Dry 1: January, February, March; Rains 1: April, May, June; Dry 2: July, August, September; Rains 2: October, November, December) [32].

Induced ovarian activity

To induce ovarian activity, 300 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) (Folligon®) was administered intramuscularly (im), followed by 225 IU (im) of human chorionic gonadotropin (hCG; Chorulon®) 80 hours later. A daily noninvasive follow-up of hormones (estradiol and progesterone) was conducted from feces during a two-month period, as previously described, with the objective of assessing luteal activity [25].

Estradiol

Measurement of 17 β estradiol was conducted through radioimmunoassay, employing an ImmuChem™ Estradiol-17β^{125}I RIA kit, (ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, California, USA) (estradiol specificity 100%, sensitivity 95%. Cross reactivity estrone 6.2%, estriol 1.45%). To process the samples, a Beckman 5500 gamma counter was used. Data were processed using RIA PC software. The inter-assay coefficient of variation was 5%. The intra-assay coefficient of variation was < 10%, and the dilution used based on the parallelism test was 1:16.

Progesterone

Measurement of progesterone was conducted using an EIA-Steroid-Progesterone kit (DSI Italy) (progesterone specificity 100%, sensitivity 0.5 nmol/l. Cross reactivity 17-OH-progesterone 2.9%). Incubation was conducted in a Stat Fax® Incubator; for washing, a Stat Fax 2600 Microplate Washer was used, and the reading was done with an Agra Quant Stat Fax® EIA Reader. The inter-assay coefficient of variation was 6.3%, the intra-assay coefficient of variation was <10%, and the dilution used based on the parallelism test was 1:100.

4.2.4 Analysis of males

Testicular hormonal activity

Mean concentrations of testosterone were compared to determine patterns of seasonality in Males 1 and 2. The mean concentrations of testosterone were compared in four

seasons: (Rainy 1: April, May, June; Dry 2: July, August, September; Rainy 2: October, November, December; Dry 1: January, February, March) [32]. Measurement was conducted using an EIA-Steroid-Testosterone kit (DSI Italy). Incubation was conducted in a Stat Fax® Incubator. For the wash, the Stat Fax 2600 Microplate Washer was used, and the reading was done with an Agra Quant Stat Fax® EIA Reader. Testosterone specificity 100%, sensitivity 0.2 nmol/l. Cross reactivity dihydrotestosterone 4.8%, androstenedione 3.6%). The intra- and inter-assay coefficient of variation was < 10%, and the dilution used based on the parallelism test for testosterone was 1:16.

Seminal analysis

Seminal analysis from three male jaguars (*n* = 3) was conducted by means of electro-ejaculation in Males 1 and 2 and through an epididymal sperm flush *post mortem* in Male 3.

Anesthesia and electro-ejaculation

Males 1 and 2 were premedicated, using xylazine (AnaSed, 0.4 mg/kg. im), and the anesthesia was induced with ketamine hydrochloride (Imalgene, 4 mg/kg, im) [33]; maintenance was conducted with isoflurane (2% to 3%). A rectal probe (16 cm × 3 cm) and an electro-stimulator (Pulsator IV Auto Adjust ™ Lane Mfg. Inc., Denver, CO) were used to collect the semen samples. The sequence regime for electro-ejaculation consisted of 80 stimuli divided into three series; the first and second series consisted of 30 stimuli, the third one of 20 stimuli, each of which fluctuated between 4 and 6 volts [30, 34]. Samples were collected in 2 ml Eppendorf sterile tubes. The testicular volume was calculated with the formula $4/3\pi ABC$, where A = half the thickness, B = half the width, C = half the length [12].

Epididymal flush

A postmortem seminal analysis was carried out through an epididymal flush in Male 3. The procedure was conducted according to that described by Spindler et al. (1999). The body and the tail of the epididymis were preserved. The tail was placed inside an Eppendorf tube containing 0.5 ml of Ham F10–supplemented media with 1 nM pyruvate, 2 mM glutamine, and 100 IU of penicillin/streptomycin. Incubation was conducted at 38 ºC in 5% CO_2. After 30 minutes, the epididymal tissue was discarded, and the tube was centrifuged at 300 g for 8 minutes. The supernatant was removed, and the pellet was suspended in 50 µl of Ham F10 media.

Seminal assessment

To determine sperm vitality, an eosin nigrosine stain was performed. Concentration of sperm cells was determined in a Neubauer camera in a 1:200 dilution of distilled water. Morphology was determined in 100 cell counts. Mobility and progression rate were estimated subjectively with the aid of a light microscope at X100 and was expressed in a percentage of mobile spermatozoids [35].

4.3 Statistical analysis

4.3.1 Experimental design

The data obtained from hormonal monitoring were analyzed using linear mixed-effect regression (LMER) with the lme4 package [36] in the R statistical software environment [37]. Using this approach, we controlled for the influence of different mean ratings between animals without the need for data aggregation, as is the case in a traditional, repeated-measures analysis of variance (ANOVA). Season (i.e., Dry 1, Rainy 1, etc.) was entered in the model as a fixed effect. Jaguars (i.e., Female 1, Female 2, Female 3), on the other hand, were entered into the model as a random effect. Given that it is desirable to generalize the results beyond this sample and that variance due to jaguar was expected to be idiosyncratic, analysis according to LMER is appropriate to account for such variability. Significance testing was performed by Likelihood Ratio Tests of the full model, including the fixed effect of season, against a null model that did not include season. Post hoc pairwise comparisons of mean hormonal concentrations between seasons were conducted according to Tukey's HSD to control for Type I error rates. The full model was estimated as

$$y_{ij} = \beta_0 + \beta_{1j}Season_j + u_j + \varepsilon_{ij}$$

where:

y_{ij} is the concentration of the hormone measured in season *j* of *i* jaguar;

β_0 is the general mean;

β_{1j} is the estimate of the fixed effect of season *j*;

u_j is the variance of the random intercepts, $u_j \sim$ NID (0, τ^2_{00}); and

ε_{ij} is the random error among jaguars and $e_{ij} \sim$ NID (0, σ^2).

4.3.2 Descriptive statistics

The peak values were considered significant for elevations above the baseline +2 standard deviation (SD). The baseline values for the three hormones for each jaguar were calculated through an iterative process where high values that exceeded the mean +2 SD were excluded and removed temporarily from the database; the average of the remaining values was re-calculated, and the process of data removal was repeated until no value would exceed the mean +2 SD [25, 29, 38]. The remaining hormonal values were considered baseline concentrations. Progesterone peaks higher than the mean +2 SDs were considered significant and, in conjunction with other elevations above baseline concentrations, was interpreted as luteal activity. Estradiol peaks higher than the mean +2 SD was considered significant, and other elevations of estradiol above baseline concentrations (associated with estrous behavior) were interpreted as follicular activity.

The interval in days between estradiol with no luteal activity was calculated and interpreted as anovulatory cycles. Intervals between estradiol peaks with luteal activity were considered ovulatory cycles. In addition, for males, the variables analyzed for spermatic morphology were: normal spermatozoids, detached heads, proximal coiled

tails, distal coiled tails, proximal cytoplasmic droplets, distal cytoplasmic droplets, and head defects [39].

4.4 Results

4.4.1 Female analysis

Natural ovarian activity

For estradiol the mean baseline concentrations found was 1.35 ± 0.74 ng/gr (Female 1 = 1.08 ng/gr, Female 2 = 0.79 ng/gr, and Female 3 = 2.19 ng/gr). The total range was 0.13 to 313.80 ng/gr. The mean concentration of natural peaks for Female 1 was 28.13 ± 34.04 ng/gr, for Female 2 was 23.04 ± 38.15 ng/gr, and for Female 3 was 74.39 ± 72.17 ng/gr.

In the three females, non-pregnant luteal activity (spontaneous ovulation) was evidenced by the increase in peaks of progesterone. For progestogens the mean baseline concentrations was 17.76 ± 6.03 ng/gr (Female 1 = 15 ng/gr, Female 2 = 24.68 ng/gr, and Female 3 = 13.60 ng/gr). The mean concentration of natural peaks of progestogens for female 1 was 49.19 ± 19.77 ng/gr, for female 2 was 87.55 ± 27.71 ng/gr, and for female 3 was 77.73 ± 30.90 ng/gr. Non-pregnant luteal phases ranged between 14 and 67 days. Anestrous periods ranged between 31 and 83 days (Figure 1).

Induced ovarian activity

All animals responded to the administration of eCG as a promotor of follicular activity. The effect of gonadotropins was determined in the animals by the behavioral changes related to estrous (e.g., vocalizations, lordosis postures, etc.), which were registered on the days subsequent to the administration of gonadotropins. Estradiol peaks took place 7.30 ± 0.58 days after the application of the eCG, the mean concentration of induced peaks of estradiol ± SD for female 1 was 93.17 ± 129.02 ng/gr, for female 2 was 76.04 ± 144.65 ng/gr, and for female 3 was 94.48 ± 145.59 ng/gr. The average length of estrous was 2.67 ± 0.57 days. The highest peak reached during stimulation with eCG for Female 1 was 534.6 ng/g, for Female 2 was 737.1 ng/g, and for Female 3 was 699.9 ng/g; the total average found was 655.2 ng/g ± 105.6 (Figure 1).

The mean concentration of progestogens found during the trial using gonadotropins for female 1 was 48.10 ± 16.82 ng/gr, for female 2 was 88.03 ± 16.77 ng/gr, and for female 3 was 58.57 ± 30.35 ng/gr. In the three females, luteal activity was found before and after the administration of gonadotropins; In Female 1 before the administration of the gonadotropins a peak of estradiol was observed followed by luteal activity with progestogen peaks that exceeded the mean +2SD, suggesting that possible spontaneous ovulation occurred not triggered by the gonadotropin protocol but for a possible resumption of activity after a period of inactivity considered an anestrous phase.

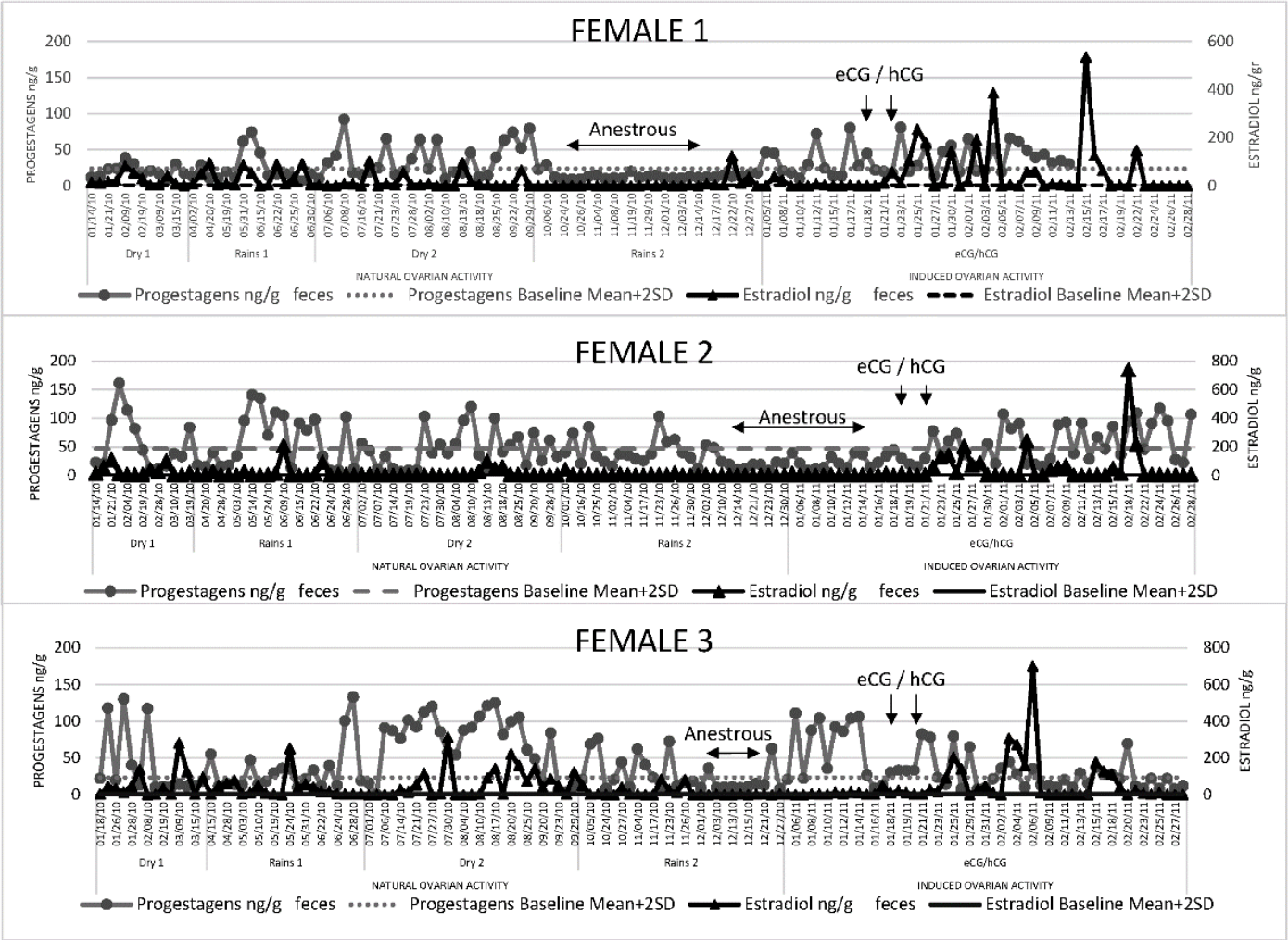


Figure 1. Natural and induced ovarian activity in three female Jaguars in captivity at the Santacruz zoological foundation.

Seasonality

The mean concentration of estradiol (ng/g ± SEM) for the season Dry 1 was 38.49 ± 8.70, for Rains 1 was 29.60 ± 6.44, for Dry 2 was 29.97 ± 6.30, and for Rains 2 was 8.18 ± 2.19. The LMER showed that there was a significant effect of seasons (Chi square = 15.97, DF = 3, p <0.01). Post hoc comparisons of all pairs of seasonal means was conducted according to Tukey's HSD, revealing significant differences between seasons: Dry 1 vs. Rains 2 (p < 0.01), Rains 1 vs. Rains 2 (p < 0.05), and Dry 2 vs. Rains 2 (p < 0.05). The season with the lowest average concentration was Rains 2 (October, November, and December). The mean concentration of progestogens (ng/g ± SEM) for the season Dry 1 was 39.22 ± 6.48, for Rains 1 was 40.49 ± 5.06, for Dry 2 was 52.38 ± 3.95, and for Rains 2 was 25.39 ± 2.30. The LMER showed that there was a significant effect of seasons (Chi square = 28.56, DF = 3, p < 0.01). Post hoc comparisons of all pairs of seasonal means were conducted according to Tukey's HSD, revealing significant differences between seasons: Dry 2 vs. Rains 2 (p < 0.01). No significant differences were found between other pairs of seasons. The season with the lowest average concentration was Rains 2 (October, November, and December) (Figure 2).

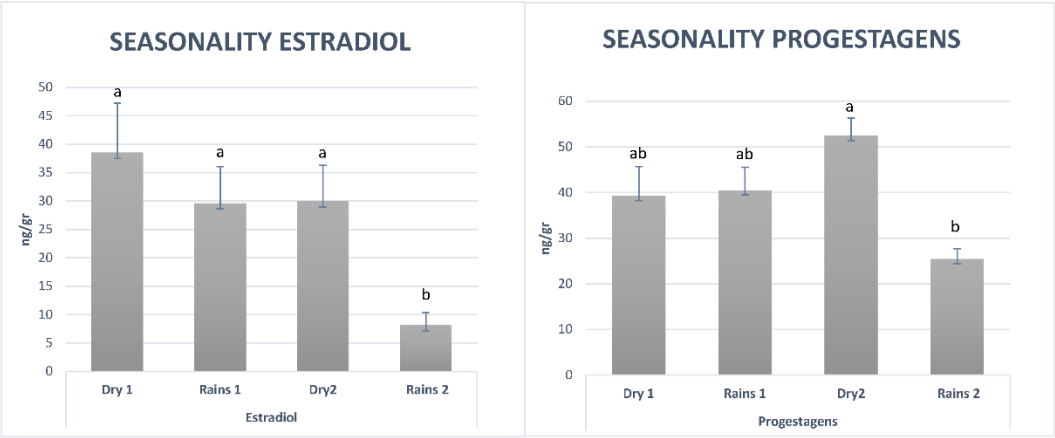


Figure 2. In the left, mean estradiol concentrations + SEM in captive female jaguars (n=3) in different seasons, different letters (a, b) indicate significant differences (p<0.01). In the right, mean progestogens concentrations + SEM in different seasons, different letters (a, b) indicate significant differences (p<0.05).

1.4.2 Male analysis

Testicular activity

Mean baseline concentrations of testosterone for Male 1 were 6.3 ± 0.9 ng/g with a 4.0 to 59.3 ng/g range. For Male 2, mean baseline concentrations of testosterone were 6.30 ± 0.57 ng/g; the range was 5.2 to 21.8 ng/g. Average values found for testosterone concentrations within a one-year period for the two jaguars were 8.6 ± 5.7 ng/g. In Male 1, the levels of testosterone remained below baseline levels during the months of

September and October; then increased over baseline levels for two weeks with another period of inactivity between the months of November and December, corresponding to the second rainy season (Rains 2). No significant differences were found between the mean concentrations of testosterone for each of the different seasons.

Seminal analysis

Ejaculations from Male 1 and from Male 2 were obtained through electro-ejaculation and from Male 3 through an epididymal flush, with one sample for each animal. The volume obtained was between 1.5 and 2.5 ml; the mean concentration of spermatozoids was 5.7 x 10^6 ± 1.1 x 10^6 spermatozoa per ml. As for the percentage of progressive motility of the two semen samples obtained, an average of 80% was found.

The percentage of normal spermatozoids from the samples obtained by electro-ejaculation was 80 ± 2.8%. Abnormalities most frequently found corresponded to head defects 7 ± 1.4%, distal coiled tails 4.5 ± 4.9%, proximal coiled tails 3.5 ± 2.1%, detached heads 2.5 ± 0.7%, proximal cytoplasmic droplets 1.5 ± 0.7%, and distal cytoplasmic droplets 1 ± 1.4%.

Epididymal flush

The seminal fluid obtained by epididymal flush contained 35 ± 1.4% normal spermatozoids. Most frequent abnormalities found corresponded to distal cytoplasmic droplets 39 ± 11.3%, distal coiled tails 7%, proximal coiled tails 5 ± 3.5%, proximal cytoplasmic droplets 5.5 ± 4.9%, detached heads 3.5 ± 2.1%, and head defects 1 ± 1.4%.

Discussion

To understand the reproductive physiology of the jaguar, we performed a series of analyses to determine whether jaguars present seasonal changes in their reproductive hormonal activity, if ovulation could be spontaneous without the presence of the male, to determine whether the species responds to the administration of exogenous gonadotropins, and to describe seminal characteristics in male jaguars.

This is the first study that describes seasonal differences for both estradiol and progesterone through the year of 2010 in female jaguars and contrast with Barnes et al. (2015) were no seasonal patterns were detected. Data obtained from the noninvasive analysis of female jaguars' reproductive hormones revealed significant differences between the seasons; the lowest ovarian activity was observed between October and December. During this season, artificially induced ovarian activity would be more likely to succeed because the ovaries are in a resting phase. Between January and March, the ovarian activity is moderate, and the highest activity occurred between April and September, this season being most favorable for natural controlled reproductions if the population management plan for the species in captivity requires it.

The other striking finding was the presence of an anestrous period in the three females studied; this anestrous period was present in the fourth season, also between October and December. During this period, a decrease in peak tendency was observed. Other researchers have found that despite the fact that in tropical conditions the photoperiod is constant, Johnston et al. (1994) found that the anestrous period is a very important

component in the annual reproductive cycles and is affected by seasons more than the relation of light hours during the day. In countries with seasons, anestrous has been reported in several species of felids such as tigers [29] and cheetahs [20] during winter (November to January). Data in this study also suggests a seasonal pattern for jaguars in tropical environments and that hormonal variations mostly depend on idiosyncratic aspects of each jaguar.

In addition, we found evidence of luteal activity during the year of study. The concentration of progesterone found in EIA tests confirmed the presentation of non-pregnant luteal activity for the three females confined alone, suggesting that spontaneous ovulations occurred in this way, it was proven that female jaguars may present multiple spontaneous ovulations during a year, similar to the findings that Barnes et al. (2015) reported in their study of female jaguars. The results of this study contrast with the results published by Wildt et al. (1979), where no spontaneous ovulations were detected in a female jaguar, it was reported that ovulations were triggered only by the administration of hCG or the luteinizing hormone (LH). Due to these findings, we can infer that female jaguars can present estrual cycles either with or without spontaneous ovulations that correspond to ovulatory or anovulatory cycles, respectively. Spontaneous ovulations have been also reported in studies conducted in clouded leopards [18, 19].

We also found evidence of ovarian activity during the protocols with gonadotropins. Estradiol peaks were found after the administration of eCG to the three females, suggesting follicular growth and activity. Longitudinal analysis by RIA showed that changes in fecal concentrations of estradiol were related with estrus presentation or after the administration of exogenous gonadotropins. This study proved the efficacy of eCG as follicular growth agent in the three females, evidenced in the presentation of estradiol peaks. We were able to induce follicular activity at a lower dose (300 IU) than the one reported by Barnes et al. (2015) (600 IU). With this new information we can conclude that a range between 300 and 600 IU of eCG is effective to promote follicular development in female jaguars. It is important to consider that the doses to induce follicular development and ovulation are specific for each species; for example, in ocelots, the doses used were higher relative to other species [26]. Results found in clouded leopards [19] and Siberian tigers (*Panthera tigris altaica*) [28] showed that eCG worked as an analogue of the FSH as a growth promoter and follicular developer similar to our findings and the reports of Barnes et al. (2015) in jaguars. As for ovulation induction, it was not clear if the females responded to hCG as an analogue of the LH as demonstrated in studies in other felid species including the jaguar [5, 16, 18-20, 24, 26-29]. It was not fully determined because progesterone peaks were found before the administration of the gonadotropins. It was unclear whether the progestogens elevation found corresponded to a previous natural spontaneous ovulation or the action of the gonadotropin. To avoid this possibility, other researchers had used an inhibitor of ovarian activity such as a progestin implant at least two weeks before starting a protocol (Howard personal communication, 2009). After removing the implant, progesterone levels will decrease, and the ovaries will be prepared for the action of the follicular stimulant hormone (FSH) or eCG as follicular development promoters. On the other hand, it is important to point out that the effect of cumulative previous progestin protocols may be a predisposing factor to cystic endometrial hyperplasia that could directly affect implantation [35].

In the case of the males, our analysis detected the presence of testosterone metabolites by EIA test, confirming testicular activity in lower levels than those detected by RIA in other studies reported for jaguars in Brazil [8, 9]. The results of the seasonality analysis of the males' testosterone were similar to the results found in Brazil through RIA. In both studies, no significant differences ($p > 0.05$) in endocrine-testicular function during seasons were found. However, Morato et al. (2004) reported that fecal androgen concentration differed ($p < 0.05$) between dry and wet seasons. To understand this difference, more research is suggested, preferably including more individuals in future investigations.

The seminal evaluation results contrast with the findings in the other trials in Colombian captive jaguars [6] and in the Brazilian as well [7]. In this study, seminal volume obtained through electro-ejaculation and the average concentrations of sperm per ml were lower than the values reported for the species by Oyuela et al. (2004) and by Morato et al. (2001). Higher percentage levels in progressive motility 80% were found when compared to other reported values such as 48 ± 23% [6], 64 ± 2.4% [7], and 57.0 ± 4.5% [9]. A lower percentage in sperm abnormalities were also found: 20 ± 2.8 vs 38.9 ±12 [6] and 30 ± 0.9 [7]. This low abnormality percentage contrasts with high values of pleiomorphisms found in other felid species such as cheetahs [39-41], clouded leopards [34, 42], snow leopards [43-45], bobcats (*Lynx rufus*) [46], ocelots, margays (*Leopardus wiedi*), and oncillas (*Leopardus tigrina*) [21, 47]. It was also observed that the epididymal flush of Male 3 presented the highest levels of abnormalities, with distal cytoplasmic droplets the most frequent abnormality. This secondary abnormality [35] has been previously reported in analyses of sperm obtained of domestic cats' epididymis and has been associated with their sperm aging process observed in serial ejaculates, in which the presence of distal cytoplasmic droplets was significantly reduced in the second ejaculate, 5 to 10 min after the first [48]. However, similar assays on cheetahs, when the seminal test was performed at a 48-hour interval, did not show differences in the sperm abnormality proportion, which suggests the existence of other factors that may directly affect the sperm morphology related to the genetic diversity levels present in the *Acinonyxinae* family [49]. Based on this, we can infer that the high level of normal spermatozoa found in jaguars is a good indication of their genetic diversity.

As a summary, the present study established a baseline knowledge of jaguars' physiology of reproduction as the pillars of a reproductive management program based on population management and genetic analysis. The results of this study open doors to future investigations in multiple fields such as artificial insemination, in vitro fertilization, embryo transfers, and gamete cryopreservation. Studies of this nature can facilitate and contribute to the maintenance of genetic variability of captive populations while decreasing movement of live animals between institutions. The success of these techniques presents a serious alternative to ex situ conservation for jaguars.

4.5 Conclusions

This study, conducted in a Colombian zoological park, found that female jaguars presented seasonal differences in ovarian activity during the year of 2010.

During the year of this study, multiple non-pregnant luteal phases were found in female jaguars isolated from males, suggesting that multiple spontaneous ovulations occurred.

The females responded to the administration of eCG as a follicular promoter and it was unclear if ovulation was triggered by the action of hCG.

The anesthetic and electro-ejaculation protocols worked properly to obtain the seminal samples from captive jaguars and may be used for the establishment of gamete banks.

Testicular activity occurs regularly during the year, and low levels of abnormal spermatozoa were found compared with other felid species.

4.6 Acknowledgments

The authors acknowledge the following institutions and people: at the National University of Colombia, the Postgraduate Assessor Committee, the Laboratory of Andrology, the Clinical Laboratory, Dr. Carlos Moreno, and the Hormonal Laboratory, Amparo Cortés; at SCBI Smithsonian Institute, the Smithsonian Women's Committee, Dr. David Wildt, Dr. Budhan Pukazhenthi, Nicole Presley, Sarah Putman, and Jenny Santiestevan; the Santacruz Zoological Foundation, Sandra Gómez and John Vidal; at DSI Italy, Dr. Carolina Ramírez, Dr. Viviana Becerra, and Dr. Alejandro Urbina. We also thank Dr. Alberto Sanchez, Dr. Astrid Rubiano, Dr. Angélica Giraldo, Dr. Bernardo Mesa, Dr. Fernando Ariza, Dr. Carlos Manrique, Julia González, Carlos Soles, David Jiménez, Diana Rubio, Liz Rubio, Jorge Iván Dávila, Dr. Daniel Acosta, Dr. Pedro Gamboa, Consuelo Espinel, Luke Dykes, Bridget Robin-Pool, Grete Wilson-Henjum, Dr. David Tuthill, Dr. Matthew Gushta, Jennifer Soles and Serena A. Barnes.

References

[1] Johnson WE, Eizirik E, Pecon-Slattery J, Murphy WJ, Antunes A, Teeling E, et al. The late Miocene radiation of modern Felidae: a genetic assessment. Science. 2006;311:73-7.
[2] IUCN [International Union for Conservation of Nature and Natural Resources]. IUCN Red List of Threatened Species. IUCN G, Switzerland. IUCN official website (www.redlist.org) 2011.
[3] Comizzoli P, Crosier AE, Songsasen N, Gunther MS, Howard JG, Wildt DE. Advances in reproductive science for wild carnivore conservation. Reprod Domest Anim. 2009;44 Suppl 2:47-52.
[4] Wildt DE, Platz CC, Chakraborty PK, Seager SW. Oestrous and ovarian activity in a female jaguar (*Panthera onca*). J Reprod Fertil. 1979;56:555-8.
[5] Barnes SA, Andrew Teare J, Staaden S, Metrione L, Penfold LM. Characterization and manipulation of reproductive cycles in the jaguar (*Panthera onca*). Gen Comp Endocrinol. 2016;225:95-103.
[6] Oyuela A KP, Gaviria M, Arias L. Recolección, Evaluación y Criopreservación del Semen de Jaguares (*Panthera onca*). Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de la Salle. 2004.
[7] Morato RG, Conforti VA, Azevedo FC, Jacomo AT, Silveira L, Sana D, et al. Comparative analyses of semen and endocrine characteristics of free-living versus captive jaguars (Panthera onca). Reproduction. 2001;122:745-51.
[8] Morato RG, Bueno MG, Malmheister P, Verreschi IT, Barnabe RC. Changes in the fecal concentrations of cortisol and androgen metabolites in captive male jaguars (*Panthera onca*) in response to stress. Braz J Med Biol Res. 2004;37:1903-7.
[9] Morato RG, Verreschi IT, Guimaraes MA, Cassaro K, Pessuti C, Barnabe RC. Seasonal variation in the endocrine-testicular function of captive jaguars (*Panthera onca*). Theriogenology. 2004;61:1273-81.
[10] Azevedo MH, Paula TA, Balarini MK, Matta SL, Peixoto JV, Guiao Leite FL, et al. Organization and quantification of the elements in the intertubular space in the adult jaguar testis (Panthera onca, LINNAEUS, 1758). Micron. 2008;39:1166-70.
[11] Costa GM, Chiarini-Garcia H, Morato RG, Alvarenga RL, Franca LR. Duration of spermatogenesis and daily sperm production in the jaguar (*Panthera onca*). Theriogenology. 2008;70:1136-46.
[12] de Azevedo MH, de Paula TA, Matta SL, Fonseca CC, da Costa EP, Costa DS, et al. Cell population indexes of spermatogenic yield and testicular sperm reserves in adult jaguars (*Panthera onca*). Anim Reprod Sci. 2010;118:83-8.
[13] Graham LH, Raeside JI, Goodrowe KL, Liptrap RM. Measurements of faecal oestradiol and progesterone in non-pregnant and pregnant domestic and exotic cats. J Reprod Fertil Suppl. 1993;47:119-20.
[14] Brown JL, Bush M, Packer C, Pusey AE, Monfort SL, O'Brien SJ, et al. Developmental changes in pituitary-gonadal function in free-ranging lions (*Panthera leo leo*) of the Serengeti Plains and Ngorongoro Crater. J Reprod Fertil. 1991;91:29-40.
[15] Brown JL, Bush M, Packer C, Pusey AE, Monfort SL, O'Brien SJ, et al. Hormonal characteristics of free-ranging female lions (*Panthera leo*) of the Serengeti Plains and Ngorongoro Crater. J Reprod Fertil. 1993;97:107-14.
[16] Brown JL, Wasser SK, Wildt DE, Graham LH. Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. Biol Reprod. 1994;51:776-86.

[17] Schmidt AM, Hess DL, Schmidt MJ, Lewis CR. Serum concentrations of oestradiol and progesterone and frequency of sexual behaviour during the normal oestrous cycle in the snow leopard (*Panthera uncia*). J Reprod Fertil. 1993;98:91-5.
[18] Brown JL, Wildt DE, Graham LH, Byers AP, Collins L, Barrett S, et al. Natural versus chorionic gonadotropin-induced ovarian responses in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*) assessed by fecal steroid analysis. Biol Reprod. 1995;53:93-102.
[19] Howard JG, Roth TL, Byers AP, Swanson WF, Wildt DE. Sensitivity to exogenous gonadotropins for ovulation induction and laparoscopic artificial insemination in the cheetah and clouded leopard. Biol Reprod. 1997;56:1059-68.
[20] Brown JL, Wildt DE, Wielebnowski N, Goodrowe KL, Graham LH, Wells S, et al. Reproductive activity in captive female cheetahs (*Acinonyx jubatus*) assessed by faecal steroids. J Reprod Fertil. 1996;106:337-46.
[21] Morais RN, Mucciolo RG, Gomes ML, Lacerda O, Moraes W, Moreira N, et al. Seasonal analysis of semen characteristics, serum testosterone and fecal androgens in the ocelot (*Leopardus pardalis*), margay (*L. wiedii*) and tigrina (*L. tigrinus*). Theriogenology. 2002;57:2027-41.
[22] N. M. Reproduction in small female felids: Iowa State University Press; 2001.
[23] Swanson WF, Horohov DW, Godke RA. Production of exogenous gonadotrophin-neutralizing immunoglobulins in cats after repeated eCG-hCG treatment and relevance for assisted reproduction in felids. J Reprod Fertil. 1995;105:35-41.
[24] Swanson WF, Wolfe BA, Brown JL, Martin-Jimenez T, Riviere JE, Roth TL, et al. Pharmacokinetics and ovarian-stimulatory effects of equine and human chorionic gonadotropins administered singly and in combination in the domestic cat. Biol Reprod. 1997;57:295-302.
[25] Graham LH, Swanson WF, Brown JL. Chorionic gonadotropin administration in domestic cats causes an abnormal endocrine environment that disrupts oviductal embryo transport. Theriogenology. 2000;54:1117-31.
[26] Swanson WF, Howard JG, Roth TL, Brown JL, Alvarado T, Burton M, et al. Responsiveness of ovaries to exogenous gonadotrophins and laparoscopic artificial insemination with frozen-thawed spermatozoa in ocelots (*Felis pardalis*). J Reprod Fertil. 1996;106:87-94.
[27] Roth TL, Armstrong DL, Barrie MT, Wildt DE. Seasonal effects on ovarian responsiveness to exogenous gonadotrophins and successful artificial insemination in the snow leopard (*Uncia uncia*). Reprod Fertil Dev. 1997;9:285-95.
[28] Crichton EG, Bedows E, Miller-Lindholm AK, Baldwin DM, Armstrong DL, Graham LH, et al. Efficacy of porcine gonadotropins for repeated stimulation of ovarian activity for oocyte retrieval and in vitro embryo production and cryopreservation in Siberian tigers (*Panthera tigris altaica*). Biol Reprod. 2003;68:105-13.
[29] Graham LH, Byers AP, Armstrong DL, Loskutoff NM, Swanson WF, Wildt DE, et al. Natural and gonadotropin-induced ovarian activity in tigers (*Panthera tigris*) assessed by fecal steroid analyses. Gen Comp Endocrinol. 2006;147:362-70.
[30] Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Van Dyk A, et al. Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. Biol Reprod. 1983;29:1019-25.
[31] Spindler RE, Wildt DE. Circannual variations in intraovarian oocyte but not epididymal sperm quality in the domestic Cat. Biol Reprod. 1999;61:188-94.

[32] IDEAM. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Boletín informativo sobre el monitoreo del fenómeno de "el niño y la niña". 2010;No. 7-24.
[33] Jiménez-González S MW. Manejo y anestesia en cinco especies de félidos en cautiverio en parques zoológicos de Colombia. Revista UDCA, Actualidad y Divulgación Científica. 2004;6:73-83.
[34] Wildt DE, Howard JG, Hall LL, Bush M. Reproductive physiology of the clouded leopard: I. Electroejaculates contain high proportions of pleiomorphic spermatozoa throughout the year. Biol Reprod. 1986;34:937-47.
[35] Johnston DJ KM, Olson P. Breeding management, artificial insemination, in vitro fertilization and embryo transfer in the queen. In Canine and Feline Theriogenology. Ed. Saunders. Philadelphia. United States. 2001:406-13.
[36] Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. 2015. 2015;67:48.
[37] Team RDC. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing; 2015.
[38] Santymire RM, Brown JL, Stewart RA, Santymire RC, Wildt DE, Howard J. Reproductive gonadal steroidogenic activity in the fishing cat (*Prionailurus viverrinus*) assessed by fecal steroid analyses. Anim Reprod Sci. 2011;128:60-72.
[39] Crosier AE, Henghali JN, Howard J, Pukazhenthi BS, Terrell KA, Marker LL, et al. Improved quality of cryopreserved cheetah (*Acinonyx jubatus*) spermatozoa after centrifugation through Accudenz. J Androl. 2009;30:298-308.
[40] Wildt DE, O'Brien SJ, Howard JG, Caro TM, Roelke ME, Brown JL, et al. Similarity in ejaculate-endocrine characteristics in captive versus free-ranging cheetahs of two subspecies. Biol Reprod. 1987;36:351-60.
[41] Terrell KA, Wildt DE, Anthony NM, Bavister BD, Leibo SP, Penfold LM, et al. Evidence for compromised metabolic function and limited glucose uptake in spermatozoa from the teratospermic domestic cat (*Felis catus*) and cheetah (*Acinonyx jubatus*). Biol Reprod. 2010;83:833-41.
[42] Howard JG, Wildt DE. Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. Theriogenology. 2009;71:130-48.
[43] Johnston LA, Armstrong DL, Brown JL. Seasonal effects on seminal and endocrine traits in the captive snow leopard (*Panthera uncia*). J Reprod Fertil. 1994;102:229-36.
[44] Roth TL, Howard JG, Donoghue AM, Swanson WF, Wildt DE. Function and culture requirements of snow leopard (*Panthera uncia*) spermatozoa in vitro. J Reprod Fertil. 1994;101:563-9.
[45] Roth TL, Swanson WF, Collins D, Burton M, Garell DM, Wildt DE. Snow leopard (*Panthera uncia*) spermatozoa are sensitive to alkaline pH, but motility in vitro is not influenced by protein or energy supplements. J Androl. 1996;17:558-66.
[46] Gañán N, González R, Sestelo A, Garde JJ, Sánchez I, Aguilar JM, et al. Male reproductive traits, semen cryopreservation, and heterologous in vitro fertilization in the bobcat (*Lynx rufus*). Theriogenology. 2009;72:341-52.
[47] Swanson WF, Brown JL. International training programs in reproductive sciences for conservation of Latin American felids. Anim Reprod Sci. 2004;82-83:21-34.
[48] Axner E, Strom B, Linde-Forsberg C. Sperm morphology is better in the second ejaculate than in the first in domestic cats electroejaculated twice during the same period of anesthesia. Theriogenology. 1997;47:929-34.
[49] Pukazhenthi BS, Neubauer K, Jewgenow K, Howard J, Wildt DE. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. Theriogenology. 2006;66:112-21.

A. APENDICE 1

ESTRADIOL

```
Linear mixed model fit by REML ['lmerMod']
Formula: Estradiol ~ 1 + (1 | Jaguar)
   Data: dat
REML criterion at convergence: 2675.6
Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-0.8622 -0.3992 -0.2968  0.0100  6.0988
Random effects:
 Groups   Name        Variance Std.Dev.
 Jaguar   (Intercept)  191.9   13.85
 Residual             2029.7   45.05
Number of obs: 256, groups:  Jaguar, 3
Fixed effects:
            Estimate Std. Error t value
(Intercept)   24.134      8.481   2.846
Linear mixed model fit by REML ['lmerMod']
Formula: Estradiol ~ 1 + Season + (1 | Jaguar)
   Data: dat
REML criterion at convergence: 2642.4
Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-1.1461 -0.4851 -0.3351  0.0731  6.1371
Random effects:
 Groups   Name        Variance Std.Dev.
 Jaguar   (Intercept)  180.5   13.44
 Residual             1929.8   43.93
Number of obs: 256, groups:  Jaguar, 3
Fixed effects:
              Estimate Std. Error t value
(Intercept)     37.995     10.473   3.628
SeasonRainy 1   -8.688      9.166  -0.948
SeasonDry 2     -8.206      8.598  -0.954
SeasonRainy 2  -29.411      8.548  -3.441
Correlation of Fixed Effects:
            (Intr) SsnRn1 SsnDr2
SeasonRany1 -0.515
SeasonDry 2 -0.550  0.628
SeasonRany2 -0.553  0.632  0.674
Data: dat
Models:
fit.0: Estradiol ~ 1 + (1 | Jaguar)
fit.1: Estradiol ~ 1 + Season + (1 | Jaguar)
      Df    AIC    BIC  logLik deviance  Chisq Chi Df Pr(>Chisq)
fit.0  3 2687.5 2698.1 -1340.8   2681.5
```

```
fit.1  6 2677.5 2698.8 -1332.8   2665.5 15.973      3   0.001148 **
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

          Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts
Fit: lmer(formula = Estradiol ~ 1 + Season + (1 | Jaguar), data = dat)
Linear Hypotheses:
                     Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
Rainy 1 - Dry 1 == 0    -8.6882     9.1656  -0.948  0.77714
Dry 2 - Dry 1 == 0      -8.2060     8.5979  -0.954  0.77351
Rainy 2 - Dry 1 == 0   -29.4113     8.5479  -3.441  0.00313 **
Dry 2 - Rainy 1 == 0     0.4822     7.6820   0.063  0.99991
Rainy 2 - Rainy 1 == 0 -20.7231     7.6233  -2.718  0.03254 *
Rainy 2 - Dry 2 == 0   -21.2053     6.9271  -3.061  0.01160 *
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
(Adjusted p values reported -- single-step method)
```

B. APENDICE 2

PROGESTERONA

```
Linear mixed model fit by REML ['lmerMod']
Formula: Progesterone ~ 1 + (1 | Jaguar)
   Data: dat
REML criterion at convergence: 2517.9
Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-1.2378 -0.7873 -0.3122  0.4959  3.4719

Random effects:
 Groups   Name        Variance Std.Dev.
 Jaguar   (Intercept)  146.8   12.12
 Residual             1090.8   33.03
Number of obs: 256, groups:  Jaguar, 3

Fixed effects:
            Estimate Std. Error t value
(Intercept)   38.709      7.294   5.307
Linear mixed model fit by REML ['lmerMod']
Formula: Progesterone ~ 1 + Season + (1 | Jaguar)
   Data: dat

REML criterion at convergence: 2474.1

Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-1.7439 -0.6830 -0.2126  0.4458  3.6397

Random effects:
 Groups   Name        Variance Std.Dev.
 Jaguar   (Intercept) 148.5    12.19
 Residual             986.0    31.40
Number of obs: 256, groups:  Jaguar, 3

Fixed effects:
             Estimate Std. Error t value
(Intercept)    38.7467     8.6489   4.480
SeasonRainy 1   0.3987     6.5517   0.061
SeasonDry 2    13.5767     6.1458   2.209
SeasonRainy 2 -13.4867     6.1102  -2.207

Correlation of Fixed Effects:
            (Intr) SsnRn1 SsnDr2
SeasonRany1 -0.446
```

```
SeasonDry 2 -0.476  0.628
SeasonRany2 -0.479  0.632  0.674
Data: dat
Models:
fit.0: Progesterone ~ 1 + (1 | Jaguar)
fit.1: Progesterone ~ 1 + Season + (1 | Jaguar)
     Df    AIC    BIC  logLik deviance  Chisq Chi Df Pr(>Chisq)
fit.0  3 2529.5 2540.1 -1261.7   2523.5
fit.1  6 2506.9 2528.2 -1247.5   2494.9 28.568      3   2.76e-06 ***
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

           Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts
Fit: lmer(formula = Progesterone ~ 1 + Season + (1 | Jaguar), data = dat)
Linear Hypotheses:
                     Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
Rainy 1 - Dry 1 == 0     0.3987     6.5517   0.061   0.9999
Dry 2 - Dry 1 == 0      13.5767     6.1458   2.209   0.1193
Rainy 2 - Dry 1 == 0   -13.4867     6.1102  -2.207   0.1198
Dry 2 - Rainy 1 == 0    13.1780     5.4914   2.400   0.0762 .
Rainy 2 - Rainy 1 == 0 -13.8854     5.4494  -2.548   0.0518 .
Rainy 2 - Dry 2 == 0   -27.0634     4.9516  -5.466   <0.001 ***
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
(Adjusted p values reported -- single-step method)
```

C. APENDICE 3

TESTOSTERONA

```
Linear mixed model fit by REML ['lmerMod']
Formula: Testosterone ~ 1 + (1 | Jaguar)
   Data: dat
REML criterion at convergence: 1285
Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-0.8542 -0.4450 -0.2870  0.0784  8.7861
Random effects:
 Groups   Name        Variance Std.Dev.
 Jaguar   (Intercept)  0.5155  0.718
 Residual             32.8751  5.734
Number of obs: 203, groups:  Jaguar, 2
Fixed effects:
            Estimate Std. Error t value
(Intercept)   8.5616     0.6494   13.18
Linear mixed model fit by REML ['lmerMod']
Formula: Testosterone ~ 1 + Season + (1 | Jaguar)
   Data: dat
REML criterion at convergence: 1272.6
Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-1.0484 -0.4157 -0.2520  0.0738  8.6866
Random effects:
 Groups   Name        Variance Std.Dev.
 Jaguar   (Intercept)  0.4117  0.6417
 Residual             32.3276  5.6857
Number of obs: 203, groups:  Jaguar, 2

Fixed effects:
             Estimate Std. Error t value
(Intercept)     8.2405     0.7793  10.574
SeasonRainy 1   1.9352     1.3036   1.485
SeasonDry 2     1.3664     1.0299   1.327
SeasonRainy 2  -1.0100     1.0359  -0.975

Correlation of Fixed Effects:
            (Intr) SsnRn1 SsnDr2
SeasonRany1 -0.389
SeasonDry 2 -0.500  0.295
SeasonRany2 -0.496  0.294  0.375
Data: dat
Models:
```

```
fit.0: Testosterone ~ 1 + (1 | Jaguar)
fit.1: Testosterone ~ 1 + Season + (1 | Jaguar)
     Df    AIC    BIC  logLik deviance  Chisq Chi Df Pr(>Chisq)
fit.0  3 1291.6 1301.5 -642.81   1285.6
fit.1  6 1290.9 1310.8 -639.46   1278.9 6.6925      3    0.08237 .
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

          Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts


Fit: lmer(formula = Testosterone ~ 1 + Season + (1 | Jaguar), data = dat)

Linear Hypotheses:
                     Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
Rainy 1 - Dry 1 == 0     1.9352     1.3036   1.485    0.442
Dry 2 - Dry 1 == 0       1.3664     1.0299   1.327    0.541
Rainy 2 - Dry 1 == 0    -1.0100     1.0359  -0.975    0.760
Dry 2 - Rainy 1 == 0    -0.5689     1.4032  -0.405    0.977
Rainy 2 - Rainy 1 == 0  -2.9452     1.4065  -2.094    0.152
Rainy 2 - Dry 2 == 0    -2.3763     1.1548  -2.058    0.164
(Adjusted p values reported -- single-step method)
```

5. Conclusiones generales

Al realizar la caracterización demográfica y genética de la población de jaguares cautivos en Colombia se ha abierto la posibilidad de implementar un plan de sostenible de conservación *ex situ* para la especie que permitirá contar a futuro con una población modelo, genéticamente variable y con alto potencial reproductivo. Esta población estará en capacidad de servir como reservorio genético en caso de extinción de poblaciones y como una población proveedora de gametos viables de fácil acceso para ser usado en casos de revitalización de poblaciones silvestres.

Los hallazgos encontrados en el análisis demográfico han permitido realizar las futuras proyecciones a nivel tanto genético como reproductivo para la población cautiva. Estableciendo metas reproductivas concretas y realizando simulaciones computacionales de apareamientos y cruces controlados para estimar el mantenimiento del 90% de la variabilidad genética de la población por un periodo de 100 años.

La realización de programas de análisis genéticos en las colecciones presentes en cautiverio contribuye a la conservación de especies amenazadas mediante el mantenimiento de poblaciones viables como reservorios genéticos que pueden ser usados periódicamente para reforzar, revitalizar o restablecer poblaciones cautivas y en casos necesarios poblaciones silvestres con baja variabilidad genética. También permite la identificación de subespecies que aunque fenotípicamente parezcan similares tienen orígenes geográficos diferentes y han sufrido un proceso de especiación particular. El alcance de la instauración de programas de investigaciones genéticas en los parques zoológicos, centros de rehabilitación de fauna, contribuye al ordenamiento de las colecciones cautivas, brindando herramientas claras frente al movimiento de especímenes de un lugar a otro para garantizar procesos reproductivos eficientes y viables, y así mismo como la liberación de animales después de procesos de rehabilitación en zonas correspondientes al origen natural genético de sus congéneres.

Los resultados del análisis genético del Studbook Regional de Jaguares para Colombia en el programa PM2000 muestra claramente que la población actual de jaguares colombianos está compuesta por ejemplares adultos mayores. Esto indica que en los años futuros podría presentarse un declive poblacional en los jaguares cautivos en Colombia. También se encuentra que en la población hay un déficit de machos si se considera que la relación de machos hembras debería ser de 1:1.

La realización de programas de análisis genéticos en las colecciones presentes en cautiverio contribuye a la conservación de especies amenazadas mediante el mantenimiento de poblaciones viables como reservorios genéticos que pueden ser usados periódicamente para reforzar, revitalizar o restablecer poblaciones cautivas y en casos necesarios poblaciones silvestres con baja variabilidad genética. También permite la identificación de subespecies que aunque fenotípicamente parezcan similares tienen orígenes geográficos diferentes y han sufrido un proceso de especiación particular. El alcance de la instauración de programas de investigaciones genéticas en los parques

zoológicos, centros de rehabilitación de fauna, contribuye al ordenamiento de las colecciones cautivas, brindando herramientas claras frente al movimiento de especímenes de un lugar a otro para garantizar procesos reproductivos eficientes y viables, y así mismo como la liberación de animales después de procesos de rehabilitación en zonas correspondientes al origen natural genético de sus congéneres.

Los resultados encontrados a nivel del análisis seminal muestran que los protocolos empleados en cuanto a anestesia y electro-eyaculación funcionaron adecuadamente para la obtención de muestras seminales que puedan ser utilizados en la conformación de bancos de germoplasma. Las características seminales encontradas demuestran que la especie no ha sufrido eventos los suficientemente dramáticos que se hayan fijado en cambios fuertes como la aparición de pleiomorfismos demostradas en otras especies de félidos.

En este estudio también se pudo comprobar que la prueba de ELISA permite detectar fluctuaciones en las concentraciones de testosterona en el jaguar, lo cual permite inferir que a pesar de que no se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) entre las épocas climatológicas del año, en los meses de noviembre y diciembre los niveles se encontraron por debajo de los niveles basales. A pesar de este fenómeno se puede inferir que la actividad testicular ocurre con regularidad en el curso del año, lo cual es importante para tener en cuenta en el futuro al momento de programar una monta controlada. La conformación del banco de germoplasma abre las puertas a futuras investigaciones que se enfoquen al uso de dicho banco como la fertilización in vitro y posteriormente a una eventual criopreservación de gametos y embriones, que pueden facilitar y contribuir al mantenimiento de la heterocigosidad de la población cautiva, mientras se disminuye el movimiento de animales vivos entre diferentes instituciones.

A partir de los datos obtenidos mediante la caracterización reproductiva de los jaguares hembras por medio del análisis longitudinal no invasivo en heces ha permitido determinar que la actividad ovárica de los jaguares estudiados es más baja entre los meses de octubre y diciembre, ocurre de una forma moderada entre los meses de enero y marzo, ocurriendo la mayor actividad entre los meses de Abril a Septiembre siendo ésta la época más propicia para realizar reproducciones naturales controladas dentro de un plan de conservación y de manejo reproductivo sostenible para la especie en cautiverio.

Al encontrar que las hembras de jaguares pueden presentar múltiples ovulaciones espontáneas durante los tiempos de actividad ovárica, las fases luteales de no preñez disminuyen la frecuencia de presentación de estros en la época reproductiva. Es decir que la duración de las fases luteales retrasan la presentación del siguiente estro a diferencia de lo que se encontraría en los casos en donde no se ha presentado la ovulación. Por lo tanto este factor debe ser tomado en cuenta al momento de programar cualquier intervención con gonadotropinas como inductores de la actividad ovárica.

Al determinar la acción positiva del ovario ante el uso de la eCG, permite concluir que dicha gonadotropina puede ser usada como un agente xenobiótico que permite el crecimiento y desarrollo folicular lo que permitiría realizar exitosamente la recuperación de complejos *cumulus-oophurus-oocitos* por vía laparoscópica destinados a proyectos de fertilización *in*

Vitro o de criopreservación de gametos. También se puede concluir que los folículos estimulados por la acción de la eCG pueden llegar a ser folículos ovulatorios en los casos en que se realice una Inseminación artificial. En cuanto a la administración de hCG se puede concluir que la dosis usada desencadenó la ovulación en el 66% de los animales, y por lo tanto que en los jaguares esta gonadotropina puede ser usada tanto para inducir la ovulación en casos en que se quiera realizar una inseminación artificial o se quiera preparar una hembra como receptora en un programa de transferencia de embriones. Sin embargo este estudio a pesar de que resuelve las preguntas bases en cuanto a la fisiología reproductiva de la especie, deja abiertos nuevos interrogantes en los diferentes temas tratados. Dichos interrogantes pueden resolverse en futuras investigaciones destinadas a profundizar el conocimiento sobre la actividad ovárica natural como lo es los seguimientos longitudinales no invasivos periódicos de la función endocrina en animales de diferentes grupos de edades. A nivel de la actividad ovárica inducida se sugiere la realización de investigaciones que comparen diferentes protocolos utilizando otras hormonas como la FSH y la LH, así como también que en donde se comparen diferentes dosis y frecuencias de administración.

Los resultados obtenidos en este estudio es una importante fuente de información para que los parques zoológicos del país puedan en primer lugar comprender a profundidad el alcance y la proyección del mantenimiento sostenible de sus poblaciones cautivas como reservorio de material genético variable y con un alto potencial reproductivo. Al contar con las herramientas desarrolladas en este proceso investigativo se puede realmente participar activamente en los programas nacionales de conservación para la especie, planteando recomendaciones y soluciones frente al problema de la extinción de las especies animales en sus hábitats naturales. Es por esto que la caracterización demográfica, genética y reproductiva de la población de jaguares cautivos ha permitido la proyección de un plan de manejo genético- reproductivo que aportará las herramientas necesarias para establecer un plan sostenible de conservación *ex situ* para el jaguar en Colombia.