

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA (UNC)
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Escuela de Biología
Carrera de Ciencias Biológicas
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA/FCEFyN-UNC)

Evaluación del comportamiento frente a tejidos blandos de cerdo y de pollo en pumas adultos (*Puma concolor*): relación entre la elección, el valor nutricional y la presencia de compuestos orgánicos volátiles de los alimentos suministrados en centro de rescate

Tesina de Grado para optar por el título de Biólogo

Noviembre 2023



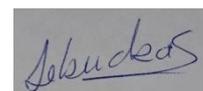
Eddie León Bono

Tesista



Dr. Juan Manuel Busso

Director



Dra. Diana Labuckas

Co-directora

Tesina de Grado para optar por el título de Biólogo

Evaluación del comportamiento frente a tejidos blandos de cerdo y de pollo en pumas adultos (*Puma concolor*): relación entre la elección, el valor nutricional y la presencia volátiles de los alimentos suministrados en centro de rescate

Tesista: Eddie León Bono

Director: Dr. Juan Manuel Busso

Co-directora: Dra. Diana Labuckas

Tribunal Examinador



Dra. GABRIELA BRUNO
BIOLOGA
Prof. en Cs. Biológicas

Dra. Gabriela Bruno



Dra. Daniela Tamburini



Dr. Ricardo Torres

Calificación: 10 (Diez)

Fecha: 15/12/2023

Agradecimientos

Este trabajo no podría haberse realizado sin la formación brindada por la Universidad Nacional de Córdoba, institución pública integrada por docentes siempre predispuestos a contribuir a la educación de los alumnos, alentando siempre a la formación de una posición crítica de los mismos bajo un contexto de igualdad.

Agradezco a mi director y codirectora que estuvieron presentes en todo momento durante esta etapa crucial de mi carrera, posibilitando el desarrollo de esta tesina mediante constantes consejos, dedicación y buena energía. Agradezco a los miembros del tribunal de tesina, los aportes en el proceso de evaluación del plan de tesina.

A todas las instituciones involucradas en el desarrollo de este estudio, que abrieron sus puertas para contribuir a la producción de conocimientos. A las colaboraciones especial de las profesoras Alejandra Cabanillas y Laura Bernaldez de la cátedra de calidad nutrición de la facultad de ciencias agropecuarias, a los profesores de estadística Dr. Julio Di Rienzo y Dr. Marcos Landi, a Dra. Gabina Eguízabal, Dr. Abel López, a Kai Pacha por autorizarnos a desarrollar nuestro proyecto, a Victoria Macca quien me ayudo con el manejo de los animales y su aporte fue crucial para poder realizar la etapa experimental, a la veterinaria encargada de los animales en Pumakawa Inés María Fernández Cutiellos. Además, a Alejandro Gariglio, Cristian Sitto y Larry Bartolotti, todos miembros de Pormag quienes colaboraron en la donación de los tejidos de cerdo.

A mi familia, en particular mis padres Héctor y Mónica, y amigos que siempre fueron un soporte imprescindible para que yo pueda vivir y atravesar ésta etapa, gracias a todas estas personas puede disfrutar y sacar provecho de cada experiencia vivida a lo largo de la carrera. De todos mis amigos quisiera destacar a Martín Pereyra, Cigali Quipildor, Ramiro Merschon, Victoria Vaccaro, Elina Marucci, Candelaria Manetti y Melody Bayro personas con quien tuve el privilegio de cursar la carrera y acompañarnos en todo el proceso, y a Belén Ruiz por haber sido mi compañera incondicional desde el inicio de este lindo camino, por todo el apoyo y el aliento recibido de su parte.

Índice

	Páginas
Resumen.....	5
Palabras Clave	
Summary.....	6
Keywords	
Introducción.....	8
Objetivos.....	11
Materiales y Métodos.....	12
Resultados.....	28
Discusión	35
Conclusiones.....	39
Bibliografía.....	41
Anexo	45

Resumen

El puma (*Puma concolor*; Felidae: Carnivora: Mammalia) enfrenta problemas de conservación según su lugar de distribución. En algunas ocasiones ejemplares de puma son mantenidos permanente o transitoriamente en centro de rescate, como una estrategia que contribuye al manejo integral de la especie. En estos espacios, se recomienda implementar programas de enriquecimiento ambiental para asegurar el bienestar de animal. Sin embargo, frecuentemente estos programas se aplican sin considerar las preferencias de los animales. Estudiar el comportamiento alimenticio puede contribuir al manejo en base a sus necesidades y preferencias específicas. En el presente trabajo se evaluó la respuesta de pumas adultos ($n=6$) a estímulos alimenticios (tejidos de cerdo y de pollo), y la relación entre los valores nutricionales y las actividades comportamentales. Bajo condiciones ambientales semicontroladas (en Pumakawa Reserva de Animales, Villa Rumipal Córdoba), cada puma fue evaluado durante 24 h/día de estudio: a) Aclimatación (4 días de estudio) y b) Prueba de preferencia de elección apareada y evaluación de actividades *a posteriori* (2 días de estudio). Los alimentos (raciones) fueron suministrados en comederos y cubiertos con alfalfa (*Medicago sativa*), y las actividades comportamentales fueron registradas continuamente en videos (cámaras infrarrojas) mediante muestreo focal. Se analizó *in vitro* contenido de proteínas, lípidos, cenizas, humedad, carbohidratos y el consumo se obtuvo mediante gravimetría pre y post consumo. Los datos fueron analizados mediante modelos lineales generalizados y mixtos. Los resultados indican que los pumas detectaron en 3 de cada 4 ocasiones la ubicación del alimento en los comederos ($p=0,0334$). El análisis estadístico indicó diferencias altamente significativas ($p<0.0001$), dado por menor latencia de aproximación y mayor comportamiento alimenticio de los pumas con el cerdo. Las raciones presentaron diferentes valores energéticos (cerdo>pollo), mientras que los valores nutricionales fueron similares (medidos sobre el tejido muscular). La cantidad de alimento consumido, por parte de los pumas, fue similar (proporción 0,57 cerdo vs 0,44 pollo; $p=0,3063$) de ambas raciones. Se concluye que los pumas exhibieron, en la prueba de preferencia de elección apareada, dinámicas conductuales vinculadas con el tipo de alimento ofrecido, observándose una elección asociada al cerdo; y, que la energía aportada por los alimentos es un determinante del comportamiento alimenticio en los pumas estudiados. En cuando

a las implicancias de manejo: aunque el estudio presenta limitaciones respecto al número de animales, el protocolo fue útil para revelar el alimento que más estimulaba al ejemplar. Así cada puma manifestó su elección en base a preferencias individuales, y los resultados aportan información para mejorar el manejo y contribuir al bienestar animal, en particular al dominio de alimentación.

Palabras clave: bienestar animal, comportamiento animal, enriquecimiento, prueba de preferencia, centro de rescate Pumakawa

Summary

The cougar (*Puma concolor*; Felidae: Carnivora: Mammalia) faces conservation problems depending on its distribution. On some occasions, cougar specimens are kept permanently or temporarily in a rescue center, and application of environmental enrichment programs is mandatory to ensure animal welfare. However, these programs are frequently applied without considering the animals' preferences. Studying feeding behavior can contribute to management based on their specific needs and preferences. In the present study, adult cougar behavioral response (n=6) to food stimuli (pork and chicken tissues), and the relationship with nutritional values was evaluated. Under semi-controlled environmental conditions (Pumakawa Animal Reserve, Córdoba), each cougar was assessed over 24 h-period: a) Acclimatization (4 replicates) and b) Paired choice preference test, and post-behavioral activities and food consumption (2 replicates). Food (rations) were provided according to buried food test in feeders, and behavioral activities were continuously recorded on videos (infrared cameras) by focal sampling. Protein, lipid, ash, humidity, and carbohydrate contents were analyzed *in vitro* and consumption was obtained by gravimetry from food remains. The data were analyzed using generalized linear and mixed models. Cougars responded positively to buried food test, detecting location of the food in the feeders on 3 out of 4 occasions (p=0.0334). Cougars exhibited lowest latency and greatest feeding behavior with the pig (p<0.0001). The rations presented different energy values (pork > chicken), while nutritional values were similar (measured on main item muscle tissue). Although, studied cougars showed no differences in food consumption (proportion 0.57 pork vs 0.44 chicken; p=0,3063). We conclude that behavioral dynamics of studied cougars linked to the type of food offered in the paired choice preference test, observing a choice associated with the highest energy food.

Finding management implications: although the study has limitations regarding the number of cougars, the protocols were useful to reveal 1) the ability to smell presumably odors by the buried food test, and 2) the choice of most stimulated food by paired choice preference test. Thus, expressing its choice, studied cougars were able to improve feeding and behavior domains of animal welfare.

Keywords: animal welfare, animal behavior, enrichment, preference test, Pumakawa rescue center

Introducción

Los grandes felinos son organismos fundamentales en los ecosistemas; sin embargo, son uno de los grupos de mamíferos más amenazados del mundo debido a la pérdida de hábitat, la caza y la escasez de presas (Ceballos *et al.*, 2005; Inskip & Zimmerman, 2009; Chacón Pacheco & Salcedo López, 2017). Ante esta situación, existen diferentes estrategias que contribuyen a la conservación de los mamíferos, como la creación de áreas naturales protegidas, la educación ambiental con énfasis en la protección de la fauna y el mantenimiento de ejemplares silvestres en centros de rescate. En particular, el *Puma concolor* (Mammalia: Carnivora: Felidae), es un felino que enfrenta los problemas de conservación mencionados y se lo ha categorizado como “Vulnerable” para la provincia de Córdoba y como “Preocupación Menor” a nivel nacional e internacional (Nielsen *et al.*, 2014; Abba *et al.*, 2018; De Angelo *et al.*, 2019). Esta situación en la provincia se debe, en parte a acciones de control que en ocasiones lesionan o mutilan los individuos, y al mascotismo que sufre la especie, conduciendo en muchos casos a que estos animales sean trasladados a zoológicos o centros de rescate donde permanecen transitoriamente hasta su relocalización, o permanentemente toda su vida (Pia, 2018). En el presente trabajo se estudiaron aspectos de comportamiento y de alimentación en pumas alojados en un centro de rescate localizado en Córdoba, lo cual se considera una contribución al manejo y bienestar animal de acuerdo a estrategias internacionales (Young, 2004; Young *et al.*, 2020).

El puma es un carnívoro de hábitos solitarios y se caracteriza por su gran flexibilidad en las presas consumidas (Karandivar *et al.*, 2022). Su dieta se basa principalmente en presas nativas de mediano y gran porte, aunque si éstas presentan baja disponibilidad, se ve obligado a preñar sobre el ganado doméstico (Borrero & Martín, 1996; Muñoz *et al.*, 2007; Pia, 2018). Harmsen *et al.* (2011) encontraron que los hábitos de los pumas coinciden con los patrones de actividad de sus principales presas. El comportamiento alimenticio en vida silvestre implica las actividades de búsqueda e ingestión del alimento. En el caso particular del puma, durante la conducta de caza acecha a sus presas hasta encontrarse lo suficientemente cerca para realizar una corta persecución, saltar sobre ellas y efectuar un mordisco en la base del cráneo o la garganta. Para ello cuenta con los sentidos de la vista y oído muy desarrollados, al mismo tiempo que un andar sigiloso. Consume usualmente las partes blandas, dejando de lado los huesos (Borrero & Martín, 1996; Muñoz *et al.*, 2007; Pia, 2018); coloca el sobrante de la presa debajo de un árbol, arbusto o en lugares abiertos cubriéndolo con tierra, hojas, palos; que

buscará días más tarde para consumir nuevamente. Este comportamiento revela un agudo desarrollo del sentido del olfato. Sin embargo, no se ha encontrado información sobre la contribución de las conductas olfativas de la especie en el proceso de caza y consumo de alimento de la especie. En términos generales, diversos estudios realizados con otras especies de mamíferos han demostrado que los estímulos olfativos (olores) afectan las actividades comportamentales tanto temporal como espacialmente, informaciones que contribuyen a la comprensión de la interacción predador-presa (Apfelbach *et al.*, 2005; Kluever *et al.*, 2009; van Beeck Calkoen *et al.*, 2021). Por ello, en nuestro contexto de estudio, nos interesa observar ciertas conductas en *Puma concolor* que podrían reflejar una relación entre la selección y el consumo de los alimentos ofrecidos.

El comportamiento alimenticio, en los centros de rescate o zoológicos, se encuentra simplificado por las restricciones que supone mantener los animales silvestres bajo condiciones ambientales controladas o semicontroladas. Sin embargo, estas condiciones no impiden la expresión de preferencias innatas (o aparentemente determinadas genéticamente) y otras, producto del aprendizaje (Hosey *et al.*, 2010). En los centros de rescate, se implementan programas de enriquecimiento ambiental cuyo objetivo primordial es lograr un beneficio para los animales, mejorando su funcionamiento biológico a través de modificaciones en su entorno (Morales Mijahuanca *et al.*, 2017; Duran Mejía, 2019; Leszczynski *et al.*, 2022). Dichos beneficios, se logran estimulando comportamientos específicos de especie, disminuyendo comportamientos anormales y mejorando las oportunidades de aprendizaje, lo que se traduce en un mayor bienestar animal en general (ejemplos en felinos: Newberry, 1995; Bashaw *et al.*, 2003; Skibieli *et al.*, 2007; Damasceno *et al.*, 2017; Young *et al.*, 2019). Sin embargo, gran parte de la investigación realizada en enriquecimiento analiza el efecto que se produce sobre el comportamiento animal, sin centrarse en las preferencias individuales de cada animal (Shepherdson, 1998; Mellen & MacPhee, 2001; Woods *et al.*, 2020). En particular para pumas alojados en centros de rescate, generalmente reciben una selección más limitada de tipos de alimentos que los disponibles en sus hábitats naturales. Por lo tanto, una forma potencial de enriquecimiento para la especie es ofrecer una selección más amplia de tipos de alimentos, lo cual, a su vez, podría mejorar el equilibrio nutricional de los animales (Newberry, 1995; Morales Mijahuanca *et al.*, 2017). A su vez, existe la posibilidad de darles a los animales la oportunidad de elegir el alimento, pudiendo hacer una evaluación de preferencias de elección apareada. Por ejemplo, Woods *et al.* (2020) estudiaron en *Panthera leo* mediante este enfoque la respuesta de los animales a ciertos estímulos,

otorgándole al animal libre acceso para interactuar con dos estímulos, con el objetivo de determinar qué elemento (estímulo) prefiere por sobre otro. Estos autores informaron que el análisis estadístico indicó una relación significativa positiva entre el primer elemento visitado y la duración total de la interacción elemento-animal durante 24 horas. Estas variables junto a otras como la latencia (periodo de tiempo transcurrido entre el estímulo y la respuesta) y la ocurrencia (total de eventos alimenticios), son mediciones útiles para caracterizar el comportamiento alimenticio.

En relación a las características de los alimentos, conocer los aspectos nutricionales y energéticos pueden ayudar a comprender la selección de presas que conforman la dieta del puma. Una percepción generalizada de los carnívoros es que están limitados por la cantidad de presas que pueden capturar, más que por su calidad nutricional. Por lo tanto, no tienen necesidad de regular el equilibrio de macro nutrientes (Kohl *et al.*, 2015). Aunque en pumas silvestres, se encontró que la especie presa más frecuente en su dieta es la que mayor valor energético aporta en comparación a las restantes (Gómez-Ortiz *et al.*, 2011). El aspecto nutricional considera los compuestos que participarán en las funciones fisiológicas (las proteínas para la formación/reparación de tejidos; los lípidos para la formación de hormonas; los carbohidratos participan en diversas vías metabólicas y en la formación de glucosa) en tanto que el energético involucra lo necesario para la realización de esas actividades. Ambos aspectos de un alimento están relacionados al contenido de biocompuestos, entre ellos los considerados como macronutrientes (lípidos, proteínas y carbohidratos) que, a su vez están conformados, principalmente, por ácidos grasos, aminoácidos y monosacáridos, respectivamente. Al presente no se cuenta con información que relacione la elección de alimentos por pumas en condiciones semicontroladas y su posible relación con los aportes nutricionales y energéticos.

En el presente trabajo se evaluó la respuesta comportamental a estímulos alimenticios en una serie de pruebas de elección y su consumo *a posteriori*, así como también la relación entre los valores nutricionales de los alimentos ofrecidos y las conductas observadas (latencia, ocurrencia) en los pumas alojados individualmente en un centro de rescate.

Hipótesis

Los alimentos ofrecidos en una prueba de preferencia de elección apareada, pollo y cerdo, afectan la conducta de búsqueda y de alimentación en ejemplares adultos de *Puma concolor* alojados individualmente en el centro de rescate, modificando el consumo lo cual podría relacionarse con las características nutricionales de los alimentos ofrecidos y la presencia de compuestos orgánicos volátiles específicos del alimento.

Predicción

-Los pumas visitarán primero el comedero con alimento, luego el comedero vacío y mostrarán una mayor ocurrencia de visitas al comedero con alimento.

-La elección manifestada por los pumas en la prueba de preferencia de elección apareada se asociará con mayor tiempo de comportamiento alimenticio y mayor consumo del alimento.

-La elección, y el consumo del alimento elegido, se relaciona con las características nutricionales.

Objetivo general

Evaluar la respuesta comportamental (ocurrencia, latencia, selección, preferencia, consumo) ante la presencia de alimento (según sus características químico-nutricionales) en ejemplares adultos de pumas (*Puma concolor*) alojados en un centro de rescate, y bajo condiciones semicontroladas.

Objetivos específicos

1. Evaluar la interacción comportamental (discriminación, preferencia y consumo) frente a estímulos generados por la presencia de alimentos derivados de las especies cerdo y pollo.
2. Determinar el valor nutricional de los alimentos ofrecidos como estímulos.
3. Establecer la relación entre la respuesta comportamental y valor nutricional de los alimentos ofrecidos.

Materiales y Métodos

Animales bajo estudio: características generales

Para llevar a cabo la evaluación, 6 ejemplares adultos de *Puma concolor* se evaluaron desde mayo a octubre de 2023. Estos ejemplares forman parte de la población de pumas que se encuentran, en buen estado de salud según el control sanitario de la institución e individualmente alojados, bajo condiciones ambientales semicontroladas, en Pumakawa Reserva de Animales (32°10'8.78"S; 64°28'26.64"O), Villa Rumipal Córdoba, Argentina (Tabla 1). Pumakawa pertenece a la red de centros de rescate reconocido por la Secretaría de Ambiente de la provincia de Córdoba (resolución 103 publicado en el Boletín Oficial de la Provincia de Córdoba, 14 de junio 2021), y es relevante mencionar que es la institución con mayor cantidad de ejemplares de esta especie.

Tabla 1: Características básicas de los ejemplares de *Puma concolor* adultos estudiados en el centro de rescate Pumakawa, Córdoba, Argentina.

Identificación interna	Sexo	Edad (años)	Peso (Kg)
Maico	Macho	13	37
Paquito	Macho	8	38.8
Papacho	Macho	8	37.5
Sacha	Hembra	13	22
Talita	Hembra	5	21
Unelen	Hembra	5	21

Breve historia de vida de los ejemplares estudiados:

Paquito y Papacho con solo dos meses de edad fueron traídos a Pumakawa en agosto del 2015, dentro de una caja de cartón. Llegaron en malas condiciones, asustados y con evidencias de una escasa alimentación.

Maico y Sacha son hermanos que vivían en el patio de una casa en Berrotarán (Córdoba), dentro de un gallinero vacío. Presumiblemente corrían riesgo de ser utilizados en peleas ilegales con perros. Llegaron a Pumakawa siendo juveniles.

Talita es la sobreviviente de una camada de 5 cachorros nacidos en un campo de la localidad de Idiazábal (Córdoba). Un grupo de adolescentes con perros encontraron a la madre de los cachorros y la mataron. Finalmente, el 14 de septiembre de 2018 llegaron a

Pumakawa los cachorros nacidos 48 horas antes, con bronconeumonía, de los cuales solo sobrevivió Talita.

Unelen es un puma que fue rescatado y rehabilitado por personal del Parque Nacional Lihué Calel (La Pampa), ya que cayó en una trampa cebo (trampa tipo para oso). Una de sus patas delanteras tuvo que ser amputada dadas las graves lesiones, luego el ejemplar fue trasladado a Pumakawa (Pumakawa, 2023).

Condiciones de residencia

- a) *Características físicas y estructurales del habitáculo:* cada habitáculo consiste en dos espacios un refugio y un patio. Presentan dos puertas de acceso independientes, una en el refugio y una en el patio, además una tercera puerta entre el refugio y el patio. El refugio consiste en un espacio con paredes de ladrillos, suelo de cemento, techo con madera y chapa, dos puertas de hierro (una sólida y una de reja) y un bebedero de plástico. Sus dimensiones aproximadas son de 2x2m. Los 6 pumas estudiados estuvieron alojados en habitáculos contiguos. El patio está delimitado con tejido de alambre y caños, tiene varias estructuras naturales (ejemplo: troncos) y artificiales (ejemplo: tarimas), con un suelo de tierra con vegetación y una pileta de cemento (bebedero). Sus dimensiones aproximadas son 7x6m.
- b) *Características ambientales y condiciones semicontroladas:* el ciclo de luz/oscuridad, temperatura y variaciones climáticas fueron las ambientales, propias de la región; en tanto que la alimentación fue realizada de manera controlada. La alimentación controlada consiste en el suministro de cortes de diferentes especies animales tales como pollo, caballo y vaca, y en menor medida jabalí, oveja, ciervo colorado según la disponibilidad (ya que la alimentación depende en gran parte de donaciones). La alimentación se suministra 3 veces a la semana (martes, jueves y sábado), una ración por día entre 3-5 kg de carne (ocasionalmente con hueso) y se entrega el alimento en horas de la tarde. Los cortes son presentados, generalmente recién descongelados, en el piso del refugio del habitáculo, y poseen diferentes tipos de tejidos (tegumento, musculo, óseo, etc.). El agua del bebedero (aproximadamente 20 L/bebedero) se renueva junto al suministro del alimento sólido. El alimento y el agua no consumido se retira dos días más tarde, cuando se realiza la limpieza del refugio.

Es relevante, para la factibilidad de este estudio, que el puma habitualmente acceda libremente al refugio mediante la apertura de la puerta de reja. El puma permanece encerrado en el refugio para limpiar el patio del habitáculo y renovar el agua de la pileta de cemento.

Diseño experimental

El diseño presentó 2 periodos experimentales durante 12 días consecutivos, en los cuales cada puma en su habitáculo fue estudiado para evaluar la respuesta comportamental frente a estímulos alimenticios:

- a) Aclimatación (8 días): periodo experimental 1
- b) Prueba de preferencia de elección apareada y evaluación de actividades *a posteriori* (4 días): periodo experimental 2 a y 2 b

Periodo experimental 1

El objetivo fue exponer durante 24h a los pumas al alimento (tejidos de pollo o de cerdo colocados en comederos con alfalfa, un tipo de alimento por día). Adicionalmente, este periodo fue útil para explorar sus comportamientos alimenticios, con énfasis en la discriminación olfativa y consumo del alimento. Este periodo experimental se replicó 4 veces a lo largo de los 8 días de estudio (lunes, miércoles, viernes y domingo).

Preparación del espacio de estudio y la ración de alimento suministrado: en el habitáculo se colocaron 4 comederos nuevos. Dos comederos amurados en esquinas opuestas de una pared del refugio del habitáculo (capacidad 13L; comedero n°1 y n°2) y dos comederos sujetos a postes de madera en el patio del habitáculo (capacidad 6; comedero n°3 y n°4). Los comederos n°3 y n°4 fueron ubicados a una distancia de 5m aproximadamente de la puerta del refugio y separados entre sí por una distancia equivalente a 1,5 cuerpos de puma (Fig. 1).

Cada puma fue alimentado en el refugio con una ración de 4kg de pollo o 4kg de cerdo. La ración de pollo estaba compuesta por tejido epitelial y tejido adiposo (0,37 Kg) y músculo (3,63 Kg); la ración de cerdo por tejido epitelial (0,145 Kg), tejido adiposo (0,395 Kg) y músculo (3,46 Kg). La cantidad de alimento administrado se definió en base a datos de pumas por: a) dieta recomendada para un ejemplar de referencia de 60kg (Dierenfeld & Graffam, 1996), b) evidencias de consumo de alimento en zoológicos (Soto

Shareva, 2015) y evidencias de consumo en la naturaleza (Wilckens *et al.*, 2016) y c) consumo habitual de los pumas estudiados y la prueba piloto (ver Anexo). Las proporciones y cantidad total de estas raciones, para ser utilizadas durante el breve periodo estudiado, fueron valoradas y aprobadas por el veterinario representante de la institución.

Todas las raciones utilizadas se prepararon en un laboratorio del ICTA a partir de pollo entero fresco (proveedor Avicola Farnochi) y de cerdo fresco despostado (proveedor Pormag). Las raciones fueron congeladas en un freezer (-20 °C) y trasladadas en conservadoras con hielo hasta el centro de rescate, donde se almacenaron en un freezer (-20 °C) hasta su utilización. Considerando la distribución y la proporción natural de los tejidos cárnicos en el pollo y cerdo, se prepararon raciones con los 3 tejidos más representativos (más detalles en Anexo).



Fig. 1. captura de imágenes de video obtenidas en la evaluación de los ejemplares de puma en diferentes momentos del día y espacios del habitáculo. Imágenes superiores= refugio, e imágenes inferiores: patio. Comederos n°1 y n°2 ubicados en refugio y, comederos n°3 y n°4 en patio. Notar la presencia del puma próximo a los comederos.

Detalles del suministro del alimento en el periodo de aclimatación: la ración inicial (pollo o cerdo) y la ubicación en uno de los comederos fue al azar para los diferentes pumas. A partir de esto el orden y la ubicación de las raciones en los comederos siguieron la siguiente alternancia, por ejemplo, pollo/comedero 1; cerdo/comedero 2; pollo/comedero 2 y cerdo/comedero 1; en todas las ocasiones el comedero apareado quedó sin alimento. En cada administración de alimento se agregó una cobertura de alfalfa en ambos comederos, generando así una barrera visual entre el puma y el contenido de forma análoga a la prueba de tipo “enterramiento” (Fig. 2; Yang & Crawley, 2009). Este tipo de prueba de alimentos enterrados en laboratorio (con roedores) se utiliza para comprobar la capacidad de discriminar olores (compuestos volátiles), incluidos tanto los olores no sociales como los sociales. Suponemos en pumas una reacción similar a la de los ratones en laboratorio, los ratones con restricción alimentaria que no localizan la comida dentro de un período de 15 minutos es probable que tengan déficits en capacidades olfativas; la mayoría de ratones con olfato normal pueden encontrar la comida escondida en pocos minutos.

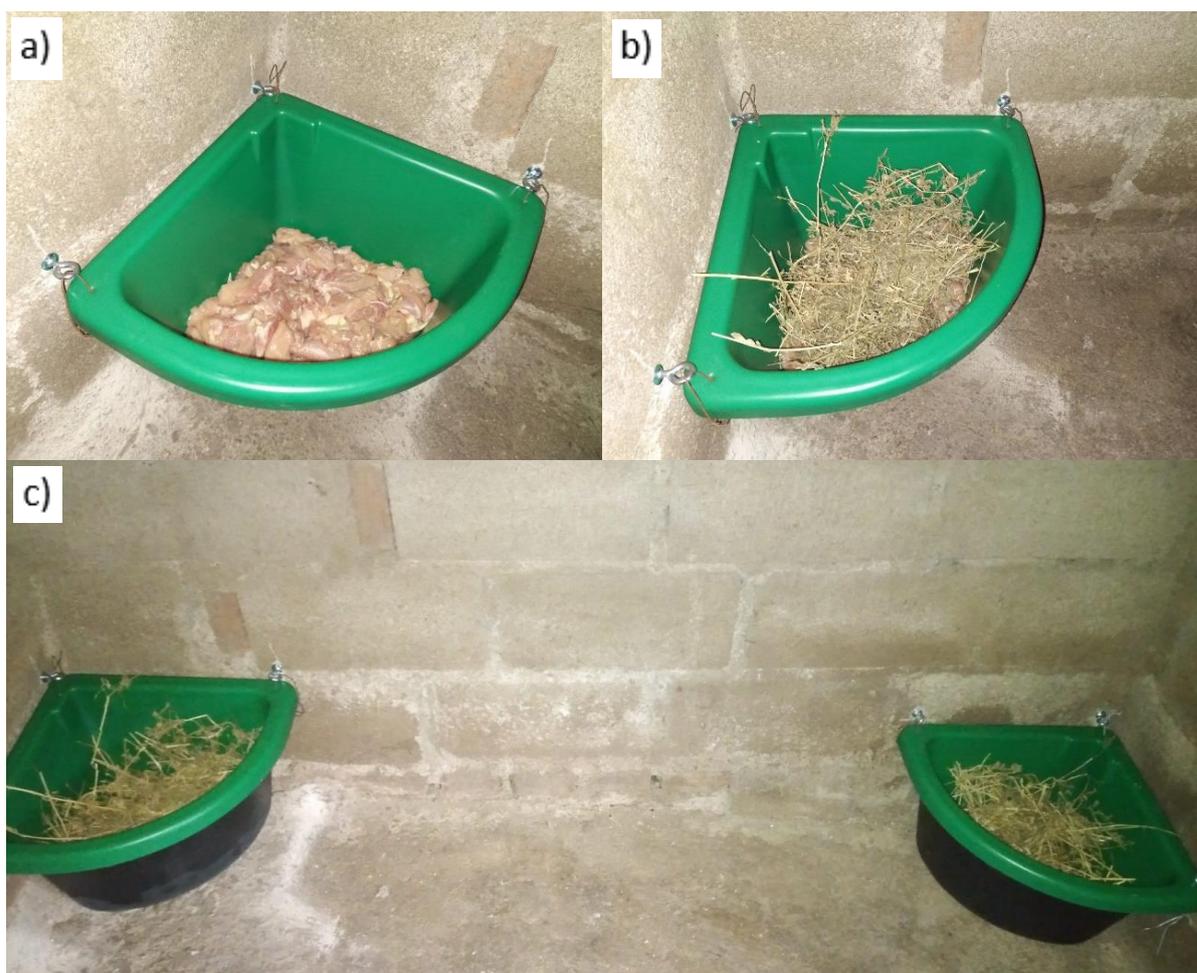


Fig. 2. Comederos utilizados en el refugio del habitáculo durante los periodos de aclimatación y prueba de preferencia de elección apareada para evaluar la respuesta comportamental de pumas adultos a la presentación de raciones de pollo y de cerdo. a) comedero con ración de pollo antes de ser agregada la alfalfa; b) comedero con ración de pollo con alfalfa agregada y c) Izquierda: comedero n°1 con ración de pollo y alfalfa agregada y Derecha: comedero n°2 sin alimento con alfalfa agregada (ejemplo para el periodo de aclimatación).

En la evaluación aquí realizada, cada puma estuvo expuesto a ayuno de alimento sólido (por 24 h); luego, el alimento fue administrado lunes, miércoles, viernes y domingo (a las 17 h, aproximadamente); cada puma pudo acceder libremente al refugio durante 24 h (periodo experimental 1, comederos 1^o 1 y n° 2), finalizado este plazo se ingresó al refugio a fin de verificar la presencia/ausencia de restos de alimentos en los comederos; en caso de observar restos, éstos fueron retirados a fin de proceder a la cuantificación de cada tejido.

Periodo experimental 2 a

El objetivo de la prueba de preferencia de elección apareada fue determinar si cada puma presentó una mayor interacción con un estímulo en particular, y si esto se podía relacionar con sus actividades alimenticias post prueba de preferencia y los valores nutricionales de los alimentos administrados, considerando estudios previos (Vargas & Anderson, 1996; Woods *et al.*, 2020; Zárate *et al.*, 2021). Este periodo experimental se replicó 2 veces (martes y jueves) a lo largo de los 4 días de estudio, con una duración total de 30 minutos. Se eligió este período de 30 minutos considerando estudios previos (Aldrich & Koppel 2015; Woods *et. al*, 2020) y luego de realizar una prueba piloto, donde se observó que aparecieron comportamientos anormales en tiempos mayores (más detalles en Anexo).

Suministro del alimento en la prueba de preferencia de elección apareada: las raciones de 4Kg de pollo y 4Kg de cerdo fueron suministradas, simultáneamente, el martes en los cuatro comederos, distribuidas de la siguiente manera: el 95 % de la cantidad total (3,8 Kg) en los comederos n°1 y n°2, y el 5 % restante (0,2 Kg) en los comederos n°3 y n°4 respectivamente; luego fueron cubiertos con alfalfa (barrera visual). El día inicial, martes, cada puma recibió 8 Kg de alimento en total (pollo en comederos n°1 y n°3; cerdo en comederos n°2 y n°4). La prueba se replicó el jueves, invirtiéndose el orden de los alimentos administrados (cerdo en comedero n°1 y comedero n°3, pollo en comederos n°2 y n°4).

En el caso de los comederos n°1 y n°2 (ubicados en el refugio) se consideró la alternancia de la alimentación ofrecida en el periodo de aclimatación. En tal sentido, el día martes se ofreció pollo en comedero n°1 y cerdo en comedero n°2, dado que previamente se había colocado cerdo en comedero 1 (domingo). La prueba de preferencia de elección apareada, se inició a las 17 h aproximadamente, y cada puma estuvo encerrado en el refugio durante 30 min (periodo experimental 2a) para evaluar la interacción con ambos estímulos. Luego se abrió la puerta de rejas y cada puma fue observado (monitoreado, mediante cámaras infrarrojas, ver *Metodologías y variables*) durante el tiempo restante hasta cumplirse 24h (periodo experimental 2b; ver más adelante).

Periodo experimental 2 b

El objetivo de este periodo fue explorar la relación entre el comportamiento alimenticio evaluado en la prueba de preferencia de elección apareada y las actividades comportamentales asociadas al consumo del alimento en los comederos n°1 y n°2, y

comederos n°3 y n°4. Este periodo experimental se replicó 2 veces a lo largo de los 4 días de estudio (martes y jueves), con una duración total de 1410 minutos; a continuación del periodo experimental 2 a.

En la Figura 3 se resume el diseño experimental: periodos experimentales 1, 2 a y 2 b.

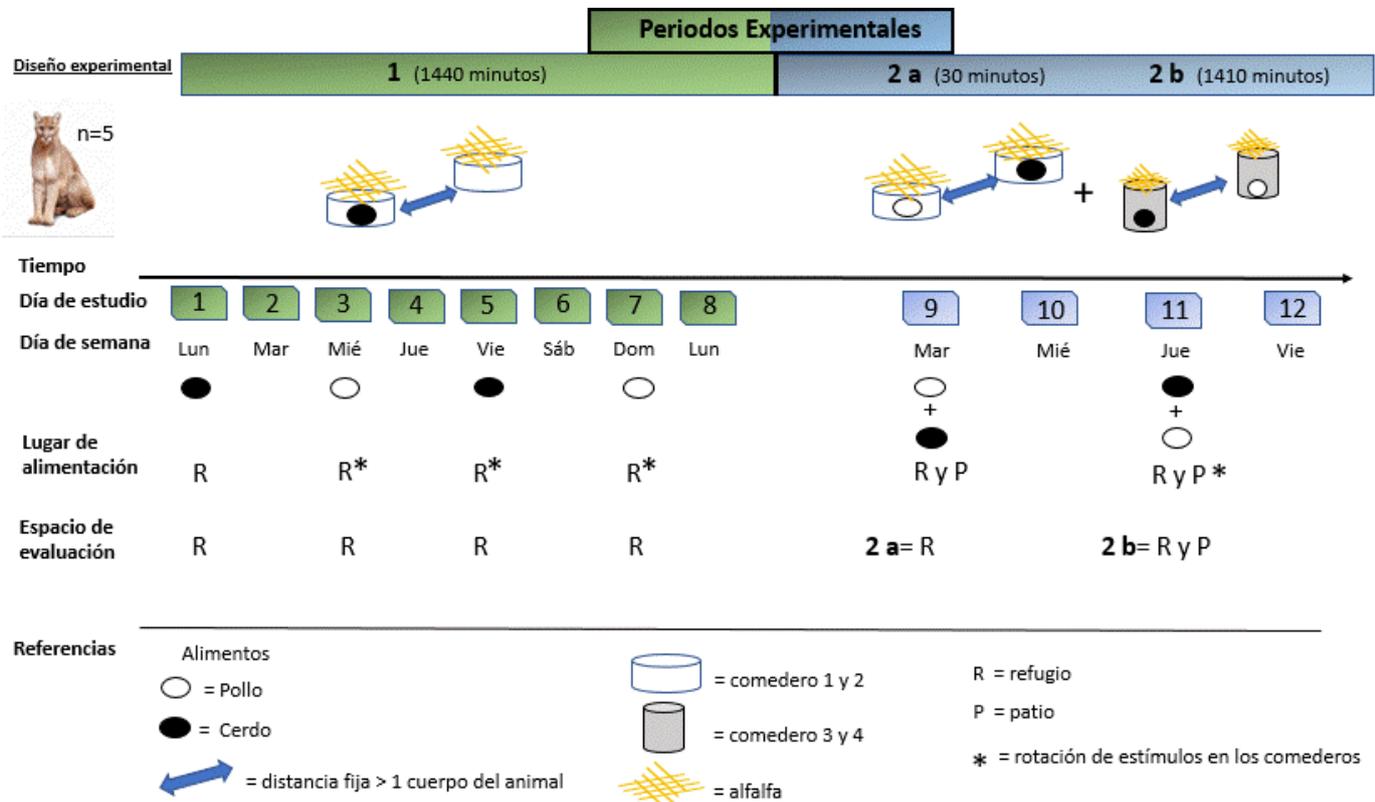


Fig. 3. Esquema ilustrativo del diseño experimental que se empleó en el presente estudio.

Se descartó la serie de datos del puma Unelen debido a que no respondió a la propuesta experimental planteada. Por ejemplo: en el periodo experimental 1, en repetidas ocasiones no se pudo suministrar el alimento en el horario fijado debido a que el ejemplar no liberaba voluntariamente el espacio del refugio; en el periodo experimental 2a, se suministró el alimento en el refugio sin embargo el puma no entro para dar inicio a la prueba de preferencia de elección apareada.

En relación al objetivo específico 2, se realizó el análisis nutricional mediante pruebas *in vitro* de los alimentos ofrecidos, se evaluaron parámetros tales como contenido de proteínas, lípidos, cenizas, humedad, carbohidratos y energía total por ración. La importancia de estos análisis se relaciona al objetivo 3: explorar la relación entre la respuesta comportamental de los pumas en la prueba de preferencia de elección apareada

y los aportes nutricionales y energéticos de los alimentos administrados. Cada muestra de tejido fue obtenida al iniciar el procedimiento de preparación de alimentos en el laboratorio del ICTA y se conservaron en un freezer a -20°C hasta su análisis (ver *Metodología y variables*). Se determinó la composición proximal de las muestras (tejidos individuales utilizados en los dos tipos de raciones diseñadas). Además, se cuantificó el consumo de alimentos, en el periodo de aclimatación y en la prueba de preferencia de elección apareada, mediante el cálculo de la diferencia entre el alimento administrado y el resto obtenido a las 24 h.

Metodologías y variables

Metodologías para evaluar comportamiento:

Las observaciones comportamentales fueron realizadas por medio de cámaras infrarrojas (HIKVISION Turbo HD- IR Turret Camera- DS 2CE56C2T IRM) y videos grabados en una grabadora de vídeo digital (conocido por sus siglas en inglés DVR, Digital Video Recorder). Una cámara fue ubicada en el techo del refugio y otra cámara fue ubicada en el techo del patio, estas cámaras fueron instaladas dos semanas antes de las observaciones comportamentales para que cada puma se habituara a su presencia. En los períodos de observación, no se permitió que entraran cuidadores a las áreas de estudio (refugio y patio). El registro y análisis de los comportamientos fueron realizados por un único observador (tesinista). En el periodo de aclimatación (periodo experimental 1), se analizaron los vídeos mediante muestreo focal (evaluación individual), durante las 24h de los días lunes, miércoles, viernes y domingo a partir de la administración del alimento (Martin & Bateson, 2013).

Se registraron la latencia (primera interacción entre el puma y el comedero con alimento), el primer comedero visitado y las ocasiones que el puma visito los comederos y expresó comportamiento alimenticio (ver detalles en *Variables*). Estas variables fueron útiles para evaluar si el puma discrimina (con énfasis a nivel olfativo) la ubicación del estímulo alimenticio en el comedero (con/sin alimento y con barrera visual), y para explorar la relación entre el comportamiento alimenticio (tiempo dedicado, eventos) y el consumo de cada alimento ofrecido (pollo o cerdo). Además, se registró la actividad del puma mediante un muestreo instantáneo a intervalos fijos de tiempo cada 5 minutos (periodo experimental 1= 288 registros por 24h). Cuando el puma no estuvo en el campo visual de la cámara (pocas ocasiones), los registros correspondientes a esos momentos se descontaron del número total de registros por 24h. Se registró además la actividad general

de cada puma debido a que se ha visto que en zoológicos muestran diversos patrones de actividad, entonces, es una forma básica de caracterizar cada individuo y valorar posibles similitudes entre los pumas estudiados (ver resultados en Anexo).

En el período de preferencia de elección apareada, se analizaron los vídeos de los días martes y jueves mediante muestreo focal durante 2 sesiones de observación por día: los primeros 30 minutos (periodo experimental 2a) y los 1410 minutos restantes (periodo experimental 2b). Las actividades comportamentales en estos periodos experimentales fueron analizadas mediante los mismos métodos y variables mencionadas. Las observaciones comportamentales durante los primeros 30 minutos fueron útiles para determinar posible elección de alimento (pollo o cerdo) y las observaciones *a posteriori* fueron útiles para determinar si el consumo del alimento y si la interacción con los comederos n°3 y n°4 se asociaba con los resultados de la prueba de preferencia de elección apareada.

Adicionalmente, siguiendo a Martin & Bateson (2013) se calculó un índice, denominado Índice de Preferencia para pumas (IPp), para valorar la respuesta en la prueba de preferencia de elección apareada considerando las diferencias absolutas en las respuestas al pollo y al cerdo. El IPp se obtuvo con el siguiente cociente: Respuesta al pollo / (Respuesta al pollo + Respuesta al cerdo). En nuestro estudio se propuso que la respuesta al estímulo alimenticio es igual a la sumatoria de los valores enteros absolutos obtenidos para las variables Comportamiento de alimentación y Ocurrencia total de alimentación/ por día de evaluación (dos valores de IPp fueron obtenidos por puma). Justificamos el uso de estas variables ya que reflejan de manera directa la ingestión del alimento. El IPp varía en 0-1, si el puma respondió al pollo y nunca al cerdo el valor será 1 (uno), inversamente si el puma respondió al cerdo, pero nunca al pollo el valor será 0 (cero). El resultado se expresa como la Mediana de los valores IPp obtenidos para todos los pumas.

Ejemplo del cálculo del IPp para el puma Maico (día martes):

Respuesta al pollo= 7,1 minutos + 1 evento= 8,1

Respuesta al cerdo= 7,9 minutos + 3 eventos= 10,9

$$IPp = \frac{8,1}{(8,1+10,9)} = 0,42$$

Variables comportamentales:

1. Latencia (segundos): tiempo transcurrido entre que el puma ingresó al espacio de evaluación (refugio o patio) y llegó al comedero con alimento, iniciando el conteo del tiempo cuando la cabeza del puma cruza la puerta entre el refugio y el patio del habitáculo, y finalizando el conteo cuando la cabeza se observa sobre el comedero. Esta variable fue cuantificada tres veces, en el periodo de aclimatación: 1°) cuando el puma ingresó al refugio luego de la administración del alimento (pollo o cerdo), y en el periodo de la prueba de preferencia de elección apareada: 2°) cuando el puma ingresó al refugio luego de la administración de alimento (pollo y cerdo), y 3°) cuando el puma egresó del refugio para ingresar al patio (fracciones de pollo y cerdo), finalizada la prueba de 30 minutos.
2. Primer comedero visitado: registro inicial de la interacción puma/comedero, cuando el puma inició el periodo experimental 1 y 2a. El resultado se expresa como proporción de comederos visitados por periodo experimental.
3. Ocurrencia total de visita por comedero (registros/periodo experimental): conteo de las ocasiones en que el puma visitó el comedero, del número total de visitas a los comederos. Una visita fue considerada cuando la cabeza del puma permaneció al menos 5 segundos sobre el comedero. El resultado se expresa como número de visitas por periodo experimental.
4. Comportamiento de alimentación (tiempo, segundos/periodo experimental): registro de la duración de este comportamiento exhibido por el puma. Se definió esta categoría comportamental como el puma en posiciones diversas, parado o sentado, ingiriendo el alimento administrado (ración de pollo o cerdo) por medio de la masticación asociado a movimientos variables de la cabeza. Esta categoría comportamental se basa en etogramas específicos (Resende *et al.*, 2009; Stanton *et al.*, 2015; Queiroz & Young, 2018). Se discriminó entre alimentación sólida y líquida. El resultado se expresa como tiempo de alimentación por periodo experimental.
5. Ocurrencia total de alimentación (n° de eventos/periodo experimental): conteo de las ocasiones en que el puma se alimentó, para los casos de ingesta de alimento sólido (pollo o cerdo). El resultado se expresa como proporción de eventos de alimentación por periodo experimental.
6. Actividad total (registros/periodo experimental): conteo del estado activo del puma. La categoría actividad se definió como el cuerpo del puma en movimiento

con diferentes posiciones sentado, acostado o parado, con sus patas en posiciones variables, boca arriba, boca abajo, y sus ojos abiertos o cerrados (Resende *et al.*, 2009; Stanton *et al.*, 2015; Queiroz & Young, 2018). Para la variable actividad total se obtuvieron medidas de resumen mediante la realización de actogramas, para los tres periodos experimentales (ver Anexo).

Metodologías para evaluar la composición químico-nutricional:

Muestras: Tejidos [muscular, epitelial y adiposo]. Todas las muestras fueron extraídas de piezas de pollo y de cerdo obtenidas de Avicola Farnochi y Pormag, respectivamente.

Las muestras de cerdo (epitelio, adiposo y músculo) y de pollo (epitelio, adiposo y músculo) fueron analizadas con el objetivo de determinar la composición química y para ello se siguieron los procedimientos recomendados por la AOAC (1996). Los análisis se realizaron por duplicado y los resultados se expresan como media \pm desvío estándar.

Variables del análisis nutricional

Los parámetros evaluados, para formular las raciones, se detallan a continuación:

1. Contenido de humedad: las muestras (10 g) fueron secadas en estufa entre 100-105 °C, hasta obtener peso constante (AOAC 934.01). Los resultados se determinaron por gravimetría (pesadas pre y post tratamiento) y se expresa como % Humedad (g/100g muestra).
2. Contenido de cenizas: las muestras (10 g) previamente secadas en estufa se colocaron en crisoles, donde fueron carbonizadas y calcinadas en mufla a 550°C (AOAC 923.03). Los resultados se determinaron mediante gravimetría y se expresa como % Cenizas, sobre base seca (sbs).
3. Contenido de lípidos totales: se obtuvo mediante extracción continua sólido-líquido (AOAC 920.39), para ello las muestras (3 g) previamente secadas en estufa (60 °C) se colocaron en la cámara de extracción de un equipo Soxhlet (se utilizó n-hexano como disolvente, por 12 h). Los resultados se determinaron por gravimetría y se expresa como % lípidos totales, sbs.
4. Cuantificación de proteína bruta: las muestras (0,3 g) fueron procesadas mediante el método de Kjeldahl (AOAC 984.13) (digestor y destilador Marca Büchi), el cual consiste en dos etapas, a saber: a) la determinación del contenido de nitrógeno y b) conversión de nitrógeno en proteína según la ecuación ($N*6,25$) (donde 6,25

es el factor de conversión); brevemente, primero se determinó el contenido de Nitrógeno total (N), [implica las etapas de digestión de la proteína (se obtiene sulfato de amonio), destilación del amoníaco liberado, recepción en solución de ácido bórico y titulación (para obtener la cantidad de nitrógeno)]; luego, se calculó el contenido proteico. Los resultados se expresan como % Proteína, sbs.

5. Contenido de carbohidratos (o extracto libre de nitrógeno): se calcularon por diferencia, para ello se consideraron los macronutrientes secos (%proteínas, %cenizas y %aceite), luego se utilizó la siguiente ecuación: Carbohidratos, sbs= $100 - (\% \text{ de macronutrientes, sbs})$. Los resultados se expresan como % Carbohidratos, sbs.

Los resultados de los análisis químico-nutricionales para conformar las raciones se encuentran en Anexo.

Para obtener la información nutricional de las raciones (pollo y cerdo) se determinó el Valor Energético (VEn), tanto el total como el que aporta cada macronutriente (proteínas, lípidos y carbohidratos), para ello se consideró que 1g de proteínas (o de carbohidratos) aporta 4Kcal y que 1 gramo de lípidos aporta 9 Kcal. Los resultados se expresan como Kcal/ración.

Al finalizar los periodos experimentales 1 y 2 b se recolectó, identificó y rotuló todo el pollo o cerdo no consumido. Los restos de pollo y cerdo fueron congelados y trasladados al laboratorio del ICTA, donde se limpiaron eliminando la alfalfa. Luego, se registró el peso por tejido, mediante el uso de una balanza (SYSTEL, modelo Clipse), y se cuantificó la ración no consumida. Así, para cada día de estudio, se obtuvo la diferencia entre el valor inicial y el valor final de la ración, cuyo resultado permite conocer el consumo en gramos de alimento por puma. Adicionalmente, considerando que el tamaño y peso de los pumas no fueron homogéneos, se normalizó mediante un cálculo de la proporción de cerdo y de pollo consumido por puma en relación al consumo total de ambos alimentos; esto es más apropiado que las cantidades absolutas (Aldrich & Koppel, 2015). Por otra parte, se analizó el consumo de cada tejido por ración en la prueba de preferencia de elección apareada mediante los valores de los restos de cada tejido por ración, se obtuvieron sus proporciones, lo que permite así caracterizar el consumo de alimento por parte de los pumas, al comparar proporciones suministradas con proporciones no consumidas. El resultado se expresa como porcentaje de tejido consumido por periodo experimental.

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) se extrajeron de muestras de raciones de pollo con alfalfa (PA), cerdo con alfalfa (CA) y alfalfa (A); en este estudio preliminar las muestras fueron incubadas en un baño termostático (25 °C, durante 20 minutos). Se utilizó una fibra de microextracción en fase sólida (HS-SPME), colocada en el espacio de cabeza (20 minutos) y se analizaron mediante (GC/MS) utilizando un cromatógrafo PerkinElmer Clarus 600 (Waltham) según Martin *et al.*, (2018). Se utilizó una fibra SPME (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, EE. UU.) recubierta con divinilbenceno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS). La identificación de compuestos volátiles se realizó en modo de escaneo completo (m/z 40–550) mediante una combinación de la biblioteca de espectros de masas del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) y tiempos de retención de GC-MS. Se realizó una clasificación de los COV para separar aquellos que fueron aportados por la alfalfa y los comunes entre CA y PA. Se informa el número total de COV los exclusivos para PA y CA agrupados por familia. Los COV exclusivos de PA representan a los generados por pollo y los de CA a los de cerdo.

Análisis estadístico

Periodo experimental 1 (aclimatación)

La latencia se analizó mediante un análisis para medidas repetidas con modelos lineales generalizados y mixtos, identificando al tiempo como factor fijo (lunes, miércoles, viernes y domingo) y como factores aleatorios al puma y al tipo de ración; la unidad de análisis fue el animal y se consideró una distribución de los datos del tipo Poisson (Quinn & Keough, 2002).

El primer comedero visitado se analizó mediante modelos lineales generalizados y mixtos, identificando al puma como factor aleatorio. Para valorar la respuesta de los pumas en esta variable binaria (1=comedero con alimento y 0=comedero vacío), se obtuvo el coeficiente de efectos fijos. Si este coeficiente es significativamente distinto a 0, según valor p, se obtuvo una probabilidad asociado mediante la siguiente fórmula, $\text{probabilidad} = \text{EXP}(\text{coeficiente de efectos fijos}) / [1 + \text{EXP}(\text{coeficiente de efectos fijos})]$. Esta probabilidad indica la elección del puma por el comedero con comida.

La ocurrencia del número total de visitas por comedero se analizó mediante un análisis de modelos lineales generalizados y mixtos, identificando al comedero (con alimento o sin alimento=vacío) como factor fijo y como factores aleatorios al día de estudio y al puma. La unidad de análisis fue el animal y se consideró una distribución de los datos del

tipo Normal; luego de la verificación del supuesto de normalidad mediante el gráfico de QQPlot (Quinn & Keough, 2002). Estos análisis fueron útiles para inferir si el puma discriminaba (con énfasis a nivel olfativo) la ubicación del estímulo alimenticio.

Para el comportamiento de alimentación, consumo de los alimentos y ocurrencia total de alimentación, solo se obtuvieron medidas de resumen de estadística descriptiva, y fueron de utilidad para valorar si hubo un rechazo total a la ración o parcial a los tejidos administrados. Ante una respuesta negativa (total o parcial, por ejemplo: neofobia al alimento nuevo) se habría afectado la viabilidad de la prueba de preferencia de elección apareada.

Periodo experimental 2a (prueba de preferencia de elección apareada)

En el caso del primer comedero visitado (variable binaria; 1=comedero con pollo y 0=comedero con cerdo), la ocurrencia total de visitas por comedero y ocurrencia total de alimentación, se aplicó nuevamente modelos lineales generalizados y mixtos, como en el periodo experimental 1.

A los fines de evaluar la respuesta (elección) de los pumas a la administración simultánea de la ración de pollo y cerdo, los datos de comportamiento de alimentación y ocurrencia total de alimentación fueron analizados según la siguiente estructura factorial: factor fijo=alimentación administrada (pollo y cerdo) y factor aleatorio: los pumas ($n=5$) y las repeticiones de la prueba de preferencia (martes y jueves). Considerando que la distribución de los datos para latencia y comportamiento alimenticio se asocia a una variable de conteo del tiempo, esto corresponde a una distribución Poisson, se aplicó un modelo lineal generalizado y mixto (Mangeaud & Videla, 2005).

Los valores obtenidos para el Índice de Preferencia (IPp) se transformaron a una respuesta binaria (1=preferencia de pollo y 0= preferencia de cerdo), considerando el siguiente criterio: preferencia de pollo= $1 \geq \text{IPp} \geq 0,5$ y preferencia de cerdo= $0,5 > \text{IPp} \geq 0$. Se analizó mediante modelos lineales generalizados y mixtos, identificando al puma como factor aleatorio y para valorar esta variable binaria (1=preferencia pollo y 0=preferencia cerdo), se obtuvo el coeficiente de efectos fijos. Dado que no se registraron datos el día jueves para el puma Papacho, en esta ocasión fue categorizado como no respondedor y fue excluido del cálculo del índice preferencia (Martin & Bateson, 2013).

Periodo experimental 2b (actividades post prueba de preferencia)

Los valores de ocurrencia total de visitas por comedero, comportamiento de alimentación, ocurrencia total de alimentación y consumo de alimento surgen de la respuesta del puma a los comederos n°1 y n°2 en refugio, y a los comederos n°3 y n°4 en patio, según el alimento que corresponda. La estructura factorial de los datos analizados fue igual al análisis estadístico empleado en el periodo experimental 2a, para comportamiento de alimentación y ocurrencia total de alimentación. En el caso de consumo de alimento, se aplicó un modelos lineales generalizados y mixtos para analizar esta variable asociado con una distribución normal

La latencia y visita al primer comedero asociada a los comederos 3 y 4 en el patio del habitáculo se analizaron de manera similar a lo realizado en el periodo experimental 2a. Además, se exploraron las correlaciones entre el comportamiento alimenticio (periodo experimental 2 a) vs consumo de alimento, expresado como proporción (periodo experimental 2b). Se informa el coeficiente Pearson.

Se realizaron todas las ilustraciones con InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2019) y los análisis estadísticos con Navure (Navure, 2023). Los resultados se expresan como media \pm error estándar de la media, con un nivel de significación $\leq 5\%$ para todas las pruebas. Se aplicó *a posteriori* de los análisis estadísticos la prueba LSD Fisher.

Resultados

Aclimatación (periodo experimental 1)

Para latencia el análisis estadístico indica que las diferencias son significativas para el factor tiempo ($F_{3,14}=12,37$; $p=0.0003$). El análisis *a posteriori* reveló una disminución del tiempo promedio del día 1 ($13,27\pm 4,02$ segundos) al día 3 de estudio ($5,96\pm 41,95$ segundos), transcurrido entre que el puma ingresó y llegó al comedero con alimento. La latencia del día 4 ($14,51\pm 4,33$ segundos) fue similar al día 1.

Para primer comedero visitado, el análisis estadístico indica diferencias significativas entre las visitas a los comederos con un coeficiente de efectos fijos estimado igual 1,1 ($T=2,13$; $p=0.0334$) para los cinco pumas; lo cual arroja una probabilidad de 0,75. Es decir, 3 de 4 ocasiones evaluadas en promedio los pumas visitaron el comedero con alimento. En la Figura 4, se observan las proporciones acumuladas de las respuestas por puma analizadas durante este periodo experimental.

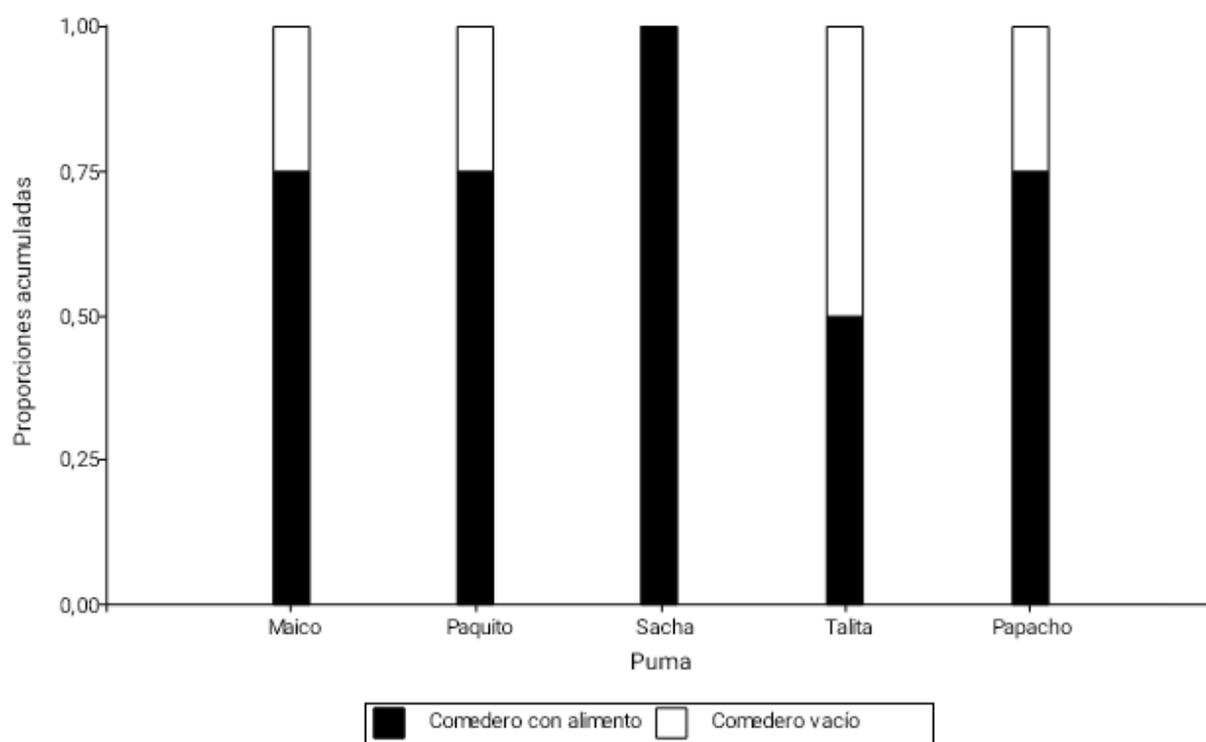


Fig. 4. Registro inicial de la interacción puma/comedero en el refugio del habitáculo, cuando el puma ($n=5$) inició cada periodo experimental (17h). Los días de estudio fueron: 1=Lunes, 2=Miércoles, 3=Viernes y 4=Domingo. El alimento fue administrado en el refugio, y en ambos comederos se agregó alfalfa (prueba tipo enterramiento). La ubicación del alimento se alternó entre comedero 1 y 2 durante los días de estudio.

Para ocurrencia total de visitas por comedero, el análisis estadístico indica diferencias significativas entre las visitas observadas a los comederos por los cinco pumas ($F_{1,31}=26,70$; $p<0,0001$); el análisis *a posteriori* reveló que se observaron mayor cantidad de visitas por puma al comedero con alimento ($8,6 \pm 0,94$ visitas/periodo experimental) que al comedero vacío ($4,20 \pm 0,38$ visitas / periodo experimental).

Se obtuvieron medidas estadísticas de resumen (valor medio \pm DE; mínimo-máximo), los pumas exhibieron $37,99 \pm 16,60$ minutos / periodo experimental 1 de comportamiento de alimentación (ocurrencia: 2-19 eventos de alimentación/periodo experimental 1), y consumieron el $94,99 \pm 10,85$ % / periodo experimental 1 (55,90-100%) de la ración administrada durante los días de estudio (sin rechazo de los tejidos administrados; datos no informados).

Prueba de preferencia de elección apareada (periodo experimental 2a)

Para latencia el análisis estadístico indica diferencias significativas para el factor alimento ($F_{1,16}=158,41$; $p<0,0001$). El análisis *a posteriori* reveló que la latencia de los pumas para llegar al comedero con pollo fue mayor con respecto al comedero con cerdo (Fig. 5A).

Para primer comedero visitado, el análisis estadístico indica que no existen diferencias significativas entre los comederos con pollo o cerdo durante ambos días de estudio (coeficiente de efectos fijos= -0,85; $T=-1,23$; $p=0,2195$) para todos los individuos. En el caso de ocurrencia total de visitas por puma a los comederos ($F_{1,17}=1,24$; $p=0,2814$), no se registraron diferencias significativas en las visitas de los pumas al comedero pollo ($1,80 \pm 0,47$ visitas / periodo experimental) vs comedero cerdo ($2,50 \pm 0,43$ visitas / periodo experimental).

El análisis estadístico para comportamiento de alimentación indica diferencias significativas para el factor alimento ($F_{1,16}=834,19$; $p<0,0001$). El análisis *a posteriori* reveló que los pumas exhibieron más tiempo comiendo cerdo que pollo (Fig. 5B). Con respecto a ocurrencia total de comportamientos alimenticios no se revelaron diferencias significativas mediante el análisis estadístico (cerdo: $1,80 \pm 0,47$ eventos / periodo experimental y pollo: $1,20 \pm 0,36$ eventos / periodo experimental; $F_{1,13}=1,81$; $p=0,2010$).

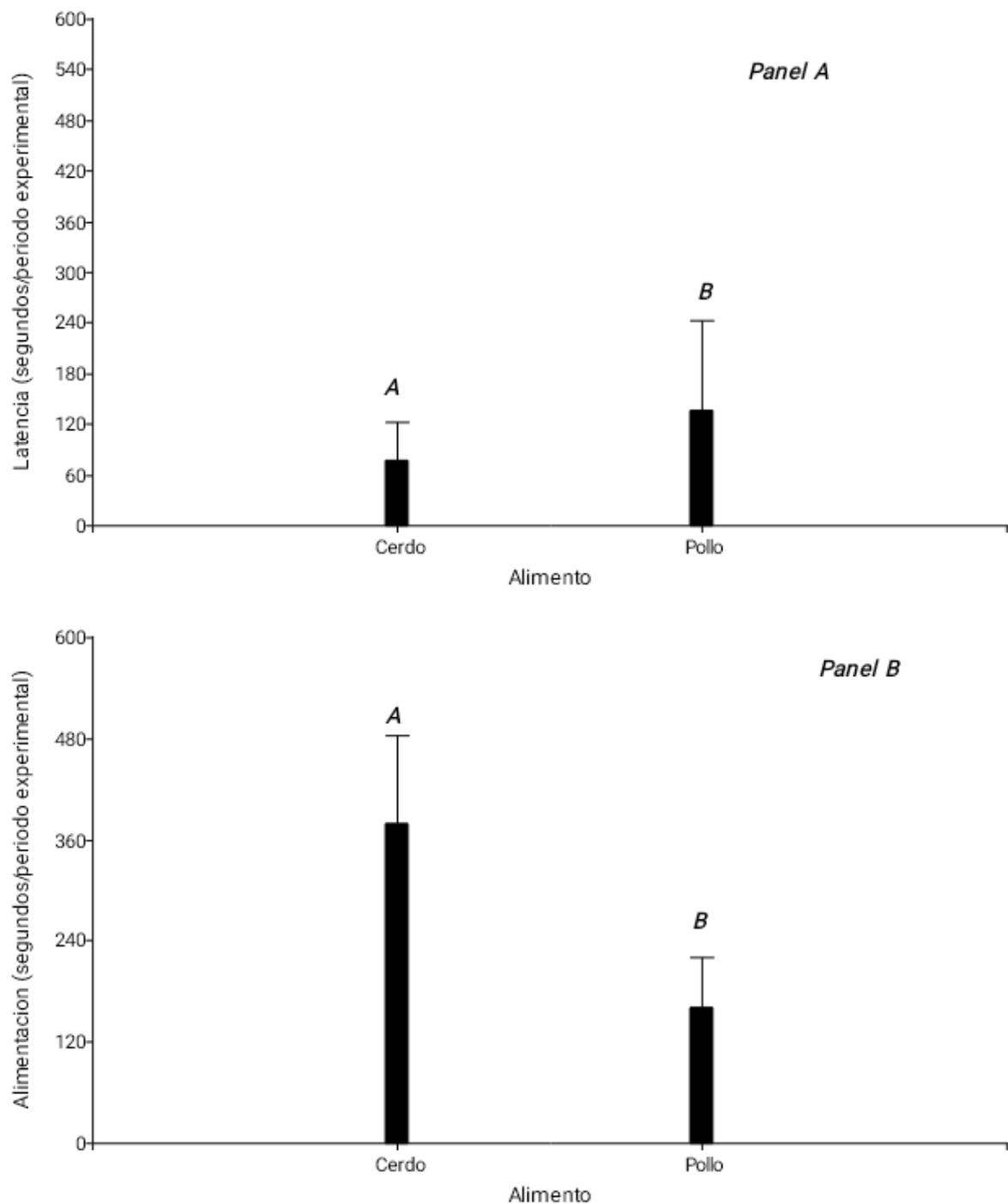


Fig. 5. Respuesta de los pumas en la prueba de preferencia de elección apareada. Panel A: Registro de tiempo transcurrido entre que el puma ($n=5$) ingresó al espacio de evaluación (refugio) y llegó al comedero con alimento (pollo o cerdo). Panel B: registro de la duración del comportamiento de alimentación exhibido por el puma. Inicio: 17h; evaluaciones de 30 min: martes y jueves; en ambos comederos se agregó alfalfa (prueba tipo enterramiento). La ubicación del alimento se alternó entre comedero $n^{\circ}1$ y $n^{\circ}2$ durante los días de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas en cada panel.

Se obtuvieron medidas estadísticas de resumen para el IPp (mediana; media \pm EE; mínimo-máximo): 0,42; $0,36 \pm 0,11$; 0-1 (n=9). De los cinco pumas evaluados uno solo no respondió el jueves a la prueba de preferencia de elección apareada, es decir, aunque visitó los comederos durante el periodo experimental de 30 minutos, no manifestó conductas alimenticias. Además, el análisis estadístico de la transformación binaria del IPp indica que no hay diferencias significativas en la prueba de preferencia de elección apareada repetida en dos ocasiones (coeficiente de efectos fijos= -1,46; T=-0,65; p=0,5174; Tabla 2).

Tabla 2. Análisis del Índice de Preferencia de los pumas a los estímulos alimenticios ofrecidos en la prueba de preferencia de elección apareada.

Puma	Día	Índice IPp	Transformación binaria	Preferencia
Maico	Martes	0,42	0	Cerdo
	Jueves	0,07	0	Cerdo
Paquito	Martes	0,42	0	Cerdo
	Jueves	0,61	1	Pollo
Sacha	Martes	0,05	0	Cerdo
	Jueves	0,11	0	Cerdo
Talita	Martes	0,58	1	Pollo
	Jueves	1	1	Pollo
Papacho	Martes	0	0	Cerdo
	Jueves	—	—	—

Actividades post prueba de preferencia (periodo experimental 2b)

Por un lado, el análisis estadístico para ocurrencia total de visitas por comedero indica que no existieron diferencias significativas en las visitas de los pumas a los comederos en el refugio de pollo y cerdo ($F_{1,13}=0,70$; $p=0,4184$). Por otro lado, en relación a los comederos n°3 y n°4 en el patio, para latencia el análisis estadístico indica que diferencias significativas para el factor alimento ($F_{1,15}=931,57$; $p<0,0001$). El análisis *a posteriori* reveló que los pumas exhibieron menos tiempo para llegar al cerdo ($155,78 \pm 105,64$ segundos) que al pollo ($381 \pm 210,72$ segundos). Para primer comedero visitado en el patio, el análisis estadístico indica que no existieron diferencias significativas en ambos días de estudio, para los cinco pumas (coeficiente de efectos fijos= 0,85; T=1,23; $p=0,2195$). El análisis estadístico para ocurrencia total de visitas por comedero en el patio indica que no existieron diferencias en las visitas de los pumas a los comederos en el patio de pollo y de cerdo ($F_{1,17}=2,56$; $p=0,1284$).

Además, el análisis estadístico para comportamiento de alimentación en refugio indica diferencias significativas para el factor alimento ($F_{1,16}=1040,71$; $p<0,0001$). El análisis *a posteriori* reveló que los pumas exhibieron más tiempo de alimentación con cerdo. Con respecto a esta misma variable evaluada en el patio, también se observaron diferencias significativas ($F_{1,16}=194,05$; $p<0,0001$). Nuevamente el análisis *a posteriori* reveló que los pumas exhibieron más tiempo de alimentación con el cerdo (Fig. 6). Con respecto a ocurrencia total de comportamientos alimenticios no se revelaron diferencias significativas tanto en el refugio como en el patio ($F_{1,18}=3,45$; $p=0,0797$ y $F_{1,13}=0,23$; $p=0,6389$; respectivamente).

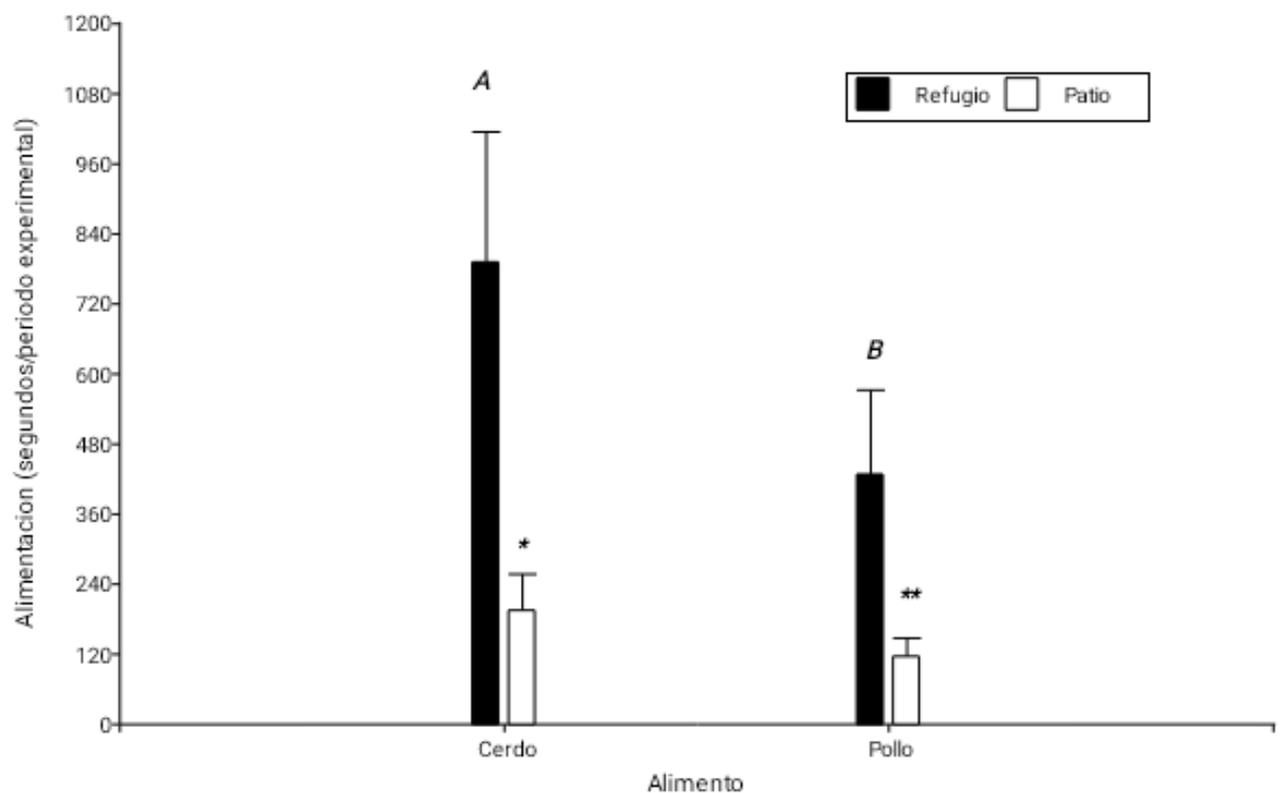


Fig. 6. Respuesta de los pumas a los alimentos pollo y cerdo, post prueba de preferencia de elección apareada. Registro de la duración del comportamiento de alimentación exhibido por el puma durante 1410 minutos. Inicio: 17:30h; martes y jueves; en los cuatro comederos se agregó alfalfa (prueba tipo enterramiento). La ubicación del alimento se alternó entre comedero n°1 y n°2 (refugio) o n°3 y n°4 (patio) durante los días de estudio. Diferencias significativas ($p<0,05$): A vs B o * vs **.

Análisis químico-nutricional y consumo de alimento:

Basados en el análisis nutricional de las muestras de tejidos (ver Anexo), los resultados correspondientes a las raciones de cerdo y pollo se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Composición nutricional de las raciones de cerdo y pollo utilizadas en la prueba de preferencia de elección apareada.

Alimento	Tejido	Lípidos (% P/P)	Proteína (% P/P)	Carbohidrato (% P/P)
Cerdo	Muscular	3,37	13,75	2,77
	Epitelial	1,16	1,15	0,18
	Adiposo	9,16	0,0	0,18
	Total/100g de ración	13,69	14,9	3,3
Pollo	Muscular	2,63	13,26	3,0
	Epitelial + Adiposo	2,97	1,16	0,12
	Total/100g de ración	5,6	14,42	3,2

P/P: g / g de muestra

Se obtuvo el valor energético total que aporta cada ración de cerdo y pollo (7817,73 Kcal y 4914,94 Kcal, respectivamente); y los valores energéticos aportados por cada macronutriente dentro de cada ración: proteínas (2385 Kcal), lípidos (4932,41 Kcal) y carbohidratos (500,32 Kcal) para la ración de cerdo; proteínas (2306,4 Kcal), lípidos (2023,02 Kcal) y carbohidratos (585,52 Kcal) para la ración de pollo.

El análisis del consumo del alimento indica que no existieron diferencias significativas entre las proporciones para cerdo y para pollo consumidas por los pumas (0,57 vs 0,44; respectivamente; $F_{1,17}=1,11$; $p=0,3063$); las cantidades absolutas de cerdo y de pollo consumidas por los pumas fueron $2897,50 \pm 438,31$ g y $2327,50 \pm 487,03$; respectivamente. En la Figura 7 se muestran los porcentajes de tejido consumido por ración a lo largo de los periodos experimentales 2 a y 2 b.

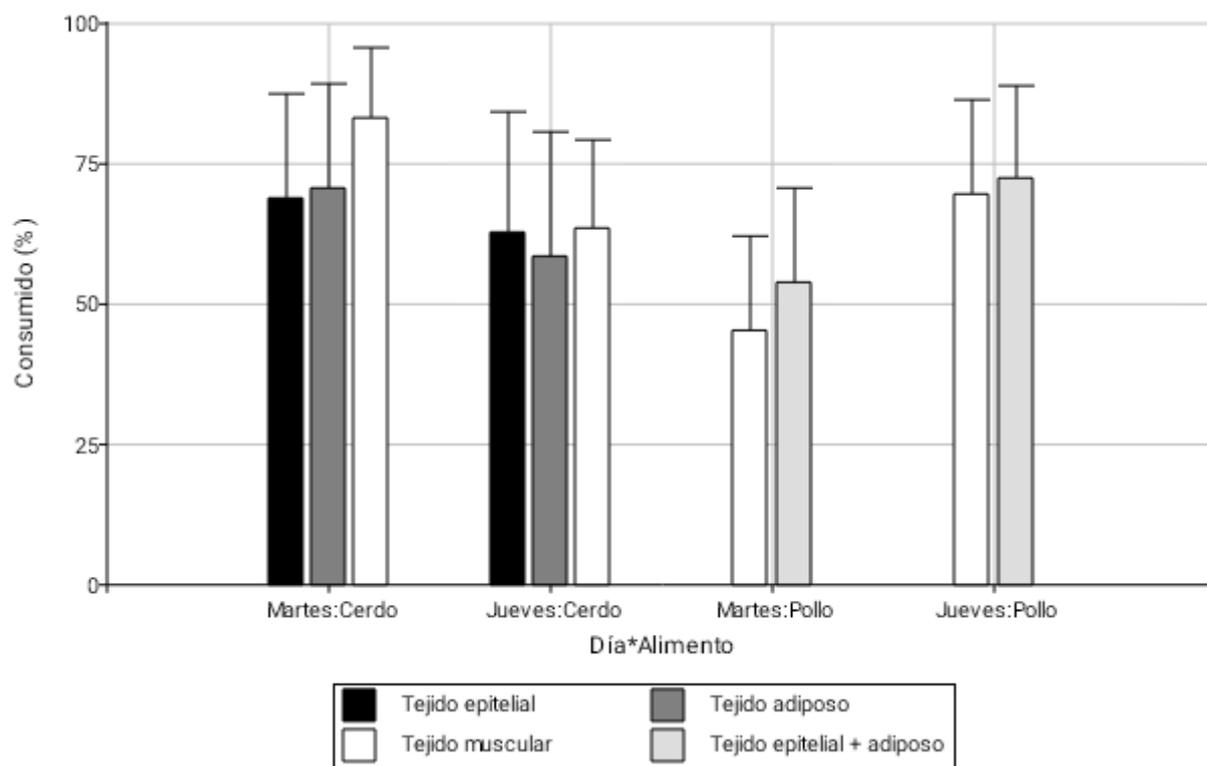


Fig. 7. Porcentaje de los tejidos consumidos por los pumas (n=5) en el periodo experimental 2a+2b. El cálculo surgió de la diferencia entre los tejidos administrados por ración (cerdo o pollo) y los restos de tejidos colectados al finalizar el período experimental (24h de estudio).

Con respecto al análisis de correlación entre el comportamiento de alimentación y los alimentos, los coeficientes de Pearson fueron para cerdo $r=0,42$ ($p=0,23$) y para pollo $r=0,79$ ($p=0,01$). Existe una correlación positiva entre el comportamiento de alimentación observado en el periodo experimental 2 a y el consumo de pollo por los pumas observados en el periodo experimental 2 b.

El análisis preliminar de la presencia de compuestos orgánicos volátiles (COV), indica que se detectaron en total 37 en las muestras de cerdo y de pollo. Entre los cuales se clasificaron 9 compuestos exclusivos en la muestra de cerdo y 4 exclusivos en la muestra de pollo. Los 9 COV se agrupan en la familia de hidrocarburos y/o oxigenado, mientras que los 4 restantes fueron clasificados en el grupo oxigenados.

Discusión

En el presente trabajo se logró establecer que las actividades comportamentales de los ejemplares adultos de *Puma concolor*, estudiados bajo condiciones semicontroladas, son afectadas por la presencia del alimento (cerdo y pollo). En la parte inicial del estudio, fue evidente que los pumas se aclimataron sin presentar demoras al acceder al refugio con la propuesta experimental. En todas las ocasiones los pumas pudieron detectar el alimento oculto debajo de la alfalfa en los comederos, y en la mayoría de las ocasiones llegaron primero al comedero con alimento vs comedero vacío. Además, por medio de las evaluaciones realizadas, pudimos determinar que el tipo de alimento ofrecido en las pruebas de preferencia de elección apareada modificó la dinámica de las conductas estudiadas en los pumas. Se detectó que el tiempo de búsqueda (latencia) manifestado por los pumas varió según el tipo de alimento, llegando más rápido al comedero con cerdo. A su vez, se determinó que los pumas pasaron más tiempo interactuando con el cerdo (raciones suministradas) en relación al pollo. Por otra parte, los pumas consumieron las mismas cantidades (masas) de cerdo y de pollo. Las raciones estuvieron conformadas por diversos tejidos blandos, entre ellos el principal fue el muscular y sus nutrientes mostraron similitudes en los análisis químicos-nutricionales; sin embargo, la ración presentó diferente valor energético (cerdo>pollo).

Dentro del periodo experimental 1, el estudio presenta evidencias asociadas a latencia que pueden entenderse como una aclimatación de los pumas a la situación. Sin embargo, en el último día de estudio esta variable se vio incrementada, relacionándose con el único día donde los pumas (3/5) pasaron primero por el comedero vacío y luego llegaron al comedero con alimento. No tenemos otra explicación más que el azar para este resultado. Se pudo determinar que no hubo aversión hacia los estímulos alimenticios suministrados ni hacia los diferentes tejidos que formaban las raciones, debido al gran porcentaje de consumo que mostraron los pumas durante los días de estudio y la gran ocurrencia de visitas al comedero con alimento. A su vez, la implementación de comederos y de alfalfa no representó una interferencia con respecto al consumo de los alimentos. Si tenemos en cuenta que en felinos como el gato doméstico (Hullar *et al.*, 2001) y el puma (mencionado en introducción) usan los sentidos de la visión y el olfato para la detección del alimento, es posible considerar que nuestro estudio demuestra que los pumas detectaron la presencia del alimento suministrado (resultados de visitas al primer comedero con alimento), posiblemente con énfasis en el sentido del olfato ya que la barrera visual de alfalfa habría interferido el campo visual del puma.

En el periodo experimental 2 a, la prueba de preferencia de elección apareada (30 minutos), reveló con claridad que los pumas estudiados se aproximaron con mayor velocidad al cerdo que al pollo, y mostraron más tiempo de interacción con el cerdo. Esto podría explicarse por varios factores, considerando que los pumas consumieron ambos alimentos en el periodo de aclimatación: a) por el mayor aporte energético de la ración de cerdo determinado en el presente estudio; b) presencia de ciertos compuestos orgánicos volátiles (COV) propios del cerdo que resulten más estimulantes que los del pollo para los pumas, reflejándose en una mayor interacción con las raciones de cerdo. En tal sentido, los resultados obtenidos del análisis indican la presencia de mayor número y diversidad de COV en la muestra de cerdo; c) otros atributos del alimento como el color y/o la palatabilidad que ejercerían efecto en el tiempo de interacción de puma-alimento; por todo ello se sugiere incrementar la investigación a fin de aportar datos que permitan una mejor comprensión acerca de los factores que influyen en esta selección del alimento.

Por otro lado, lo observado en relación al tiempo total invertido por los pumas en la ración de cerdo se contrasta con el hecho que los pumas no mostraron diferencias en las visitas y en la frecuencia de eventos de alimentación, en la prueba de preferencia de elección apareada. En cuanto al índice de preferencia para pumas (IPp), este reveló que los pumas no prefieren un alimento sobre el otro. El hecho que los pumas interactuaran con ambos alimentos quizás explica este resultado. Sin embargo, si consideramos las diferencias individuales como se muestra en la Tabla 3 de la sección resultados, es posible apreciar que tanto Maico, Sacha, Talita y Papacho mostraron una respuesta consistente a un estímulo (a cerdo o a pollo) en la repetición de la prueba de preferencia de elección apareada, mientras que Paquito no mostro dicha consistencia. Quizás este índice y/o las variables utilizadas para calcularlo, no fueron útiles en este estudio para describir la preferencia de un grupo que presenta divergencias en las respuestas a los alimentos.

En cuanto al periodo experimental 2 b, las actividades post prueba de preferencia (1410 minutos), primero se demostró que los pumas al salir al patio, terminada la prueba de preferencia de elección apareada, exhibieron menos tiempo para llegar al comedero de cerdo. Además, los pumas tuvieron la oportunidad de visitar los 4 comederos. Detectamos que el tiempo de interacción entre el alimento y el puma, ya sea en el patio como en el refugio, fue mayor para el cerdo. En cambio, los pumas no mostraron diferencias en las visitas y en la frecuencia de eventos de alimentación. Los resultados observados en el periodo experimental 2 b revelan el mismo patrón de

respuesta observado en la prueba de preferencia de elección apareada. Esto nos permite concluir que en ambos periodos experimentales (2 a y 2 b) existió una correspondencia para estas actividades comportamentales analizadas.

A partir del análisis nutricional *in vitro* de las muestras de cerdo y pollo, resultó evidente que las raciones de pollo y de cerdo aportan cantidades similares de proteína e hidratos de carbono, en cambio la ración de cerdo aportó más del doble de lípidos. Cabe recordar que no existen diferencias en los contenidos de humedad, cenizas, aceites, proteínas y carbohidratos entre los tejidos que mayor representación tuvieron en ambas raciones, es decir, el tejido muscular (información en Anexo). No fue posible realizar la comparación estadística entre los demás tejidos porque, para este estudio, en la ración de pollo los tejidos adiposo y epitelial se analizaron en conjunto, ya que la mayoría de la grasa se encuentra por debajo de la piel y no distribuida en los tejidos como sucede con el cerdo (Carvajal, 2001). En estudios previos, Carvajal (2001; especie estudiada pollo) y García (1993: especie estudiada cerdo) los valores nutricionales reportados para el tejido muscular en general fueron similares a los obtenidos en el presente estudio. Las excepciones, por ejemplo, en el caso de cerdo, los valores reportados para Lípidos (%) = $10,7 \pm 4,6$ y los obtenidos en nuestro estudio Lípidos (%) = $3,9 \pm 0,8$. En el caso de pollo detectamos solo diferencias para Proteínas % ($20,0 \pm 0,2$ vs $14,6 \pm 1,0$; respectivamente). Esto revela la importancia de realizar los análisis químico-nutricional, cuando se pretenda exponer animales a una prueba de elección de alimentos, ya que es conocido que los nutrientes aportados por las especies animales pueden variar según su genética, ontogenia, ambiente.

El consumo de las raciones de cerdo y pollo suministrado no fue diferente. Aunque se pudo ver una mayor interacción de los pumas con el cerdo (dado por menor latencia, más tiempo de alimentación y valores individuales de $P < 0,5$), este resultado no se vio reflejado en un mayor consumo del cerdo sobre el pollo. Como ya se mencionó, las raciones de cerdo y pollo difieren en los valores energéticos que aportan, y sabiendo el consumo de los alimentos por parte de los pumas podemos deducir los valores energéticos ingeridos: 5663 Kcal estimadas para 2897,5 g de cerdo y 2860 Kcal estimadas para 2327,5 g de pollo. Las actividades comportamentales observadas en la prueba de preferencia y en el periodo experimental 2 b indican que los pumas ingirieron más calorías provenientes del cerdo que del pollo. Considerando la naturaleza del puma como especie carnívora, los pumas evaluados estuvieron expuestos a alimentos: a) en igualdad de abundancia y facilidad de acceso (aspectos determinantes de la Teoría del Forrajeo

Optimo; Gutiérrez, 1998), b) en similitud en cuanto a los aspectos nutricionales (proteínas, lípidos, carbohidratos) del principal tejido componente de las raciones suministradas (muscular: 86% para cerdo y 90% para pollo), y c) diferencias a nivel energético particularmente por la contribución de calorías del tejido adiposo del cerdo. Entonces podría entenderse que el valor energético de los alimentos tendría un rol fundamental en las preferencias manifestadas. En tal sentido, en relación a los lípidos, estos macronutrientes de alta densidad energética pueden explicar la suposición tradicional que los carnívoros buscan alimento para maximizar la ingesta de energía; quizás los pumas estudiados estuvieron más estimulados por cerdo que por pollo debido a las diferencias aportadas a nivel lipídico (Kohl *et al.*, 2015).

En relación a la hipótesis que nos planteamos al inicio de la investigación, comprobamos efectivamente que las conductas de búsqueda (latencia) y de alimentación se vieron afectadas por el tipo de alimento ofrecido en la prueba de preferencia de elección apareada. No obtuvimos evidencias para afirmar que el consumo fue afectado por el tipo de alimento, pero sí obtuvimos evidencias para relacionar las conductas exhibidas por los pumas con las características nutricionales de los alimentos. En relación a las predicciones planteadas, los pumas visitaron primero los comederos con alimento y fueron más visitados que los comederos sin alimento, acorde a lo esperado. Por otro lado, esperaba observar un mayor consumo del alimento con el cual los pumas presentarían una mayor interacción, pero esta predicción no se cumplió ya que el consumo del cerdo no fue diferente al del pollo. También, se observó la relación entre la elección, el consumo del alimento elegido y las características nutricionales, donde los pumas ingirieron más calorías provenientes del cerdo.

Por último, en el contexto de conservación en centros de rescate de la especie y las implicancias sobre el bienestar animal, la prueba de preferencia de elección apareada aplicada en ejemplares de pumas adultos demostró ser un protocolo útil para determinar el impacto de ciertos alimentos en las actividades comportamentales. Aunque los resultados todavía deben ser tomados con precaución por el limitado número de animales, esta prueba de fácil aplicación y corta duración, podría ser considerada en otros centros de rescate donde se apliquen programas de enriquecimiento ambiental con énfasis en la dieta, como una estrategia para seleccionar estímulos en base a preferencias individuales. Esto contribuye a mejorar el estado de bienestar animal bajo cuidado humano, considerando las necesidades específicas y sus historias de vida.

Conclusiones

1. Ejemplares adultos de *Puma concolor* detectaron los estímulos alimenticios de cerdo y pollo presentados en una prueba de enterramiento en el refugio de sus habitáculos.
2. Ejemplares adultos de *Puma concolor* exhibieron, en la prueba de preferencia de elección apareada, dinámicas conductuales vinculadas con el tipo de alimento ofrecido, observándose una elección asociada al cerdo debido a la mayor interacción comportamental.
3. Ejemplares adultos de *Puma concolor* consumieron, durante 24 h de estudio, cantidades iguales de los estímulos alimenticios de cerdo y de pollo, suministrados durante la prueba preferencia.
4. La ración de cerdo presentó mayor valor energético; en cuanto al tejido presente en mayor proporción (muscular), las raciones de cerdo y de pollo presentaron similitudes en los nutrientes (humedad, cenizas, aceites, proteínas y carbohidratos).
5. En el procedimiento de elección apareada de cerdo y de pollo suministrados en el centro de rescate para los pumas adultos estudiados, los análisis indican que la energía consumida es un determinante del comportamiento alimenticio.

Consideraciones éticas y de bienestar animal: Dado que en el presente estudio no se contemplaban acciones que causen dolor y/o sufrimiento durante el desarrollo del trabajo, y tampoco acciones que *a priori* comprometieran el bienestar de los animales, la Comisión de Tesina de la FCEFyN aceptó que no correspondía presentar certificado y autorización Organismos de Bioseguridad, Comité de bioética o Comité Institucional para el CICUAL.

Referencias bibliográficas

- AOAC. 1996. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemis. <https://www.aoac.org> visitado 02/03/2023.
- ARMSTRONG, S. (1980). A chronometric approach to the study of feeding behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 4(1), 27-53.
- ABBA, A. M., R. M. BARQUEZ, M. C. CASTILLA, J. A. CODA, V. DAMINO, M. M. DÍAZ, M. E. PERIAGO, M. PIA, J. PRIOTTO, M. SUPERINA, D. TAMBURINI & R. TORRES. 2018. Categorización. Pp. 327-330, en: Torres, R. y D. Tamburini (eds.). *Mamíferos de Córdoba y su estado de conservación*. Editorial de la UNC.
- APFELBACH, R., C.D., BLANCHARD, R.J., BLANCHARD, R.A., HAYES, & I.S., MCGREGOR. (2005). Los efectos de los olores de los depredadores en las especies de presas de mamíferos: una revisión de los estudios de campo y laboratorio. *Revisiones de neurociencia y biocomportamiento*, 29 (8), 1123-1144.
- ALDRICH, G. C., & KOPPEL, K. (2015). Pet food palatability evaluation: a review of standard assay techniques and interpretation of results with a primary focus on limitations. *Animals*, 5(1), 43-55.
- BASHAW, M.J., M.A., BLOOMSMITH, M.J., MARR, & T.L., MAPLE. 2003. ¿Cazar o no cazar? Un experimento de enriquecimiento de alimentación con grandes felinos cautivos. *Zoo Biology: Publicado en afiliación con la American Zoo and Aquarium Association*, 22 (2), 189-198.
- BARTOLUCCI, C. S., M. M. GUERISOLI & G.M. MARTIN. 2021. Nativas versus exóticas: ¿Cuánto contribuyen en la dieta del puma, Puma concolor, en el Parque Nacional Los Glaciares, Patagonia, Argentina? *Mastozoología Neotropical*, 28(2): e0572. <https://doi.org/10.31687/saremMN.21.28.2.0.06.e0572>
- BORRERO, L.A. & F.M., MARTÍN. 1996. Tafonomía de carnívoros: un enfoque regional. *Arqueología, Sólo Patagonia*: pp. 189–206.
- BUENAVISTA, S., & F. PALOMARES. 2017. The role of exotic mammals in the diet of native carnivores from South America. *Mammal Review* 4:37-47. <https://doi.org/10.1111/mam.12111>
- CEBALLOS, G., P., EHRlich, J., SOBERÓN, I., SALAZAR & J., FAY. 2005. Global mammal conservation: what must we manage?. *Science*, 309: 603-607.
- CHACÓN PACHECO, J., & J.C. SALCEDO LÓPEZ. 2017. Percepción y uso de mamíferos no voladores en las localidades de Aguas Blancas y el Chimborazo en la Subregión Costanera del departamento de Córdoba, Colombia. *Mammalogy Notes*, 4(1), 32-35. <https://doi.org/10.47603/manovol4n1.32-35>
- DAMASCENO, J., G., GENARO, T., QUIRKE, S., MCCARTHY, S., MCKEOWN & R., O'RIORDAN. 2017. Los efectos del enriquecimiento intrínseco en felinos en cautiverio. *Zoobiología*, 36 (3), 186-192.
- DE ANGELO, C., R., LLANOS, M., GUERISOLI, D., VARELA, A., VALENZUELA, M., PÍA, M., MONTEVERDE, J., REPUCCI, M., LUCHERINI, R., D'AGOSTINO, M., BOLGERI, V., QUIROGA. 2019. *Puma concolor*. En: SAYDS-SAREM (eds.) *Categorización 2019 de los mamíferos de Argentina según su riesgo de extinción*. Lista Roja de los mamíferos de Argentina. Versión digital: <http://cma.sarem.org.ar>.
- DE LA TORRE, J. A. & G. DE LA RIVA. 2009. Food habits of pumas (puma concolor) in a semiarid region of central Mexico. *Mastozoología Neotropical*, 16(1):211-216, Mendoza.
- DIERENFELD, E. S., & W. S. GRAFFAM. 1996. Manual de nutrición y dietas para animales silvestres en cautiverio (ejemplos para animales de América Latina). Bronx: Wildlife Conservation Society.
- DI BITTETI, M., C., DE ANGELO, &, DI BLANCO & A., PAVIOLO. 2010. Niche partitioning and species coexistence in biotropical felids assemblage. *Acta Oecologica*, 36: 403-412.
- DI RIENZO J.A., F., CASANOVES, M.G., BALZARINI, L., GONZALEZ, M., TABLADA, C.W., ROBLEDO. *InfoStat versión 2019*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- DURAN MEJIA, P.A. 2019. Efecto del enriquecimiento ambiental en la respuesta comportamental de los felinos *Panthera leo*, *Puma concolor* y *Leopardus pardalis* en el zoológico Amaru de Cuenca. Tesis de licenciatura Universidad del Azuay, Ecuador.
- FERNÁNDEZ C. & R. BALDI. 2014. Hábitos alimentarios del puma (*Puma concolor*) e incidencia de la depredación en la mortandad de guanacos (*Lama guanicoe*) en el noreste de la Patagonia. *Mastozoología Neotropical*, 21(2):331-338, Mendoza.

- FRASER, D. & L.R. MATTHEWS. 1997.. Pruebas de preferencia y motivación. En MC Appleby y BO Hughes (Eds.) Bienestar animal. Nueva York: CAB International, págs. 159-173.
- GÓMEZ-ORTIZ, Y., V., FAJARDO, O., MONROY-VILCHIS, G.D., MENDOZA & V., URIOS. 2011. ¿Es importante la calidad de los alimentos para los carnívoros? El caso del Puma concolor. *Biología animal*, 61 (3), 277-288.
- GUERISOLI, M.M., N., CARUSO, E. M., LUENGOS VIDAL & M., LUCHERINI. 2019. Habitat use and activity patterns of *Puma concolor* in a humandominated landscape of central Argentina. *Journal of Mammalogy*, 100(1):202–211, doi:10.1093/jmammal/gyz005
- GUTIÉRREZ, G. 1998. Estrategias de forrajeo. Manual de Análisis Experimental del Comportamiento. Págs, 359-381.
- HARMSSEN, B.J., R., FOSTER, S. C., SILVER, L. E., OSTRO & C.P. DONCASTER. 2011. Jaguar and puma activity patterns in relation to their main prey. *Mammalian Biology* 76 :320–324.
- HERNÁNDEZ-SAINTMARTÍN, A., O. C., ROSAS-ROSAS, J., PALACIO-NÚÑEZ, L. A., TARANGO-ARÁMBULA, F., CLEMENTE-SÁNCHEZ & A. L., HOOGESTEIJN. 2013. Activity patterns of jaguar, puma and their potential prey in San Luis Potosí, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana*, 29(3): 520-533.
- HOSEY, G., V., MELFI & S., PANKHURST. 2010. *Zoo animals: behavior, management, and welfare*. 2nd edition. New York: Oxford University Press. p 522–524.
- HULLAR, I., S., FEKETE, E., ANDRASOF SZKY, Z., SZÖCS & T., BERKENYI. 2001. Factors influencing the food preference of cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 85(7-8), 205-211. inskip, c. & a., zimmermann. 2009. Human-felid conflict: a review of patterns and priorities worldwide. *Oryx*, 43: 18-34.
- KARANDIKAR, H., M.W., SEROTA, W.C., SHERMAN, J.R., GREEN, G., VERTA, C. KREMEN & A., MIDDLETON. 2022. Dietary patterns of a versatile large carnivore, the puma (*Puma concolor*). *Ecology and Evolution*, 12(6), e9002
- KLUEVER, B.M., L.D., HOWERY, S.W., BRECK & D.L., BERGMAN .2009. Los depredadores y los estímulos heteroespecíficos alteran el comportamiento en el ganado bovino. *Procesos conductuales*, 81 (1), 85-91.
- KOHL, K. D., S.C., COOGAN & D., RAUBENHEIMER. 2015. Do wild carnivores forage for prey or for nutrients? Evidence for nutrient-specific foraging in vertebrate predators. *BioEssays*, 37(6), 701-709.
- LANDGRAF, S., A. SUSENBETH, P.W. KNAP, H. LOOFT, G.S. PLASTOW, E. KALM AND R. ROEHE. 2006. Developments of carcass cuts, organs, body tissues and chemical body composition during growth of pigs. *Animal Science*, 82, pp 889-899 doi:10.1017/ASC2006097
- LESZCZYNSKI, M.L.D., R.J., PICCOLI, C.F., DE SOUZA, V.P., DE OLIVEIRA & E.C.B., DO PRADO GUIRRO. 2022. Efectos del enriquecimiento ambiental en la expresión conductual de pumas (*Puma concolor*) bajo cuidado humano. *Acta Veterinaria Brasilica*, 16 (2).
- MANGEAUD, A. & M., VIDELA. 2005. Looking for the lost independence: Using Mixed Generalized Linear Models in choice tests. *Ecol. Austral*, 15, 199–206.
- MARTIN, P., & P., BATESON. 2013. *Measuring Behaviour: An Introductory Guide*. Cambridge University Press.
- MARTIN, M.P., C.M. ASENSIO, V. NEPOTE & N.R GROSSO. 2018. “Improving quality preservation of raw peanuts stored under different conditions during a long term storage”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol. 120, pp. 1-11.
- MAVROMICHALIS, I., EMMERT, J. L., AOYAGI, S., & BAKER, D. H. 2000. Chemical composition of whole body, tissues, and organs of young chickens (*Gallus domesticus*). *Journal of food composition and analysis*, 13(5), 799-807.
- MELLEN, J. & M., SEVENICH MACPHEE. 2001. Filosofía del enriquecimiento ambiental: pasado, presente y futuro. *Biología del zoológico*, 20 (3), 211-226. <https://doi.org/10.1002/zoo.1021>
- MORALES MIJAHUANCA, C. J., R., MACHACA, E., QUISPE PEÑA, V., CANO FUENTES, M. H., ESCOBEDO ENRIQUEZ, F. A., CORREDOR & V., MACHACA MACHACA. 2017. Conducta del puma andino *Puma concolor* (Linnaeus, 1771) en cautiverio bajo un programa de enriquecimiento ambiental en el parque zoológico «Taraccasa» (Apurímac, Perú). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(4), 1063-1070.
- MUÑOZ S., M., MONDINI, V., DURÁN & A., GASCO. 2007. Los pumas (*Puma concolor*) como agentes tafonómicos. Análisis actualístico de un sitio de matanza en los Andes de Mendoza, Argentina. *Geobios*, pp: 123–131.
- NEWBERRY, R. 1995. Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. *Applied animal behaviour science*, vol.: 44 pp: 229-243.

- PIA, M. 2018. Orden Carnivora. Pp. 271-309, en: Torres, R. y D. Tamburini (eds.). *Mamíferos de Córdoba y su estado de conservación*. Editorial de la UNC.
- QUEIROZ, M. & R., YOUNG. 2018. The Different Physical and Behavioural Characteristics of Zoo Mammals That Influence Their Response to Visitors. *Animals*, 8(8), 139. doi:10.3390/ani8080139
- QUINN, G.P., & M.J., KEOUGH. 2002. Experimental design and data analysis for biologist. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- RESENDE, LS, G.L., REMY, J.R., RAMOS, J.R., VALDIR DE ALMEIDA & A., ANDRIOLO. 2009. La influencia del enriquecimiento de la alimentación en el comportamiento de pequeños felinos (Carnivora: Felidae) en cautiverio. *Zoología (Curitiba)*, 26 , 601-605.
- SCHMID, B., C., HELFRICH-FÖRSTER & T., YOSHII. 2011. A New ImageJ Plug-in "ActogramJ" for Chronobiological Analyses. *Journal of Biological Rhythms*, 26(5), 464-467.
- SCIABARRASI BAGILET A., R., DELMAR CERUTTI, M.C., SCAGLIONE, G., PICCIONE & R., REFINETTI. 2017. Daily rhythmicity of behavior of nine species of South American feral felids in captivity. *Physiology & Behavior*: volumen 180, pp: 107-112. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.08.015
- SHEPHERDSON, D.J. 1998. Trazando el camino del enriquecimiento ambiental en los zoológicos. *Segunda naturaleza: Enriquecimiento ambiental para animales en cautividad*, 1-12.
- SKIBIEL, A.L., H.S., TREVIÑO & K., NAUGHER. 2007. Comparación de varios tipos de enriquecimiento para felinos en cautiverio. *Zoo Biology: Publicado en afiliación con la American Zoo and Aquarium Association*, 26 (5), 371-381.
- SOTO SHAREVA, LUIS ENRIQUE. 2015. Dieta alimentaria en cautiverio de *panthera onca* (otorongo) y *puma concolor* (puma) en el zoológico unas-tingo maria. Segunda práctica pre profesional. Zoológico de la universidad agraria de la selva.
- STANTON, L. A., M.S., SULLIVAN & J.M., FAZIO. 2015. A standardized ethogram for the felidae: A tool for behavioral researchers. *Applied Animal Behaviour Science*, 173, 3-16. doi:10.1016/j.applanim.2015.04.001
- TOBIE, C., F., PÉRON & C., LAROSE. 2015. Assessing food preferences in dogs and cats: a review of the current methods. *Animals*, 5(1), 126-137.
- TORRES, R. & D., TAMBURINI. 2018. *Mamíferos de Córdoba y su estado de conservación*. (1ª ed.). Editorial de la Universidad de Córdoba.
- NIELSEN, C., D., THOMPSON, M., KELLY & C., LOPEZ-GONZALEZ. 2015. *Puma concolor* (versión de fe de erratas publicada en 2016). *La Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN 2015*: e.T18868A97216466. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T18868A50663436.en> . Consultado el 23 de junio de 2022.
- VAN BEECK CALKOEN, S.T., R., KREIKENBOHM, D.P., KUIJPER & M, HEURICH. 2021. Las señales olfativas de los grandes carnívoros modifican el comportamiento del ciervo rojo y la intensidad del ramoneo. *Ecología del comportamiento*, 32 (5), 982-992.
- VARGAS, A. & S.H., ANDERSON. 1996. Efectos de la dieta en la preferencia alimentaria del hurón de patas negras (*Mustela nigripes*) en cautiverio. *Zoo Biology: Publicado en afiliación con la American Zoo and Aquarium Association*, 15 (2), 105-113.
- WILCKENS, D. T., J. B, SMITH, S.A., TUCKER, D., THOMPSON & L., JENKS. 2016. Mountain lion (*Puma concolor*) feeding behavior in the Little Missouri Badlands of North Dakota. *Journal of Mammalogy*, 97(2), 373-385. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv183>
- WOODS, J.M., E.K., LANE & L.J., MILLER. 2020. Evaluación de preferencias como herramienta para evaluar el enriquecimiento ambiental. *Biología del zoológico*, 39 (6), 382-390.
- YANG, M. & J.N., CRAWLEY. 2009. Evaluación del comportamiento simple del olfato del ratón. *Protocolos Actuales en Neurociencia*. Unit: 8.24 doi:10.1002/0471142301.ns0824s48
- YOUNG, R.J. 2004. Environmental enrichment for captive animals. *Animal Technology and Welfare* 3, 53-54.
- YOUNG, R. J., C.S., DE AZEVEDO & C., CIPRESTE. 2020. Environmental Enrichment: the creation of opportunities for informal learning. *Zoo Animal Learning and Training*, 101-118.
- YOUNG, R.J, C.S., AZEVEDO & C.F., CIPRESTE. 2019. Enriquecimiento Ambiental. *Aprendizaje y entrenamiento de animales de zoológico*, pp: 101-118. doi: 10.1002/9781118968543.ch6
- ZANÓN-MARTÍNEZ, J. I., M. J., KELLY, J. B., MESA-CRUZ, J. H., SARASOLA, C., DEHART & A., TRAVAINI. (2016). *Density and activity patterns of pumas in hunted and non-hunted areas in central Argentina*. *Wildlife Research*, 43(6), 449. doi:10.1071/wr16056
- ZÁRATE V., J.R., MUFARI, L.G., ABALOS LUNA, D.P., VILLARREAL & J.M., BUSSO. 2022. Assessment of feeding behavior of the zoo-housed lesser anteater (*Tamandua tetradactyla*)

and nutritional values of natural prey. y. *Bot. Gard*, 3, 19–31.
<https://doi.org/10.3390/jzbg3010002>
ZÚÑIAGA A.H. & A., MUÑOZ-PEDREROS. 2014. Hábitos alimentarios de *Puma concolor*
(carnívora, felidae) en bosques fragmentados del sur de Chile. *Mastozoología Neotropical*,
21 (1): 151-161, Mendoza, 2014

Anexo: Tesina de grado en biología Eddie Bono, directores asociados Dr. Juan Manuel Busso y Dra. Diana Labuckas.

Justificación de la prueba piloto: un ejemplar de *Puma concolor* se evaluó en su habitáculo durante 12 días consecutivos (8 días=aclimatación y 2 días= prueba de preferencia; abril 2023), mediante una prueba piloto sobre el diseño experimental de la prueba de preferencia de elección apareada. Si bien existen evidencias de estudios de preferencia de alimento en otros felinos, no teníamos evidencias de la aplicación de esta prueba de preferencia de elección apareada para esta especie. Además, los pumas en Pumakawa habitualmente se alimentan restos naturales expuestos en el suelo, y no sabíamos si el cambio del manejo por la propuesta experimental afectaría a los pumas, en cuenta a su conducta alimenticia. Necesitábamos saber: a) si las raciones de pollo y de cerdos serían consumidas, considerando los diferentes tejidos presentados; b) si las raciones ubicadas en comederos y enterradas con alfalfa serían detectadas y consumidas; c) si las diferentes raciones podrían generar cambios en el patrón de actividad por estímulo o aversión; d) si la duración de la prueba de preferencia de elección apareada sería adecuado para evaluar los comportamientos considerados para detectar el grado de opción por un alimento en particular, y e) las cantidades de alimentos ofrecidas durante la prueba de preferencia de elección apareada podrían ser consideradas *ad libitum*. Los puntos a-c fueron considerados con datos del período de aclimatación y los puntos d-e con datos del período de la prueba de preferencia de elección apareada. Además, consideramos en general si el cambio de manejo por la investigación podría afectar el bienestar del animal, por ejemplo, exhibiendo respuesta negativa al consumo de la ración y/o algún tejido ofrecido, y respuesta comportamental inadecuada ante la propuesta experimental para evaluar preferencia de alimento (Fraser 1997).

Justificación y materiales y métodos de la elección de las especies de alimento y proporciones utilizadas por ración: las especies seleccionadas de pollo y de cerdo se justificaron por: a) evidencias de la dieta generalista del puma en la naturaleza, cazando ejemplares, tanto de especies silvestres nativas/exóticas como domésticas, de diferentes taxones de mamíferos y aves; aunque habría una aparente preferencia de mamíferos por la frecuencia detectada en el análisis de dieta en heces (de la Torre & de la Riva, 2009; Fernández & Baldi, 2014; Zúñiga & Muñoz-Pedrerros, 2014; Buenavista & Palomares, 2017; Bartolucci et al 2021) y b) la disponibilidad de estas especies domésticas a partir de proveedores (que colaboran en otros proyectos, tales como ImpaCT.AR 61). Las

raciones se confeccionaron con partes blandas de pollo y de cerdo, eligiendo los 3 tejidos más representativos de cada especie. Los 3 tejidos fueron: tejido muscular, tejido adiposo y tejido epitelial, y se respetaron las relaciones proporcionales de cada especie (muscular>adiposo>epitelial). En el caso de cerdo se consideró músculo, adiposo subcutáneo y epitelial (Monziols *et al.*, 2005; Landgraf *et al.*, 2006), y en el caso de pollo, se consideró músculo, epitelial junto a adiposo subcutáneo ya que la mayoría de la lípidos se encuentra por debajo de la piel (Mavromichalis *et al.*, 2000; www.cinap.com.ar; Carvajal 2001). Cabe destacar que no se tuvo en cuenta el tejido óseo ni otros componentes, pese a conocer su importancia en la alimentación (por ejemplo: aportes de minerales) porque este estudio no tiene la meta de crear una dieta equilibrado para pumas y porque se ha informado que el puma en la naturaleza come primero las partes blandas. Todas las raciones utilizadas se prepararon en un laboratorio del ICTA a partir de pollo entero fresco (proveedor Avicola Farnochi) y cerdo fresco despostado sin hueso (proveedor Pormag). Las raciones fueron congeladas en un freezer (-20 °C) y trasladadas en conservadoras con hielo hasta el centro de rescate, donde se almacenaron en un freezer (-20 °C) hasta su utilización.

Considerando que, en una prueba de preferencia de elección de alimentos apareados, las raciones ofrecidas no deberían ser un limitante del consumo (Hullar *et al.* 2001; Tobie *et al.* 2015), ya que el animal podría consumir ambos alimentos por escasez de uno, y que las raciones por indicación de la veterinaria debían cubrir la necesidad energética diaria mínima por animal, se trabajó raciones de 4 kg en total de cerdo y de pollo (Tabla 1). Por ejemplo, el ejemplar estudiado en la prueba piloto se estima que requiere 1056Kcal/día (ofrecida 5 veces por semana), siendo este valor ampliamente superado por ambas raciones preparadas en este estudio y administradas cada 2 días durante toda la prueba piloto.

En cuanto al análisis químico-nutricional, se obtuvieron medidas de estadística descriptiva y se realizó una comparación de las distintas variables analizadas para el principal componente de la ración (tejido muscular). Se aplicó un test T para muestras independientes.

Tabla 1. Composición nutricional de las muestras de cerdo y pollo utilizadas en la prueba de preferencia de elección apareada.

Alimento	Tejido	Humedad (% P/P)	Ceniza (% P/P, sbs)	Lípidos (% P/P, sbs)	Proteína (% P/P, sbs)	Carbohidrato (% P/P, sbs)
Cerdo	Muscular	76,0 ±0,8	3,9 ±0,2	16,2 ±2,8	66,4 ±4,2	13,5 ±1,3
	Epitelial	30,6 ±0,2	0,6 ±0,0	46,3 ±1,6	45,8 ±4,2	7,2 ±5,8
	Adiposo	5,3 ±0,4	0,1 ±0,0	98,0 ±0,7	0,0 ±0,0	1,9 ±0,7
Pollo	Muscular	77,6 ± 0,3	4,0 ±0,0	13,1 ±0,3	65,3±5,5	17,6 ±5,8
	Epitelial + Adiposo	55,2±9,0	1,1 ±0,6	69,2 ±8,4	23,5 ±3,0	6,2 ±4,8

Los análisis se realizaron por duplicado y los resultados se expresan como media ± desvío estándar. P/P, sbs: peso/ peso sobre base seca.

El análisis estadístico para %Humedad indica que no existen diferencias significativas para el factor alimento ($T=-2,64$; $p=0,1188$). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los respectivos nutrientes de cerdo y de pollo [%Cenizas, %Lípidos y %Proteína ($T=-0,43$; $p=0,7104$; $T=1,56$; $p=0,2586$; $T=0,23$; $p=0,8389$; respectivamente)].

Administración del alimento y cuantificación de consumo: Día 1, 3, 5 y 7: ocasiones donde el puma recibió el alimento por la tarde. Días 2, 4, 6, y 8: ocasiones donde se revisó el comedero por restos de alimento, y se retiraron los restos de las raciones; a partir de este momento comenzó un período de ayuno de 24h hasta el próximo día de alimentación. Los días 9 y 10, en forma similar, el puma recibió las 2 raciones simultáneamente para la prueba de preferencia de elección apareada. En todas las ocasiones que el puma fue alimentado en el refugio (5 veces), se administraron las raciones en los comederos correspondientes con alfalfa. Período de aclimatación: comedero 1 con cerdo o pollo y comedero 2 vacío, ambos tapados con alfalfa. Período de prueba de preferencia de elección apareada: comedero 1 con cerdo y comedero 2 con pollo, ambos tapados con alfalfa. En esta prueba piloto, cada vez que se administró el alimento al puma, cuando éste ingresaba al refugio se cerraba la compuerta y el puma permanecía durante un periodo de 60 minutos encerrado con el alimento. Dicho procedimiento fue realizado con el objetivo de valorar el tiempo de duración de la prueba de preferencia de elección apareada pensada para la investigación. Cumplido un plazo de 24 hs se recolectaron los

restos de alimento, y se cuantificaron cada resto de tejido por ración, y luego se obtuvo el porcentaje de lo consumido mediante el cálculo de la diferencia en el peso inicial-peso final.

Resultados: a) consumo de las raciones de pollo y de cerdo, considerando los diferentes tejidos presentados. Obtuvimos un consumo medio del 85% de las raciones administradas, tanto para cerdo (90,8 y 71,4 %) como para pollo (100 y 79,8 %). Además, no se observaron respuestas negativas en relación a los comederos y la alfalfa agregada sobre las raciones, observando que fácilmente el animal retiraba la alfalfa y comenzaba a interactuar con el alimento. El puma consumió los diferentes tejidos ofrecidos en las raciones, en ningún caso el registro del peso por tejido de la ración final, fue igual al peso inicial.

Resultado: b) ubicación de la ración en el comedero con comida y alfalfa. Analizando el vídeo cuando el puma ingresó al refugio (vídeo anterior), se pudo observar que el puma detectó la presencia de alimento en el comedero. En las 4 ocasiones del período de aclimatación, el puma acertó el comedero con comida en 3 ocasiones en la primera visita.

Justificación y materiales y métodos de la evaluación de la actividad y comportamientos. El patrón de actividad de los pumas silvestres es catemeral, pudiendo estar activos en cualquier momento del día (Di Bitteti *et al.*, 2010; Hernández-SaintMartín *et al.*, 2013; De Angelo *et al.*, 2019). El patrón de actividad puede verse alterado por diferentes factores, tales como la alimentación, Harmsen *et al.* (2011) encontraron que los hábitos catemerales de los pumas coinciden con los patrones de actividad de sus principales presas. Al mismo tiempo, en zonas donde conviven pumas y personas, los patrones de actividad tienden a ser nocturnos y crepusculares (Zánon-Martínez *et al.*, 2016; Guerisoli *et al.*, 2019). En particular, estudios realizados en pumas albergados en diferentes centros de rescate del norte de Argentina, alojados bajo ciclos naturales de luz-oscuridad y temperatura, encontraron diferentes patrones de actividad para la especie, pudiendo ser tanto catemerales, como diurnos o nocturnos (Sciabarrasi Bagilet *et al.*, 2017). Por lo tanto, en la presente investigación consideramos relevante monitorear el patrón de actividad, tanto en la prueba piloto como en el estudio principal. Esperamos que esto pueda revelarnos posibles reacciones del puma ante las diferentes especies de alimento en la prueba piloto, y posibles diferencias individuales entre los pumas

estudiados en la investigación principal que podrían contribuir a la interpretación de los resultados.

Registro de comportamiento activo e inactivo, y variables comportamentales: a partir del vídeo 240hs de vídeo (10 días de grabación), en intervalos de 5 minutos, se registraron el estado activo o inactivo del puma por día (288 registros/día). Además, se registraron por período experimental la latencia de visita al primer comedero, la ocurrencia total de visitas al comedero. El tiempo dedicado a la alimentación se cuantificó continuamente por período experimental. Particularmente, en la prueba de preferencia de elección apareada, se observaron la presencia de los siguientes comportamientos tales como sentado, alerta, locomoción, locomoción repetitiva, los cuales podrían asociarse con una desmotivación y/o algún compromiso del bienestar del animal durante los 60 minutos de observación.

A partir de estos registros diarios (días 1-8), se construyeron actogramas. Éstos son figuras que representan la forma en la que se distribuye la actividad de un animal a lo largo del día. Los actogramas fueron realizados utilizando el software ActogramJ (Schmid *et al.*, 2011). En primera instancia, se construyeron actogramas para cada día de estudio del periodo de aclimatación y partiendo de estos se construyeron actogramas promedio suavizados dependiendo del tipo de dieta que el puma recibió (pollo, cerdo o sin comida). En cada caso, se unieron los actogramas individuales utilizando un núcleo tipo Gaussiano con 2 desvíos estándar creado automáticamente por el programa. Seguidamente, el software permitió obtener el patrón de actividad promedio para cada tipo de dieta, que se calculó subdividiendo los actogramas suavizados en intervalos iguales, sumándolos y luego dividiendo el resultado por el número de ciclos.

Resultados: actividades del puma ante los estímulos cárnicos y duración de la prueba de preferencia de elección apareada. Surge de la Figura 1, donde se pueden observar los perfiles de actividad general en el puma estudiado ante la ausencia de comida (días de ayuno) y ante presencia de cerdo o de pollo. Es conocido efecto del estímulo alimenticio sobre el ritmo de actividad de los animales en condiciones controladas, y quizás las diferencias observadas se pueden explicar por la presencia/ausencia del alimento en este caso de observación con el puma estudiado; aunque esto no es el foco de nuestra investigación. Nosotros consideramos relevante para llevar adelante la prueba de preferencia de elección apareada que ambos alimentos (cerdo y pollo) no habrían

generado aparentemente un perfil de actividad diferente, particularmente luego de la administración de alimento (17hs). Esto no fue así cuando el alimento no estuvo disponible en el habitáculo. Quizás estas reacciones pueden asociarse al concepto de patrón de alimentación según disponibilidad de alimento visto en varios géneros de mamíferos (Armstrong, 1980) y carnívoros (ej Zielinski, 1986).

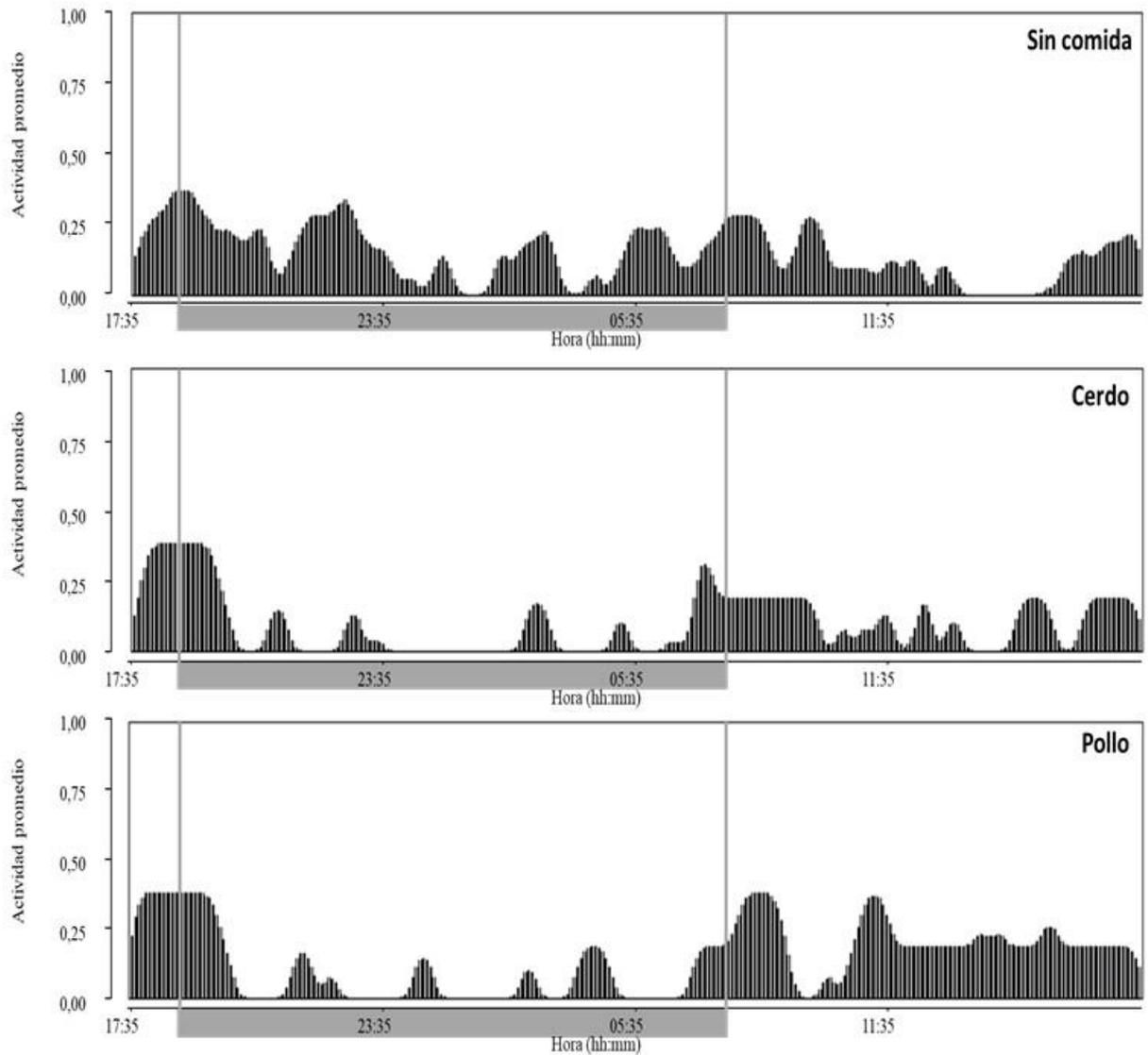


Figura 1. Actogramas suavizados del ejemplar de *Puma concolor* evaluado durante el período de aclimatación. A las 17hs se administró el alimento, ya sea pollo o cerdo. Se registró el estado activo/inactivo cada cinco minutos (288 registros/día) durante 8 días consecutivos, siendo ilustrados según disponibilidad de tipo de comida (cerdo: días 1 y 5, pollo: 3 y 7) o ausencia de comida (días de ayuno: 2, 4, 6, 8). Inicio del día: 07:50h y final del día: 18:40 hs. El periodo de oscuridad se marca con una barra gris en la parte superior de cada actograma.

Finalizada la prueba de preferencia de elección apareada durante 60 minutos, pudimos observar que el puma luego de interactuar con el alimento exhibió locomoción repetitiva aproximadamente transcurridos 30 minutos de iniciado el periodo experimental. Aunque

esta observación no implicaría que el puma no fue capaz de manifestar su elección, entendemos que la aparición de este comportamiento en el espacio y en el tiempo de evaluación podría interpretarse como una consecuencia negativa sobre su estado de bienestar. En consecuencia, se decidió reducir el tiempo de la prueba de preferencia de elección apareada a 30 minutos en total. En cuanto al alimento consumido por especie o tipo de ración (pollo y cerdo), el puma no consumió la totalidad de los alimentos administrados a lo largo de las 24hs de estudio, con lo cual, se decidió trabajar en la investigación con 4kg de ración de pollo y de cerdo.

En relación a los actogramas obtenidos de los 5 ejemplares en el periodo experimental 1 (aclimatación), en figura 2 se pueden observar los perfiles individuales.

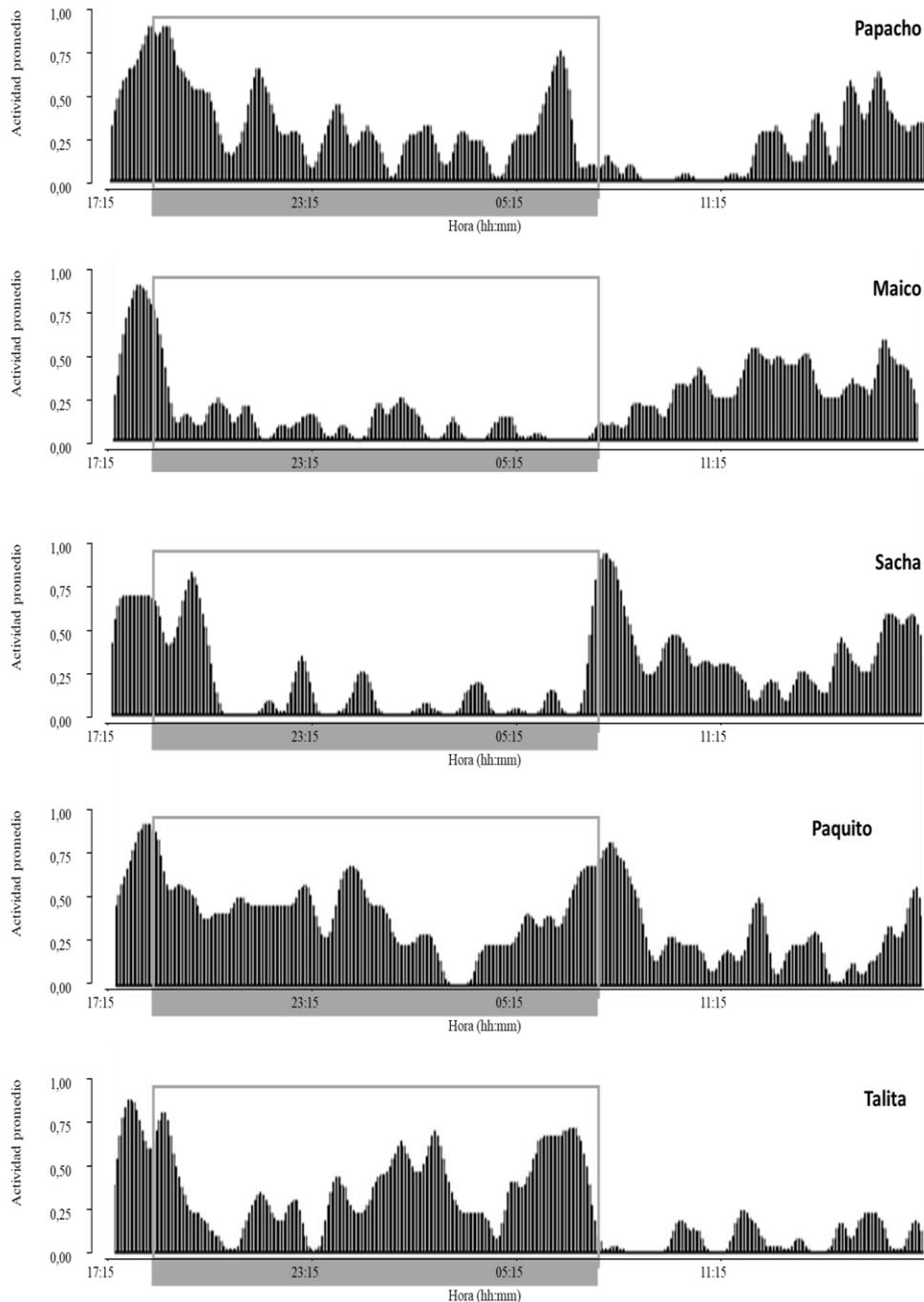


Figura 2. Actogramas suavizados de los ejemplares de *Puma concolor* evaluados durante el período experimental 1. A las 17hs se administró el alimento, ya sea pollo o cerdo. Se registró el estado activo/inactivo cada cinco minutos (288 registros/día) durante los días de estudio (lunes, miércoles, viernes y domingo). El periodo de oscuridad se marca con una barra gris en la parte inferior de cada actograma.

En relación a los actogramas obtenidos en la prueba de preferencia, en la figura 3 se observan los perfiles de actividad de los ejemplares evaluados.

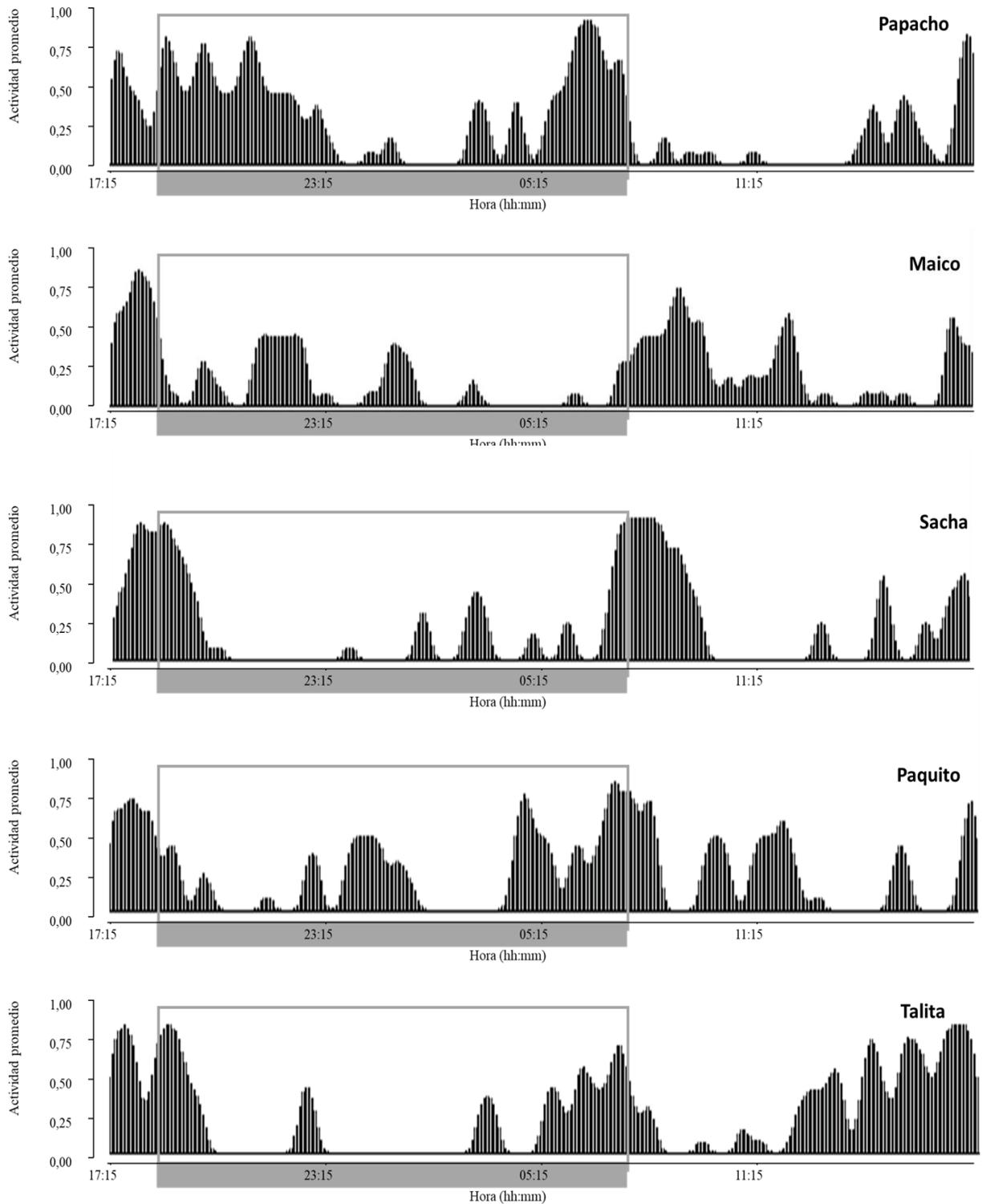


Figura 3. Actogramas suavizados de los ejemplares de *Puma concolor* evaluados durante el período experimental 2 a y 2 b. A las 17hs se administró el alimento, ya sea pollo o cerdo. Se registró el estado activo/inactivo cada cinco minutos (288 registros/día) durante los días de estudio (martes y jueves). El periodo de oscuridad se marca con una barra gris en la parte inferior de cada actograma.

En base a lo observado en figura 2 y 3, detectamos un patrón de actividad catemeral de los ejemplares evaluados y el patrón no habría cambiado entre periodos experimental