

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA



**CONDICIONAMIENTO AVERSIVO AL SABOR PARA MANEJO DE
CONFLICTOS CON OSO NEGRO (*Ursus americanus* PALLAS, 1780)**

POR

MVZ. LILIANA SÁNCHEZ RANGEL

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

JUNIO, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**CONDICIONAMIENTO AVERSIVO AL SABOR PARA MANEJO DE
CONFLICTOS CON OSO NEGRO (*Ursus americanus* PALLAS, 1780)**

POR

MVZ. LILIANA SÁNCHEZ RANGEL

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

JUNIO, 2019

CONDICIONAMIENTO AVERSIVO AL SABOR PARA MANEJO DE
CONFLICTOS CON OSO NEGRO (*Ursus americanus* PALLAS, 1780)

POR

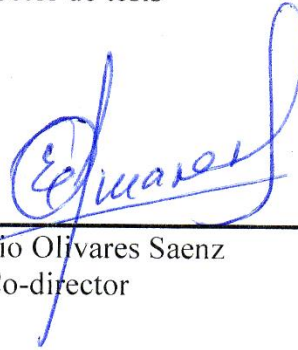
MVZ. LILIANA SÁNCHEZ RANGEL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

Aprobación de la tesis:



Dr. Rogelio Carrera Treviño
Director de tesis



Dr. Emilio Olivares Saenz
Co-director



Dra. Alicia Guadalupe Marroquín Cardona
Co-director

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a **Dios** por regalarme salud y muchas bendiciones a lo largo del camino que me permitieron concluir este proyecto.

A mi asesor de tesis, el **Dr. Rogelio Carrera**, por dedicar su tiempo para escucharme y darme consejos, por compartir sus conocimientos conmigo, por regañarme cuando era necesario, por el apoyo económico, por tenerme paciencia aún cuando tenemos personalidades muy diferentes, por no poner las cosas fáciles y hacerme crecer a base de tropiezos, por darme la oportunidad de trabajar con usted y permitirme vivir una etapa maravillosa que siempre recordare.

También quiero agradecer al resto de mi comité de tesis, la **Dra. Alicia Marroquín** por el tiempo que me regaló para escuchar mis dudas y darme consejos, por compartir sus conocimientos de toxicología conmigo y guiarme cuando lo necesitaba, así como el tiempo que ha dedicado a la revisión de este escrito; al **Dr. Emilio Olivares** por dedicarme muchas horas de su tiempo para explicarme y ayudarme con la parte estadística de mi estudio, por tenerme paciencia y escuchar cada una de mis dudas y por el tiempo dedicado a la revisión de mi escrito.

De manera especial quiero agradecer a las instituciones que me abrieron sus puertas y aceptaron colaborar con mi proyecto, tal vez parezca simple protocolo mencionarlos en los agradecimientos pero NO. Definitivamente me siento tan agradecida con todas aquellas personas que decidieron darme una oportunidad, que me dijeron Sí y no me cerraron las puertas, porque si no fuera por ellos, no hubiera podido realizar mi trabajo. A los directivos del **Zoológico de Monclova**, muchas gracias por abrirme las puertas del zoo, a **Dani** y al **MVZ. Garnica**, gracias por toda la confianza, el apoyo, todo lo que pusieron a mi disposición y por la increíble semana que pasé en el zoo, a **Juan** y a **Pedro**, muchas gracias por todo su apoyo y su tiempo, y a cada uno de los trabajadores que hicieron que mi estancia en el zoológico me la pasara increíble, muchísimas gracias por todo. A los directivos del **Zoológico Tamatán** y al **MVZ. Eduardo**, muchísimas gracias por el apoyo, por darme la oportunidad de trabajar con ustedes y por la confianza, a cada uno de los trabajadores que fueron parte de mi estudio, muchas gracias por todo su apoyo y tiempo. A los directivos del **Africam Safari** y a **Juan Govea**,

también muchísimas gracias por abrirme las puertas del zoo y darme la oportunidad de trabajar con ustedes, por apoyarme en todo y por la confianza, a **Jose Luis** que me acompañó todo el tiempo que trabajé en el Africam, muchísimas gracias por su apoyo, su tiempo y su paciencia.

A **Luis** y **Martha**, muchas gracias por abrirme las puertas de su casa cuando me tocó trabajar en Tamaulipas, les agradezco demasiado todo el apoyo y Dios los bendiga siempre por ser excelentes personas y amigos.

A mis compañeros de la maestría **Omar, René, Ramón, Jesús y Jaime**, por hacer de esta etapa algo maravilloso, no pude tener mejores compañeros de generación, le agradezco infinitamente a Dios por haberlos conocido, siempre voy a recordar las horas de estudio en la biblioteca y esa última salida a comer que me la pasé genial. Los quiero mucho y les deseo mucho éxito en todo lo que se propongan.

Al increíble **equipo del Laboratorio de Fauna Silvestre** por todas las risas y los buenos momentos que me permitieron compartir con ustedes durante estos ya casi 3 años, gracias a ese apoyo y complicidad, los momentos difíciles y de presión fueron más llevaderos. Los quiero mucho a todos.

Al personal de la **FMVZ-UANL** por darme la oportunidad de cursar mi maestría en sus instalaciones. A mis profesores, gracias por su tiempo y dedicación para compartir sus conocimientos con nosotros. A Reyna, por todo su apoyo con los trámites y por siempre atendernos con una sonrisa.

También quiero agradecer a **mis padres** por estar siempre apoyándome incondicionalmente en cada paso y decisiones de mi vida. Los amo.

Y por último, a mi esposo **Adán** que ha sido mi pilar y mi apoyo más grande en esta etapa. Gracias amor, porque sin ti a mi lado apoyándome y alentándome hubiera sido mucho más difícil el proceso para concluir mi maestría. Gracias por estar a mi lado cuando pasé por momentos difíciles y sentía que no podía continuar. Por cada regaño y cada felicitación. Por los enojos y las risas. Por los momentos que pasamos juntos en cada zoológico y que ahora son hermosos recuerdos. Te amo.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este logro en mi vida y mi carrera a mis padres, que me dan fuerza para continuar echándole ganas todos los días. Cada logro en mi vida tiene dedicatoria para ustedes porque gracias a ustedes soy lo que soy. Los amo.

A mi hermanos que los adoro y siempre me apoyan.

A mi esposo Adán porque es mi apoyo más grande, quien me acompaña todos los días, buenos y malos. Te amo.

A cada una de las personas que formaron parte de este proyecto y lo hicieron posible.

ÍNDICE

Capítulo	Página
Comité de tesis.....	I
Agradecimientos.....	II
Dedicatoria.....	IV
Índice.....	V
Índice de tablas.....	VIII
Índice de figuras.....	IX
Resumen.....	X
Abstract.....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1. Ecología del oso negro.....	4
2.2. Amenazas y conservación del oso negro.....	5
2.2.1. Estado de conservación.....	6
2.2.2. Conflictos entre humanos y osos negros.....	6
2.3. Técnicas de manejo no letal para especies conflictivas.....	7
2.3.1. Condicionamiento Aversivo.....	8
2.3.2. Condicionamiento Aversivo al Sabor.....	8
2.3.2.1. Agente aversivo.....	10
2.3.2.1.1. Tiabendazol.....	11

3. JUSTIFICACIÓN	14
4. HIPÓTESIS	15
5. OBJETIVO GENERAL	15
6. OBJETIVOS PARTICULARES	15
7. MATERIALES Y MÉTODOS	16
7.1. Sitios del estudio.....	16
7.2. Animales experimentales.....	16
7.3. Agente aversivo.	18
.....	
7.4. Alimento experimental.....	18
7.5. Diseño del	19
estudio.....	
7.5.1. Pruebas de	20
preferencia.....	
7.5.2. Aplicación del TBZ para crear el Condicionamiento Aversivo al	21
Sabor..	
7.5.2.1. Evaluación de la detectabilidad del TBZ en el alimento	
experimental.....	22
7.5.3. Registro de signos	22
clínicos.....	
7.6. Análisis estadístico.....	22
7.6.1. Efectividad de la dosis de TBZ para establecer el CAS.....	22
7.6.2. Detectabilidad del TBZ en el alimento experimental.....	22
7.6.3. Persistencia de la	23
aversión.....	
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24

8.1. Preferencia entre mantecadas y duraznos antes y después del CAS.....	24
8.2. Detectabilidad del TBZ en el alimento.....	27
8.3. Signos clínicos provocados por el TBZ.....	28
8.4. Efectividad de la dosis de TBZ.....	30
8.5. Duración de la aversión.....	33
9. CONCLUSIONES.....	36
10. LITERATURA CITADA.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Descripción del sexo, edades, pesos, zoológicos de procedencia y manejo de 15 osos negros utilizados en el presente estudio en 2018.....	17
Tabla 2. Promedio de las variables de consumo en tres pruebas de preferencia realizadas en 15 osos negros antes de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	24
Tabla 3. Promedio de las variables de consumo en tres pruebas de preferencia realizadas en 15 osos negros después de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	26
Tabla 4. Promedios de las variables de consumo medidas en las mantecadas en tres pruebas previas al tratamiento (1-3) y el día que se aplicó el tratamiento con tiabendazol (TBZ) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	28
Tabla 5. Promedio del consumo total (g) de mantecadas y duraznos en cada una de las pruebas de preferencia realizadas en 15 osos negros en Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	30
Tabla 6. Promedios de variables de consumo en las mantecadas antes y después de aplicar tiabendazol (TBZ) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	31
Tabla 7. Promedios de las variables de consumo en los duraznos antes y después de aplicar el tratamiento de tiabendazol (TBZ) a las mantecadas, en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	32
Anexo A. Cronología de los signos clínicos posteriores a la administración del TBZ en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Cronograma de pruebas para Condicionamiento Aversivo al Sabor en 15 osos negros en Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	19
Figura 2. Imagen de los días 1 y 2 del presente estudio con el Oso 2 en el zoológico de Monclova, Coahuila en 2018.....	20
Figura 3. Porcentaje de la primera aproximación y la primera elección de alimento antes de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	25
Figura 4. Porcentaje de la primera aproximación y la primera elección de alimento después de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	26
Figura 5. Signos clínicos y porcentaje de ejemplares en los que se registraron después de la administración de tiabendazol en 15 osos negros en Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	29
Figura 6. Porcentaje de consumo de mantecadas y duraznos en un ejemplar hembra de oso negro en el Zoológico Santiago de la Monclova en Coahuila, de agosto de 2018 a febrero de 2019.....	34
Figura 7. Porcentaje de consumo de mantecadas después de aplicar tiabendazol en relación con la edad en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.....	35

RESUMEN

El oso negro en México está en peligro de extinción y se encuentra enlistado en la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010). Uno de los principales riesgos para la especie son los conflictos con actividades humanas por las pérdidas de ejemplares en represalia por los daños que causan. Existen técnicas de manejo no letal que pueden ayudar a disminuir el número de conflictos, como el Condicionamiento Aversivo al Sabor (CAS). Ésta técnica tiene como objetivo crear aversión hacia un sabor/alimento por medio de estímulos negativos internos (ej. náusea) a partir del uso de un “agente aversivo”. El tiabendazol (TBZ), un antihelmíntico de uso humano y animal, al compararlo con otros posibles agentes aversivos en ratas de laboratorio resultó ser de los mejores, sin embargo, los resultados reportados con osos negros son muy variados, además se sabe poco sobre su detectabilidad, los signos clínicos que provoca y la duración de la aversión que establece en estos. Por lo cual, el presente estudio tiene como objetivo generar información en condiciones controladas con osos negros en cautiverio y evaluar la efectividad de una dosis conocida de TBZ, determinando principalmente su detectabilidad, los signos clínicos que causa y la duración de la aversión. Para esto fueron utilizados 15 ejemplares de oso negro en condiciones de cautiverio en tres zoológicos. Cada oso fue sometido a 12 pruebas de preferencia entre dos alimentos (mantecadas y duraznos), divididas en dos fases (antes del CAS y después del CAS). El condicionamiento aversivo se realizó administrando TBZ a una dosis de 160 mg/kg de peso vivo, escondido en el alimento experimental. Las pruebas de preferencia mostraron que ambos alimentos eran igualmente atractivos para los osos antes del CAS, sin embargo, después de realizar el tratamiento aversivo hacia las mantecadas, la preferencia de los osos cambió hacia los duraznos. Los resultados de la detectabilidad del TBZ probaron que los osos fueron capaces de identificar su presencia dentro de las mantecadas, lo cual dificultó el establecimiento de la aversión. Después de 6 horas de continua observación a los osos, se obtuvo la cronología de los signos clínicos que causa la dosis de TBZ utilizada, entre los cuales el más común fue el vómito. Aunque no se logró una aversión total, la dosis de TBZ utilizada resultó ser efectiva ya que hubo una disminución en el consumo del alimento tratado. La duración de la aversión no se pudo evaluar en todos los animales, sin embargo, en una osa de edad avanzada, la aversión duró hasta 6 meses. Es importante enmascarar bien el sabor y textura del TBZ.

ABSTRACT

Black bear in Mexico is endangered and it's listed in the Official Mexican Norm (NOM-059-SEMARNAT-2010). One of the main risks for the species are conflicts with human activities due to loss of specimens in retaliation for the damage they cause. There are non-lethal management techniques that can help to reduce the number of conflicts with carnivores, such as Conditioned Taste Aversion (CTA). The purpose of this technique is to create an aversion to a flavor/food by means of internal negative stimuli (eg. nausea) created with an "aversive agent". Thiabendazole (TBZ), an anthelmintic for human and animal use, when compared to other possible aversive agents in laboratory rats was found to be one of the best, however, the reported results with black bears have wide variations, and little is known about its detectability, the clinical signs it causes and the duration of the aversion it establishes in them. Therefore, the present study aims to generate information in controlled conditions with black bears in captivity and evaluate the effectiveness of a known dose of TBZ, determining mainly its detectability, the clinical signs it causes and the duration of the aversion. Fifteen black bears were used in captivity conditions in three zoos. Each bear was subjected to 12 food preference tests between two foods (cupcakes and peaches), divided into two phases (before CTA and after CTA). The aversive conditioning was carried out by administering TBZ at a dose of 160 mg/kg live weight, hidden in the experimental food. The tests of preference showed that both foods were attractive for the bears before the CTA, however, after performing the aversive treatment towards the cupcakes, the preference of the bears leaned towards the peaches. The results of the detectability of the TBZ proved that the bears were able to identify its presence inside the cupcakes, which hindered the correct establishment of the aversion. After 6 hours of continuous observation of the bears, the chronology of the clinical signs caused by the dose of TBZ was obtained, among which the most common was vomiting. Although a complete aversion was not achieved, the dose of TBZ used turned out to be effective since there was a decrease in the consumption of the treated food. The duration of the aversion could not be evaluated in all the animals, however, in one old female bear, the aversion lasted up to 6 months. Hence, it is important to mask the taste and texture of TBZ.

1. INTRODUCCIÓN

Un conflicto humano-oso negro es una situación en donde el comportamiento del oso negro impacta negativamente a los humanos o viceversa (Vaske *et al.*, 2006). Estos se generan principalmente por osos que son altamente tolerantes a los humanos y osos que son atraídos principalmente por basura, en una menor proporción por los alimentos humanos como colmenas, huertos y cultivos y por último el ganado (Spencer *et al.*, 2007).

En algunos estudios que determinaron el número de conflictos con osos por año, encontraron que hay lugares donde pueden llegar a presentarse hasta 600 casos por año (Matthews *et al.*, 2003; Greenleaf *et al.*, 2009) y una situación preocupante es que existen pocas probabilidades de que los números disminuyan en un futuro (Spencer *et al.*, 2007) debido al aumento de las poblaciones humanas y la pérdida de hábitats naturales.

Los conflictos generan inseguridad pública y daños a propiedades causados por los osos involucrados. Cuando se trata de osos habituados solo a la presencia humana, el riesgo de conflicto no es tan grande como cuando además son atraídos por un alimento. Al haber un alimento de por medio es más probable que causen daño a propiedades (Herrero, 1985) y así aumenta el riesgo de muerte para estos ejemplares en represalia (Herrero *et al.*, 2005; Mazur, 2010; Carrera-Treviño *et al.*, 2016).

Desde la domesticación del ganado, se han estado innovando métodos para prevenir y controlar las pérdidas de animales por depredación de carnívoros. Algunos métodos utilizados por su eficacia son los venenos, las trampas o la cacería con el objetivo de reducir o eliminar las poblaciones conflictivas. En el caso de los osos negros que están en peligro de extinción en México, este tipo de métodos van en contra de los intereses de conservación por lo que es necesario utilizar técnicas no letales (Linnell *et al.*, 1996).

En los últimos años también se ha buscado prevenir los conflictos en lugar de reaccionar cuando ya se han presentado. La realización de campañas de educación dirigidas a

concientizar a la población, la eliminación de los atrayentes que originan los conflictos, (Thompson & McCurdy, 1995), la utilización de botes de basura a prueba de osos, contenedores para el correcto almacenamiento de alimentos y guardabosques que estén al pendiente de que se cumplan las regulaciones y respondan a los conflictos (Greenleaf *et al.*, 2009), son algunos de los métodos para prevención de conflictos donde se trabaja con la población humana.

Actualmente, entre los manejadores de fauna silvestre es común que se utilicen técnicas no letales como el Condicionamiento Aversivo y el Condicionamiento Aversivo al Sabor, sin embargo, el manejo de conflictos con osos negros es desafiante por su alta tolerancia a las actividades humanas y su rápida adaptación a los alimentos (Spencer *et al.*, 2007).

La técnica del Condicionamiento Aversivo al Sabor (CAS) surgió aproximadamente hace 50 años (Ternent & Garshelis, 1999; Massei & Cowan, 2002; Gentle *et al.*, 2006) y se basa en el “sistema de defensa interno” (Cibils *et al.*, 2004), con el objetivo de eliminar el consumo de alimentos no deseados por medio de estímulos negativos internos (ej. náuseas).

El tiabendazol (TBZ) es un antihelmíntico de uso en humanos y en animales (Brown *et al.*, 1961) que fue descubierto como agente aversivo por accidente y tiene las características que son deseables en un agente aversivo (Ziegler *et al.*, 1983). El TBZ ha sido poco utilizado en osos negros tanto en campo como en cautiverio (McCarthy & Seavoy, 1994; Ternent & Garshelis, 1999; Signor, 2009) para llevar a cabo la técnica de CAS y se han obtenido resultados muy variados. De estos resultados variables, surgen algunas preguntas como la detectabilidad del TBZ por los osos (Homstol, 2011) y la signología que causa su administración en los mismos. Se ha reportado poco sobre los signos clínicos que causa la administración del TBZ debido a la dificultad de seguir a los osos en campo, pero es necesario saber hasta qué punto afecta una dosis conocida y su efectividad para establecer aversión a un alimento atrayente relativamente conocido. También se ha reportado poco sobre la duración de la aversión que causa el TBZ en osos

negros, lo cual también es importante conocer para saber si es un método eficaz para disminuir los conflictos.

Es fundamental que los investigadores y manejadores de vida silvestre continúen investigando las técnicas que ayudan a disminuir los conflictos, para comprender mejor cómo funcionan y que tan efectivas son al ser utilizadas en campo.

2. ANTECEDENTES

2.1. Ecología del oso negro

El oso negro (*Ursus americanus* Pallas, 1780) es uno de los mamíferos terrestres más grandes de América, pudiendo llegar a pesar hasta 270 kg (Beecham & Rohlman, 1994). Su rango de distribución abarca desde el norte de Canadá y Alaska (Hall, 1981) donde ocupa la mayoría del territorio (a excepción de la Isla del Príncipe Edward, ya que fue extirpado en 1937), todo EUA y hasta el norte de México (Garshelis *et al.*, 2016). Su distribución histórica en México probablemente abarcaba las regiones montañosas de los estados de Sonora, Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, Nuevo León y Durango, extendiéndose hasta Zacatecas e incluso más al sur (Leopold, 1959). Incluso fue mencionado que probablemente existía una población en el norte de Nayarit (Baker & Greer, 1962). Lamentablemente, el rango de distribución fue muy reducido en México debido a la cacería incontrolada y pérdida de hábitat (Leopold, 1959).

Se ha detectado que los osos negros pueden llegar a utilizar hasta siete tipos distintos de hábitats (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2006) aunque comúnmente tienen preferencias. En el caso de la zona norte del Parque Nacional Cumbres de Monterrey (PNCM), donde su patrón de actividad es principalmente crepuscular, prefieren la vegetación de pino-encino (Salinas-Camarena, 2015).

La dieta de los osos negros generalmente está compuesta de aproximadamente 75% materia de origen vegetal y 25% materia de origen animal. Es una dieta tan variada que puede incluir bayas, flores, hierbas, tubérculos, frutos secos, miel, peces, insectos, hasta carne de otros mamíferos o carroña abandonada por otros depredadores, por lo que es considerado un omnívoro generalista y oportunista (CONABIO, 2011).

Pueden llegar a vivir alrededor de los 20 a 30 años, pero un gran número de los ejemplares en vida libre llegan a vivir menos (alrededor de los 10 años) debido a la amenaza que representa el ser humano para su supervivencia (CONABIO, 2011; Carrera-Treviño *et al.*, 2016).

En cuanto a reproducción, esta especie tiene características que limitan el crecimiento acelerado de sus poblaciones, por ejemplo su lenta capacidad de reproducción, ya que suelen pasar entre 2 y 4 años sin tener nuevas camadas debido a que el desarrollo de las crías es lento y necesitan de los cuidados de la madre por un largo periodo (CONABIO, 2011).

En conjunto, las características de los osos negros los hacen ser una especie carismática y poco peligrosa si son respetados. Aunque también llegan a ser animales muy curiosos y obsesivos cuando quieren conseguir algo, lo cual los vuelve un poco molestos para las comunidades humanas que limitan o invaden sus territorios. Por esto y por sus características de lento crecimiento poblacional, el ser humano siempre es un riesgo para la supervivencia de esta especie.

2.2. Amenazas y conservación del oso negro

Los osos negros tienen la habilidad de adaptarse muy fácilmente a las circunstancias que los rodean y esto a veces puede ponerlos en riesgo. Por ejemplo, pueden ajustar su dieta a las características del hábitat y si en alguna temporada del año hay escasez de alimentos, los osos caminan grandes distancias para alimentarse. Realizando esas largas caminatas pueden encontrar zonas con actividades humanas y causar problemas al consumir basura, cultivos o depredar ganado, causando lo que se ha denominado “conflicto con actividades humanas” (Garshelis *et al.*, 2016). A pesar de que la especie está protegida por la ley en México, este tipo de riesgos y otros más, son los que enfrentan las poblaciones de esta especie.

Los conflictos con actividades humanas representan una de las mayores amenazas para las pequeñas poblaciones aisladas de osos negros que quedan en México, ya que algunos ejemplares son eliminados en represalia a los daños que ocasionan en propiedades privadas (Carrera-Treviño *et al.*, 2016). Aunado a esto, el aumento en la densidad de los caminos y carreteras también representa un peligro para los osos, ya que les dificulta moverse de un lugar a otro para buscar alimento y corren el riesgo de ser atropellados y morir (Garshelis *et al.*, 2016). Otro tipo de riesgos incluyen: pérdida y fragmentación del hábitat, cacería ilegal y captura ilegal de oseznos (McKinney & Delgadillo Villalobos,

2006). Por estas razones, es importante aplicar nuevas técnicas y herramientas que apoyen a la conservación de estas poblaciones disminuyendo principalmente los conflictos con actividades humanas, que representan un gran riesgo para la especie.

2.2.1. Estado de conservación

A partir de 1985, la cacería de esta especie fue prohibida con el fin de proteger a las pequeñas poblaciones aisladas que quedaban en el norte de México resultado de la sobreexplotación y la pérdida de hábitat (Garshelis *et al.*, 2016). En 1986, la especie fue clasificada en peligro de extinción (Doan-Crider & Hellgren, 1996). Actualmente, las poblaciones de oso negro en México continúan siendo consideradas en peligro de extinción y está enlistada en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010). Es considerado una especie prioritaria para la conservación y su presencia es pieza clave para el equilibrio de los ecosistemas donde habita. También, es considerado una especie “paraguas” y con su conservación se ayuda indirectamente a la conservación de otras especies y su hábitat. Por ejemplo, una característica importante que beneficia al ecosistema es su amplio rango territorial y su tipo de alimentación, ya que al consumir frutas, semillas y vegetales en un 75% de su dieta y caminar grandes distancias, es un importante dispersor de semillas, lo cual contribuye a la restauración y recuperación natural de los bosques (Rivadeneira-Canedo, 2008).

2.2.2. Conflictos entre humanos y osos negros

Decker y Chase definieron el término de “conflicto entre humanos y fauna silvestre” como “cualquier situación en donde el comportamiento humano impacta negativamente a la fauna silvestre o viceversa” (Decker & Chase, 1997 en Vaske *et al.*, 2006).

Greenleaf *et al.* (2009) y Matthews *et al.* (2003) evaluaron que el promedio de conflictos que se presentan con osos negros en el Parque Nacional Yosemite (PNY) se encuentra entre los 260 – 600 casos por año. Algo realmente alarmante es que debido al aumento de las poblaciones humanas y la pérdida de hábitats naturales es poco probable que el número de conflictos disminuya en un futuro (Spencer *et al.*, 2007).

Un conflicto puede generarse principalmente por dos razones: animales silvestres que tienen alta tolerancia a los humanos y animales que son atraídos por alimentos hechos para humanos. Esto genera principalmente inseguridad pública pero también puede ocasionar daños a propiedades, especialmente cuando se trata de grandes carnívoros. En el caso de los osos negros, cuando están solamente habituados a humanos no existe un riesgo tan grande de conflicto como cuando también son atraídos por un alimento, en este caso suelen ser más agresivos y es más probable que causen daño a propiedades para obtener lo que quieren (Herrero, 1985), por lo tanto, existe un mayor riesgo de muerte para estos ejemplares (Herrero *et al.*, 2005; Mazur, 2010).

Para reducir el número de conflictos en el PNY, se utilizan métodos preventivos como botes de basura a prueba de osos, contenedores para el correcto almacenamiento de alimentos, intensas campañas educativas y guardabosques que patrullan los campamentos y que están al pendiente de que se cumplan las regulaciones y que responden a los conflictos que se presentan (Greenleaf *et al.*, 2009).

2.3. Técnicas de manejo no letal para especies conflictivas

Desde la domesticación del ganado, se han estado innovando métodos para prevenir y controlar las pérdidas de animales por depredación de carnívoros. En algunos casos los métodos más utilizados por su eficacia son los venenos, las trampas o la cacería. Estos tienen como objetivo reducir la población conflictiva por medio de la muerte. En otros casos, utilizar este tipo de métodos no es lo más adecuado, sobre todo cuando se trata de especies grandes y que están en peligro de extinción, debido a que entran en conflicto con los intereses de conservación. Por tal motivo, fueron ideándose nuevas técnicas no letales para el manejo de conflictos con la fauna silvestre, entre los cuales está el Condicionamiento Aversivo (Linnell *et al.*, 1996).

Desde 1968 comenzó a observarse que los animales eran capaces de aprender ya que reaccionaban de manera diferente a estímulos negativos y positivos. Los investigadores de tal fenómeno llegaron a la conclusión de que la supervivencia de los animales dependía de este aprendizaje (García & Ervin, 1968). Garcia *et al.* (1974), a partir de sus estudios con ratas en laboratorio, descubrieron que había diferencias entre los estímulos

que eran aplicados en la parte externa del cuerpo y los que eran aplicados internamente. Posteriormente, Cibils *et al.* (2004) los nombraron como “el sistema de defensa externo o de la piel” y “el sistema de defensa interno o del intestino”.

Actualmente, los manejadores de fauna silvestre comúnmente utilizan las técnicas no letales como el Condicionamiento Aversivo para reducir el número de conflictos (Homstol, 2011). Aunque existe un problema con estas técnicas basadas en el aprendizaje, ya que es más probable que fracasen cuando un oso está habituado a un alimento atractivo, que cuando solo se trata de un oso habituado a la presencia humana (Leigh & Chamberlain, 2008; Mazur, 2010), si se realizan de manera correcta parecen ser herramientas muy prometedoras (Homstol, 2011).

2.3.1. Condicionamiento Aversivo

El Condicionamiento Aversivo es una técnica no letal que tiene como objetivo eliminar un comportamiento no deseado aplicando estímulos negativos al animal (Garcia *et al.*, 1974; Cibils *et al.*, 2004). Los estímulos negativos que pueden afectar tanto psicológicamente como físicamente a un individuo pueden ser dolor, miedo o malestar interno (Linnell *et al.*, 1996). Estos estímulos pueden crear aversión a un alimento o a un lugar al ser asociados con señales visuales, auditivas o sabores (Garcia *et al.*, 1974; Cibils *et al.*, 2004).

El “sistema de defensa externo” que mencionaba Cibils *et al.* (2004) en su estudio, relaciona cualquier estímulo físico (daño, dolor o miedo) con señales visuales o auditivas del lugar donde sucede. Este sistema busca proteger al animal por medio de una respuesta motora donde el animal lucha o huye del lugar y posteriormente aprende a evitar ese lugar donde sucedió el estímulo negativo.

2.3.2. Condicionamiento Aversivo al Sabor

La técnica del Condicionamiento Aversivo al Sabor (CAS) surgió aproximadamente hace 50 años (Ternent & Garshelis, 1999; Massei & Cowan, 2002; Gentle *et al.*, 2006), sin embargo, el fenómeno de la “aversión al sabor” fue descubierto y estudiado

primeramente por psicólogos mucho antes de que la técnica fuera nombrada y utilizada para el manejo de animales conflictivos (García *et al.*, 1974).

Esta técnica se basa en el “sistema de defensa interno” mencionado por Cibils *et al.* (2004) en su estudio, donde el organismo busca protegerse de los daños internos provocados por el consumo de alimentos que contienen toxinas (García & Ervin, 1968; García *et al.*, 1974). Se cree que es un efecto de la evolución de los animales para protegerlos del envenenamiento (Gustavson, 1977).

La respuesta natural del cuerpo al consumir toxinas es un malestar interno, en lo que estas son desechadas del organismo por vías como el vómito. Después de una experiencia de este tipo, el animal relaciona el sabor del alimento que consumió con el malestar que le provocó. La relación subconsciente que se crea en el área postrema del tallo cerebral es lo que provoca la respuesta de “aversión al sabor” (Roll & Smith, 1972), con lo cual el animal aprende a evitar el consumo del alimento que le causó el daño (García *et al.*, 1974; Cibils *et al.*, 2004; Baker *et al.*, 2005).

Esta técnica ha sido objeto de muchos estudios en los cuales se pretende crear aversión hacia alimentos que por sí solos no contienen toxinas. Lo cual es posible en una sola exposición si la fuente de malestar es clara, es decir, que se cree una correcta relación entre el sabor del alimento atrayente y el malestar posterior a su consumo (García *et al.*, 1974; Rozin, 1986; Gentle *et al.*, 2006).

Una de las ventajas del CAS es que las señales que crean la aversión son el sabor, olor y textura de un alimento y no la ubicación donde se encuentra, lo cual beneficia para que evite consumir un alimento específico en cualquier lugar donde lo encuentre (Gustavson & Nicolaus, 1987). Una de las desventajas del CAS es que cuando un animal lleva un largo tiempo habituado al sabor de un alimento, puede ser más complicado lograr el éxito con esta técnica. Cuando se trata de un sabor nuevo el animal lo relaciona con algo potencialmente peligroso, pero cuando es un sabor familiar ya sabe de antemano que es seguro consumirlo (Revusky & Bedarf, 1967; Domjan, 1972; Best, 1975). En esos casos, probablemente se necesite más de una experiencia negativa para tener éxito, a menos que la experiencia del malestar sea grave (Dimmick & Nicolaus, 1990).

2.3.2.1. Agente aversivo

Un “agente aversivo” es cualquier sustancia que provoque un malestar interno (estímulo negativo) y además reúna ciertas características para poder aplicarse exitosamente en la técnica de CAS (Lin *et al.*, 2014). Algunas de esas características son imprescindibles como:

- Que el malestar que cause sea temporal y moderado (ej. náuseas, dolor estomacal, diarrea, vómito).
- Que sea de baja toxicidad y no ponga en riesgo la salud y la vida de los animales que lo consuman.

Otras características deseables para facilitar que el CAS se lleve a cabo con éxito son:

- Que sea insípido e inodoro para que no pueda ser detectado por los animales al ser emparejado con el sabor/alimento a tratar. Los eméticos deben ser indetectables o el animal distinguirá entre cebos tratados y no tratados y continuará consumiendo el atrayente no tratado en el futuro (Nicolaus *et al.*, 1989; Cowan *et al.*, 2000).
- Que se absorba rápidamente en el organismo, ya que entre menor sea el tiempo entre el consumo y el inicio del malestar, más clara será la asociación (Nicolaus *et al.*, 1989).

Además, algunas características que faciliten su aplicación en campo (donde se dificultan las investigaciones con animales silvestres) son:

- Que sea de fácil administración (oral).
- Que sea estable en el ambiente (Ternent & Garshelis, 1999).

Algunos de los agentes aversivos que han sido estudiados son la cafeína, jarabe de ipecacuana, tiabendazol, levamisol, xilazina (Massei & Cowan, 2002), cloruro de litio, alfa-naftil-tiourea e hidrocloreuro de emetina (Wooldridge, 1980).

2.3.2.1.1. Tiabendazol

El tiabendazol (TBZ) ha mostrado gran eficacia al usarse como agente aversivo en la técnica de CAS y además cumple con las características necesarias para esta técnica (Massei & Cowan, 2002). Fue creado en 1960 por los científicos de los laboratorios Merck, Sharp y Dohme e introducido al mercado como un antihelmíntico nematicida para humanos y animales, principalmente ganado (Brown *et al.*, 1961). En 1980 fue descubierto como agente aversivo mientras un tratamiento de desparasitación era realizado en un grupo de lobos jóvenes, en los cuales se observó que después del tratamiento no consumían normalmente su alimento (Ziegler *et al.*, 1983). A partir de entonces comenzaron a realizarse estudios para ver sus propiedades como agente aversivo. Ha sido usado tanto en cautiverio (Gustavson *et al.*, 1983) como en campo (Ternent & Garshelis, 1999).

Las características que lo hacen ideal como agente aversivo son:

- 1) Sus efectos secundarios. Los pacientes humanos que han sido tratados con TBZ han reportado que comúnmente provoca náuseas, mareos, anorexia, vómitos, dolor abdominal, dolor de cabeza, prurito y parestesia, entre otros, siendo las náuseas el síntoma más común (Grove, 1982).
- 2) Su baja toxicidad. Es uno de los menos tóxicos dentro del grupo de los benzimidazoles, los cuales no causan mortalidad en invertebrados del estiércol, solamente en hongos (Horvat *et al.*, 2012) y en gusanos de tierra y nematodos (Ingham, 1985). En cuanto a la seguridad como fármaco antihelmíntico en animales, Robinson *et al.* (1965) mencionan que es bien tolerado por varias especies animales e incluso en dosis de hasta 4 a 8 veces la dosis terapéutica y por tiempos prolongados.

Homstol (2011) en su estudio con osos negros en libertad, tuvo dificultades con la administración y una osa consumió una dosis de hasta 450 mg/kg y aparentemente no sufrió efectos adversos. Homstol menciona que la baja toxicidad del tiabendazol lo hace muy útil para administrar de manera segura en

animales de tamaños muy diferentes (por ejemplo, adultos y jóvenes) y cuando uno tiene poco control sobre los animales que ingieren los cebos.

- 3) Es aparentemente insípido e inodoro, lo que permite que no pueda ser detectado al mezclarse correctamente con el alimento (Polson, 1983; Ternent & Garshelis, 1999; Gill *et al.*, 2000).

Existen preguntas respecto a la detectabilidad del TBZ y esto podría ser la razón por lo cual existe tanta variación en los resultados respecto al grado de aversión. Homstol (2011) en su estudio, probó el TBZ para asegurarse que fuera insípido, sin embargo, reporta que tiene un ligero sabor amargo. También menciona que los osos tienen un sentido del olfato mucho más agudo que los humanos (Wilson & Stevenson, 2006) y por lo tanto, si ella pudo distinguir el sabor del TBZ, los osos también podrían hacerlo, sin embargo, sus propiedades lo hacen una opción muy atractiva como aversivo.

- 4) Su rápida absorción en intestino. Por su naturaleza lipofílica, se absorbe inmediatamente en intestino y alcanza rápidamente el pico de concentración en sangre, lo cual permite que sus efectos secundarios aparezcan al poco tiempo y al acortar el intervalo entre el consumo y el malestar, la aversión creada es más fuerte (Rollo, 1980).
- 5) Puede administrarse oralmente lo que facilita su uso en campo.
- 6) Es estable en el ambiente.
- 7) Es metabolizado y desechado rápidamente del organismo (Ternent & Garshelis, 1999). Aproximadamente el 90% es desechado vía urinaria alrededor de las 24 horas post-administración (Cochran, 2001).
- 8) Parece ser inerte utilizado como fármaco antihelmíntico en animales (Robinson *et al.*, 1965).

Algunos estudios donde se ha utilizado el TBZ como aversivo son:

En aves, Gustavson & Basche (1982) lograron establecer aversión en patos con el objetivo de evitar los daños a las cosechas de granos. Dimmick & Nicolaus (1990) crearon aversión en cuervos para que dejaran de depredar huevos. En diferentes mamíferos, Gill *et al.* (2000) crearon aversión en ratas de laboratorio y obtuvieron el

segundo mejor resultado con el TBZ, al igual que Massei & Cowan (2002) que probaron 11 compuestos diferentes como posibles aversivos y el TBZ resultó ser uno de los mejores. Ziegler *et al.* (1983) lograron establecer aversión hacia algunos alimentos trabajando con lobos en cautiverio. O'Donnell *et al.* (2010) trabajaron con marsupiales australianos en peligro de extinción, los cuoles, con los que tenían un problema porque consumían sapos de caña (especie exótica venenosa) y estaban muriendo. Después de usar el TBZ como aversivo, lograron establecer aversión y disminuyó la mortalidad de cuoles por consumo de estos sapos. Conover (1989) realizó un estudio con mapaches en el cual no logró establecer aversión hacia los huevos.

En cuanto al uso del TBZ en osos negros, se han realizado pocos estudios tanto en campo como en cautiverio. Por ejemplo, McCarthy & Seavoy (1994) trabajaron en colonias de Juneau, Alaska donde colgaron cebos de miel y mantequilla de maní arriba de los basureros para evitar que los osos continuaran consumiendo de estos. La mitad de los basureros tenían el cebo mezclado con una dosis de TBZ. Monitorearon las visitas a los basureros mediante el consumo de los cebos sin monitorear a los osos. El resultado fue una disminución en el consumo de los cebos, sin embargo, no lograron disminuir la cantidad de basureros visitados por osos. Por otro lado, Ternent & Garshelis (1999) trabajaron con 5 animales en vida libre que visitaban un campo militar de Minesota y consumían los alimentos empaquetados para los soldados, los cuales utilizaron como cebos. A estos paquetes les agregaron la dosis de TBZ y en diferentes presentaciones se los ofrecieron a los osos. Monitorearon por un corto tiempo a los osos después de la administración del TBZ, debido a las dificultades que se presentan en campo. Después del tratamiento con TBZ lograron establecer aversión en los 5 osos y determinaron que la aversión en un ejemplar duró más de un año pero menos de dos años. En el caso de Signor (2009), que trabajó con 6 osos negros en cautiverio, utilizó dosis mayores a los estudios anteriores. Utilizó 3 osos como control y 3 para tratamiento. Realizó una prueba antes del tratamiento con TBZ, tres días de exposición al TBZ y una prueba después del tratamiento y monitoreó a los osos durante hora y media para identificar signos de malestar. Sin embargo, no logró establecer aversión hacia los productos de panadería que utilizó como cebo y concluyó que probablemente la variedad de sabores en las donas confundió a los osos sobre el origen del malestar.

3. JUSTIFICACIÓN

La técnica de Condicionamiento Aversivo al Sabor parece ser una técnica prometedora para el manejo de fauna silvestre conflictiva, al igual que el TBZ, por sus atributos, parece ser una buena opción como agente aversivo para llevar a cabo dicha técnica. Sin embargo, la variación en los resultados de la aversión generada por el TBZ en osos negros genera nuevas interrogantes cada vez que se lleva a cabo un nuevo estudio.

Con el uso del TBZ en osos negros surgen algunas preguntas respecto a su detectabilidad. Por ejemplo, Homstol (2011) reporta que el TBZ tiene un sabor amargo y que sí puede ser detectado por los osos, sin embargo, Ternent & Garshelis (1999) con el diseño de su estudio determinaron que los osos parecían no detectar la presencia del TBZ en los cebos que utilizaron. Esto no deja claro si en realidad el TBZ es insípido e inoloro como se cree. Asimismo, se ha reportado poco sobre los signos clínicos que causa la administración del TBZ en osos negros. Por ejemplo, Signor (2009) que trabajó con osos negros en cautiverio, los observó solo por 1.5 hrs después del tratamiento con TBZ y logró identificar algunos signos como inactividad, incoordinación y rechazo de su alimento diario. En el caso de Ternent & Garshelis (1999) solo pudieron monitorear a los osos en campo durante 22-140 minutos por la dificultad de seguir a los animales en su hábitat natural y los signos que lograron identificar fueron largos periodos de inactividad y heces atípicas al día siguiente. Estos estudios son los únicos que mencionan algo sobre signos de malestar en osos negros tratados con TBZ y es importante saber hasta qué grado afecta una dosis cuando el objetivo no es afectar al animal. En cuanto a la duración de la aversión tampoco se sabe mucho debido a la dificultad de monitorear a los osos en campo. Ternent & Garshelis (1999) lograron monitorear al año y a los dos años a uno de los ejemplares en el que habían creado aversión y determinaron que la aversión puede durar más de 1 año, pero menos de 2 años. Esto, además de ser un rango de tiempo muy amplio, no puede generalizarse para la mayoría de los osos ya que solo lo determinaron en un ejemplar y es importante tener una idea más clara de la duración de la aversión para saber si es una herramienta útil o no. Por lo anterior, es importante continuar investigando esta técnica que ayuda a

disminuir los conflictos, y tratar de responder estas preguntas que surgen respecto al uso del TBZ.

4. HIPÓTESIS

El uso del tiabendazol como agente aversivo en la técnica de Condicionamiento Aversivo al Sabor (CAS), a una dosis de 160 mg/kg de peso vivo, tiene un efecto significativo en el establecimiento de la aversión hacia el alimento experimental resultando en la disminución de su consumo.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad de una dosis de TBZ (160 mg/kg de peso vivo) en la técnica de CAS aplicándola de una manera controlada con osos en cautiverio.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la preferencia de 15 osos negros en cautiverio hacia dos alimentos experimentales mediante pruebas de preferencia, antes y después de aplicar el tratamiento con TBZ a uno de los alimentos.
- Determinar si los osos pueden detectar el TBZ en el alimento experimental al aplicar el tratamiento de TBZ en las mantecadas mediante la administración de 160 mg/kg de peso vivo a cada uno de los 15 osos negros.
- Identificar los signos clínicos provocados por la administración del TBZ en 15 osos negros en cautiverio.
- Evaluar la efectividad de la dosis de TBZ para establecer el CAS, comparando el consumo total de los dos alimentos experimentales en 15 osos negros, antes y después del tratamiento con TBZ en las mantecadas.

- Determinar la duración del CAS comparando el consumo total de mantecadas antes y después del tratamiento con TBZ, realizando pruebas por un periodo de 6 meses.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Sitios del estudio

El estudio fue llevado a cabo en tres zoológicos diferentes: el Zoológico Santiago de la Monclova, el Zoológico y Parque Recreativo Tamatán y el Parque de Conservación de Vida Silvestre Africam Safari. El Zoológico Santiago de la Monclova está ubicado en Río Sinaloa #288, CP. 25776, Monclova, Coahuila, a 26° 53' 30.78" latitud Norte y a 101° 22' 45.64" longitud Oeste. El clima en este municipio es seco semiárido y sus temperaturas oscilan alrededor de los 22°C (SMN, 2010). Este zoológico tiene una superficie aproximada de 36 ha y cuenta con alrededor de 35 especies (cerca de 200 ejemplares) entre los cuales se encuentran 3 ejemplares de oso negro americano. El Zoológico y Parque Recreativo Tamatán se localiza en Calzada General Luis Caballero SN, CP. 87000, Ciudad Victoria, Tamaulipas, a 23° 43' 0.33" latitud N y 99° 10' 4.62" longitud O. En esta ciudad el clima es semicálido y subhúmedo con temperaturas que oscilan alrededor de los 23.2°C (SMN, 2010). Este zoológico tiene una superficie aproximada de 5 ha y cuenta con más de 55 especies entre las cuales se encuentran 5 ejemplares de oso negro americano. El Parque de Conservación Africam Safari se encuentra ubicado en Blvd. Capitán Carlos Camacho Espíritu Km 16.5, CP. 72960, Puebla, Puebla, a 18° 56' 14" latitud Norte y a 98° 08' 12" longitud Oeste, sobre el kilómetro 16.5 hacia Oasis Valsequillo. En este lugar el clima es templado húmedo y la temperatura oscila entre los 9.1–24.9 °C (17 °C) (SMN, 2010). Este zoológico tiene una superficie aproximada de 80 ha y cuenta con alrededor de 250 especies (cerca de 2 mil ejemplares) entre las cuales se encuentran 10 ejemplares de oso negro americano.

7.2. Animales experimentales

Se trabajó con 15 ejemplares de oso negro, de los cuales tres se encontraban en el Zoológico Santiago de la Monclova, donde se les mantenía con una dieta a base de pan de caja, miel, manzana, sandía, zanahoria y croquetas para perro. En el Zoológico y Parque Recreativo Tamatán se trabajó con cuatro osos y en su dieta incluían manzana, zanahoria, naranja, arroz cocido, lechuga, miel, pollo, huevo y croquetas para perro. En

el parque zoológico Africam Safari se trabajó con ocho osos y su dieta consistía en manzana, sandía, melón, papaya, plátano, mango, arroz, chayote, zanahoria, elote, cacahuates, pollo y croquetas para perro. Una descripción más detallada de los ejemplares se encuentra en la siguiente tabla (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción del sexo, edades, pesos, zoológicos de procedencia y manejo de 15 osos negros utilizados en el presente estudio en 2018.

Ejemplar	Sexo	Edad (años)	Peso (kg)	Zoológico (Estado)	Descripción del recinto y manejo
Oso 1	M	14	144.0	Monclova (Coah.)	Cada oso era alojado individualmente en cuartos de noche de aprox. 9m ² donde se les alimentaba en la mañana. Se turnaban los días para salir a exposición a un área aprox. de 100m ² .
Oso 2	H	16	112.0		
Oso 3	M	12	132.0		
Oso 4	H	7	115.0	Tamatán (Tamps.)	Los osos eran alojados individualmente en cuartos de noche en un área de aprox. 50m ² donde eran alimentados al medio día. Se turnaban los días para salir al área de exposición de aprox. 300 m ² .
Oso 5	H	5½	104.0		
Oso 6	H	5½	88.0		
Oso 7	M	5½	160.0		
Oso 8	H	3½	83.0	Africam Safari (Puebla)	Los osos convivían en un área de aprox. 300 m ² y a la hora de la comida en la tarde, eran separados en dos grupos: uno de seis osos jóvenes y otro de cuatro osos (los 2 osos adultos y 2 osas seniles no usadas en el estudio). Los osos utilizados en este estudio no salían al área de exposición.
Oso 9	H	3½	86.0		
Oso 10	H	3½	73.0		
Oso 11	H	3½	68.5		
Oso 12	H	7½	132.5		
Oso 13	M	3½	137.0		
Oso 14	M	3½	136.5		
Oso 15	M	7½	170.0		

Las condiciones de alojamiento, dieta y manejo que realizaba cada zoológico a sus ejemplares no fueron modificadas durante el tiempo que duró el estudio. El alimento experimental fue ofrecido en días fijos del estudio y en horarios separados de su dieta de zoológico para no afectar su consumo. Dependiendo de la hora de comida que manejaba cada zoológico con sus ejemplares, se ajustó el horario tanto de las pruebas de preferencia como el día que se administró el TBZ, con una separación mínima de 6 horas entre ambos horarios.

Los procedimientos propuestos para llevar a cabo el estudio fueron previamente aprobados por el Comité Interno de Bienestar Animal en la Enseñanza e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León (Dictamen 04/2018). Todas las actividades del estudio fueron supervisadas por las respectivas autoridades de cada zoológico.

7.3. Agente aversivo

Un día antes de comenzar con el estudio, se realizó el pesaje de los osos para calcular la dosis del agente aversivo que recibiría cada uno. El tiabendazol (TBZ) se aplicó a una dosis de 160 mg/kg de peso animal. Fue elegido por su potencial como agente aversivo y sus características que lo hacen ideal para administrarlo fácilmente. La dosis fue elegida con base en estudios anteriores realizados en campo, donde utilizaron esa misma dosis en oso negro (Polson, 1983; Ternent & Garshelis, 1999). También se tomó en cuenta la Dosis Letal 50 oral en ratas (3,100-3,600 mg/kg), en ratones (1,400-3,600 mg/kg), en conejos (más de 3,800 mg/kg) y en ovejas (1,200 mg/kg) para asegurar que no se puso en riesgo a los animales (Edwards *et al.*, 1991; National Library of Medicine, 1992).

7.4. Alimento experimental

Se decidió utilizar un alimento que no estuviera dentro de la dieta de ninguno de los zoológicos para no afectar negativamente el consumo de los osos. Se ha reportado que la preferencia de los osos por un alimento puede estar relacionada con sus nutrientes y que prefieren alimentos altos en proteína y en carbohidratos (Bacon & Burghardt, 1983). En base a lo anterior, se eligieron mantecadas BIMBO® (como el alimento a tratar) y

duraznos frescos (como el alimento control) por su contenido de carbohidratos como los alimentos experimentales del estudio.

7.5. Diseño del estudio

El estudio consistió en 12 pruebas de preferencia separadas en dos fases antes y después del tratamiento con TBZ en las mantecadas. La fase previa al tratamiento sirvió para evaluar el consumo normal de los osos y la fase posterior, para evaluar la efectividad de la dosis de TBZ como agente aversivo para establecer el CAS.

Los días 1, 2 y 3 del estudio se realizaron las tres primeras pruebas (fase previa al tratamiento con TBZ en las mantecadas), donde se midieron las variables de consumo para evaluar la preferencia de los osos entre los dos alimentos experimentales. El día 4 se aplicó el TBZ en las mantecadas (sin ofrecer los duraznos) y los días 5, 6 y 7 se midieron nuevamente las variables de consumo en ambos alimentos experimentales para evaluar el CAS en las mantecadas. Si el consumo de mantecadas era del 0% en estas últimas pruebas, las pruebas posteriores se realizaron cada 30 días hasta cumplir un periodo de seis meses o hasta que el consumo de mantecadas dejara de ser del 0% (Figura 1).

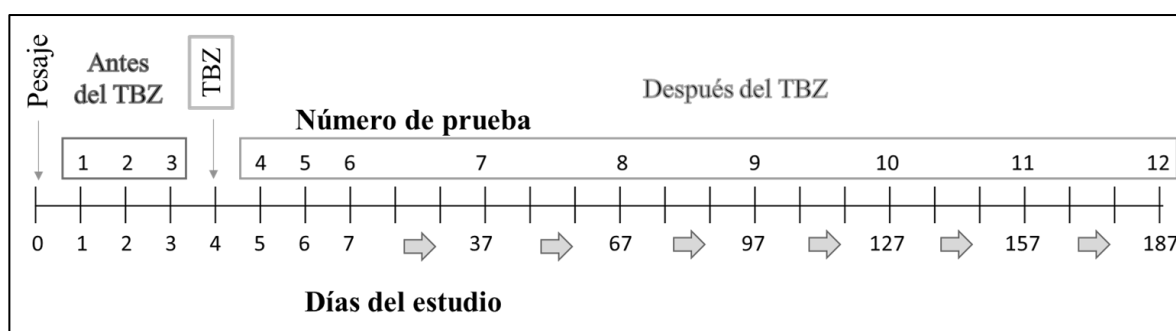


Figura 1. Cronograma de pruebas para Condicionamiento Aversivo al Sabor en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

7.5.1. Pruebas de preferencia

Las pruebas previas y posteriores al tratamiento con TBZ en las mantecadas se realizaron de la misma manera, con los dos alimentos experimentales (las mantecadas BIMBO® fueron el alimento a tratar con el TBZ y los duraznos fueron el alimento control). Para llevar a cabo estas pruebas, se ofrecieron 200 g de mantecadas y 200 g de duraznos en la misma charola (un alimento en cada extremo), a cada oso por separado. Cada prueba tuvo una duración máxima de 10 minutos y la dirección de la charola se invertía diario para evitar la costumbre en los osos (Figura 2).

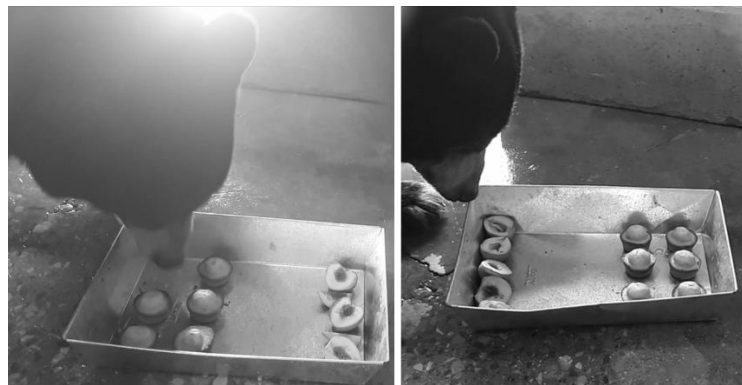


Figura 2. Imagen de los días 1 y 2 del presente estudio con el Oso 2 en el zoológico de Monclova, Coahuila en 2018.

Mientras los osos consumían los alimentos se registraban las siguientes variables de consumo para cada uno de ellos:

- 1) Si fue o no la primera aproximación: el primer alimento al que el oso olfateaba al comenzar la prueba, se tomaba como la primera aproximación.
- 2) Si fue o no la primera elección de consumo: el primer alimento al cual el oso lamia o del cual tomaba un bocado, era la primera elección.
- 3) El número de cambios hacia el otro alimento: cuando el oso estaba consumiendo de un alimento y sin habérselo acabado decidía consumir del otro alimento, eso se tomaba

como un cambio. Cuando el oso se terminaba uno de los alimentos y luego cambiaba a consumir del otro alimento, eso no se consideraba como un cambio.

4) El número de bocados: cada mordida que el oso daba al alimento se tomaba como un bocado. Cuando tomaba un bocado y al masticarlo se le caía un pedazo, ese pedazo contaba como otro bocado una vez que el oso lo tomara de la charola.

5) El tiempo de consumo: el tiempo comenzaba a correr en el momento en que el oso mostraba interés en el alimento (olfateos, lamidas, mordidas) y se detenía cuando perdía el interés en ese alimento (volteando a otro lado, alejarse de la charola, cambiar al otro alimento). Si el oso volvía a mostrar interés en el mismo, se continuaba contando el tiempo de consumo y sucesivamente.

6) El consumo total en gramos: se calculaba realizando el pesaje inicial del alimento (200 g) y restándole el peso final.

Con estas variables de consumo se calculó lo siguiente:

1) El tamaño del bocado: para saber de cuantos gramos era cada bocado en promedio, se dividía el consumo total/ número de bocados.

2) La tasa de bocado: para calcular cuántos bocados por segundo consumía el oso, se dividía el número de bocados/ tiempo de consumo.

3) La tasa de consumo: para calcular cuántos gramos por segundo consumía el oso, se dividía el consumo total/ tiempo de consumo.

7.5.2. Aplicación del TBZ para crear el Condicionamiento Aversivo al Sabor

El día 4 del estudio fue diferente a los demás, ya que no se realizó una prueba de preferencia sino la aplicación del agente aversivo en las mantecadas BIMBO®. Para llevarlo a cabo, se ofreció la charola solamente con 200 g de mantecadas y la dosis de TBZ escondida dentro de estas. Se dieron 10 minutos de tolerancia para que

consumieran toda la ración y después se retiró la charola y se pesó cualquier resto de alimento o TBZ.

7.5.2.1. Evaluación de la detectabilidad del TBZ en el alimento experimental

El día que se administró el TBZ, se midieron las variables de consumo en las mantecadas para poder compararlas con las pruebas anteriores al tratamiento y evaluar si la dosis de TBZ podía ser detectada por los osos. Si el TBZ no podía ser detectado, no se presentarían cambios en el consumo de las mantecadas, por el contrario, si se detectaban cambios en el consumo sería indicio de que el TBZ podía ser detectado.

7.5.3. Registro de signos clínicos

Los osos estuvieron en observación por un periodo de 5-6 horas después de la administración del TBZ, durante el que se registró la presencia de signos clínicos. La dieta normal del zoológico se ofreció cuando ya no hubo más presencia de signos clínicos para evitar que el malestar provocado por el TBZ afectara su consumo.

7.6. Análisis estadístico

7.6.1. Efectividad de la dosis de TBZ para establecer el CAS

La efectividad de la dosis de TBZ se evaluó en un modelo lineal general (MLG) utilizando el consumo total y probando el efecto del número de prueba para cada alimento por separado. También para el mismo caso, se realizó un MLG con las diferentes variables de consumo de las pruebas (duración de la prueba, tiempo perdido, cambios al otro alimento, número de bocados, tiempo de consumo, consumo total, tamaño de bocado, tasa de bocado y tasa de consumo), bloqueando para el número de oso y probando el efecto de la fase, realizándolo por separado para mantecadas y duraznos.

7.6.2. Detectabilidad del TBZ en el alimento experimental

Para determinar si los osos podían detectar el TBZ dentro de las mantecadas, se analizaron algunas de las variables de consumo de las pruebas (tiempo de consumo, consumo total, y tasa de consumo) mediante un MLG, probando el efecto del número de prueba (en este caso se realizó una base de datos solo para mantecadas, donde se agregaron las variables de consumo de las primeras tres pruebas previas al tratamiento y el día que se aplicó el TBZ como si fuera la prueba 4) y haciendo una comparación de medias para las variables de consumo.

7.6.3. Persistencia de la aversión

La persistencia de la aversión se determinó con un MLG utilizando el consumo total de mantecadas, probando el efecto del número de prueba. Si se presentaba un aumento significativo en el consumo de una prueba a otra en la fase posterior al tratamiento, en ese día se determinó como el fin del CAS.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Preferencia entre mantecadas y duraznos antes y después del CAS

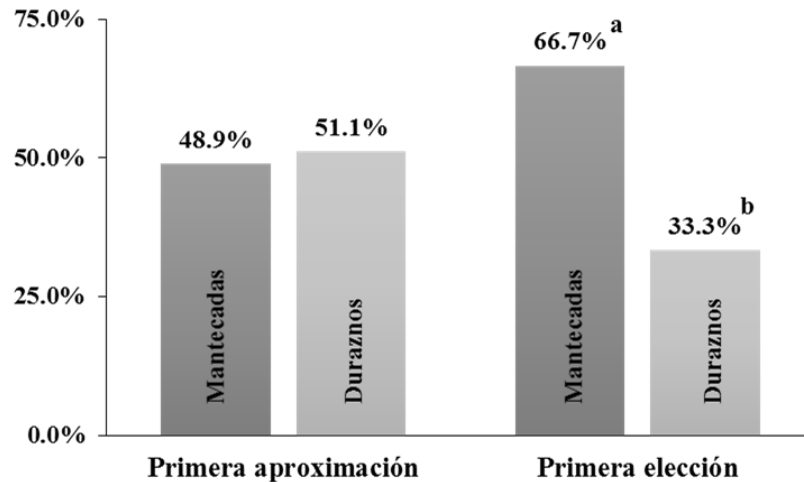
En seis de las variables de consumo que se midieron entre los alimentos experimentales durante las pruebas de preferencia antes de aplicar el TBZ, no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) (Tabla 2). Sin embargo, los osos prefirieron a las mantecadas como su primera elección de alimento ($P < 0.05$), aunque no fue significativamente diferente la primera aproximación de los osos a estos (Figura 3).

Bacon & Burghardt (1983) mencionan que la preferencia de los osos por un alimento parece estar relacionada con la cantidad y el tipo de nutrientes del mismo. En el caso de las mantecadas y los duraznos, ambos alimentos son ricos en carbohidratos y por lo tanto fueron atractivos para los osos. Como se puede observar en los resultados obtenidos, los osos consumieron ambos alimentos por igual antes de aplicar el agente aversivo, aunque eligieron comer primero a las mantecadas.

Tabla 2. Promedio de las variables de consumo en tres pruebas de preferencia realizadas en 15 osos negros antes de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

	Mantecadas	Duraznos
Cambios	0.7 ± 0.1^a	0.6 ± 0.1^a
Número de bocados	9.3 ± 1.0^a	10.8 ± 1.0^a
Tiempo de consumo (s)	57.1 ± 7.5^a	65.8 ± 7.5^a
Consumo total (g)	197.6 ± 4.8^a	187.0 ± 4.8^a
Tamaño de bocado (g)	26.6 ± 1.5^a	22.6 ± 1.5^a
Tasa de bocado (bocados/s)	0.2 ± 0.0^a	0.2 ± 0.0^a
Tasa de consumo (g/s)	4.9 ± 0.4^a	5.0 ± 0.4^a

Promedios de variables de consumo entre alimentos con letras diferentes muestran diferencia significativa ($P < 0.05$)



Superíndices^{a,b} entre alimentos muestran diferencia significativa ($P < 0.05$)

Figura 3. Porcentaje de la primera aproximación y la primera elección de alimento antes de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

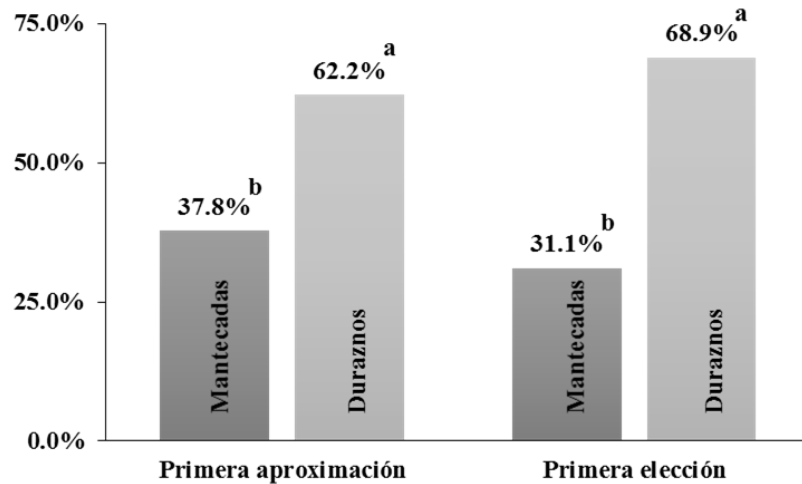
En las pruebas de preferencia después de aplicar el TBZ no hubo diferencia ($P > 0.05$) en los cambios hacia el otro alimento, el número de bocados, el tiempo de consumo y el tamaño de bocado, sin embargo, para el consumo total, la tasa de bocado y la tasa de consumo (Tabla 3), así como para la primera aproximación y la primera elección (Figura 4), sí hubo una diferencia significativa ($P < 0.05$), lo que sugiere que la preferencia de los osos cambió hacia los duraznos después de aplicar el agente aversivo en las mantecadas.

Scafalani (1991) menciona en su estudio que los animales aprenden a preferir los alimentos basándose en las experiencias nutricionales después de su ingesta. Si la experiencia post-ingesta es positiva, el animal va a buscar consumir nuevamente dicho alimento. Por el contrario, si la experiencia post-ingesta es negativa, el animal tratará de no consumir ese alimento otra vez. En este estudio, los osos tuvieron una experiencia negativa con las mantecadas tratadas con el agente aversivo, por lo cual, cambiaron su preferencia hacia el durazno ya que la experiencia post-ingesta con este último alimento fue positiva.

Tabla 3. Promedio de las variables de consumo en tres pruebas de preferencia realizadas en 15 osos negros después de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

	Mantecadas	Duraznos
Cambios	0.4 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a
Número de bocados	9.6 ± 1.1 ^a	9.578 ± 1.1 ^a
Tiempo de consumo (s)	71.8 ± 8.9 ^a	56.1 ± 8.9 ^a
Consumo total (g)	165.9 ± 8.2 ^a	190.6 ± 8.2 ^b
Tamaño de bocado (g)	21.2 ± 1.9 ^a	25.7 ± 1.9 ^a
Tasa de bocado (bocados/s)	0.1 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.0 ^b
Tasa de consumo (g/s)	3.7 ± 0.4 ^a	5.5 ± 0.4 ^b

Promedios de variables de consumo entre alimentos con letras diferentes muestran diferencia significativa (P<0.05)



Superíndices^{a,b} entre alimentos muestran diferencia significativa (P<0.05)

Figura 4. Porcentaje de la primera aproximación y la primera elección de alimento después de aplicar el tratamiento en mantecadas (tiabendazol) y duraznos (control) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

8.2. Detectabilidad del TBZ en el alimento

Al realizar el análisis de detectabilidad del TBZ en el día 4 del estudio, se observó que el consumo total de mantecadas no se vio afectado ($P>0.05$), sin embargo, en el tiempo de consumo hubo una disminución significativa de la prueba 1 a las pruebas 2 y 3, para posteriormente tener un aumento significativo ($P<0.05$) el día de la administración del TBZ (Tabla 4). Asimismo, en la tasa de consumo se observó el mismo patrón de un aumento significativo de la prueba 1 a las pruebas 2 y 3, para posteriormente disminuir el día de la administración del TBZ ($P<0.05$). Una probable explicación a lo anterior sería que en la primera prueba las mantecadas eran algo desconocido para los osos, por lo tanto se tomaron su tiempo para familiarizarse con el sabor, olor y textura mientras las consumían. En la segunda y tercera prueba, los osos ya estaban familiarizados con las mantecadas y les tomó menos tiempo consumirlas, lo cual indicó que les gustaban. El día que se aplicó el agente aversivo se esperaba que no hubiera cambios, sin embargo, los osos tardaron un mayor tiempo para terminar la ración de mantecadas (similar al de la primera prueba), comportamiento que también se observó en la tasa de consumo. Estos últimos resultados sugieren que tal vez los osos pudieron detectar el TBZ, ya que les tomó más tiempo consumir las mantecadas mientras investigaban el sabor y la textura del TBZ, con el cual no estaban familiarizados (Tabla 4).

Se ha mencionado en diferentes estudios que una de las propiedades del TBZ es que no puede ser detectado fácilmente por los animales ya que es casi insípido (Gustavson *et al.*, 1983; Ternent & Garshelis, 1999), sin embargo, existen resultados muy variados en el establecimiento de la aversión y en un estudio en Alberta, Canadá reportó que sí pudo ser detectado (Homstol, 2011), lo cual concuerda con los resultados del presente estudio.

Ziegler *et al.* (1983) en su estudio, reportaron que en ningún momento pareció que los lobos detectaran, rechazaran o discriminaran el TBZ, sin embargo, a comparación de este estudio, ellos utilizaron una dosis mucho más baja y una mayor ración de alimento, por lo que el TBZ pudo enmascarse bien. En el caso de este estudio, el hecho de haber utilizado una ración de alimento pequeña (200 g) para ocultar una dosis grande de TBZ (11-26 g), hizo que fuera más difícil de enmascarar su sabor y su textura e hizo que fuera

fácil para los osos detectarlo. Cowan *et al.* (2000) mencionan que para que se dé una aversión exitosa es necesario que el agente aversivo sea indetectable.

Tabla 4. Promedios de las variables de consumo medidas en las mantecadas en tres pruebas previas al tratamiento (1-3) y el día que se aplicó el tratamiento con tiabendazol (TBZ) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

Prueba	Tiempo de consumo (s)	Consumo total (g)	Tasa de consumo (g/s)
1	84.2 ± 11.8 ^a	192.9 ± 2.5 ^a	3.15 ± 0.50 ^a
2	46.4 ± 11.8 ^b	200.0 ± 2.5 ^a	5.79 ± 0.50 ^b
3	40.8 ± 11.8 ^b	200.0 ± 2.5 ^a	5.77 ± 0.50 ^b
TBZ	86.6 ± 11.8 ^a	200.0 ± 2.5 ^a	3.07 ± 0.50 ^a

Promedios entre pruebas de la misma variable de consumo con letras diferentes muestran diferencia significativa (P<0.05)

8.3. Signos clínicos provocados por el TBZ

Es difícil saber los síntomas que se presentan en los animales, sin embargo, podemos observar algunos signos clínicos que nos hagan suponer, por comparación con los humanos, lo que están sintiendo. En un estudio con pacientes humanos donde se utilizó el TBZ como tratamiento contra strongyloidiasis, los efectos secundarios reportados por los pacientes fueron náuseas, mareos, anorexia, vómitos, dolor abdominal, dolor de cabeza, prurito y parestesia, entre otros, siendo las náuseas el síntoma más común (Grove, 1982).

En este estudio, después de administrar el TBZ para establecer el CAS, el primer signo que se observó en once de los osos fue prurito en diferentes partes del cuerpo (patas, boca, cabeza, cuello y lomo), posteriormente se presentó hiperactividad en siete osos y respiración agitada en dos osos. Se observó que siete de los osos agitaban la cabeza en señal de disgusto y en tres osos se presentó una ligera incoordinación, temblor o debilidad en las patas traseras. Por último, uno de los signos que precedió al vómito fue el chasqueo de las mandíbulas, el cual se mostró en cuatro de los once osos que presentaron vómito (Figura 5). El vómito fue el último signo observado en la mayoría de

los osos y se presentó más de una vez, después del cual los osos estuvieron más relajados y tranquilos posiblemente al sentir alivio del malestar que les provocó el TBZ. Los signos comenzaron al poco tiempo de la administración del TBZ con el prurito, y culminaron con el vómito que se presentó a partir de las dos y hasta las cinco horas posteriores a la administración del mismo. En el Anexo A se encuentra descrita con más detalle la cronología de los signos clínicos en cada uno de los osos.

Por su parte, Signor (2009) en su estudio con osos negros en cautiverio, utilizó dosis de entre 51-245 mg/kg de peso vivo y aunque no logró establecer aversión al alimento, notó algunos signos como incoordinación y letargo. Por el contrario, Ziegler *et al.* (1983) en su estudio con lobos, no detectaron ningún tipo de signos clínicos con la administración del TBZ. Esto puede deberse a lo que mencionaron ellos mismos, que la presentación de los signos parecía ser específica de cada especie, ya que algunos animales como los zorrillos reaccionan en segundos y otros como los lobos y bovinos no se ha visto que presenten ninguna signología. En otros estudios que se han realizado con osos en campo (Polson, 1983; Ternent & Garshelis, 1999), tampoco se han reportado signos clínicos, esto puede ser debido a la dificultad que se presenta en campo para estar monitoreando a los osos por varias horas. En nuestro estudio, al haber sido realizado en cautiverio, se pudo observar a los animales por varias horas seguidas, lo cual permitió registrar cuales signos se presentaban y la cronología de estos.

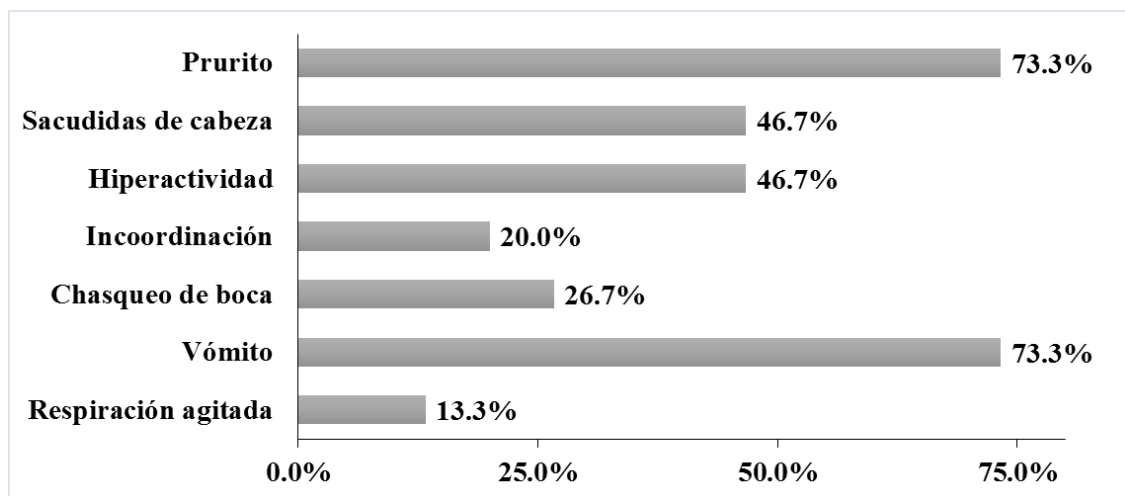


Figura 5. Signos clínicos y porcentaje de ejemplares en los que se registraron después de la administración de tiabendazol en 15 osos negros en Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

8.4. Efectividad de la dosis de TBZ

En las pruebas 1, 2 y 3 se esperaba que el consumo para ambos alimentos fuera del 100% (200 g) o cercano a esto y coincidió con los resultados obtenidos. Al comparar estos resultados con los de las pruebas 4, 5 y 6, en la cual se esperaba que los osos rechazaran las mantecadas, se observó un cambio en el consumo de mantecadas que sugiere que se estableció cierto grado de aversión. Aunque los osos no rechazaron por completo las mantecadas, hubo una disminución significativa ($P < 0.05$) de su consumo en un 26.7% de la prueba 3 (antes de la administración del TBZ) a la prueba 4 (después de la administración del TBZ). En el caso del durazno, el consumo se mantuvo igual en ambas fases como era de esperarse ya que era el alimento control. Por otro lado, la aversión creada duró solo 2 días, ya que para la prueba 6, el 93% de los osos (14/15) estaban consumiendo nuevamente las mantecadas como en las primeras pruebas (fase antes de la administración del TBZ) (Tabla 5).

Tabla 5. Promedio del consumo total (g) de mantecadas y duraznos en cada una de las pruebas de preferencia realizadas en 15 osos negros en Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

	Prueba	Mantecadas	Duraznos
Antes del TBZ	1	192.9 ± 12.8 ^a	161.1 ± 10.1 ^a
	2	200.0 ± 12.8 ^a	200.0 ± 10.1 ^a
	3	200.0 ± 12.8 ^a	200.0 ± 10.1 ^a
Después del TBZ	4	146.5 ± 12.8 ^b	193.1 ± 10.1 ^a
	5	168.1 ± 12.8 ^{ab}	191.1 ± 10.1 ^a
	6	182.9 ± 12.8 ^a	187.5 ± 10.1 ^a

Promedios entre pruebas del mismo alimento con letras diferentes muestran diferencia significativa ($P < 0.05$)

No solo se utilizó el consumo total de los alimentos para evaluar la efectividad de la dosis de TBZ sino que se registraron diferentes variables de consumo durante cada

prueba. En el caso de las mantecadas, en la fase antes de aplicar TBZ, el consumo fue casi del 100% de la ración y en la fase posterior a la aplicación del TBZ hubo una disminución significativa ($P < 0.05$) del 16.0%, lo cual sugiere que hubo cierto rechazo del alimento por la aversión creada. De manera similar, el tamaño de los bocados después de aplicar TBZ disminuyó en un 20.3%, la tasa de bocado disminuyó en un 50.0% y la tasa de consumo en un 24.5%, lo cual sugiere que los animales comenzaron a comer las mantecadas con más cautela después del estímulo negativo por el TBZ. Como se mencionó anteriormente, se esperaba que el consumo de mantecadas después de aplicar TBZ fuera nulo, sin embargo, aunque no sucedió así, nuestros resultados sugieren que sí se estableció cierto grado de aversión, la cual desapareció una vez que los osos volvieron a consumir las mantecadas sin TBZ ya que tuvieron un estímulo positivo. Para el resto de las variables de consumo (duración de la prueba, cambios al otro alimento, número de bocados, tiempo de consumo) no hubo diferencias ($P > 0.05$) entre fases (Tabla 6).

Tabla 6. Promedios de variables de consumo en las mantecadas antes y después de aplicar tiabendazol (TBZ) en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

	Antes del TBZ	Después del TBZ
Duración de la prueba (s)	193.6 ± 21.6 ^a	234.7 ± 21.6 ^a
Cambios al otro alimento	0.7 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.1 ^a
Número de bocados	9.3 ± 0.8 ^a	9.6 ± 0.8 ^a
Tiempo de consumo (s)	57.1 ± 5.6 ^a	71.8 ± 5.6 ^a
Consumo total (g)	197.6 ± 4.4 ^a	165.9 ± 4.4 ^b
Tamaño de bocado (g)	26.6 ± 0.7 ^a	21.2 ± 0.7 ^b
Tasa de bocado (bocados/s)	0.2 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^b
Tasa de consumo (g/s)	4.9 ± 0.2 ^a	3.7 ± 0.2 ^b

Promedios entre fases con letras diferentes muestran diferencia significativa ($P < 0.05$)

Por otro lado, para los duraznos en la fase posterior al tratamiento con TBZ hubo una disminución significativa ($P < 0.05$) del 66.7% en los cambios hacia el otro alimento, lo cual indica que los osos prefirieron comer más de los duraznos sin cambiar hacia las

mantecadas. De la misma forma, el aumento significativo ($P < 0.05$) en un 13.7% del tamaño de bocado indica que su preferencia por el durazno aumentó por lo que tomaron bocados más grandes. Después de aplicar el tratamiento con TBZ en las mantecadas, el consumo total de durazno no se vio afectado ya que era el alimento control. El resto de las variables de consumo (duración de la prueba, número de bocados, tiempo de consumo, tasa de bocado y tasa de consumo) tampoco presentaron diferencias significativas (Tabla 7).

Tabla 7. Promedios de las variables de consumo en los duraznos antes y después de aplicar el tratamiento de tiabendazol (TBZ) a las mantecadas, en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

	Antes del TBZ	Después del TBZ
Duración de la prueba (s)	193.62 ± 21.6 ^a	234.8 ± 21.6 ^a
Cambios al otro alimento	0.6 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^b
Número de bocados	10.8 ± 0.9 ^a	9.6 ± 0.9 ^a
Tiempo de consumo (s)	65.8 ± 6.9 ^a	56.1 ± 6.9 ^a
Consumo total (g)	187.0 ± 4.9 ^a	190.6 ± 4.9 ^a
Tamaño de bocado (g)	22.6 ± 1.0 ^a	25.7 ± 1.0 ^b
Tasa de bocado (bocados/s)	0.2 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.0 ^a
Tasa de consumo (g/s)	5.0 ± 0.4 ^a	5.5 ± 0.4 ^a

Promedios de variables de consumo antes y después del TBZ con letras diferentes muestran diferencia significativa ($P < 0.05$)

En un estudio con lobos (Ziegler *et al.*, 1983) y en un estudio con osos (Signor, 2009) ambos autores reportaron que una de las posibles razones por las que no pudieron establecer aversión al alimento fue el hambre de los animales, ya que la ración que utilizaron era pequeña o porque les dieron tiempo de ayuno antes de las pruebas, respectivamente. En el presente estudio no se modificaron ni los horarios ni las raciones de alimento que los osos recibían normalmente. Además se agregó el durazno como control para que tuvieran una opción de alimento para consumir al rechazar las mantecadas, sin embargo tampoco logramos establecer una aversión completa. Como el

hambre de los animales no es una posible explicación en este caso, lo más probable es que se haya debido a que los animales detectaron la presencia del TBZ en las mantecadas como se mencionó anteriormente. De la misma forma, Cowan *et al.* (2000) mencionaron que para el correcto establecimiento de la aversión es necesario que el agente aversivo que se usa sea indetectable, de lo contrario provoca que los animales puedan distinguir entre cebos tratados y no tratados como al parecer sucedió en este estudio.

Por otro lado, Ternent & Garshelis (1999) que lograron establecer aversión por más de un año en osos negros en un campo militar, utilizaron una dosis de entre 72-165 mg/kg de peso vivo (por lo cual se decidió utilizar la dosis de 160 mg/kg en el presente estudio). Para crear los cebos tratados con TBZ, ellos utilizaron una ración de alimento de entre 128-277 g, a la cual le agregaron de 3-10 g de TBZ, lo cual era equivalente a una dosis de 14-23 mg de TBZ por gramo de alimento. En ese estudio no se pesaron a los osos antes de administrar el TBZ, sino hasta después, reportando pesos entre los 36-98 kg. En el presente estudio utilizamos una ración de alimento similar, sin embargo, la dosis de TBZ que utilizamos fue basada en el peso de cada oso, por lo cual, la dosis de TBZ por gramo de alimento fue muy diferente a la utilizada por Ternent & Garshelis (1999). A diferencia de la dosis reportada por ellos, en el presente estudio la dosis de TBZ fue de entre 54-136 mg por gramo de alimento. Mientras que en el estudio de Ternent & Garshelis (1999) el TBZ ocupaba aproximadamente del 1-8% del total de la ración, en el presente estudio, el TBZ ocupaba aproximadamente del 5.5-13.5% del total de la ración, lo cual pudiera explicar el por qué los osos detectaron el TBZ y por lo tanto no se estableció una aversión completamente efectiva. Por otro lado, los osos en el estudio de Ternent & Garshelis (1999) se encontraban en su hábitat natural, por lo cual tuvieron acceso libre a una mayor variedad de alimentos durante el estudio y los animales pudieron elegir alimentos diferentes al alimento tratado con TBZ después del estímulo negativo.

8.5. Duración de la aversión

El estudio con osos que más éxito ha tenido con esta técnica, reportó una duración de la aversión de más de un año pero menos de dos años en osos negros en su hábitat natural (Ternent & Garshelis, 1999). Este rango de tiempo que reportan es muy amplio y no se sabe con exactitud cuánto puede llegar a durar. En este estudio no logramos establecer una aversión completa, por lo que solo se puede concluir que en la mayoría de los osos (93.3%), la duración de la aversión fue de 2 días (Tabla 5), sin embargo, en uno de los quince osos (Oso 2) del estudio la aversión fue del 100% y la duración de la aversión en esa osa fue de mínimo 6 meses que duró el estudio. En este ejemplar hembra, desde el inicio se notó que era muy selectiva con sus alimentos, probablemente por su edad avanzada y su dentadura desgastada o simplemente su gusto por ciertos alimentos dulces. Antes de aplicar el TBZ se notaba que le gustaba el sabor de las mantecadas ya que las consumía rápido y primero que el durazno. Después de aplicar el TBZ se realizaron nueve pruebas, de las cuales, en siete de ellas rechazó por completo las mantecadas, en una consumió solo un 16.6% y en otra un 33.2% de la ración de mantecadas (Figura 6).

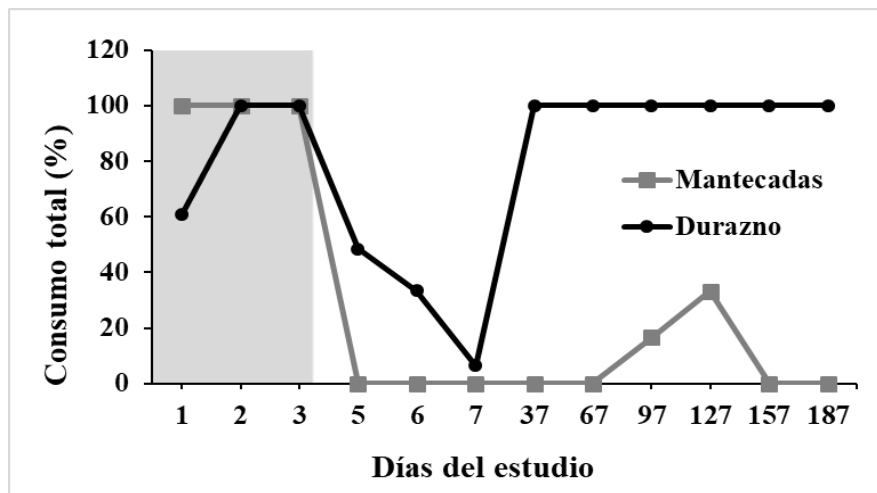


Figura 6. Porcentaje de consumo de mantecadas y duraznos en un ejemplar hembra de oso negro en el Zoológico Santiago de la Monclova en Coahuila, de agosto de 2018 a febrero de 2019. *Área sombreada muestra los días antes del CAS.

Aunque no hubo diferencia significativa entre los osos que indicara algún efecto individual (ej. edad, sexo, dieta, salud), se identificó cierta tendencia en el consumo de

mantecadas posterior a la aplicación de TBZ con relación a la edad de los osos (Figura 7). Entre más jóvenes eran los osos, la disminución en el consumo de mantecadas después de aplicar TBZ fue menor que en los osos de mayor edad. Aparentemente los animales más viejos se vuelven más precavidos a la hora de seleccionar sus alimentos.

Misanin & Blatt (1985) realizaron un estudio con ratas para demostrar la relación que había entre la edad y el miedo a nuevos sabores y su influencia en el CAS. Sus resultados indicaron que el CAS y el miedo a sabores nuevos son más fuertes mientras los animales son más viejos.

La osa que mostró la aversión completa, coincide con que es la osa más vieja de los 15 animales tratados, mientras que los osos en los que casi no se notó un cambio en el consumo después de aplicar el TBZ fue en los más jóvenes.

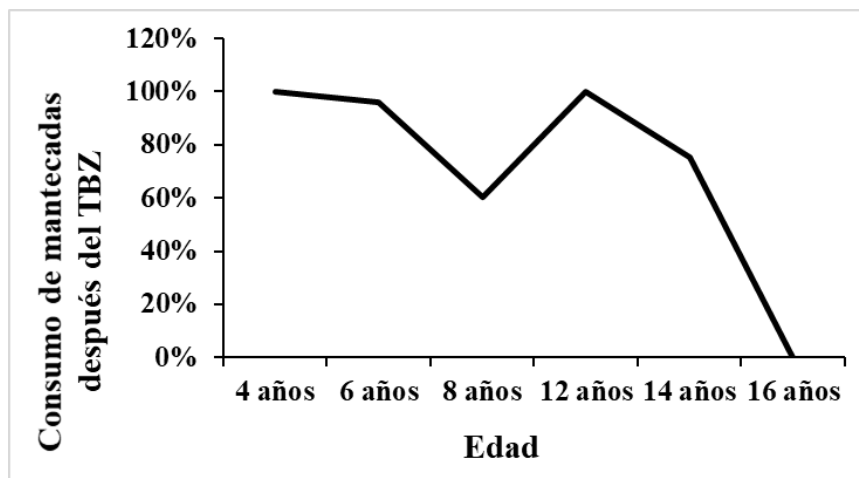


Figura 7. Porcentaje de consumo de mantecadas después de aplicar tiabendazol en relación a la edad en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

9. CONCLUSIONES

Antes de aplicar el TBZ, los osos consumían los dos alimentos por igual lo que sugiere que ambos eran igualmente de su gusto. Después de aplicar el TBZ en las mantecadas se pudo notar una preferencia más marcada hacia los duraznos, lo cual indicó que debido a la experiencia negativa post-ingesta con las mantecadas, los osos aprendieron a preferir los duraznos.

Los resultados obtenidos en las pruebas de preferencia sugieren que el TBZ pudo ser detectado por los osos. Un factor que pudo haber influido en este resultado fue la gran cantidad de TBZ utilizado y la pequeña ración de alimento que se utilizó en el diseño del estudio. Por lo anterior, y a la posibilidad de que el TBZ sea detectado por los osos negros, es necesario enmascarar muy bien su sabor y textura para que la técnica de CAS funcione correctamente.

En los diferentes estudios sobre CAS que se han realizado en osos negros utilizando TBZ como agente aversivo, no se habían reportado extensamente los signos clínicos que este fármaco causa al ser consumido por los osos. Con el presente estudio se pudo describir los diferentes signos clínicos que se presentan en los osos, la cronología de estos y su duración. También se puede concluir que la dosis utilizada (160 mg/kg de peso vivo) no es letal y no afecta el consumo de otros alimentos al pasar su efecto de malestar temporal.

En cuanto a la efectividad de la dosis de TBZ que se utilizó en el diseño, se puede concluir que solo se logró establecer cierto grado de aversión en osos en cautiverio (probablemente debido a la detectabilidad del TBZ). A pesar de que los osos no rechazaron por completo las mantecadas, sí disminuyó el consumo de éstas y aumentó la preferencia por el alimento control (duraznos).

En futuras investigaciones, así como durante el uso del CAS en campo para disminuir los conflictos con osos negros, se recomienda poner especial atención en enmascarar correctamente el sabor y textura del TBZ utilizando mayores raciones de alimento que resulten en una mayor proporción de alimento/TBZ. Otras posibles variantes en futuros estudios para entender mejor la respuesta de los osos negros serían agregar más alimentos control y/o hacer más de una exposición al TBZ para reforzar el CAS.

10. LITERATURA CITADA

- Bacon ES, Burghardt GM. 1983. Food preference testing of captive black bears. *Bears: their biology and management*, 5: 102-105.
- Baker SE, Ellwood SA, Watkins R, Macdonald DW. 2005. Non-lethal control of wildlife: using chemical repellents as feeding deterrents for the European badger *Meles meles*. *Journal of Applied Ecology*, 42: 921-931.
- Baker RH, Greer, JK. 1962. Mammals of the Mexican state of Durango. Mus. Michigan State Univ. Biol. Ser. 2(2): 25-154.
- Beecham J, Rohlman J. 1994. A shadow in the forest Idaho's black bear. University of Idaho press, Idaho, Estados Unidos.
- Best MR. 1975. Conditioned and latent inhibition in taste aversion learning: Clarifying the role of learned safety. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 1: 97-113.
- Brown HD, Matzuk AR, Ilves IR, Peterson LH, Harris SA, Sarett LH, Egerton JR, Yakstis JJ, Campbell WC, Cuckler AC. 1961. Antiparasitic drugs. IV. 2-(4'-thiazolyl)-benzimidazole, a new anthelmintic. *Journal of the American Chemistry Society*, 83: 1764-1765. doi:10.1021/ja01468a052
- Carrera-Treviño R, Lira-Torres I, Martínez-García L, López-Hernández M. 2016. El jaguar *Panthera onca* (Carnívora: Felidae) en la Reserva de la Biosfera "El Cielo", Tamaulipas, México. *Revista de Biología Tropical [en línea]*, 64 (4): 000-000
- Cibils AF, Howery LD, Ruyle GB. 2004. Diet and habitat selection by cattle: the relationship between skin- and gut- defense systems. *Applied Animal Behaviour Science*, 88: 187- 208.

- Cochran R. 2001. Thiabendazole. Risk characterization document. California. 141 pp.
- CONABIO. 2011. Fichas de especies prioritarias. Oso Negro (*Ursus americanus*)
Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas y Comisión Nacional para el
Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México D.F.
- Conover MR. 1989. Potential Compounds for Establishing Conditioned Food Aversions
in Raccoons. *Wildlife Society Bulletin*, 17(4): 430-435.
- Cowan DP, Reynolds JC, Gill EL. 2000. Reducing predation through conditioned taste
aversion. Páginas 281-299 en L.M. Gosling y D.T. Sutherland, editores. *Behaviour
and Conservation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Decker DJ, Chase LC. 1997. Human dimensions of living with wildlife: a management
challenge for the 21st century. *Wildlife Society Bulletin*, 25(4): 788-795.
- Dimmick CR, Nicolaus LK. 1990. Efficiency of conditioned aversion in reducing
depredation by crows. *Journal of Applied Ecology*, 27: 200-209.
- Doan-Crider DL, Hellgren EC. 1996. Population characteristics and winter ecology of
black bears in Coahuila, Mexico. *The journal of wildlife management*, 60(2): 398-
407.
- Domjan M. 1972. CS preexposure in taste aversion learning: effects of deprivation and
preexposure duration. *Learning and Motivation*, 3: 389-402.
- Edwards IR, Donald GF, Wayne AT. 1991. Fungicides and Related Compounds. En
Wayland JH y Edward RL, editores, *Handbook of Pesticide Toxicology, Volume 3
Classes of Pesticides*. Academic Press, Inc. NY.
- Garcia J, Ervin FR. 1968. Gustatory-visceral and telereceptor-cutaneous conditioning-
adaptation in internal and external milieus. *Communications in Behavioral Biology*,
1: 389-415.

- Garcia J, Hankins WG, Rusiniak KW. 1974. Behavioral Regulation of the milieu interne in man and rat. *Science*, 185: 824-831.
- Garshelis DL, Scheick BK, Doan-Crider DL, Beecham JJ, Obbard ME. 2016. *Ursus americanus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T41687A10513074.en>
- Gentle M, Massei G, Quy R. 2006. Diversity of diet influences the persistence of conditioned taste aversion in rats. *Applied Animal Behaviour Science*, 97: 303-311.
- Gill EL, Whiterow A, Cowan DP. 2000. A comparative assessment of potential conditioned taste aversion agents for vertebrate management. *Applied Animal Behavior Science*, 67: 229-240.
- Greenleaf SS, Matthews SM, Wright RG, Beecham JJ, Leithead HM. 2009. Food habits of American black bears as a metric for direct management of human–bear conflict in Yosemite Valley, Yosemite National Park, California. *Ursus*, 20(2): 94-101.
- Grove DI. 1982. Treatment of strongyloidiasis with thiabendazole: an analysis of toxicity and effectiveness. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76(1): 114-118.
- Gustavson CR. 1977. Comparative and field aspects of learned food aversions. Página 632 en Barker LM, MR Best y M Domjan, editores. *Learning Mechanisms in Food Selection*. Baylor University Press, Waco, USA.
- Gustavson CR, Basche LA. 1982. Landrin- and thiabendazole-based conditioned taste aversions in domestic ducks. *Applied Animal Ethology*, 9: 379-380.
- Gustavson CR, Gustavson JC, Holzer GA. 1983. Thiabendazole-based taste aversions in dingoes (*Canis familiaris dingo*) and New Guinea wild dogs (*Canis familiaris hallstromi*). *Applied Animal Ethology*, 10: 385-388.

- Gustavson CR, Nicolaus LK. 1987. Taste aversion conditioning in wolves, coyotes, and other canids: retrospect and prospect. Páginas 169-203 en H. Frank, editor. *Man and wolf: advances, issues, and problems in captive wolf research*. W. Junk, Boston, USA.
- Hall ER. 1981. *The mammals of North America*. 2a edición. John Wiley and Sons, New York, N.Y. 1181 pp.
- Herrero S. 1985. *Bear Attacks: Their Causes and Avoidance*. Hurtig Publishers Ltd. Toronto, Canada.
- Herrero S, Smith T, Debruyne T, Gunther K, Matt CA. 2005. From the field: brown bear habituation to people-safety, risks and benefits. *Wildlife Society Bulletin*, 33(1): 362-373.
- Horvat AJM, Petrović M, Babić S, Pavlović DM, Ašperger D, Pelko S, Mance AD, Kaštelan-Makan M. 2012. Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. *Trends in Analytical Chemistry*, 31: 61-84.
- Homstol L. 2011. Applications of learning theory to human-bear conflict: the efficacy of aversive conditioning and conditioned taste aversion. Master of Science Thesis. University of Alberta. Edmonton, Alberta.
- Ingham ER. 1985. Review of the effects of 12 selected biocides on target and non-target soil organisms. *Crop Protection* 4(1): 3-32.
- Leigh J, Chamberlain MJ. 2008. Effects of aversive conditioning on behavior of nuisance Louisiana black bears. *Human-Wildlife Conflicts*, 2: 175-182.
- Leopold AS. 1959. *Wildlife of Mexico*. Univ. California Press, Berkeley. 608 pp.
- Lin JY, Arthurs J, Reilly S. 2014. Conditioned taste aversion, drugs of abuse and palatability. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 45: 28-45.

- Linnell JDC, Smith ME, Odden J, Kaczensky P, Swenson JE. 1996. Carnivores and sheep farming in Norway. 4. Strategies for the reduction of carnivore-livestock conflicts: a review. NINA Oppdragsmelding 443: 1-116.
- Massei G, Cowan DP. 2002. Strength and persistence of conditioned taste aversion in rats: evaluation of 11 potential compounds. *Applied Animal Behaviour Science*, 75: 249–260.
- Matthews SM, Lackey BK, Greenleaf SS, Leithead HM, Beecham JJ, Ham SH, Quigley HB. 2003. Final report: Human–bear interaction assessment in Yosemite National Park. Hornocker Wildlife Institute/Wildlife Conservation Society, Bozeman, Montana, USA.
- Mazur R. 2010. Does aversive conditioning reduce human-black bear conflict? *Journal of Wildlife Management*, 74(1): 48-54.
- McCarthy TM, Seavoy RJ. 1994. Reducing nonsport losses attributable to food conditioning: human and bear behavior modification in an urban environment. *International Conference on Bear Research and Management*, 91(1): 75-84.
- McKinney BR, Delgadillo Villalobos JA. 2006. Mexico Black Bear Status Report. *9th western black bear workshop. NRA Whittington Center*. April 19-22, pp. 54-57.
- Misanin JR, Blatt LA. 1985. Age dependency in neophobia: Its influence on taste-aversion learning and the flavor-preexposure effect in rats. *Animal Learning & Behavior*, 13: 69-76.
- National Library of Medicine. 1992. Hazardous Substances Databank. TOXNET, Medlars Management Section, Bethesda, MD.
- Nicolaus LK, Farmer PV, Gustavson CR, Gustavson JC. 1989. The potential of oestrogen-based conditioned aversion in controlling depredation: a step closer towards the “Magic Bullet”. *Applied Animal Behavioral Science*, 23: 1-14.

- O'Donnell S, Webb JK, Shine R. 2010. Conditioned taste aversion enhances the survival of an endangered predator imperilled by a toxic invader. *Journal of Applied Ecology*, 47: 558-565.
- Pallas PS. 1780. Spicilegia zoologica quibus novae imprimis et obscurae animalium species iconibus, descriptionibus atque commentariis illustrantur. Fascículo XIV. Páginas 1-94, Tab. I-IV. Berolini. (Pauli)
- Polson JE. 1983. Application of aversion techniques for the reduction of losses to beehives by black bears in northeastern Saskatchewan. Report to Department of Supply and Services. Ottawa, Canada. SRC Publication C-805-13-E-83.
- Revusky S, Bedarf EW. 1967. Association of illness with prior ingestion of novel foods. *Science*, 155: 219–220.
- Rivadeneira-Canedo C. 2008. Estudio del oso andino (*Tremarctos ornatus*) como dispersor legítimo de semillas y elementos de su dieta en la región de Apolobamba-Bolivia. *Ecología en Bolivia*, 43: 29–39.
- Robinson HJ, Stoerk HC, Graessle OE. 1965. Studies on the toxicologic and pharmacologic properties of Thiabendazole. *Toxicology and applied pharmacology*, 7:53-63.
- Rodríguez-Martínez A, Moreno-Arzate CN, González-Sierra R, González-López CA. 2006. Spatial ecology and population structure of endangered black bears (*Ursus americanus*) in northwestern Mexico. *9th western black bear workshop. NRA Whittington Center*. April 19-22, pp. 8-21.
- Roll DL, Smith JC. 1972. Conditioned taste aversion in anesthetized rats. Páginas 98-102 en MEP Seligman y JP Hager, editores. *Biological boundaries of learning*. Appleton-Century-Crofts, New York. USA.

- Rollo IM. 1980. Chemotherapy of parasitic diseases. Páginas 1017-1055 en A.G. Gilman, L. S. Goodman y A. Gilman, editors. *The pharmacological basis of therapeutics*. Macmillan Publishing Co., Inc., New York, USA.
- Rozin P. 1986. One-trial acquired likes and dislikes in humans: Disgust as a US, food predominance, and negative learning predominance. *Learning and Motivation*, 17: 180–189.
- Salinas-Camarena MA. 2015. Ecología del oso negro (*Ursus americanus*) en el noreste del Parque Nacional Cumbres de Monterrey, Nuevo León, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Sclafani A. 1991. Conditioned food preferences. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 29: 256-260.
- SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Diario Oficial de la Federación (DOF), jueves 30 de diciembre de 2010.
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). 2010.
- <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica>
- <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>
- Signor KD. 2009. Investigating methods to reduce black bear (*Ursus americanus*) visitation to anthropogenic food sources: Conditioned Taste Aversion and food removal. Utah State University. *All Graduate Theses and Dissertations*. 547. <https://digitalcommons.usu.edu/etd/547>
- Spencer RD, Beausoleil RA, Martorello DA. 2007. How Agencies Respond to Human–black Bear Conflicts: A Survey of Wildlife Agencies in North America. *Ursus*, 18(2): 217–229.

- Ternent MA, Garshelis DL. 1999. Taste-aversion conditioning to reduce nuisance activity by black bears in a Minnesota military reservation. *Wildlife Society Bulletin*, 27(3): 720-728.
- Thompson SC, McCurdy KM. 1995. Black bear management in Yosemite National Park: More a people management problem. Páginas 105–115 en *Proceedings of the 5th Western Black Bear Workshop*, 22–25 February 1994, Provo, Utah, USA.
- Vaske JJ, Don-Carlos AW, Bright AD. 2006. Judgments of responsibility in human-bear conflict. *9th western black bear workshop. NRA Whittington Center*. April 19-22, pp. 35-39.
- Wilson DA, Stevenson RJ. 2006. Learning to smell: olfactory perception from neurobiology to behavior. John's Hopkins University Press, Baltimore, U.S.A.
- Wooldridge DR. 1980. Chemical Aversion Conditioning of Polar and Black Bears. *Bears: Their Biology and Management*, 4: 167-173.
- Ziegler JM, Gustavson CR, Holzer GA, Gruber D. 1983. Anthelmintic-based taste aversions in wolves (*Canis lupus*). *Applied Animal Ethology*, 9: 373-377.

Anexo A. Cronología de los signos clínicos posteriores a la administración del TBZ en 15 osos negros en zoológicos de Coahuila, Tamaulipas y Puebla en 2018.

	Hora de admon. del TBZ	30 minutos post-TBZ	60 minutos post-TBZ	90 minutos post-TBZ
Oso 1	04:02	Respiración agitada (4:26)		
Oso 2	04:10	Respiración agitada (4:40)		
Oso 3	04:20			
Oso 4	09:05	Prurito en patas (9:06)		
Oso 5	09:11		Prurito en cara (9:50) (10:05)	Sacudida de cabeza (10:47)
Oso 6	09:17	Hiperactividad (9:45)	Prurito en cabeza (10:15)	Prurito en cara y patas (10:40)
Oso 7	09:23			Comezón en cara (10:40)
Oso 8	10:26		Prurito en cara (11:28)	
Oso 9	10:31		Incoordinación (11:32)	Prurito en cara (11:35) (11:48) (11:59) (12:02) Incoordinación (12:02)
Oso 10	10:54			Chasqueo de boca (12:27) Hiperactividad (12:29) Prurito en cuello (12:29) Sacudida de cabeza (12:29) (12:32)
Oso 11	10:38		Prurito (11:30)	Prurito en patas (11:40) (12:02) Prurito en patas y cara (11:54)
Oso 12	10:23			Prurito en patas (11:41)
Oso 13	10:48			Sacudida de cabeza (12:00) (12:12) (12:18)
Oso 14	10:42			
Oso 15	10:58		Prurito en cara (11:52) Sacudida de cabeza (11:58)	Sacudida de cabeza (12:00) (12:04) (12:05) Hiperactividad (12:08)

	120 minutos post-TBZ	150 minutos post-TBZ	180 minutos post-TBZ
Oso 1	Vómito (6:02)		Vómito (6:44)
Oso 2			Vómito 3 veces (7:05)
Oso 3			
Oso 4		Chasqueo de boca (11:18) (11:44) Vómito 7 veces (11:18) Vómito 6 veces (11:44)	
Oso 5		Chasqueo de boca (11:44) Vómito 4 veces (11:44)	Comezón en pecho y cabeza (11:48)
Oso 6		Vómito 2 veces (11:20) Prurito en pecho (11:25)	Chasqueo de boca (12:01) Vómito 3 veces (12:01)
Oso 7			Incoordinación (12:19)
Oso 8	Sacudida de cabeza (12:04) Hiperactividad (12:04) (12:17)	Sacudida de cabeza (12:48)	Hiperactividad (13:12)
Oso 9	Prurito en cara y cola (12:07) Sacudida de cabeza (12:07) (12:22) Hiperactividad (12:07) Prurito en cola (12:22)	Prurito en cola (12:40) Sacude cabeza (13:01)	
Oso 10	Sacudida de cabeza (13:06)	Sacudida de cabeza (13:09)	Vómito 2 veces (13:57)
Oso 11	Prurito en cabeza y cola (12:19) Prurito en cuello (12:27) Prurito en lomo (12:33)	Prurito en cuerpo (12:43) Vómito 5 veces (15:06)	
Oso 12			
Oso 13	Sacudida de cabeza (12:22) Prurito en cuello (12:30) Incoordinación (12:36) Sacudida de cabeza (12:44) (12:48) (12:49) (12:50)	Prurito en cara (12:52) Sacudida de cabeza (12:55) (12:57) (12:59) (13:01) (13:08) (13:10) (13:12) (13:13) Prurito en lomo (13:02) Prurito en cabeza (13:10)	
Oso 14		Sacudida de cabeza (13:09) (13:11) Hiperactividad (13:11)	
Oso 15		Sacudida de cabeza (13:18) (13:19)	Vómito 3 veces (13:31)

	210 minutos post-TBZ	240 minutos post-TBZ	270 minutos post-TBZ	300 minutos post-TBZ
Oso 1				
Oso 2				
Oso 3				
Oso 4				Chasqueo de boca (2:15) Vómito (2:15)
Oso 5			Chasqueo de boca (1:28) Vómito 2 veces (1:28)	
Oso 6				
Oso 7	Chasqueo de boca (12:49) Vómito 6 veces (12:49)			Chasqueo de boca (14:10) Vómito (14:10)
Oso 8				
Oso 9				
Oso 10				
Oso 11				
Oso 12	Prurito en patas y cara (13:42)	Hiperactividad (13:55)	Vómito 3 veces (14:50)	
Oso 13				
Oso 14			Vómito 3 veces (14:45)	
Oso 15	Vómito 2 veces (14:14)			