UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza
Magíster en Areas Silvestres y Conservación de la Naturaleza

DISEÑO DE UN PROGRAMA DE CRÍA *EX - SITU* PARA PINGÜINOS DE HUMBOLDT (*Spheniscus humboldti* Meyen, 1834): UNA HERRAMIENTA DE GESTIÓN PARA SU CONSERVACIÓN.

Proyecto de grado presentado como parte de los requisitos para optar al grado de Magíster en Áreas Silvestres y Conservación de la Naturaleza.

GUILLERMO ANTONIO CUBILLOS TORRES
Biólogo Marino

Santiago - Chile
2020

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Magíster en Áreas Silvestres y Conservación de la Naturaleza.

Profesora Guía

Nombre: Cristián Fernando Estades Marfán

Nota _____

Firma _____

Profesor Co-guía

Nombre: Pedro Eduardo Cattan Ayala

Nota _____

Firma _____

Profesor Consejero

Nombre: Alejandro Constantino Simeone Cabrera

Nota _____

Firma _____

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a cada persona que de alguna manera contribuyó al desarrollo de este trabajo, ya sea a través de sugerencias, observaciones y consejos. En especial a mis colegas del Zoológico Nacional de Chile, Shimonoseki Marine Science Museum, Penguin Conference Japan, la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) y mis profesores correctores.
Agradecer a la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONICYT) por la beca entregada para mis estudios de postgrado. Los resultados del presente estudio son parte del programa de becas de postgrado de CONICYT (CONICYT-PCHA/Magister Nacional/2013 - 22130609).

Por último, dedicar este trabajo a ellos, a los protagonistas de esta historia, a través de este poema que refleja el amor, respeto y admiración hacia la vida.

PINGÜINO

NI bobo ni niño ni negro
ni blanco sino vertical
y una inoncencia interrogante
vestida de noche y de nieve.
Ríe la madre al marinero,
el pescador al astronauta,
pero no ríe el niño niño
cuando mira al pájaro niño
y del océano en desorden
inmaculado pasajero
emerge de luto nevado.

Fui yo sin duda el niño pájaro
allá en los fríos archipiélagos:
cuando él me miró con sus ojos,
con los viejos ojos del mar:
no eran brazos y no eran alas,
eran pequeños remos duros
los que llevaba en sus costados:
tenía la edad de la sal,
la edad del agua en movimiento
y me miró desde su edad:
desde entonces sé que no existo,
que soy un gusano en la arena.
Las razones de mi respeto
se mantuvieron en la arena:
aquel pájaro religioso
no necesitaba volar,
no necesitaba cantar
y aunque su forma era visible
sangraba sal su alma salvaje
como si hubieran cercenado
una vena del mar amargo.

Pingüino, estático viajero,
sacerdote lento del frío:
saludo tu sal vertical
y envidio tu orgullo emplumado.

(Extracto de *"Arte de pájaros*" Pablo Neruda, 1973)

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN **9**

SUMMARY **10**

INTRODUCCION **11**

OBJETIVOS **17**

MATERIALES Y MÉTODOS **18**

Poblaciones naturales: descripción y área de colecta de huevos para el programa de cría. 18

Población bajo cuidado humano: descripción y áreas de manejo en el Zoológico Nacional de Chile. 21

Actividades para el objetivo (1): 23

Elaboración e implementación de los protocolos de manejo de huevos silvestres, incubación y crianza artificial del pingüino de Humboldt bajo condiciones de cautiverio. 23

Actividades para el objetivo (2): 26

Proponer un diseño de estrategia de gestión para el programa de cría de la especie en Chile. 26

RESULTADOS **27**

Poblaciones naturales: abundancias y actividad en nidos. 27

Santuario de la Naturaleza Islote Pájaros Niños (V región). 27

Islote Locos (Pichidangui - IV región). 28

Resultados para objetivo (1) 30

Elaboración e implementación de los protocolos de manejo de huevos silvestres, incubación y crianza artificial del pingüino de Humboldt bajo condiciones de cautiverio. 30

Protocolo para la colecta de huevos. 30

Ensayos y pruebas para el desarrollo del protocolo de crianza artificial (CA). 32

Protocolo de Crianza Artificial (CA): 37

i. Preparación de la sala. 37

ii. Preparación de la incubadora. 37

iii. Preparación de la nacedora. 38

iv. Preparación de los huevos previa incubación artificial. 39

v. Manejos durante la incubación y eclosión. 40

vi. Manejos post eclosión. 41

vii. Primeras horas después de la eclosión..... 42
viii. Rutina de manejo desde el segundo día de vida..... 42
ix. Rutina de manejo desde el día 3 hasta el día 7..... 43
x. Rutina de manejo día hasta los 500 grs de peso del polluelo..... 45
xi. Rutina de manejo desde los 501grs de peso del polluelo..... 46
xii. Rutina de manejo desde los 1001 grs. de peso del polluelo..... 47
xiii. Rutina de manejo para polluelos con más de 2500 grs de peso. 48
xiv. Introducción de los polluelos a la colonia de cautiverio..... 48
Protocolo de Crianza Natural (CN):..... 51
Hallazgos durante el proceso de crianza natural (CN). 53
Registros. 54
Resultados para el objetivo específico (2): 55
Proponer un diseño de estrategia de gestión para el programa de cría de la especie en Chile. 55
Línea de acción 1..... 56
Línea de acción 2:..... 58
Línea de acción 3:..... 59
Línea de acción 4:..... 60
Línea de acción 5:..... 61
Escenarios para las líneas de acción del programa de cría. 62
Consideraciones finales a la propuesta del diseño de gestión..... 64
DISCUSIÓN..... 65
CONCLUSIONES 72
FINANCIAMIENTO 73
BIBLIOGRAFÍA..... 74
Anexo 1: Registro fotográfico..... 84
Anexo 2: Listado de materiales 95
Anexo 3: fórmulas de alimentación y rutinas..... 97
..... 97

INDICE DE ILUSTRACIONES

Imagen 1.Islote Pájaros Niños en la localidad de Algarrobo (V región). En círculos de color verde se señalan los nidos monitoreados…….….19

Imagen 2. Islote Locos en la localidad de Pichidangui (IV región). En círculos en color verde los nidos monitoreados…….19

Figura 1. Tipo de actividad presente en los nidos monitoreados en el año 2012. Los valores corresponden a la cantidad de nidos que presentaron actividad en términos de la presencia de pollos, huevos, adultos y nidos abandonados. La primera colecta del año 2012 se realizó el (30.05.2012) en el S. N. Pájaros Niños……..…27

Figura 2. Tipo de actividad presente en los nidos monitoreados entre los años 2013 – 2015. Los valores corresponden a la cantidad de nidos que presentaron actividad en términos de la presencia de adultos, huevos, pollos, adultos y pollos en nido y huevos abandonados. Cabe mencionar que la primera colecta del año 2012 se realizó el (25.10.2012) en el S. N. Pájaros Niños…….…...28

Figura 3. Nido de la colonia del Islote Pájaros Niños (Algarrobo)……..…….29

Figura 4a. Huevo observado a través de la luz del ovoscopio. Se aprecia uno de los polos de irrigación en la zona ecuatorial del huevo…….…….…….34

Figura 4b. Huevo al ovoscopio con masa compacta oscura. Al ser abierto era posible encontrar tanto una masa sin forma o bien embriones con temprano estadios de desarrollo……..….34

Figura 4c. Medidor de frecuencia cardiaca que se utilizaba a partir de los 20 días de incubación artificial. Uno de los objetivos era el monitoreo de la incubación y estado del huevo……..…..34

Figura 5. Asistencia en la eclosión de huevo de pingüino de Humboldt……..…….…….…35

Figura 6. Curvas de crecimiento para los tres primeros individuos de pingüinos de Humboldt del programa de cría bajo la estrategia de (CA)……..…….37

Figura 7. Principales partes claves del pescado son consideraradas para usarlo en la fórmula dealimentación……..…….43

Figura 8. Esquema de la secuencia de etapas del programa de cría. En cada una de ellas se destacan aspectos relevantes que fueron posible definir durante el desarrollo de los protoclos respectivos, hasta la introducción a la colonia de cautverio……49

Figura 9. Curvas de crecimiento para los individuos criados bajo la estrategia de (CA) (PMS-1 y PMS-2, línea roja y verde respectivamente), y los individuos criados bajo la estrategia de (CN) (Locos-1, 2, 3 y 4, líneas y puntos rojo, verde, amarilla y azul respectivamente)….……..53

Figura 10. Marco conceptual de la estrategia de gestión basada en programas colaborativos entre instituciones zoológicas. (Fuente: elaboración propia)……56

Figura 11. Diagrama sobre el manejo de poblaciones entre instituciones zoológicas (*ex situ*) y poblaciones naturales (*in situ*). Intercambios entre grandes instituciones de cría (círculos grandes); disponer de post-productivos o de animales que no están en cría en instituciones periféricas (círculos pequeños y líneas punteadas)…….…….58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad de nidos ocupados en Islote Pájaros Niños (V región) por adultos, pollos, huevos y huevos abandonados para tres fechas relevantes durante el año 2012.
(*) Fecha de colecta de 8 huevos abandonados……28

Tabla 2. Cantidad de nidos ocupados en Islote Locos (IV región) por adultos, pollos, huevos y huevos abandonados para tres fechas relevantes durante el año 2012, 2013 y 2015.
(*) Fecha de la colecta de 4 huevos abandonados……29

Tabla 3. Resumen de los procesos de crianza de huevos colectados de las dos colonias naturales. *IPN: Islote Pájaros Niños (Algarrobo), ** IL: Islote Locos (Pichidangui). 2011: (S/A) Sin actividades. Año 2013: Cierre, IPN es cerrado para todo tipo de actividades por autoridades de forma indefinida. CA: Crianza Artificial; CN: Crianza Natural……33

Tabla 4. Causas de pérdidas (bajas) resultantes durante el desarrollo del programa. IPN: Islote Pájaros Niños IL: Islote Locos……..……35

Tabla 5. Listado de “Padres sustitutos” del programa de cría del pingüino de Humboldt en el Zoológico Nacional. Una pareja (Zoo Parc Beauval) conformada por individuos del mismo sexo (♂♂). Los huevos incubados por estas parejas eran provenientes de la colonia natural de Isla Locos de la localidad de Pichidangui……..……..50

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Registro fotográfico del programa de cría……..……..……..…84
Anexo 2. Listado de materiales utilizados…….……..……..…..95
Anexo 3. Fórmulas y rutinas de alimentación para el pingüino de Humboldt……97

RESUMEN

Las principales amenazas que el pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) presenta a su sobrevivencia son de origen antrópico. La sobrepesca, la pesca incidental y la destrucción de hábitats, junto con la pérdida de huevos y pollos, producto de la depredación por parte de especies exóticas invasoras como ratas, constituyen un escenario incierto para su conservación. Por tal motivo, implementar un programa de cría basado en el desarrollo de protocolos de incubación, crianza artificial y natural de huevos de pingüinos de Humboldt, junto a un diseño de gestión para un programa de cría surge como una necesidad de conservación para esta especie.

El objetivo de este trabajo fue crear una colonia fundadora auto sostenible, genéticamente sana y estable en el tiempo en el Zoológico Nacional de Chile. A partir de huevos colectados desde colonias naturales en las estaciones reproductivas de otoño invierno, se desarrollaron los protocolos de colecta, incubación y crianza, junto a una propuesta de gestión dirigida a maximizar los alcances de este programa en la conservación de la especie.

Los buenos resultados en la reproducción y crianza establecen que los protocolos desarrollados para este programa de cría son una herramienta valida para ser implementada como medida de conservación, aunque la crianza artificial exige mayores requerimientos en cuanto a insumos, manejos y tiempo.

A la luz de los resultados, las proyecciones de este proyecto aseguran una buena producción de más individuos a través de la gestión colaborativa entre instituciones zoológicas. Esto permitirá contar con grupos de salvaguarda para la especie en caso de que los escenarios no cambien, además se incrementarán las posibilidades de que un grupo de estos individuos puedan formar parte de programas de suplementos poblacionales o reintroducción al medio natural bajo un programa establecido.

Palabras claves: pingüino de Humboldt, conservación *ex situ*, programa de cría, protocolos de crianza

SUMMARY

The main threats to the survival of Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*) are of anthropogenic origin. Overfishing, bycatch and habitat destruction, along with the loss of eggs and chicks as a result of predation by invasive alien species such as rats, constitute an uncertain scenario for their conservation. For this reason, an important need that arises for the conservation of the species is to implement a breeding program based on the development of incubation, artificial and natural breeding protocols of Humboldt penguin eggs together with a management design plan.

The objective of this work was to create a self-sustaining founder colony, genetically healthy and stable over time at the Chilean National Zoo. Using eggs obtained from natural colonies in the reproductive seasons of autumn-winter, collection, incubation and breeding protocols for this species were developed together with a management proposal aimed at maximizing the scope of this conservation program.

The good results in reproduction and breeding, indicate that protocols developed for this breeding program are a valid tool to be implemented as a conservation strategy, although artificial breeding requires more resources in terms of supplies, handling and time.

In light of the results, the projections of this study ensure a good production of more individuals through collaborative management between zoological institutions. This will allow to have safeguard groups for the species in case scenarios do not change, in addition to increasing the chances that a group of these individuals may be part of population supplementation programs or reintroduction to the natural environment under an established program.

Key words: Humboldt penguin, *ex situ* conservation program, breeding program, breeding protocols.

INTRODUCCION

La biodiversidad a nivel global está cambiando a tasas sin precedentes y el estado de conservación de la biodiversidad ha experimentado un declive en las últimas décadas (Collen *et al*., 2009; Buthcart *et al*., 2010). Dado este escenario es que un número cada vez mayor de especies requerirá alguna forma de gestión que implicará importantes desafíos para su conservación (Brook *et al*., 2008; Bellard *et al*., 2012; IUCN, 2014). Estas medidas pueden ir desde la protección del hábitat natural, hasta el establecimiento de programas de cría en cautiverio (Balmford, 2000; Balmford *et a*l., 2011), con el objetivo final de realizar reintroducciones en la naturaleza (Brambell, 1977; Kleinman,1986; Chivers, 1991; Beck *et al*., 1994; Conde *et al*., 2011; Pritchard *et al*., 2011). Para algunas especies, los programas de cría como medida de conservación *ex situ* pueden ofrecer la única opción viable para evitar su extinción (Conway 2011; Conde *et al*., 2011).

La conservación *ex situ* es una estrategia de conservación ampliamente aceptada y difundida en el mundo. La Convención de Biodiversidad define conservación *ex situ* como la conservación de componentes de la diversidad biológica fuera de sus hábitats naturales y que es gestionado por el humano. Por otra parte, la conservación *in situ,* está referida al cuidado de las especies en su entorno natural, así como la protección de los ecosistemas naturales en donde estas especies viven (Avilés, 2008). En muchos casos estas estrategias se deben complementar con el fin de potenciar sus impactos en la conservación de una especie, y por lo tanto hablar de estas dos estrategias por separado en la actualidad se está haciendo cada vez más irrelevante (Pritchard *et al*., 2011; Redford *et al*., 2012). En lugar de ello, existe un continuo de prácticas de gestión, que van desde las poblaciones silvestres auto sostenibles a poblaciones manejadas que dependen de un cierto nivel de atención humana para su persistencia (Butynski, 1994; Conde *et al*., 2013).

A través de la gestión *ex situ s*e han impedido extinciones de especies, y ha habido restauraciones o introducciones tras periodos de gestión *ex situ* para un número creciente de especies (Frankham *et al*., 2002; Frankham 2008). No obstante, para que este tipo de estrategias o modalidades tengan éxito, deben ser considerados junto a otros aspectos como una estrategia de conservación integrada (Conde *et al*., 2012; Byers *et al*., 2013).

Un ejemplo de conservación integrada lo constituye The One Plan Approach propuesto por la IUCN/SSC Conservation Breeding Specielist Group 2013 (CBSG), que

promueve planes integrales de conservación de especies, considerando tanto a las poblaciones dentro y fuera de sus rangos naturales de distribución, bajo todas las condiciones de manejo, con participación de todas las partes responsables y con todos los recursos disponibles desde el inicio de cualquier iniciativa de conservación de especies (Byers *et al*., 2013). Esta aproximación aparece ante el escenario de que la planificación de la conservación tradicionalmente ha seguido dos vías paralelas, la de los biólogos de campo, encargados del manejo de fauna e investigadores que monitorean las poblaciones silvestres, evalúan sus amenazas y desarrollan estrategias de conservación para las especies en su hábitat natural (Redford *et al.,* 2012). Mientras tanto, centros de conservación y la comunidad de zoológicos desarrolla objetivos a largo plazo (programas de cría) para las poblaciones *ex situ* (Gippoloti, 2012), y a veces sin acceso completo a la información respecto a las contrapartes silvestres y de oportunidades para apoyar a esas poblaciones silvestres (Byers *et al*., 2013).

Si bien cada línea de acción hace los esfuerzos en mantener la viabilidad de una población en particular, muy rara vez se desarrollan planes en conjunto que maximicen los beneficios de las acciones de conservación para las especies (Griffiths y Pavajeau, 2008; Conde *et al*., 2013).

En este contexto las estrategias de conservación *ex situ* desarrolladas por las instituciones Zoológicas tienen la ventaja de ganar tiempo para la especie objetivo (Zippel *et al*., 2011), tiempo que podrá servir para hacer investigación, o para poner en resguardo a las poblaciones de animales de los procesos que las amenazan en estado silvestre (Frankham, 2008; Conway, 2011), mientras que otras actividades complementarias de conservación combaten estas amenazas a nivel *in situ (*Ricketts *et al*., 2005; Boyd *et al*., 2008).

Sin embargo, muchas veces estas amenazas no se pueden eliminar de forma simple (Bradshaw y Borches, 2000, Gascon *et al*., 2007), por lo que las poblaciones cautivas podrían proporcionar un recurso de conservación fundamental y permanente para un futuro ya previsible.

Otro aspecto importante que resulta del manejo de especies en programas de conservación *ex situ* es que pueden contribuir a varios otros propósitos (Zippel *et al*., 2008) como por ejemplo, proveer animales para educación pública (e.g., Packer y Ballantyne 2010; Gusset y Dick, 2011; Esson y Moss 2013; Dove & Byrne 2014;), proporcionar material para obtener fondos para la conservación *in situ* (Gusset y Dick 2010), ser fuente para la investigación y obtención de conocimiento de la biología animal,

manejo y bienestar (Conde *et al*., 2011); y en una escala mayor, proveer de una reserva demográfica y genética para las poblaciones silvestres (Mace *et al*., 2001; Tribe y Booth, 2003).

Muchos de los resultados exitosos de conservación se han construido sobre la base de redes colaborativas entre instituciones zoológicas (como centros para la reproducción en cautiverio) de distintos lugares del mundo, los que se han institucionalizado (Gusset y Dick, 2010). Además, se han formado asociaciones y también se han establecido programas de reproducción de especies amenazadas que trascienden las propias instituciones, para favorecer el intercambio de genes y hacer más viables las poblaciones mantenidas bajo condiciones de cautiverio (González, 2004).

Los registros cobran cada vez más importancia y se crearon redes internacionales que mantienen datos genealógicos de prácticamente todas las especies reproducidas en cautiverio (ISIS, Internacional Species Information System; ZIMS; Zoological Information Management System), en un sinnúmero de instituciones. Gracias a estas prácticas, muchas especies son recuperadas y, algunas, definitivamente salvadas de la extinción (IUDZG/CBSG 1993, Shoemaker y Flesness 1996, Conway 1999).

Respecto a la situación en Chile, la biodiversidad también se ha visto afectada por amenazas principalmente de origen antrópico (ICSU, 2010), en este sentido las especies exóticas invasoras y la explotación excesiva de los recursos para consumo o venta han sido descritas como la causa de la pérdida de especies en Chile (Iriarte,1994; Iriarte *et al*., 2005).

En cuanto a los ecosistemas marinos y costeros de Chile, estos se han visto afectados principalmente por la sobreexplotación de especies, la contaminación por residuos líquidos industriales (minería, industria de la harina de pescado) y urbanos, la introducción de especies para cultivos marinos; y los derrames de hidrocarburos (CONAMA 1993; Ormazábal 1993; Moreno, 2000). En este escenario especies no comerciales se han visto fuertemente afectadas, como es el caso del pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) que habita las costas de Chile.

En relación con la especie objetivo de este trabajo, el pingüino de Humboldt es endémico del Sistema de la Corriente de Humboldt (Williams, 1995), distribuyéndose desde la Isla Foca, Perú hasta isla Metalqui (42°11’S; 74°8’W), en Chile (Hays 1984, Araya y Todd 1987, Wilson *et al*., 1995, Hiriart -Bertrand *et al.,* 2010).

En Chile, las principales colonias reproductivas son (de norte a sur): las islas Pan de Azúcar, Grande de Atacama, Chañaral, Choros, Tilgo, los islotes Pájaros y Cachagua

(Simeone *et al*., 2003, Vianna *et al*. 2014, Wallace y Araya 2015), todas ellas ubicadas en el centro norte del país.

El conocimiento sobre su distribución y tamaños poblaciones históricas (Simeone *et al*., 2003; Mattern *et al*., 2004; Vianna *et al*., 2014, Wallace y Araya 2015), indican que la extracción de guano causó una drástica disminución de su tamaño poblacional, así como la destrucción de colonias de nidificación. Esta situación lo ha llevado, en la actualidad, a ser clasificada en la categoría de conservación Vulnerable según el Estado de Chile (D.S. MINSEGPRES No50/2008), listado en apéndice I (CITES) y la International Union for the Conservation of Nature (IUCN, 2009).

Estimaciones recientes basadas en recuentos realizados durante la muda de plumaje, sugieren que el número de pingüinos en Chile es de 33.284 (rango=28.642-35.284) (Wallace y Araya 2015), valor que se aproxima al 90% de la población mundial, que estarían distribuidos en 38 colonias (Vianna *et al.,* 2014).

Actualmente el aumento de las actividades antrópicas son la principal causa de las amenazas a esta especie, lo que ha afectado su sobrevivencia. Entre estas amenazas se encuentran la mortalidad causada por el enredo en redes de pesca artesanal, destrucción de hábitat de nidificación, especies introducidas y el turismo no regulado (BirdLife International, 2020). En Perú las disminuciones históricas fueron resultado de la explotación excesiva de guano (Williams, 1995).

Adicionalmente se ha descrito la pérdida de huevos y pollos por predación por especies exóticas invasoras como las ratas y contaminación por aumento de la actividad humana (Araya *et al.,* 2000). Sumado a lo anterior, las fluctuaciones en la abundancia de esta especie son aparentemente causadas por los eventos El Niño que pueden afectar fuertemente al éxito reproductivo, principalmente por la ocurrencia de lluvias torrenciales que inundan los nidos y generan una disminución en la disponibilidad de alimento (Araya 1987; Culik *et al*., 2000; Simeone *et al.,* 2002). Descensos subyacentes más recientes probablemente se refieren a la sobrepesca de anchoveta *Engraulis spp*. (Williams,1995, Wallace *et al.* 1999).

Existen dos principales eventos reproductivos para esta especie: el primero desde agosto a enero (evento de primavera) y entre abril y junio (evento de otoño), el segundo es sistemáticamente afectado por lluvias causando inundaciones de los nidos y deserción de estos mismos. Por ejemplo, en la colonia natural de Pájaro Niño ubicado en la localidad de Algarrobo (V región), se detectó que durante los años 1996 y 1997 las lluvias provocaron la inundación y una deserción de un 86 al 94 % de los nidos activos

respectivamente. En 1999 existió un 47 % de deserción, asociada, nuevamente, a lluvias e inundaciones. Una consecuencia de los eventos de otoño es que la actividad es regularmente afectada por lluvias resultando bajas tasas de reproducción (Simeone *et al*., 2002).

Adicionalmente las especies exóticas invasoras representan una fuerte amenaza para las aves costeras en general, sobre todo en aquellas especies que habitan en sitios tan inaccesibles como las islas, por ejemplo, en donde han causado efectos devastadores sobre las poblaciones de aves locales (Moors y Atkinson 1984; Newton 1998; Martin *et al*., 2000; Jones *et al*., 2005, 2008; Brooke *et al*., 2010; Hilton y Cuthbert 2010). Esta presión por predación por parte de las ratas además puede verse incrementada en las estaciones reproductivas de invierno, cuando la disponibilidad de otras fuentes de alimento para las ratas es escasa (Simeone y Luna-Jorquera, 2012).

La mantención del pingüino de Humboldt en las instituciones zoológicas del mundo, ha estado acompañada de fomentar la reproducción con fines de exhibición sin un propósito claro de conservación, son los casos de los zoológicos que forman parte de la Asociación Europea de Zoológicos y Acuarios (EAZA), la Asociación Norteamericana de Zoológicos y Acuarios (AZA) y algunos zoológicos y acuarios del Japón. A pesar de esto, estas instituciones han desarrollado importantes avances en la creación de metodologías de manejo, pero bajo distintos criterios.

En Chile, no existen instituciones que hayan desarrollado estrategias de manejo para la conservación *ex situ* de esta especie. Buin Marino, dependiente de la Fundación Buin Zoo, es la única institución aparte del Zoológico Nacional de Chile, que ha logrado mantener a esta especie bajo cuidado humano, pero sin metodologías estandarizadas ni objetivos reales de conservación.

Por tal motivo, desarrollar metodologías estandarizadas para el manejo *ex situ* para esta especie como, por ejemplo, los métodos de colecta de huevos silvestres, incubación y crianza de polluelos, podrían aplicarse a situaciones de crisis o urgencias ambientales. Por ejemplo, los casos registrados por la South African Foundation for the Conservation of Coastal Birds (SANCCOB) que desde su inicio el año 1968 y hasta el 2005 han manejado más de 50.000 aves marinas en programas de rescate asociado a catastrofes ambientales en Sudáfrica. La mayoría de las aves marinas que han sufrido por los derrames de petroleo en Sudáfrica son pingüinos africanos (*Spheniscus demersus*) (Wolfaardt, *et al.,* 2010).

Complementar el desarrollo de estos protocolos para el programa de cría institucional junto a un diseño de gestión para un contexto nacional, será una forma de asegurar una herramientra útil e indispensable para situaciones de crisis ambiental que puedan ocurrir en el rango de distribiución natural de esta especie. Así como si el estado de conservación en el mediano o largo plazo se vuelve más crítico, se podrán utilizar las estrategias *ex situ* de los programas de cría como complemento a las acciones de conservación *in situ*, y de esta forma hacer una gestión efectiva para la conservación del pingüino de Humboldt.

Por tal motivo, el propósito de este trabajo es plantear una estrategia de conservación basada en un programa de crianza en condiciones de cautiverio para el pingüino de Humboldt, a través del desarrollo de protocolos estandarizados y con un diseño de gestión con foco en la integración de las actividades *ex situ* e *in situ*.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Diseñar un programa de cría *ex situ* para pingüinos de Humboldt como una herramienta de gestión para su conservación.

Objetivos específicos:

1. Elaboración e implementación de los protocolos de manejo de huevos silvestres, incubación y crianza artificial del pingüino de Humboldt bajo condiciones de cautiverio.
2. Proponer un diseño de estrategia de gestión para el programa de cría de la especie en Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se inició el año 2009 como parte de un programa de conservación para el pingüino de Humboldt desarrollado en el Zoológico Nacional de Chile, y que el autor de esta tesis ha liderado desde esa fecha.

A lo largo de este trabajo se establecieron metodologías y procedimientos que contribuyeron a que este programa de cría se estableciera como una estrategia viable de conservación *ex situ*.

En primer lugar, se describen de forma general las poblaciones naturales donde se realizaron las colectas de huevos, y posteriormente la metodología para los objetivos 1 y 2 de este trabajo.

Poblaciones naturales: descripción y área de colecta de huevos para el programa de cría.

La colecta de huevos se desarrolló en dos colonias de la zona central, la primera colonia fue la del Santuario de la Naturaleza islote “Pájaros Niños”, una de las dos colonias más grandes del pingüino de Humboldt de Chile central (Ellis *et al*., 1998) ubicado en la localidad de Algarrobo (V región) (33°21’’S; 71°41’’W) (Imagen 1). La segunda, ubicada en el “Islote Locos” de la localidad de Pichidangui (IV región) (32°08’’; 71°32′00″W) (Imagen 2).

El “Islote Pájaros Niños”, es un área protegida bajo la categoría de Santuario de la Naturaleza (SN) establecida por la Ley N°17.288 de Monumentos Nacionales de 1970. Fue declarada como tal mediante Decreto Supremo N°622 de 29 de junio de 1978 del Ministerio de Educación. El principal objeto de conservación del SN es la protección de una población reproductiva de pingüino de Humboldt, así como del islote mismo, pues constituye uno de los pocos hábitats de refugio para esta especie y otras aves marinas.

Por otra parte, el “Islote Locos”, es un área que no está bajo ninguna categoría de protección y que es administrada por la Armada de Chile a través de la Gobernación Marítima de Los Vilos (D.D. N° 1939, de 1977 y la Ley N° 18.255, de 1986).

Imagen 1: Islote Pájaros Niños en la localidad de Algarrobo (V región). En círculos de color verde se señalan los nidos monitoreados.

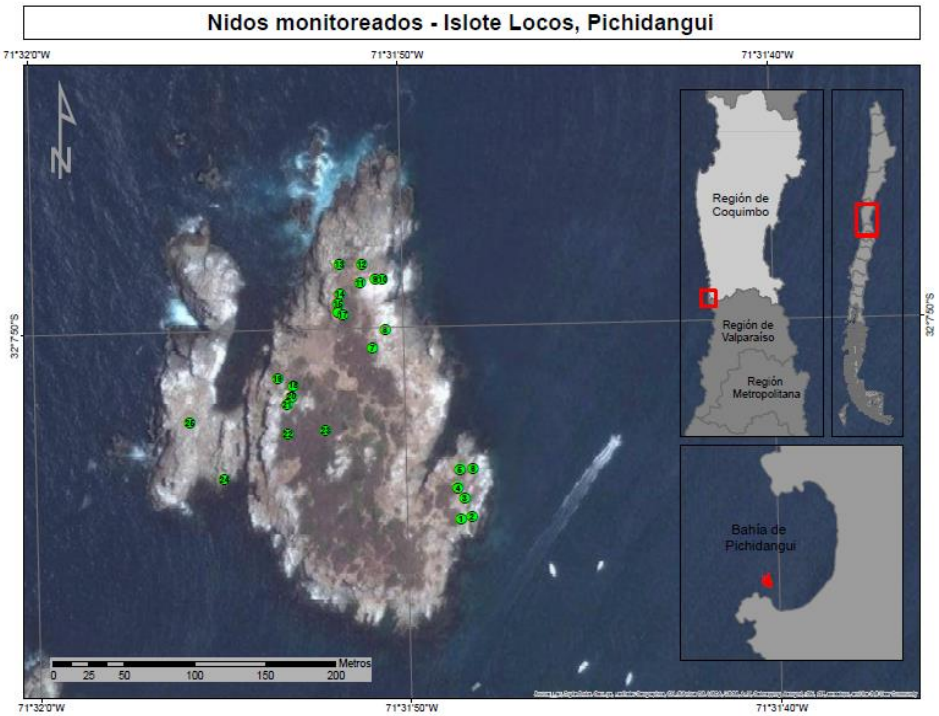


Imagen 2: Islote Locos en la localidad de Pichidangui (IV región). En círculos en color verde los nidos monitoreados.

Este Islote está ubicado a unos 250 m de la costa en la parte sur oeste de la bahía de Pichidangui (IV región). Su forma es irregular con una altura aproximada de 25 m.s.n.m. Presenta al sur bastante vegetación y al oeste promontorios rocosos y acantilados en las cuales se encuentran preferentemente aves guaneras.

Para no generar alteraciones a las colonias debido a la colecta, éstas fueron intervenidas durante la estación reproductiva de otoño e invierno, ya que en esa estación, el aumento de las precipitaciones provoca el abandono de los nidos y sus posturas por parte de los reproductores en la zona central de Chile (Simeone *et al.,* 2002). Sólo se colectaron los huevos que se encontraron abandonados en sus nidos.

Las campañas de colecta fueron realizadas en el período 2009 – 2010; año 2012; y período 2015 – 2017.

En cada una de las colonias se realizaron de tres a cuatro campañas por mes, régimen que dependió de las condiciones ambientales locales.

Específicamente la colonia natural del islote Pájaros Niños fue monitoreada desde el año 2009 hasta el año 2013, bajo los permisos de acceso a este Santuario de la Naturaleza otorgados por el Consejo de Monumentos Naturales (ORD N° 2355 del 20.05.2009; N° 4586 del 22.08.11), Ministerio del Medio Ambiente (ORD N° 112910 del 21.09.11); y los permisos de Pesca de Investigación otorgados por la Sub Secretaria de Pesca (N°2159/2009; N°1201/2012; N°1602/2012). Esta última resolución además autorizó la ampliación de las zonas de estudio, en el sentido de incluir a la colonia Islote Locos en Pichidangui IV región.

La colonia del Islote Locos ha sido monitoreada desde el año 2013 hasta la fecha. Las colectas se llevaron a cabo bajo las Resoluciones N° 2930/2012; N°3637/2014 y N°986/2015.

En ambas colonias (imagen 1 y 2), los círculos numerados correspondieron a los nidos monitoreados en las diferentes estaciones del año. Para el caso del islote Pájaros Niños, la selección de parte de los nidos (principalmente en el molo artificial) se fundamentó sobre los registros históricos de Simeone (comunicación personal) para los cuales se indicaban las mayores deserciones.

El caso del islote Locos, la selección fue realizada bajo las observaciones *in situ* realizadas por el autor de este trabajo.

Para ambas colonoas los nidos fueron georeferenciados con GPS Garmin Plus III.

Población bajo cuidado humano: descripción y áreas de manejo en el Zoológico Nacional de Chile.

Actualmente en el Zoológico Nacional existen dos grupos de pingüinos de Humboldt y que debido a sus diferentes propósitos se encuentran en áreas y recintos separados.

El primer grupo de pingüinos integrado por 20 individuos, cuya rama genealógica corresponden a individuos nacidos en cautiverio provenientes de zoológicos europeos bajo un programa colaborativo de manejo de la especie con énfasis en la educación para la conservación e investigación de la especie. Estos individuos provienen de dos instituciones zoológicas de Francia (Due de la Fontaine y Beauval).

El segundo grupo compuesto actualmente por 14 pingüinos, son el resultado del programa de cría planteado en este documento. Todos estos individuos son genéticamente de origen silvestre, ya que sus parentales correspondieron a huevos colectados de las dos colonias naturales descritas. Este grupo se encuentra desde el inicio del programa en un recinto de 154 m^2 de superficie útil (sector de nidos artificiales) y una piscina de 37.18 m^3.

Las áreas de manejo donde se desarrolló el programa de cría, corresponden a las instalaciones del centro de crianza del Zoológico Nacional (foto 1 - anexo 1). El centro cuenta con dos salas equipadas para mantener la temperatura y humedad controlada y con ventilación constante.

La primera sala contó con dos incubadoras (Incubator SHOWA P-008A y Showa-Furanki P-008) y una nacedora (GOF – 1554 HATCHER) y fue donde se desarrolló el proceso de incubación artificial de los huevos colectados. En esta sala los pollos recién eclosionados, permanecieron hasta los dos meses de vida.

Posteriormente, los polluelos se trasladaron a la segunda sala de crianza que estuvo habilitada para el proceso de pre-introducción a la colonia de cautiverio.

A los 3000 grs de ganancia de peso de los pollos (80 días aproximadamente), se trasladaron desde la segunda sala (sala de pre-introducción) al recinto definitivo, con el resto de los individuos adultos, donde han permanecido los pingüinos del programa de cría.

Para el proceso de introducción y de socialización de los pollos, se emplearon individuos adultos del grupo de pingüinos de origen de cautiverio (Francia). El método de socialización utilizado se describe en otro apartado de este documento.

En el (anexo 2) se incluye el listado de materiales utilizados en el proceso de crianza.

Este programa contó con el financiamiento parcial por parte de dos instituciones del Japón, la ONG Penguin Conference Japan (PCJ) y del acuario Shimonoseki Marine Science Museum, además de fondos propios del Parque Metropolitano de Santiago al cual el Zoológico Nacional pertenece.

Actividades para el objetivo (1):

Elaboración e implementación de los protocolos de manejo de huevos silvestres, incubación y crianza artificial del pingüino de Humboldt bajo condiciones de cautiverio.

Para el desarrollo del protocolo de colecta, manejo y traslado de huevos de origen silvestre desde una colonia natural a un centro de cría, previamente se consideraron aspectos logísticos como el monitoreo de las colonias para pre-establecer las rutas dentro de la colonia, tiempos de viajes hacia y desde el centro de crianza del Zoológico Nacional y la colonia.

Para los monitoreo de las colonias naturales, se utilizó un vehículo estatal y un equipo de tres personas formado por el coordinador del programa, un asitente de campo y un conductor.

El monitoreo en las colonias se realizó cuidando que los desplazamientos se desarrollaran de manera sigilosa para evitar grandes alteraciones. Por lo general, las zonas donde los pingüinos nidifican corresponden a sectores accidentados, en cuevas o bajo arbustos, por lo que se enfatiza en conocer previamente la zona a intervenir para evitar perturbaciones innecesarias (foto 2 – anexo 1)

La manipulación de los huevos durante la colecta se realizó evitando movimientos bruscos, ya que fuertes sacudidas pueden dañar al embrión que potencialmente se desarrollo. Para esto se tomaron como referencia algunos de los lineamientos propuestos por el grupo asesor del taxón de pingüinos y del comité de Bienestar Animal (AZA, 2014).

Los parámetros más relevantes para el desarrollo de este protocolo fueron el manejo de los factores temperatura y humedad, los cuales debieron mantenerse estables durante el traslado (Jarvis *et al*., 1985; Deeming, 1997 y AZA, 2014). En este sentido, los parámetros físicos probados y propuestos para este protocolo fueron del orden de los 35 – 38 º C para temperatura y una humedad que osciló entre los 45 – 65 %.

Para los aspectos de transporte de huevos, manejos de los polluelos en los primeros estadios de desarrollo y fórmulas de alimentación, se contó con asesorías en el manejo de la especie en cautiverio. Estas asesorías se basaron en experiencias empíricas en el manejo *ex situ* de esta especie de cuidadores de animales, especialistas y biólogos de Shimonoseki Marine Science Museum (Japón). El aporte de estas asesorías

se reflejó tanto al nivel de capacitacion de personal, como en el desarrollo de mejores técnicas de crianza.

Adicionalmente se incluyeron aspectos de bioseguridad con el objeto de minimizar los riesgos asociados a la contaminación cruzada entre ambientes *ex situ* e *in situ* y de esta manera evitar la entrada de algún patógeno al Centro de Crianza del Zoológico Nacional. Estos aspectos de bioseguridad estaban referidos a medidas que se deben considerar cuando se manejan aves, de acuerdo con las instrucciones emitidas por el Ministerio de Salud (Programa de vigilancia epidemiológica, SAG 2006).

Los elementos de bioseguridad personal fueron utilizados durante todo el período que duraron los trabajos en las salas de crianza. Se mantuvieron los elementos de bioseguridad personal, en cantidad y calidad adecuadas, lo cual fue responsabilidad de médico veterinario responsable. Los elementos de protección personal utilizados durante los procedimientos fueron manejados ya sea para su descarte o desinfección como mascarillas, guantes de latex, pediluvios, etc.

En relación a lo anterior, se consideró la utilización de distintas botas o calzados tanto para la colecta dentro de la colonia, como al ingreso de la sala de crianza del Zoológico Nacional la utilización de pediluvios para el ingreso a las salas de incubación. Se usaron guantes de procedimientos de latex para la manipulación de los huevos. Estos guantes junto al resto de los desechos eran descartados en zonas asignadas para ese propósito (zonas sucias).

Para esto se realizó una revisión de los manuales técnicos de manejo de diferentes asociaciones de zoológicas que cuentan con estos estándares (Asociación de Zoológicos de América AZA, Asociación de Zoológicos de Europa EAZA, de la Asociación de Zoológicos de la Latinoamericana ALPZA y el National Zoo Biosecurity Manual de la sociedad australiana (2011).

Se llevó a cabo una revisión de las fuentes de información del Sistema Internacional de Especies (ISIS © por su sigla en inglés), además de las versiones actuales del Sistema de Gestión de Información Zoológica (ZIMS ©, por su sigla en inglés). Estas bases de datos contienen información de las grandes colecciones zoológicas del mundo respecto a diseños de hábitat, nutrición, cuidados veterinarios, reproducción, manejo del comportamiento, investigación, entre otros aspectos. En esta base están representados cerca de un 25% de los mamíferos amenazados, y el 9% de las aves amenazadas (Conde *et al*., 2011).

Los procedimientos involucrados en la crianza artificial, fueron la preparación de los equipos, sala de incubación, protocolo de colecta y manejo de los huevos, crianza los polluelos, fórmulas y técnicas de alimentación, pesajes y manejo conductual para la introducción a la colonia de los juveniles.

La introducción de los nuevos individuos al grupo fue realizada de forma gradual, a través de visitas diarias a la colonia.

Durante la primera semana la rutina consistió en dos visitas diarias (12 y 15 hrs) con una duración de 15 minutos cada una y monitoreadas por su cuidador. En la segunda semana se incrementó el tiempo de visita a 25 min de permanencia en cada uno de esos horarios. La tercera semana los pollos permanecieron todo el día y fueron retirados durante la noche. Por último, en la cuarta semana los pollos se dejaron de forma definitiva en la colonia.

Si bien este programa estuvo enfocado en la incubación y crianza artificial de huevos y pollos de pingüinos respectivamente, durante el desarrollo de este programa se pudo implementar la crianza natural como un método alternativo.

En la crianza natural, el proceso de incubación y crianza fue llevado a cabo por “padres sustitutos”. Los padres sustitutos correspondieron a parejas de pingüinos ya formadas en la colonia mantenida bajo cuidado humano del Zoológico Nacional. Si bien estas parejas ya estaban establecidas antes de la llegada de los huevos colectados, se les estimularon las conductas de incubación a través de réplicas de huevos reales.

Por último, se gestionó a través de la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) y su programa para voluntarios, a un profesional (biólogo) perteneciente a la asociación de acuarios y zoológicos del Japón (JAZA) por un período de dos años (2010 – 2012) para la asistencia científica y técnica de los aspectos de manejo del pingüino de Humboldt.

Para el desarrollo de todo este trabajo fue necesario la formación de un equipo humano técnico y profesional. Se contó con un médico veterinario para aspectos de inspección de los animales (enfermedades, lesiones y estrés) y para responder de forma oportuna ante posibles emergencias, un médico veterinario (nutricionista) encargado de la elaboración de las fórmulas de alimentación junto a un biólogo especialista en esta área (voluntario japonés de JICA). Para el cuidado diario, un técnico veterinario que asisitó durante todo el proceso de incubación y crianza, desde el registro de incubación, eclosión, pesaje y alimentación de los polluelos, un encargado de cuidar a estas especies en Zoológico Nacional (cuidador de sección de aves) que colaboró en los procesos de

introduccion a la colonia de los nuevos individuos. Finalmente, el coordinador del programa de crianza (Biólogo Marino) autor de este trabajo.

Actividades para el objetivo (2):

Proponer un diseño de estrategia de gestión para el programa de cría de la especie en Chile.

Se diseñó una estrategia de gestión basada en una aproximación integrada de conservación propuesta por la IUCN/SSC Conservation Breeding Specielist Group 2013 (CBSG), para planes integrales de conservación donde se consideran tanto a las poblaciones dentro y fuera de sus rangos naturales de distribución, bajo todas las condiciones de manejo, con participación de todas las partes responsables y con todos los recursos disponibles desde el inicio de cualquier iniciativa de conservación de especies (Byers *et al*., 2013).

Este programa de gestión contempló distintos propósitos, como ser un reservorio genético para la especie, así como también ser parte de proyectos de reintroducción o de reforzamientos en zonas donde esta especie se distribuye naturalmente (IUCN, 2002).

Para la elaboración de este diseño de gestión, se consideraron antecedentes bibliográficos como las directrices para el uso de la gestión *ex situ* elaborado por la Comisión de Supervivencia de Especies (SSE por su sigla en inglés) de la IUCN (2014), documentos técnicos del Grupo de Especialistas de Crianza y Conservación (CBSG por su sigla en inglés).

Se realizó una revisión a la Estrategia Mundial de Conservación de los Zoológicos y Acuarios (WAZA, 2005), con el fin de integrar estas directrices. Adicionalmente se revisaron e integraron las líneas de acción regionales del Comité de Manejo Cooperativo de Especies (CMCE) de la Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios (ALPZA), y se sumaron a las fuentes de información y revisión la Estrategia de Conservación Integrada de ALPZA (2016 – 2020).

Si bien el programa de crianza se ajustó a una estrategia de gestión basada en lineamientos de la IUCN, también se consideraron aspectos de gestión desarrollados por la comunidad zoológica, cuya experiencia práctica es de alto valor para el desarrollo de estos programas. En esto se incluyeron estrategias colaborativas con otras instituciones zoológicas, planes integrales de desarrollo y actividades acopladas con las actividades *in situ*.

RESULTADOS

Previo al planteamiento de los resultados para cada objetivo específico, se realizó una descripción de los sitios en términos de la actividad presente en cada nido monitoreado. Esta descripción fue desarrollada sebajo el fundamento de que estos sitios constituyen el origen natural de los huevos que hoy son parte del grupo fundador del programa de cría, y que potencialmente podrían las futuras zonas para los programas de reintroducción o sumplementos poblacionales derivados de este programa de cría.

Poblaciones naturales: abundancias y actividad en nidos. Santuario de la Naturaleza Islote Pájaros Niños (V región).

Un total de 70 nidos fueron identificados y seleccionados para su monitoreo entre los meses de marzo a junio. Durante los años 2009 y 2010 se colectaron un total de 20 huevos, 9 el año 2009 y 11 el año 2010.

Por limitantes logísticas el año 2011 no se realizaron actividades de monitoreo del proyecto, las cuales se reactivaron el año 2012.

Las intervenciones al islote ocurrieron en la temporada de otoño e invierno que coinciden con una mayor cantidad de nidos abandonados (fines de mayo), (figura 1, barras de color morado).

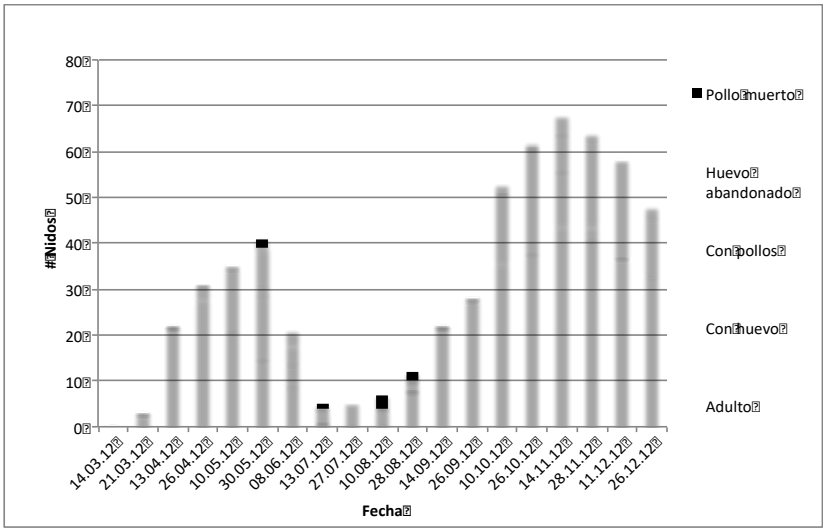


Figura 1: Tipo de actividad presente en los nidos monitoreados en el año 2012 (n=70). Los valores corresponden a la cantidad de nidos que presentaron actividad en términos de la presencia de pollos, huevos, adultos y nidos abandonados. La primera colecta del año 2012 se realizó el (30.05.2012) en el S. N. Pájaros Niños.

En la tabla (1) se destacan tres fechas relevantes en relación a la cantidad de nidos con huevos abandonados. La colecta se llevó a cabo en el mes de mayo en donde la cantidad de huevos abandonados fue mayor respecto a los otros meses.

Tabla 1: Cantidad de nidos ocupados en Islote Pájaros Niños (V región) por adultos, pollos, huevos y huevos abandonados para tres fechas relevantes durante el año 2012.

Presencia en nido:	**Cantidad de nidos Islote Pájaros Niños**		
	30.05.12(*)	**08.06.12**	**14.11.12**
Adultos	38,5 % (n=15)	24,8 % (n=9)	64,7 % (n=44)
Pollos	5,1 % (n=2)	19 % (n=4)	11,7 % (n=8)
Huevo	35,8% (n=14)	23,8 % (n=5)	17,6 % (n=12)
Huevo abandonado	20,5 % (n=8)	14,2 % (n=3)	5,9 % (n=4)

(*) Fecha de colecta de 8 huevos abandonados.

Islote Locos (Pichidangui - IV región).

Se identificaron 25 sitios potenciales para la nidificación, los que fueron monitoreados entre los años 2013 y 2015.

En la figura (2), se muestra la cantidad de nidos ocupados entre el período final del año 2012 y 2015.

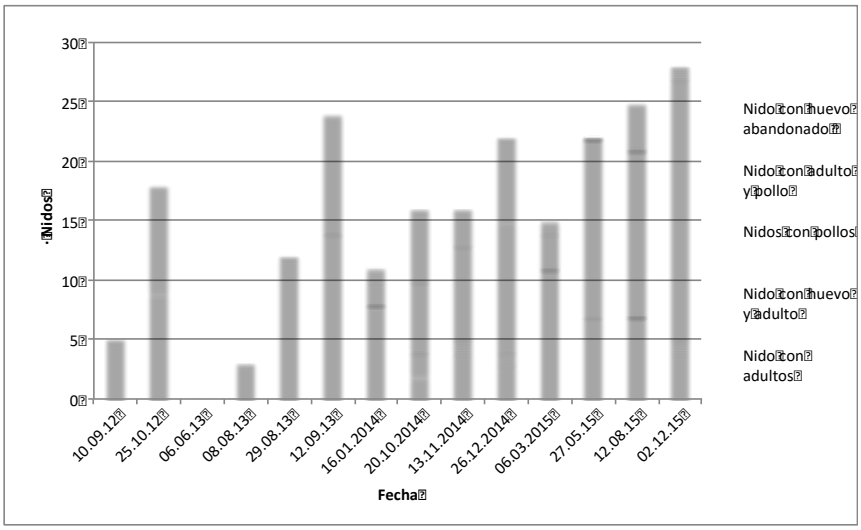


Figura 2: Tipo de actividad presente en los nidos monitoreados entre los años 2013 – 2015 (n=25). Los valores corresponden a la cantidad de nidos que presentaron actividad en términos de la presencia de adultos, huevos, pollos, adultos y pollos en nido y huevos abandonados. Cabe mencionar que la primera colecta del año 2012 se realizó el (25.10.2012) en el S. N. Pájaros Niños.

Tabla 2: Cantidad de nidos ocupados en Islote Locos (IV región) por adultos, pollos, huevos y huevos abandonados para tres fechas relevantes durante el año 2012, 2013 y 2015.

Presencia en nido:	**Cantidad de nidos ocupados Islote Locos**		
	25.10.12 (*)	**08.08.13**	**12.08.15**
Adultos	41 % (n=9)	75 % (n=3)	28 % (n=7)
Pollos	(n=0)	(n=0)	56 % (n=14)
Huevo	41 % (n=9)	(n=0)	(n=0)
Huevo abandonado	18 % (n=4)	25 % (n=1)	16% (n=4)

(*) Fecha de la colecta de 4 huevos abandonados.

La disponibilidad de huevos abandonados para desarrollar el presente trabajo fue baja, debido principalmente a que las intervenciones o colectas se llevaron a cabo durante los meses de la estación de otoño e invierno donde hay mayor pérdida de las posturas.

Dado lo anterior, es que la mayoría de los nidos con huevos abandonados, estos últimos se encontraron sin vida o infertiles, debido a que muchas veces los nidos se encontraron inundados (figura 3).

Figura 3: Nido perteneciente a la colonia del Islote Pájaros Niños (Algarrobo).

Resultados para objetivo (1)

Elaboración e implementación de los protocolos de manejo de huevos silvestres, incubación y crianza artificial del pingüino de Humboldt bajo condiciones de cautiverio.

Los procedimientos llevados a cabo para el desarrollo de este objetivo incluyeron la elaboración de los protocolos de colecta de huevos, incubación y crianza artificial.

Adicionalmente se muestran los resultados de un método alternativo de crianza, que correspondió a la crianza natural, que surgió como un método complementario al programa de crianza artificial.

Protocolo para la colecta de huevos.

i. Los huevos deben ser colectados en las estaciones de otoño e invierno desde nidos abandonados. No se deben intervenir nidos activos (con presencia de indivudos adultos al cuidado de huevos o pollos).

ii. En el caso de que la colecta responda a propósitos urgentes de conservación, por ejemplo, el rescate ante amenazas o desastres ambientales, la colecta de huevos podría realizarse en cualquier estación siguiendo los pasos descritos en este protocolo. Si la intención es salvaguardar a algunos individuos de la colonia, se debe colectar una postura en la estación de primavera y dejando la otra al cuidado de los padres. De acuerdo a la experiencia desarrollada en el Zoológico Nacional, se ha constatado la postura de un segundo huevo sin afectar los procesos normales de crianza y cuidado parental al extraer uno de ellos.

iii. Una vez que se localiza un nido con uno o dos huevos abandonados (foto 3 - anexo 1), el huevo se debe tomar en la misma posición (orientación) en la que fue hallado, y evitando movimientos bruscos e innecesarios se debe introducir en la caja de transporte. Si se encuentra un nido con dos huevos abandonados, se podrán colectar ambos.

iv. Para tomar el huevo se puede utilizar un brazo extensor portátil (foto 4 - anexo 1) fotográfico). De no contar con este elemento es indispensable el uso de guantes para su manipulación bajo consideraciones de bioseguridad (SAG, 2006).

v. Posteriormente, el huevo se debe marcar en su plano ecuatorial con un número y letra, para esto se puede utilizar un lápiz grafito. A través de una nomencaltura apropiada se debe asociar al nido y colonia de origen (foto 5 - anexo 1).

vi. Para las medidas del huevo como largo y ancho se sugiere utilizar un pie de metro digital (foto 6 - anexo 1). Se recomienda evitar el uso de un pie de metro metálico que pueda dañar al huevo (existen alternativas de plástico o madera), en su defecto se pueden cubrir las mordazas del pie de metro con cinta adhesiva de tela para suavizar la superficie de contacto con el huevo. Adicionalmente se debe registrar el peso del huevo con una balanza (digital) dentro de una caja de transporte (cooler). El cooler debe ser recubierto con una base de esponja de alta densidad con el objetivo de evitar una caída y perdida del huevo (foto 7 - anexo 1).

vii. Una vez registradas estas medidas, el huevo debe ser dispuesto en una caja de transporte (foto 8 - anexo 1). Esta caja debe ser de baja capacidad (no más de 4 huevos) para evitar el riesgo asociado movimiento excesivo durante la colecta o traslado.

viii. Finalizado el proceso de colecta, los huevos deben ser traspasados desde la caja de transporte a una cámara de incubación portátil. Se debe mantener la misma orientación del huevo en la que fue encontrado (previamente marcado para este fin). Para estos efectos se sugiere utilizar un molde de espuma de alta densidad con la forma del huevo, en donde irá “encajado” para que durante el transporte se mantengan estables (foto 9 – anexo 1).

ix. En este punto, los parámetros de temperatura y humedad se deben mantener dentro de los rangos de 35 y 38ºC de temperatura y entre 65 – 75 % de humedad. La humedad y temperatura se pueden manejar con esponjas humedecidas con agua tibia (+- 30ºC). Adicionalmente se recomienda que la cámara de incubación portátil deba mantenerse equipada con un termostato para controlar la temperatura en los rangos indicados.

x. Previo al traspaso de los huevos a las cámaras de incubación de la sala de crianza, la sala debe estar climatizada. El objetivo de evitar grandes variaciones térmicas que puedan afectar al huevo al momento del traspaso a las cámaras de incubación definitivas del centro de crianza del Zoológico Nacional (foto 10 - anexo 1).

xi. Finalmente, se debe realizar un sistema de registros de todo el proceso de colecta y toma de datos.

Ensayos y pruebas para el desarrollo del protocolo de crianza artificial (CA).

Durante los primeros años del proyecto 2009 y 2010, de los (n=20) huevos colectados el 50 % se encontraron infértiles y un 30% (n=6) sufrieron mortalidad embrionaria, es decir no alcanzaron a llegar a la etapa de eclosión. El resto de los individuos 15% (n=3) eclosionaron exitosamente pero no alcanzaron a terminar el proceso de crianza ya que presentaron problemas de incompatibilidad con los métodos de alimentación.

En base a la adaptación de mejoras continuas del proceso de crianza, durante el año 2011 se evaluaron algunas de las fallas de la primera etapa, y se analizaron las posibilidades de mejoras del proyecto. Dentro de las fallas identificadas fue el manejo de la temperatura de las salas de incubación, y el manejo de los equipos con estándares de crianza para la especie. Por lo tanto, posterior a este período se reacondicionaron las salas de crianza implementando nuevos equipos como incubadoras, nacedoras, y la asesoría por dos años de un biólogo japonés experto en crianza de pingüinos.

En consecuencia, en el año 2012 se retomaron las actividades del proyecto en el Islote Pájaros Niños, pero además se amplió la zona de investigación hacia el Islote Locos.

La tabla 3 muestra los resultados de los procesos de crianza de huevos colectados en ambos islotes. Se divide la información en diferentes procesos relevantes para el programa de cría, desde la colecta en donde se especifica la cantidad de huevos colectados y origen; tipo de rutina de crianza ya sea esta Crianza Artificial (CA) o aquella asistida por humanos y Crianza Natural (CN) que es la que se lleva a cabo por padres sustitos.

Los huevos que se encontraban fértiles o con vida al examen del ovoscopio tenían un aspecto como se aprecia en la (figura 4a), lo que indicaba que el proceso de incubación estaba siendo exitoso. Por otra parte, también se registraron casos en que al ovoscopio se observaba una masa compacta y no una irrigación normal, se procedía a abrirlo y analizar su contenido (figura 4b).

Adicionalmente, en los casos que hubo éxito durante el proceso de incubación eran monitoreado con un medidor de frecuencia cardiaca (figura 4c).

Tabla 3: Resumen de los procesos de crianza de huevos colectados de las dos colonias naturales. *IPN: Islote Pájaros Niños (Algarrobo), ** IL: Islote Locos (Pichidangui). 2011: (S/A) Sin actividades. Año 2013: Cierre, IPN es cerrado para todo tipo de actividades por autoridades de forma indefinida. CA: Crianza Artificial; CN: Crianza Natural.

PROCESO	AÑOS								
	2009	2010	2011	2012		2013	2014	2015	2016
			S/A			Cierre	S/A		
COLECTA									
Huevos colectados	9	11		8	4			4	6
Origen	IPN*	IPN*		IPN*	IL**			IL**	IL**
TIPO DE CRIANZA									
Huevos con Crianza Arificial (CA)	9	11		8	0			2 CA	0
Huevos con Crianza Natural (CN)	0	0		0	4			2 CN	6 CN
INCUBACION	9	11		8	4			4	6
Infertiles	6	4		3	0			2CA; 1 CN	1
Mortalidad embrionaria	2	4		2	0			1 CN	0
Sub total que pasa a la siguiente etapa	1	3		3	4			0	5
ECLOSIÓN									
Con éxito	1	2		3	4			0	5
Sin éxito	0	1		0	0			0	0
CRIANZA									
Finaliza proceso	0	0		3	4			0	3
No finaliza proceso	1	2		1	0			0	2
Ingreso a grupo de cautiverio									
Éxito	0	0		2	4			0	3
Sin éxito	0	0		0	0			0	0
TOTAL									
Individuos producidos por año	0	0		2	4			0	3
Porcentaje de éxito	0	0		25%	100%			0	50%

Figura 4:

a: Huevo observado a través de la luz del ovoscopio. Se aprecia uno de los polos de irrigación en la zona ecuatorial del huevo.

b: Huevo que al ovoscopio mostraba solo una masa compacta oscura. Al ser abierto era posible encontrar tanto una masa sin forma o bien embriones con temprano estadios de desarrollo.

c: Medidor de frecuencia cardiaca que se utilizaba a partir de los 20 días de incubación artificial. Uno de los objetivos era el monitoreo de la incubación y estado del huevo.

Se registraron dos casos de muerte temprana de los huevos (n=2, año 2009). Esos huevos permanecieron 15 días en la incubadora, como no hubo signos de vida con las pruebas antes mencionadas se removieron de la incubadora. Un análisis del contenido interno de los huevos resultó en el hallazgo de embriones con estadios de desarrollo temprano (10 días aproximadamente, figura 4b).

Tabla 4. Causas de pérdidas (bajas) resultantes durante el desarrollo del programa. IPN: Islote Pájaros Niños IL: Islote Locos.

Causa de pérdida	**2009 - 2010**	**2012**		**2012 - 2016**
	IPN (n=20)	**IPN (n=8)**	**IL (n=4)**	**IL (n=10)**
Huevo Infértil	10 (50%)	3 (37,5%)	0	4 (40%)
Mortalidad embrionaria	6 (30%)	2 (25%)	0	1 (10%)
Falla eclosión	1 (5%)	0	0	0
No termina proceso de crianza	3 (15%)	1 (12,5%)	0	2 (20%)
TOTAL criado con éxito	**0**	**2**	**4**	**3**

Las mortalidades de origen embrionario se dieron en casi todos los años de trabajo en proporciones que fueron entre el 30% (n=6 huevos) en los huevos colectados en el año 2009, un 25% (n=2 huevos) el año 2012 ambas en el Islote Pájaros Niños. Para el Islote Locos un 10% en los huevos colectados del 2015 (tabla 4), también se puede observar en la tabla las otras causas de pérdida.

La mayor parte de los huevos resultaron exitosos en la eclosión. Sólo un individuo el año 2010 no logró completar por sí mismo su proceso de eclosión (tabla 4).

Figura 5: Asistencia en la eclosión de un huevo de pingüino de Humboldt.

De acuerdo a los exámenes de necropsia, este individuo aún no estaba completamente maduro al momento de su eclosión, ya que el polluelo realizó solamente

la rotura interna del huevo, pero falló en el progreso por sobre las 15 hrs. más allá del período de incubación esperado, por tanto, se debió asistir en su eclosión (figura 5).

El problema más común de la incubación para los polluelos es la mala posición del embrión dentro del huevo. El desarrollo de los embriones transcurre normalmente sólo cuando los huevos son volteados periódicamente durante los primeros 18 días de incubación. De no realizarse el volteo, la mortalidad embrionaria por mala posición aumentará considerablemente, ya que el movimiento a la derecha e izquierda del huevo hace que el embrión vaya adquiriendo las posiciones adecuadas y se sitúe de la manera precisa para picar la cámara de aire y la cáscara, sino el embrión puede morir asfixiado (San Gabriel, 1980).

La mayor parte de las muertes durante el proceso de crianza se debió a incompatibilidades con los métodos de alimentación que se estaban utilizando hasta ese momento. Entre otros factores causantes de algunas bajas, estaba que algunos pollos fallaron en terminar por si mismos su eclosión, por lo tuvieron que ser asistidos en ese proceso.

Por otra parte, en la figura 6 se observan las curvas de crecimiento de los tres primeros individuos criados bajo la estrategia de CA (huevos PMS-1, PMS-2 y PMS-3).

Los tres huevos estaban con vida y tuvieron éxito en el proceso de eclosión, no obstante, el polluelo (PMS-3) sólo alcanzó los 18 días de vida en la cámara nacedora. Probablemente la incompatibilidad con los procesos de alimentación resultó en la muerte de este individuo.

En general, las tasas de crecimiento para los otros individuos (PMS1 y PMS-2), se mantuvieron dentro de lo descrito para estos procesos de crianza asistida o artificial (Deeming *et al*., 1991), en donde el máximo peso es en promedio a los 80 días de crianza (3.200 grs).

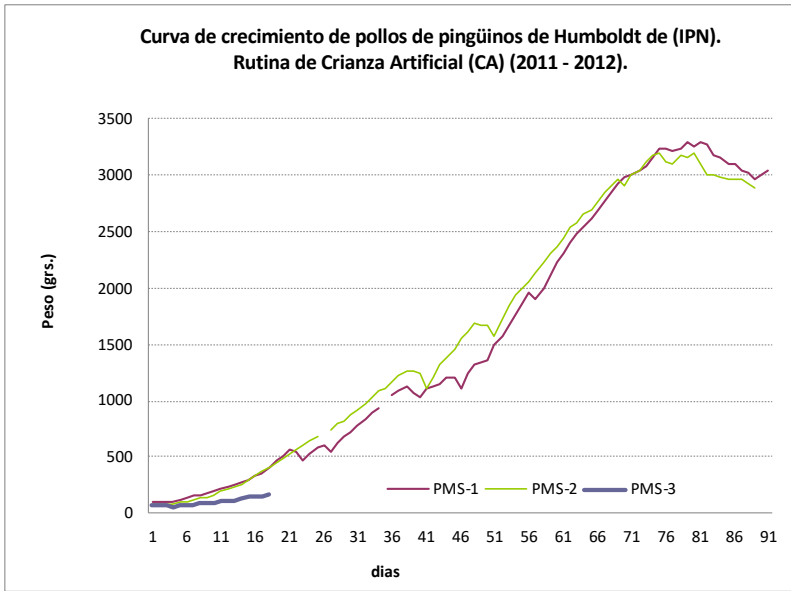


Figura 6: Curvas de crecimiento para los tres primeros individuos de pingüinos de Humboldt del programa de cría bajo la estrategia de (CA).

El pollo PMS-1 que alcanzó un peso de 3.035 grs al día 91. Así también el pollo PMS-2 tuvo un desarrollo normal alcanzando un peso de 2885 grs a los 90 días de desarrollo (fig. 6). Estos pesos corresponden al alcanzado justo el día en que pasaron a formar parte de la colonia.

Protocolo de Crianza Artificial (CA):

i. Preparación de la sala.

- La sala de incubación se debe limpiar y desinfectar al menos un día antes de la llegada de los huevos, se recomienda el desinfectante (TH4 10%). La temperatura debe ser mantenida entre los 20°C y 25ºC.

ii. Preparación de la incubadora.

- Se debe realizar una desinfección total de la cámara de incubación antes de ingresar los huevos a la incubadora. Para ello una alternativa es utilizar clorhexidina jabonosa diluida al (1%).
- La clorhexidina se aplica con toallas de papel absorbente. Se recomienda no utilizar toallas de género, ya que residuos de tela pueden quedar en el interior de la incubadora dificultando el sistema de aireación.

- Una vez que las cámaras de incubación estan limpias, éstas deben ser activadas y mantenidas al menos durante 1 semana en funcionamiento para lograr su estabilidad térmica. Para el registro de temperatura y humedad se pueden incluir termohigrómetros digitales al interior de las cámaras.
- El porcentaje de humedad antes del ingreso de los huevos a la incubadora debe mantenerse entre los 55 y 60%, y para ello se puede disponer de una bandeja de las que poseen las incubadoras en su interior con agua destilada.
- La cantidad de agua en las bandejas dependerá directamente de la cantidad de huevos dentro de la incubadora, se sugiere revisar diariamente los niveles de agua y registrar con higrómetro el porcentaje de humedad. Se recomienda usar más de un medidor de humedad para contrastar mediciones.
- A mayor cantidad de huevos al interior de la incubadora, la humedad tenderá a disminuir, por lo tanto, los niveles de agua en las bandejas se deberá incrementar en la medida que el número de huevos dentro de la cámara aumenta.
- La temperatura al momento de poner los huevos en la incubadora se debe establecer en 37ºC (+-0.5ºC).

iii. Preparación de la nacedora.

- La nacedora es una incubadora con mayor volumen interno, y cuya función es albergar a los huevos que comienzan su eclosión (picaje del cascarón).
- El traslado de huevos a la nacedora permite disminuir la carga en la incubadora. Se recomienda realizar este cambio cuando se tiene más de dos pollos a la vez, o más huevos en la misma cámara. Esto permitirá aislar los manejos diarios de cada polluelo nacido.
- Antes de disponer los huevos al interior de la nacedora, esta se debe desinfectar. Se recomienda el uso de clorhexidina jabonosa al (1%), aplicado con papel absorbente.

- La nacedora se debe poner en funcionamiento una semana antes del ingreso de los huevos y con rangos de 35 a 37ºC de temperatura y 50 a 60% de humedad.

iv. Preparación de los huevos previa incubación artificial.

- La superficie del cascarón de los huevos debe estar libre de restos orgánicos, para tal efecto se debe aplicar clorhexidina jabonosa (1%) con un cepillo de cerdas suaves. Se recomienda utilizar una mínima cantidad de este compuesto, solo humedecer el cepillo someramente con el fin de evitar exponer al cascarón a este compuesto y así prevenir la contaminación del embrión.
- Durante la limpieza se deben evitar los movimientos bruscos, asi como evitar ejercer un exceso de fuerza sobre el cascarón cuando se realizaba este procedimiento.
- Posteriormente los huevos se desinfectan con un trozo de toalla de papel absorbente con clorhexidina al 0,5%. Se debe secar el huevo para no dejar humeda su superficie. Se sugiere no limpiar con detergentes, cloro o solventes concentrados, ya que pueden dañar al embrión.
- Luego los huevos deben ser examinados al ovoscopio (revisión a contra luz) para determinar su irrigación, o formación del embrión (foto 4a). Otra alternativa utilizada para determinar el estado del huevo, puede ser el monitoreo con el lector de frecuencia cardiaca para huevos. Este instrumento capta los latidos del embrión en desarrollo después de los 20 días de incubación (foto 4c). Este exámen confirmatorio permitirá continuar con el proceso de incubación y posterior crianza artificial.
- Cuando el huevo no presentaba irrigación, sin evidencias de frecuencia cardiaca, o no hay presencia del embrión, este huevo se debe extraer de las cámaras de incubación y descartarlo. El objetivo es reducir los riesgos asociados a la contaminación dentro de la incubadora.
- Después de los exámenes confirmatorios sobre el estado del huevo, los huevos se deben pesar y medir (largo y ancho). La importancia de este paso, radica en que las mediciones del peso nos indicarán la fecha aproximada de eclosión para el caso de huevos que no se tenga certeza de

su fecha de postura (huevos de origen silvestre colectados). En esta experiencia el peso del huevo al momento de la eclosión estuvo entre los rangos de 95 y 120 grs.

- Finalmente antes de ingresar el huevo a la incubadora este se debe marcar con un lápiz grafito en el plano ecuatorial, esta marca ayudará a saber la posición durante las rotaciones.

v. Manejos durante la incubación y eclosión.

- Una vez que los huevos son dispuestos dentro de la incubadora, se debe activar el sistema de rotación automática (la frecuencia de rotación fue programada ó de 12 a 18 veces cada 24 horas), y el giro debe alcanzar los 90 grados (Bustamente *et al*., 2002). Si no se cuenta con un sistema automático de rotación, la rotación debe ser de forma manual. Tener presente siempre un manejo suave y evitar movimientos bruscos.
- La marca realizada en el cascarón del huevo permitirá guiar la rutina de rotación.
- Cerca de la fecha de eclosión (aproximadamente al día 38) la humedad se debe incrementar en rangos de 0.5% por día, hasta llegar a 70% como nivel máximo. Este manejo facilitará la eclosión del pollo ya que el cascarón se torna más blando.
- Se debe implementar una rutina de aperturas de la incubadora por tiempos de 5 a 7 minutos, 3 veces por día (9:00 - 12:00 -15:00), el objetivo es airear y manejar la temperatura dentro de la cámara.
- Al momento del picaje (rotura del cascarón), el huevo se debe trasladadar a la nacedora. En la nacedora el huevo es dejado sin intervenir hasta que el pollo eclosione completamente. El proceso tarda entre 24 a 48 horas aproximadamente (foto 11 - anexo 1).
- La cáscara puede deshidratarse dificultando el proceso de eclosión del polluelo. Para prevenir lo anterior, la cascara del huevo se debe rociar ligeramente con agua destilada a temperatura de 35°C, o bien se puede hacer rodar un algodón humedecido con agua destilada en la sección de la rotura o picaje.
- El agua para rociar los huevos se debe mantener dentro de la incubadora

con el objeto de evitar cambios bruscos de temperatura en este proceso (foto 12 - anexo 1).

- Adicionalmente para mantener la humedad se puede utilizar una gasa o papel con agua destilada a la misma temperatura que tiene la nacedora y disponerla bajo el huevo (foto 13 – anexo 1).
- La ventilación es otro factor relevante que favorece el desarrollo del embrión, una adecuada ventilación es necesaria para eliminar el agua que produce el huevo por transpiración, renovar el oxígeno imprescindible para la respiración del embrión y eliminar el CO2 (Bustamante *et al*., 2002). En este sentido, las incubadoras se deben mantener con ventilación constante con el sistema integrado de ventilación que poseen.
- Se debe disponer al huevo sobre una superficie antideslizante con el fin de mantener la misma posición del huevo durante su eclosión. La zona del picaje deberá estar siempre hacia arriba (foto 13 – anexo 1).
- Se recomienda asistir al pollo sólo si éste sobrepasa el tiempo normal de eclosión (más de 15 hrs. aproximadamente).

vi. Manejos post eclosión.

- Terminada la eclosión, se debe comprobar la absorción del saco vitelino y cierre del ombligo a través de una observación visual. En este trabajo se comprobó al menos un caso en que la yema no fue absorbida adecuadamente y la apertura umbilical no selló correctamente (foto 14 - anexo 1).
- Con el fin de evitar que un polluelo se encuentre edematoso (lleno de líquido), se debe controlar la humedad durante la incubación. Se debe monitorear al pollo al menos cuatro veces al día para limpiar la apertura umbilical para evitar su contaminación e infección.
- Para la limpieza de la zona umbilical se puede utilizar un desinfectante diluido a base de yodo (por ejemplo, Betadina) y puede ser aplicado suavemente por la zona.
- Cuando dos polluelos eclosionan, se sugiere separarlos de los huevos que aún estan en desarrollo, el objetivo es mantener su identificación individual en caso de ocurrir una nueva eclosión (foto 15 - anexo 1).
- Se recomienda considerar poner de a dos huevos a incubar, ya que una

vez eclosionado uno de ellos estimulará la eclosión del segundo polluelo con su piar (fotos 16 - anexo 1).

- Una vez transcurrido dos horas desde la eclosión, el polluelo se debe hidratar con agua destilada. Para tal efecto, se debe mantener entre 5 a 8 ml de agua destilada en una jeringa provista de una sonda de 8hr dentro de la nacedora con el fin de mantener la temperatura ambiente al momento de suministrarla.

vii. Primeras horas después de la eclosión.

- Se debe mantener la temperatura ambiente de la sala entre 25 a 27 ºC con el fin de no generar grandes cambios térmicos al polluelo al momento de sacarlo de la cámara nacedora para los pesajes diarios y alimentación.
- Se debe disponer una bandeja con agua destilada dentro de la nacedora para mantener la humedad de la cámara (esta se debe revisar todos los días).
- Después de 9 hrs, al pollo se le deben administrar de 3 a 5 ml de agua destilada a través de una sonda de 8 hr. Para este manejo se debe mantener limpia la bandeja donde descansará el pollo.
- Después de suministrar el agua, el pollo siempre debe ser dejado en una posición vertical hasta que él se mueva y se acomodara por sí solo.

viii. Rutina de manejo desde el segundo día de vida.

- Después del segundo día de la eclosión, la temperatura de la incubadora se debe bajar progresivamente desde los 35ºC día a 25ºC al día 20 de eclosionado.
- Durante este período, al polluelo se le debe administrar la fórmula de alimentación (anexo 3), por lo que se debe seleccionar muy bien el pescado y el resto de los componentes.
- Se recomienda el uso de pescado capelin (*Mallotus villosus*), sardina (*Strangomera bentincki*) o anchoveta (*Engraulis ringens*).
- Se debe revisar la apariencia externa del pescado. Se eliminan los pescados con cualquier evidencia de descomposición con manchas o hematomas, aquellos que presentaron una coloración distinta a la normal

para la especie considerada y los pescados que tenían incisiones, heridas o rupturas externas.

- Se deben revisar las partes claves (opalescencia del ojo, estado de la piel, color de branquias, musculatura fuerte y compacta, entre otros) (figura 7).
- Por último, se debieron separar pescados machos de hembras. Se recomienda descartar las hembras con huevos ya que pueden provocar problemas en la salud de los polluelos.

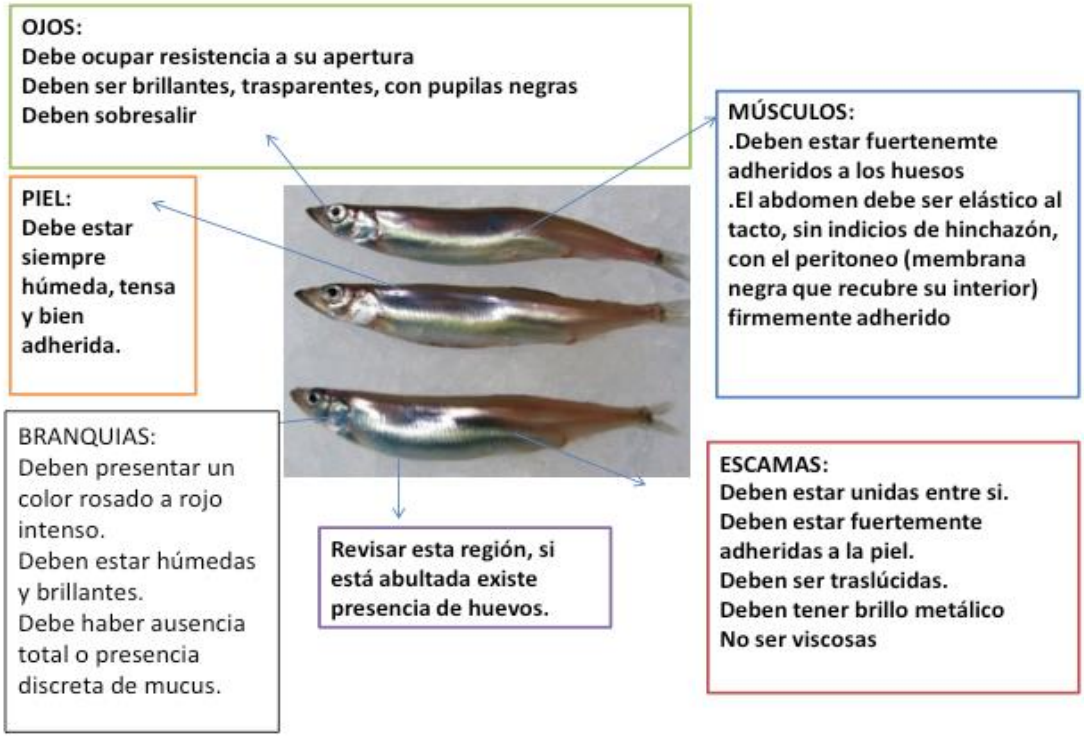


Figura 7: Principales partes claves del pescado que deben ser consideraradas para usarlo en la fórmula de alimentación.

ix. Rutina de manejo desde el día 3 hasta el día 7.

- Para la fórmula de alimentación, se debe moler 300 grs de pescado (sardina, capelin o pejerrey) sin cabeza ni aleta caudal.
- Se agregan 120 ml de agua y una pastilla de Mazuri (Vit-Zu small bird Tablet # 5TLC – 0.76 kg). En caso de no contar con estos suplementos, se puede formular este requerimiento con los ingredientes necesarios (anexo 4).

- Se debe mezclar poco a poco en la batidora hasta que quede con una consistencia cremosa.
- La mezcla se pasa por un colador para obtener 160 grs.
- Se añaden 12 grs de Mamistop (para gato) a los 160 grs y mezclar bien.
- En caso de no contar con estos suplementos, se puede formular este requerimiento con los siguentes ingredientes: sustituto lácteo para gatos (esbilac o royal canin, etc). 100 grs de leche entera en polvo + 25 grs de caseinato de calcio (esto como resultado de las pruebas fue la mejor mezcla para obtener una mezcla de 40% proteína y 22% de grasa que es lo que tiene el mamistop aprox.). 200 cc leche entera fluida + 40 grs de leche deslactosada en polvo + ½ cuch. de té de aceite (maíz, girasol).
- Para sustitiuir la vitamina Mazuri: 100 UI de vitamina E por cada 1 kg de pescado (esto se consigue en farmacias o se puede hacer por receta magistral). 30 mg de Tiamina por cada 1 kg de pescado (ídem a lo de arriba).
- Se debe comienzar la rutina de alimentación con el pesaje del polluelo antes de su primera alimentación. A este peso se le calcula el 10% y este valor corresponderá a la cantidad de alimento a suministrar. A esto se le denominó la regla del 10% (foto 17 – anexo 1).
- Se debe preparar una cantidad suficiente de fórmula a primera hora de la mañana que permitirá alimentar 4 veces al día (9:00 12:00 15:00 18:00 hrs). Al siguiente día se preparaba nueva fórmula.
- Para suministrar la fórmula de alimentación al polluelo, se debe introducir de forma suave una sonda de 8 hr por su pico.
- Para lograr introducir la sonda, se debe estimular al polluelo a abrir su pico a través de leves toques en su cabeza y pico, la reacción instintiva del polluelo será de abrir su pico y poco a poco se debe introducir la sonda. Se recomienda que este proceso sea suave y procurando siempre que esto ocurra cuando el pollo este mirando hacia arriba (foto 18 – anexo 1).
- La sonda fue introducida hasta alcanzar el estómago, llegado a este punto se recomienda marcar con lápiz indeleble el otro extremo de la sonda justo a la salida del pico, de esta manera se sabrá la longitud de sonda necesaria que se debe introducir.

- Durante la alimentación siempre se debe procurar que el polluelo se encuentre en una posición cómoda y estirado para que la sonda entre fácilmente hasta su estómago. Para tomar al polluelo se deben usar guantes de procedimiento (foto 19 - anexo 1).
- En la medida que se suministra la fórmula, se debe palpar suavemente la región abdominal. Si al palpaje de la zona abdominal se siente turgente, es indicativo de que el estamgo esta lleno. Se recomienda estar observando atentamente la conducta del pollo, cuando el pollo rechazaba el alimento, se debía interrumpir el suministro.
- Se debe tener en cuenta que los polluelos dentro de los primeros días de vida se pueden cansar fácilmente durante la alimentación, por lo tanto se debie comprobar que realmente estuvieran llenos.
- Después de la alimentación, el pollo debe ser pesado y regresado a la nacedora. Se recomienda registrar la diferencia entre el peso final (con alimentación) e inicial (antes de la alimentación) para saber el consumo neto del pollo en la medida que este se desarrolla.
- El excedente de la fórmula se refrigera en un envase hermético de vidrio, se recomienda no guardar alimento para usarlo al día siguiente, la duración de la mezcla es de un día.
- Todos los utensilios deben ser lavados con lavalozas y posteriormente desinfectados con alcohol, incluyendo jeringa y sonda.
- Al cabo de 3 hrs, se debe comenzar nuevamente a preparar la alimentación y otorgar la siguiente dosis al polluelo (se repiten los pasos previos).
- Se recomienda llevar registro del peso antes de cada alimentación, la cantidad de alimento consumido y el peso después de la última alimentación del día.

x. Rutina de manejo día hasta los 500 grs de peso del polluelo.

- Se muelen 800 grs de pescado sin aleta caudal.
- Al pescado molido se agregan 200 grs de agua destilada y 4 pastillas de Mazuri © (anteriormente descritas). Se debe triturar y mezclar poco a poco en la batidora hasta obtener una consistencia cremosa.
- La mezcla se debe pasar por un colador hasta obtener 500 grs.

- Se añaden 10 gr de Mamistop © a los 500 grs y se mezcla bien.
- Se aplica la regla del 10% para estimar la cantidad de formula a preparar.
- La fórmula se carga en una jeringa dispuesta de una sonda de 10 hr y suministrada al polluelo. En esta etapa se debe mantener la rutina de alimentación de 4 veces al día: 9:00 12:00 15:00 18:00 hrs.
- El polluelo se debe pesar antes y después de alimentar y registrar este dato.
- En esta etapa se recomienda contar con 2 personas para otorgar la fórmula de alimentación. Una para sostener al pollo mientras la otra persona alimentaba.
- Una vez alimentado el polluelo este debe ser retornado a la nacedora.
- Los materiales utilzados se deben lavar y posteriromente desinfectados con alcohol.
- Después de 3 horas se llena nuevamente la jeringa con la fórmula y se vuelve a alimentar.
- Se recomienda no forzar la alimentación en caso de que el pollo no presente respuesta al estímulo de palpaje en el pico.

xi. Rutina de manejo desde los 501grs de peso del polluelo.

- A partir de este peso los polluelos deben ser trasladados a corrales dentro de salas con temperatura controlada, para lo cual se puede utilizar luces infrarojas en las esquinas de los corrales, ademas se debe asegurar una buena ventilación.
- Se mantiene la rutina de alimentación de 4 veces al día: 9:00 12:00 15:00 18:00 hrs.
- En esta etapa se debe producir el cambio de dieta para el polluelo. Se pasa de la fórmula (pasta cremosa) al pescado trozado. Se recomienda que la especie de pescado debe ser pequeña como sardina o capelin, se sugiere suplementar con aceite omega 3.
- Se utiliza la regla del 10% para el calculo de alimento a suministrar.
- La suplementación con vitaminas Mazuri © y 0,25 ml de aceite omega 3 se debe realizar tres veces al día. Estos suplementos se introducen dentro del pescado en cada alimentación.

- Se debe seguir con la pauta para la alimentación, aumentado 0,05 ml de aceite omega 3 cada 100 grs de peso, o sea a los 800 grs 0,4 ml de aceite, y a los 1000 grs 0,5 ml de aceite.
- El pescado debe ser cortado entre 4 a 6 trozos de 2 cm de longitud aproximadamente, luego traspasado a un recipiente con tapa, se agrega un poco de agua destilada y luego agua caliente (nunca recien hervida), de modo que el pescado quedara tibio, no caliente, ni cocido. Luego se debe disponer y secar sobre un papel absorbente y se procede a alimentar.
- Nuevamente se recomienda tocar constantemente el estómago del pollo, para evitar sobre alimentar. No se debe forzar la alimentación.

xii. Rutina de manejo desde los 1001 grs. de peso del polluelo.

- Se deben mantener los pasos anteriores para la alimentación en los corrales dispuestos para esta etapa.
- Otorgar alimentación 4 veces al día: 9:00, 12:00, 15:00 y 18:00 hrs.
- Se cálcula la cantidad de alimentación de acuerdo a la regla del 10%.
- Se deben trozar de 3 a 4 partes (3 a 5 cm) de pescado, luego los trozos se dejan en un recipiente con agua tibia para el consumo del polluelo.
- Se debe suplementar con 1 pastilla Mazuri al día, la que debe ser introducida dentro del pescado y 0,5 ml de aceite omega 3 en cada alimentación.
- Se recomienda seguir con la pauta para la alimentación con pescado cortado, aumentando media pastilla Mazuri cada 500 grs de peso (ej. a los 1500 gr correspondia 1 pastilla y media, y a los 2000 grs. 2 pastillas).
- En la medida que se alimenta al polluelo, se debe observabar que la fórmula sea deglutida completamente, si es regurgitada podría ser un indicativo de tres cosas, que el polluelo estaba lleno, que el alimento se estaba suministrando de forma muy rápida o que el polluelo no era muy hábil para comer.
- Finalmente se debe constatar la cantidad ingerida a traves del palpaje de la zona abdominal. Si el pollo no quiere comer no se le debe forzar.

xiii. Rutina de manejo para polluelos con más de 2500 grs de peso.

- En esta etapa la alimentación se debe reducir a 3 veces al día: 9:00, 12:00 y 17:00.
- Al igual que los pasos anteriores, para suministrar la alimentación se debe seguir la regla del 10%.
- Se lavan y seleccionan los pescados siguiendo las indicaciones antes descritas para pescado capelin.
- El pescado se debe trozar en 2 partes (7 a 8 cm) y luego se seguió el procedimiento para que el pescado quede tibio al momento de la alimentación.
- La suplementación en esta etapa debe estar compuesta por 2 y madia pastillas Mazuri al día introducida dentro del pescado y 1 ml de aceite omega 3 en cada alimentación (3 veces al día).

xiv. Introducción de los polluelos a la colonia de cautiverio.

Sobre la base de que los pingüinos de Humbodlt en condiciones de cautiverio suelen alcanzar su peso máximo antes de tener su plumaje adulto, es decir entre los 3,0 y 3,6 kg (foto 19, anexo fotográfico), se debe realizar el proceso de introducción y socialización de estos individuos al recinto definitivo en esta etapa.

Se recomienda que la introducción se realice en grupos o en parejas criadas en conjunto como condición mínima (foto 20 – anexo 1), esto facilita la adaptación al nuevo ambiente social (recomendación del grupo asesor del Taxón de la AZA).

Se debe mantener en observación a los polluelos en las primeras interacciones en la colonia ya que pueden ocurrir conductas agonistas hacia los nuevos integrantes (picoteos, desplazamientos territoriales y restricción en el uso del espacio) (foto 21 – anexo 1). Para reducir la intensidad de estas agresiones se debe procurar que los pingüinos del grupo de exhibición (de la colonia receptora) estén alimentados, esto reduce los niveles de agresión.

Adicionalmente se debe estimular a los nuevos individuos a alimentarse con el resto del grupo, en lugar de proveerles un tratamiento especial y por separado.

La crianza artificial generalmente es acompañada por altos niveles de impronta de los individuos criados a mano. Para un programa de cría, esta impronta puede facilitar los

procesos de manejo y mantención como por ejemplo pesajes, exámenes médicos y chequeos preventivos, entre otros y fue considerado positivo.

Si bien los seres humanos pueden proporcionar un cierto estímulo social, esta no debe ser la única frecuente de actividad social para estos pingüinos. Todos los pingüinos requieren tiempo con sus congéneres para desarrollar comportamientos apropiados.

La figura 8 resume y esquematiza los cinco procesos mas importantes del programa de crianza artificial. Pre-incubación, relacionado a los métodos de colecta de huevos de una colonia silvestre y preparación de los equipos para la incubación artificial. La incubación, en donde se debe identificar los aspectos más importantes como por ejemplo lograr la estabilidad de la temperatura y humedad durante los 40 días del proceso. Etapa de eclosión, durante esta etapa un punto crítico es monitorear la ruptura del cascarón y el manejo de la humedad, que se identificó como clave para la facilitación de la eclosión, eventualmente se deberá asistir el proceso de forma manual. Finalmente, en la crianza artificial se consideran dos sub-tapas, del día 1 al 14, en donde la fórmula y el proceso de alimentación son los puntos críticos de la crianza, y desde día 15 y hasta que alcanzan los 3,5 kg de ganancia de peso se considera el éxito en la crianza artificial. Por último, la introducción a la colonia de cautiverio en donde deben ser evaluados la conducta de los nuevos individuos.

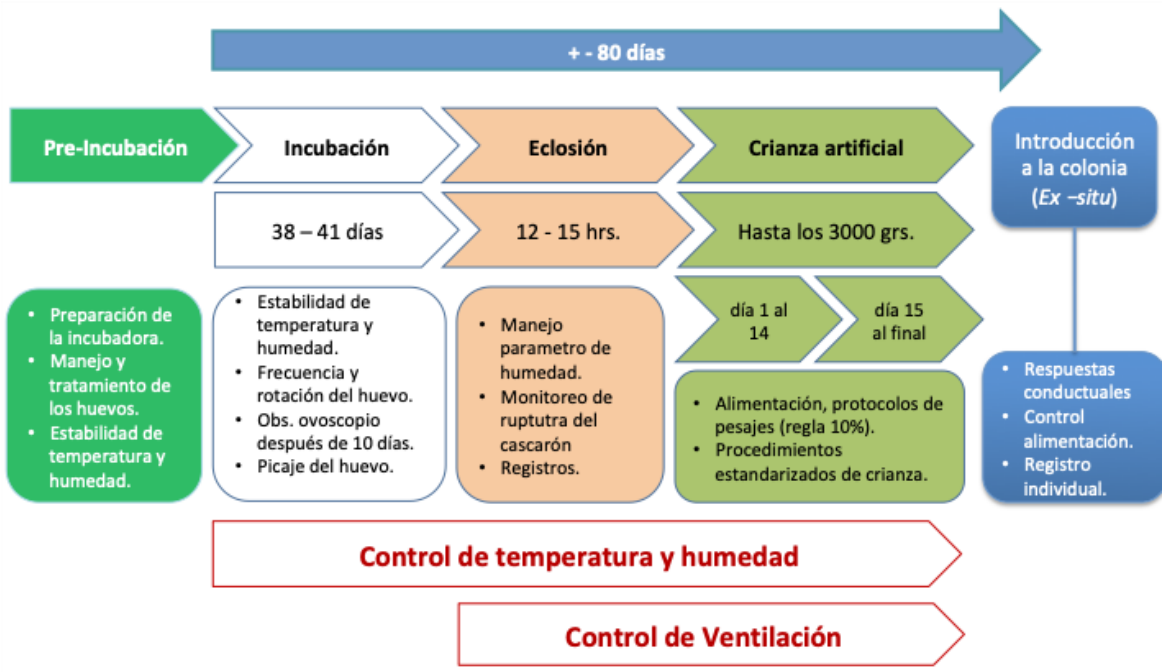


Figura 8: Esquema de la secuencia de etapas del programa de cría. En cada una de ellas se destacan aspectos relevantes que fueron posible definir durante el desarrollo de los protoclos respectivos, hasta la introducción a la colonia de cautverio.

Todo el proceso descrito abarca un tiempo de 80 días en promedio por individuo, y en esto, se debe tener control de temperatura, humedad y ventilación como factores claves para asegurar el éxito de la crianza.

Para el proceso de crianza natural, la introducción y socialización no son necesarios puesto que los “padres sustitutos” alimentan, cuidan y traspasaron información conductual y social del medio a los nuevos individuos, herramientas que posteriormente les permitiran a los juveniles desenvolverse exitosamente dentro del grupo.

En la tabla (5) se detallan los datos de los “padres sustitutos” que se formaron durante las estaciones reproductivas. Cabe mencionar que los individuos que conformaron estas parejas nacieron en cautiverio y provienen de dos instituciones zoológicas europeas.

Tabla 5: “Padres sustitutos” del programa de cría del pingüino de Humboldt en el Zoológico Nacional. Una pareja (Zoo Parc Beauval) estuvo conformada por individuos del mismo sexo (♂♂). Los huevos incubados por estas parejas eran provenientes de la colonia natural de Isla Locos de la localidad de Pichidangui.

Origen	Padres sustitutos		Huevos incubados (ID Local)	Fecha incio postura huevo artificial	Fecha cambio de huevo artificial a silvestre	Fecha de eclosión
Zoo Parc Beauval (Francia)	F3D27E (M)	F3C587 (M)	Loco 1 - Loco 2	15.10.12	25.10.12	11 y 15.11.12
Zoo Parc des Oiseaux – Dombes (Francia)	F3DA76 (M)	F3C481 (H)	Loco 3	15.10.12	25.10.12	16.11.12
Zoo Parc des Oiseaux – Dombes (Francia)	F3DF8E (M)	F3E6D8 (H)	Loco 4	15.10.12	25.10.12	18.11.12

El siguiente protocolo fue desarrollado para la crianza natural de pingüinos de Humboldt y que constituye una herramienta complementaria a los métodos de crianza artificial.

Protocolo de Crianza Natural (CN):

- Se debe realizar una revisión de los registros históricos de posturas y crianzas exitosas del grupo en exhibición, de esta manera se pueden identificar las parejas ya formadas de las estaciones reproductivas anteriores.
- A las parejas identificadas bajo el registro histórico, se les debe hacer un seguimiento conductual para determinar su estababilidad. En la tabla 5 se muestran las parejas estables de esta experiencia.
- Los pingüinos deben ser individualizados con bandas alares (bandas bajo una nomenclatura de colores), ya que facilitará la identificación de cada individuo y de cada pareja para su monitoreo en el tiempo.
- De las observaciones conductuales, el acarreo de material para la construcción de nido puede ser utilizado como actividad clave del inicio de la estación reproducitva.
- Como material de sustrato se debe utilizar material absorbente ya que proporciona un mayor drenaje y ventilación, por ejemplo, disponer de ramas y hojas secas.
- Generalmente las primeras cópulas se observan con mayor intensidad 2 a 3 semanas antes de la postura de huevos.
- Se sugiere que el recinto sea lo suficientemente complejo para fomentar comportamientos naturales, como la búsqueda y selección de sitios para la nidificación. Para tal efecto se pueden disponer varios nidos artificiales en distintos sitios del recinto y en proporción a la cantidad de individuos y parejas presentes.
- En la medida que se dispongan más sitios para nidos, se puede aumentar la posibilidad de que se formaran más parejas y con ello de disponer de “padres sustitutos” para la crianza de pollos.
- Una vez que se establecen las parejas y se comprueba que uno de los individuos se queda en el nido en conducta de incubación (echado), se debe disponer bajo este individuo el huevo artificial (foto 22 – anexo 1). Se sugiere que este manejo sea realizado cuidadosamente y en el menor tiempo posible.
- Se recomienda que dos personas apoyen el cambio de huevos, uno debe contener al pingüino adulto para evitar que rompa el huevo y el otro que hace el intercambio

de los huevos. Debe quedar registro del día de este manejo. Se recomienda dejar registro de la fecha de este manejo.

- Se debe monitorear la reacción de la pareja frente del huevo artificial para comprobar si es aceptado. Después del segundo día con el huevo falso, será posible afirmar que el huevo fue aceptado de forma definitiva (foto 23 – anexo 1).
- Se debe dejar a la pareja por al menos dos semanas con los huevos artificiales antes del cambio a los huevos naturales, con esto se refuerza la conducta de incubación. Se constató durante el desarrollo de esta etapa, que mientras tengan huevos a su cuidado no habrá posturas adicionales, esto resultó en una herramienta efectiva del manejo de la reproducción.
- Después de la eclosión, los polluelos deben ser monitoreados directamente en el nido para confirmar su crecimiento y evaluar el cuidado que realizan los nuevos padres a los polluelos.
- Se recomienda en esta etapa alimentar *ad libitum* a los padres sustitutos (parejas).
- Se deben utilizar piezas más pequeñas de pescados como capelín (*Mallotus villosus*) o pejerreyes (*Odontesthes bonariensis*) con el fin de facilitar la alimentación de los padres. De esta forma la alimentación de los polluelos será más eficaz (foto 24, anexo fotográfico).
- Los polluelos deben ser retirados desde el nido para los pesajes diarios y exámenes físicos. Los pesos de los polluelos pueden comparase con los datos publicados en ZIMS (Zoological Information Management System) para la especie y por grupo etario, con el fin de tener un parámetro comparativo. Cabe indicar que los polluelos criados por los “padres sustitutos” mostraron una tasa de crecimiento mayor que la de polluelos criados artificialmente.
- Si un polluelo requiere de un tratamiento médico, éste debe ser retirado temporalmente del cuidado de los padres sólo para llevar a cabo los procedimientos necesarios y luego ingresado al nido.
- Generalmente los individuos criados de manera natural tienen una baja probabilidad de ser rechazados por el grupo, esto les permite además adquirir las herramientas conductuales y sociales necesarias para su adaptación a la vida en grupo.
- Al igual que para la crianza artificial, se recomienda llevar un sistema de registro diario por individuo para evaluar de esta forma su evolución en el tiempo.

En la figura 9, se muestran las tasas de crecimiento de las dos estrategias utilizadas (CA y CN) de este programa de cría.

La curva de crecimiento de los individuos criados bajo CN (Locos-1, Locos-2, Locos-3 y Locos-4) presentaron una ganancia de peso mayor en menor tiempo, es decir la velocidad de crecimiento fue mayor para estos individuos comparados con los criados bajo la CA (PMS-1 y PMS-2).

Por ejemplo, a los 51 días de crianza los polluelos de CN alcanzan el peso máximo (3,5 kg), y en este mismo período de tiempo los polluelos de CA recién han alcanzado (1,5 kg). Después de 85 días de crianza los polluelos de CA alcanzan los pesos máximos similares a los de CN.

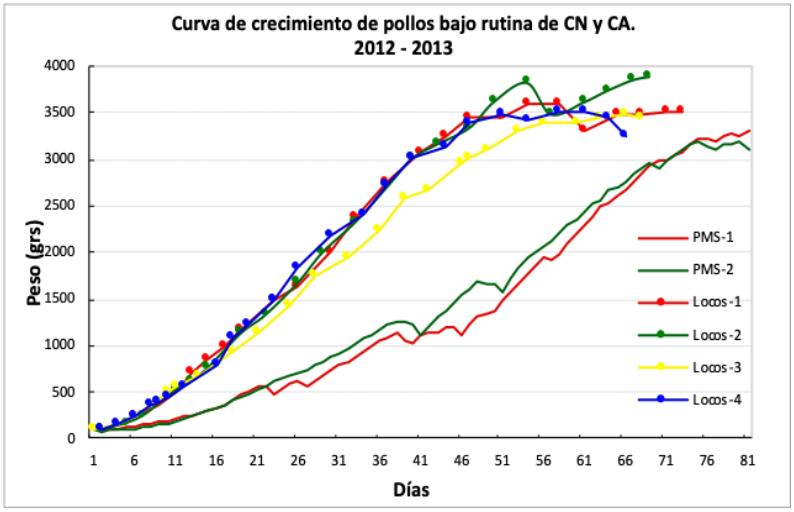


Figura 9: Curvas de crecimiento para los individuos criados bajo la estrategia de (CA) (PMS-1 y PMS-2, línea roja y verde respectivamente), y los individuos criados bajo la estrategia de (CN) (Locos-1, 2, 3 y 4, líneas y puntos rojo, verde, amarilla y azul respectivamente).

Hallazgos durante el proceso de crianza natural (CN).

Un hallazgo importante fue la identificación de parejas del mismo sexo durante el proceso de identificación de “padres sustitutos”. Estos individuos, al igual que las otras parejas, adoptaron de forma efectiva los huevos artificiales y posteriormente los huevos naturales.

Este evento constituyó un conocimiento adicional sobre la conducta de esta especie mantenida en cautiverio, y una experiencia valiosa desde el punto de vista de los manejos reproductivos y que contribuyeron a este programa.

La formación de esta pareja (♂♂) (Locos - 1 y Locos – 2, tabla 5), fue posible constatarla después de 10 días en que aceptaron los huevos artificiales. Tiempo después del cual fueron cambiados por los huevos naturales.

Cabe mencionar que el grupo de exhibición se encuentra sexado bajo técnicas de PCR a través de muestras de sangre o pluma.

Basados en las curvas de crecimiento, los pollos criados por estos padres adoptivos (♂♂) tuvieron una ganancia de peso relativamente mayor (línea verde punteada Locos – 2, figura 9) respecto a los criados por parejas heterosexuales.

Este tipo de parejas pasaron a ser parte importante del programa de cría, puesto que resultaron ser parejas estables en el tiempo con resultados efectivos de crianza.

Registros.

Se deben desarrollar registros para cada polluelo en los que se incluya el momento cuando abren los ojos, peso diario, tipo y cantidad de alimento que consumen, las evaluaciones de salud, color y características de las deposiciones que pueden ser una medida importante de la respuesta de un polluelo a regímenes de alimentación asistida y cualquier aspecto importante, etc. Estos permitieran monitorear la salud de manera adecuada y determinar si los polluelos se están desarrollando de acuerdo con las tasas de crecimiento documentadas.

Resultados para el objetivo específico (2):

Proponer un diseño de estrategia de gestión para el programa de cría de la especie en Chile.

El presente diseño de gestión se plantea sobre la base del programa de cría desarrollado en este trabajo como estrategia de conservación *ex situ*.

En la figura 10 se esquematiza el flujo de actividades desarrolladas en este programa, se incluye la crianza natural como una alternativa al programa original de crianza artificial debido a que potenció la producción de nuevos individuos.

Una vez alcanzada la descendencia del grupo fundador se han definido 4 líneas de acción como propuesta de gestión.

Estas líneas de acción son la gestión *ex situ* a través de los programas colaborativos, la reintroducción de nuevos individuos a colonias silvestres, limitar la reproducción de los programas de cría y el desarrollo de un programa de educación para la conservación que acompañará las acciones *ex situ* e *in situ.*

La figura 10 muestra además la forma en que las estrategias o actividades de conservación *ex situ* e *in situ* interactúan. Por ejemplo, desde la gestión *ex situ* y en base a los programas colaborativos, la creación de los protocolos de manejo y crianza para generar nuevos individuos que suplementen colonias naturales (actividad *in situ*). Estos últimos también pueden ser un aporte a los mismos programas de cría a través del aporte de nuevos individuos entre instituciones, identificando los grupos reproductores, estableciendo las unidades sociales apropiadas para obtener con éxito la reproducción y la cría, atendiendo a las necesidades de comportamiento y estándares de bienestar animal (WAZA, 2005).

Se propone que la coordinación e implementación de las diferentes líneas de acción o actividades del programa colaborativo de cría sea desarrollado por el Zoológico Nacional de Chile, a través del Comité de Manejo Cooperativo de Especies (CMCE) de la Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios (ALPZA) quien agrupa a las instituciones que formarían parte de esta red.

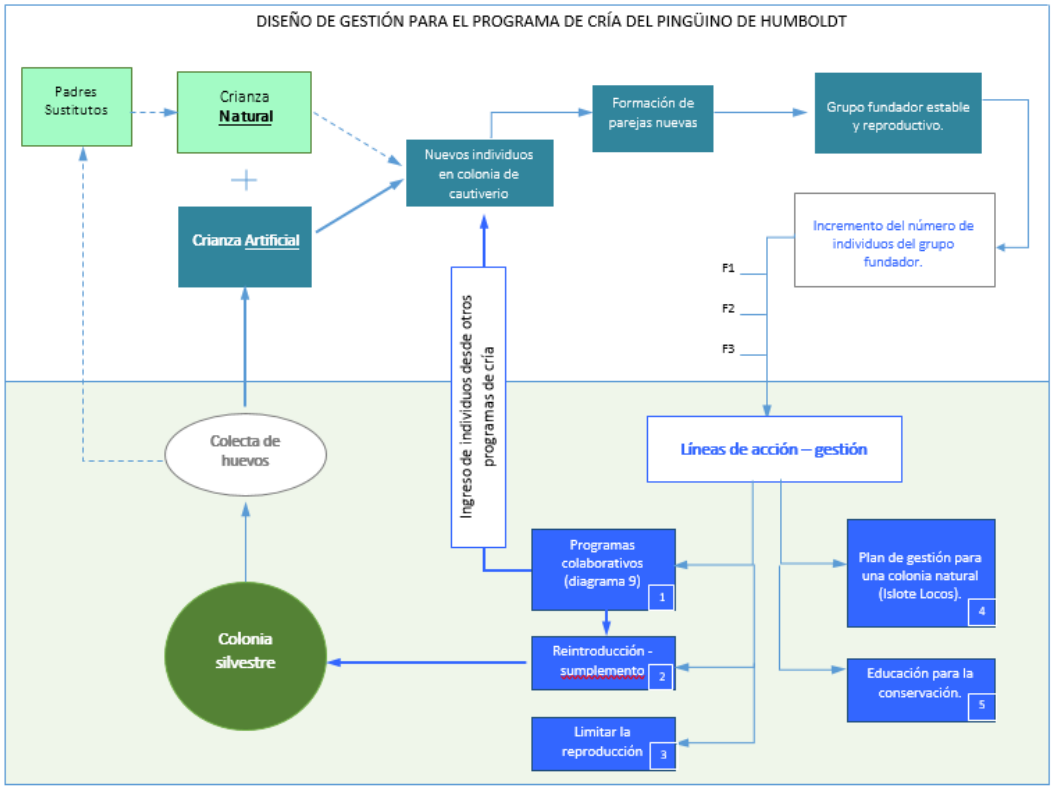


Figura 10: Marco conceptual de la estrategia de gestión basada en programas colaborativos entre instituciones zoológicas. (Fuente: elaboración propia)

Línea de acción 1: Establecer un programa colaborativo con instituciones zoológicas o centros de rehabilitación y crianza. Esta red colaborativa permitirá el flujo de huevos fecundados o individuos entre las instituciones para que en su conjunto tengan un tamaño razonable para conservar adecuados niveles de diversidad genética y sean autosuficientes.

En la práctica, el trabajo colaborativo implicará manejar un grupo de poblaciones interactuantes, tanto *ex situ* como *in situ* bajo una misma meta de conservación. Ello puede involucrar componentes como: intercambios entre grandes instituciones de cría; disponer de post-reproductivos o de animales que no están en los programas de cría a instituciones periféricas; y en largo plazo la transferencia periódica de individuos o huevos fértiles desde las instituciones zoológicas a las poblaciones *in situ* y viceversa (figura 11).

Cada una de las instituciones de esta red colaborativa tendrán el potencial de funcionar como grupos de resguardo (salvaguarda) de esta especie, a modo de banco genético distribuidas en diferentes zonas.

Una de las herramientas de gestión utilizadas para los programas de cría basados

en redes colaborativas corresponden a los studbooks o “libros de cría” (Abáigar 2002; Barbosa y Espeso 2005; Moreno y Espeso 2008), en donde se almacenan de manera organizada y sistematizada todos los nacimientos, transferencias, muertes y liberaciones durante un período determinado. También incluye información importante para el manejo de la especie, como la información de crianza o los rasgos de comportamiento que afectan la capacidad de unirse a un programa de reproducción y, en última instancia, las causas de muerte. En la actualidad estos sistemas son bases de datos digitales que se operan desde plataformas on line como ZIMS (Zoological Information Management System), el cual es una base de datos en la red global que incluye información de salud y bienestar animal, registros, movimientos y manejo de individuos que, con datos compartidos provee información poblacional completa, así como las prácticas adecuadas y aceptadas por la comunidad de colecciones animales.

Esto permitirá asegurar los planes de manejo para las poblaciones mantenidas en condiciones de cautiverio.

Las instituciones que formen parte de esta red colaborativa tendrán diferentes categorías y formas de interactuar entre ellas. La figura 11 muestra los diferentes niveles de interacción entre las instituciones y el medio silvestre, roles y objetivos de cada una de ellas en este plan.

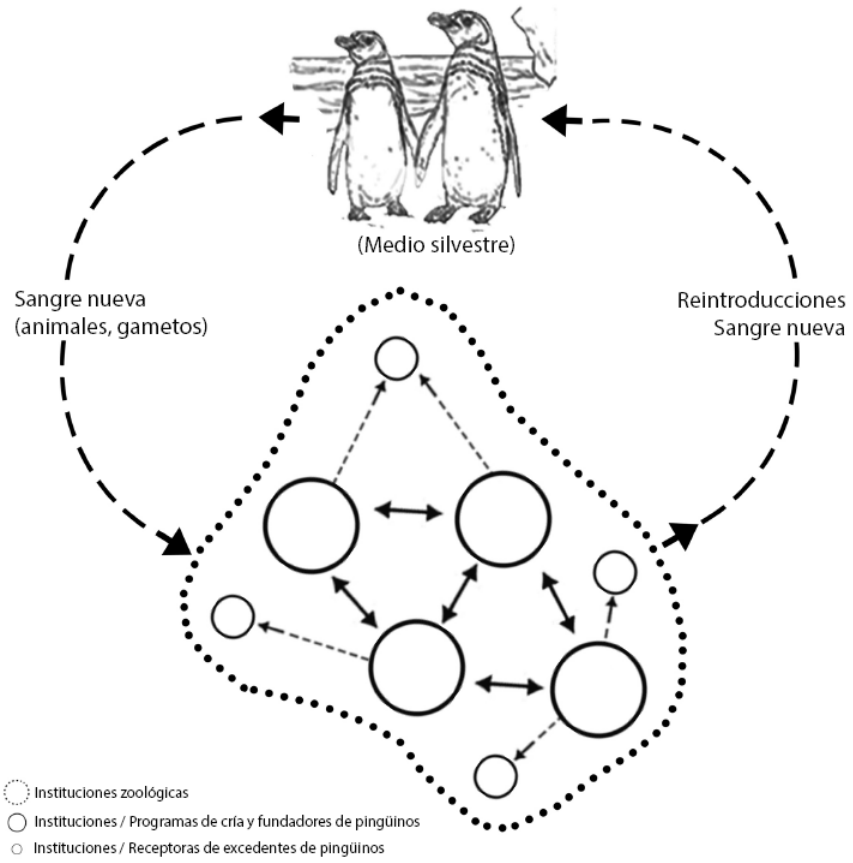
Se contarán con instituciones generadoras (productoras) de nuevos individuos a través de los programas de cría (figura 11, círculos grandes). Estas instituciones deberán tener la capacidad técnica, infraestructura, espacio y protocolos estandarizados de crianza para el manejo de esta especie. Solo entre estas instituciones se realizarán los intercambios de individuos o gametos con el fin de mantener niveles optimos de variabilidad genética.

Por otra parte, estarán las instituciones más pequeñas (receptoras) que por sus caracteristicas operativas tendrán la función de recibir los excedentes de las instituciones “productoras” para formar grupos más pequeños de pingüinos (figura 11, líneas segmentadas unidireccionales), y se desempeñarán como grupos de salvaguarda de la especie. En estas últimas instituciones se limitará el crecimiento (reproducción) de los individuos con el fin de no sobrepasar la capacidad de carga de los recintos para no comprometer el bienestar animal y la calidad genética de los individuos.

Una de las ventajas de distribuir a los pingüinos entre diferentes instituciones, es la protección de éstos frente eventos fortuitos como brotes de enfermedades contagiosas que pongan en riesgo la viabilidad de un grupo, ante la falla en algún sistema operativo o

de mantenimiento, o bien que las políticas de alguna institución cambien respecto a la participación del programa de cría. En este sentido, disponer de diferentes instituciones permitirá aislar los riesgos asociados de contar solo con un grupo reproductivo que frente a estos eventos podrían perderse en su totalidad.

Los encargados del programa de crianza de cada institución deberán ser los responsables de coordinar las actividades dentro de sus instituciones, y quienes a su vez reportarían al coordinador general del CMCE de la Asociación ALPZA.



Fuente: Modificado de WZACS 2005.

Figura 11: Diagrama sobre el manejo de poblaciones entre instituciones zoológicas (*ex situ*) y poblaciones naturales (*in situ*). Intercambios entre grandes instituciones de cría (círculos grandes); disponer de post-productivos o de animales que no están en cría en instituciones periféricas (círculos pequeños y líneas punteadas).

Línea de acción 2: Esta línea de acción surge a partir del potencial que los programas de cría tienen, en términos de ser una fuente productora de nuevos individuos para diferentes fines de conservación.

Del total de instituciones “productoras” y “receptoras” se podrán disponer de individuos para programas de reintroducción, suplemento o reforzamientos poblacionales

de colonias naturales (ver directrices IUCN). Así mismo, desde el medio silvestre se podrán obtener huevos que ingresen a los programas de cría de las instituciones colaboradoras.

Considerando lo anterior, se propone que individuos generados bajo el programa de cría puedan ser parte de programas de reintroducción o suplementos poblacionales. De acuerdo a las dirtectrices de la IUCN, estas reintroducciones requerirán un enfoque multidisciplinario, que abarque un equipo de personas con experiencias distintas, se incluyen en esto a agencias gubernamentales en manejo de recursos naturales, organizaciones no gubernamentales, fuentes de financiamiento, universidades y zoológicos con una gama completa de experiencia adecuada para estos fines.

En esta línea de acción los Zoológicos tienen la ventaja de que sus propios científicos poseen una gran cantidad de conocimiento biológico y conductual de los animales que mantienen, esta información generalmente no es conocida por las instituciones gubernamentales que organizan y gestionarían programas de reintroducción o suplemento.

Adicionalmente las oportunidades de investigación, educación y financiamiento para los zoológicos pueden ser utilizadas para apoyar los planes de reintroducción administrados por ellos aumentando así el potencial de éxito.

Durante el desarrollo de este programa, el Islote Locos de la IV región de Chile, se vislumbra como una colonia natural en la que se podría llevar cabo un programa piloto sobre las primeras reintroducciones al medio silvestre de pingüinos de Humboldt generados sobre la base de los programas de cría, en un esfuerzo multi-institucional.

De acuerdo a las observaciones y monitoreos realizados desde el año 2012 en el Islote Locos, este presenta la dinámica natural y estable de las estaciones reproductivas anuales, con una población que ha ido incrementando en el tiempo.

Línea de acción 3: Limitar la reproducción de los programas de cría en el escenario en que la producción de nuevos individuos sobrepase la capacidad de carga de los recintos y que esto potencialmente pueda afectar la calidad genética de los grupos y su bienestar animal.

Una estrategia eficaz para limitar la reproducción en zoológicos es mantener a grupos inferiores a 10 individuos en un mismo recinto. Esto sobre la base de que la reproducción de los pingüinos, al ser aves coloniales, depende de una estimulación adecuada de sus congéneres, es decir que la actividad reproductiva se facilita

socialmente y es dependiente de la cantidad de individuos en un recinto (Berger, 1981). Asi mismo el Grupo Asesor de Taxón de Pingüinos y como se indica en las Directrices del Plan de Colección Regional (RCP, por su sigla en inglés) se recomienda que las instituciones mantengan un mínimo de 10 pinguinos en un mismo recinto para asegurar la reporducción (AZA, 2014 manual sobre el cuidado).

En consecuencia, mantener grupos inferiores a ese número podría ser una de las medidas para limitar la formación de parejas y su reproducción. Esto se puede establecer al comienzo de los programas de cría dentro de sus objetivos.

Otras medidas de manejo eficaces son la formación de grupos del mismo sexo. Como se ha comprobado en este estudio el emparejamiento del mismo sexo no parece plantear ningún problema de salud y de manejo para los pinguinos.

Limitar los espacios para nidificación y disposición de material que frecuentemente son utilizados para nidos (ramas y hojas).

En último término extraer las posturas de cada estación reproductiva para ser enviadas a otros centros de cría.

Se mantendrá la reproducción limitada en una institución hasta que las condiciones de la propia institución favorezcan al programa de cría.

Línea de acción 4: Mientras las actividades de conservación *ex situ* se desarrollan, se propone como una cuarta línea de acción el postular al islote Locos de Pichidangui a una categoría de protección que asegure su estabilidad natural, esto sobre la base de que ese lugar alberga a una de las colonias del pingüino de Humboldt de la IV región. Además, este lugar es un sitio de nidificación y reproducción de muchas otras aves costeras.

Durante el desarrollo de las actividades del programa comunitario para la protección del pingüino de Humboldt y su ambiente, que se llevó acabo gracias a los fondos obtenidos por el Zoológico Nacional de Chile de la Asociación Mundial de Zoológicos y Acuarios, la totalidad de la comunidad de Pichiudangui esta de acuerdo con su protección dado sus atributos naturales y por el factor de identidad local. Es conocido que, a lo largo de gran parte de su distribución en Chile, el pingüino de Humboldt es percibido por el público general como una especie beneficiosa tanto para el ecosistema marino como para el ser humano (Simeone *et al*., 2018).

La gestión deberá ser propuesta al Ministerio de Bienes Nacionales y la administracíon debe estar a cardo de la Corporación Nacional Forestal. Bajo este marco, se podrá proteger y administrar de mejor manera los impactos actuales como la presencia de algunas especies invasoras (ratas y conejos) y perturbaciones de origen antrópico como el turismo no regulado y extracción de recursos (Simeone et al., 2018) y potenciales en el islote y asegurar con esto un sitio óptimo para los programas pilotos de reintroducción o suplemento de este programa.

Línea de acción 5: Programa de educación y difusión para la conservación del pingüino de Humboldt. Desde el punto de vista de la gestión, un programa de educación y difusión ayudará a la comprensión por parte de la comunidad sobre los objetivos de los programas de cría en cautiverio y sus propósitos.

Como es reconocida la capacidad que poseen las instituciones zoológicas de inspirar y educar a una gran diversidad de personas, se plantea que los programas educativos sean desarrollados en dos ambitos, uno dentro de las instituciones zoológicas parte del programa y otro con las comunidades locales para actividades in situ.

De esto se espera fomentar la participación ciudadana en la conservación de la biodiversidad, a traves de actividades bien dirigidas que puedan atraer el apoyo de las autoridades y demostrar el importante rol educativo que desempeñan estos programas de cría.

Los objetivos del programa educativo que acompañará la gestión serían: Identificar los principales grupos de partes interesadas de la comunidad que pueden contribuir a la conservación del pingüino de Humboldt y su medio ambiente; establecer acciones específicas para contribuir a la conservación del pingüino de Humboldt, a través de métodos participativos y crear un vínculo entre las comunidades locales y su entorno natural, especialmente con los pingüinos de Humboldt que viven allí, con el fin de promover cambios de actitud en la comunidad.

Adicionalmente la investigación y/o capacitación que beneficiará directamente a la conservación de la especie, o a especies similares, en la naturaleza (p.ej. métodos de monitorización, información del ciclo vital, necesidades nutricionales, transmisión/tratamiento de enfermedades).

Escenarios para las líneas de acción del programa de cría.

Actualmente el programa de crianza cuenta con un grupo estable, reproductivo y con buena calidad genética de pingüinos de Humboldt. Si las condiciones internas del programa y de la institución que lo sostiene no cambian, se podría proyectar la viabilidad del programa al largo plazo con el fin de cumplir con los objetivos definidos para esta iniciativa de conservación.

No obstante, existen escenarios a los cuales el programa se podría ver enfrentado, estos pueden ir desde asuntos operativos internos de la institución a las externalidades. En este sentido, identificarlos podrá ayudar a la toma de desiciones respecto a las acciones a tomar para mantener la actividad del programa.

Un posible problema es que el programa sea exitoso (buena producción y crianza existosa) en una insititución, pero que no existan suficientes instituciones participantes en la red colaborativa principalmente por cambios en las políticas de esas instituciones. Esto impedirá el flujo de individos o huevos entre ellas por lo que se podría ver afectado el programa en el mediano o largo plazo al no haber recambio genético.

Una alternativa de solución es limitar la reproducción de la insitución productora y al mismo tiempo fomentar la participación de nuevas instituciones a través de la disposición de grupos de pingüinos provenientes de las instituciones productoras para la exhibición en sus instalaciones y sin costos para la institución. Esto permitirá mejorar sus exhibiciones e ingresos con los cuales podrían financiar los costos de mantención de ese grupo. Además de incluir a la institución dentro de esta red colaborativa y con eso, poder optar a fuentes de financiamiento externos bajo el respaldo de la Asociación regional ALPZA para mantenerse en el programa.

Otra alternativa al escenario anterior, sería que la producción de nuevos individuos o huevos sea incluida dentro de planes de reintroducción o suplementos poblacionales. Esta alternativa se plantea como complementaria a los programas colaborativos y tiene el potencial de poner a prueba diferentes alternativas de introducción de nuevos individuos generados de forma *ex situ* a poblaciones silvestres.

Otro problema sería que, a pesar de contar con instituciones para formar esta red, éstas no posean la infraestructura, condiciones y capacidades necesarias para implementar los protocolos de crianza que en este documento se han establecido.

Otro caso sería la falta de éxito reproductivo en las instituciones de la red colaborativa. En este sentido cada programa debe identificar estrategias para ampliar la

viabilidad de sus poblaciones como, por ejemplo, ampliando los espacios de cría destinados a las especies, a veces fuera de sus recintos de exhibición. Pasar de programas regionales a programas internacionales, aumentar la intensidad del manejo reproductivo, mejorar las practicas de manejo e importar fundadores adicionales de la naturaleza o de otros programas regionales.

Para asegurar que los escenarios sean los más favorables para el programa, a las instituciones con interés en formar parte de estra red, se les aplicará un cuestionario que abarca las cinco áreas mas relevantes del manejo animal. Estas áreas son: requerimientos de recinto, alojamiento e instalaciones; registro e inventario de animales; manejos sanitarios; nutrición y reproducción. El objetivo es que las instituciones cuenten con los stándares mínimos para una buena mantención, grupos saludables, asegurando de esta manera el establecimiento de colonias reproductivas con buena calidad genética.

Por último, el control de la natalidad como medida de manejo de la actividad reproductiva, es una estrategia ampliamente utilizada en los programas de cría de las instituciones zoológicas cuando la capacidad de carga de los recintos, el bienestar animal o la calidad genética se vean comprometidas.

Al mismo tiempo, las gestiones no solamente implicaran las actividades desarrollada a nivel *ex situ*, sino que mientras las diferentes estrategias se implementan, se debe considerar las acciones necesarias para hacer frente a los efectos de las amenazas hacia las colonias naturales, principalmente si el escenario es la reintroducción de individuos al medio silvestre.

Para este escenario se podrá proponer un plan de manejo de la colonia que actualmente se encuentra bajo este programa (Islote Locos) cuyo objetivo sea controlar las potenciales amenazas y así contar con un ambiente óptimo para futuras reintroducciones. Si bien este plan de manejo escapa a los objetivos de esta tesis, se podría establecer como una línea de acción adicional para la gestión del programa de cría.

Si bien el programa de cría se ajustará a una estrategia de gestión basada en lineamientos de la IUCN (IUCN, 2014), también se considerarán aspectos de gestión desarrollados por la comunidad zoológica, cuya experiencia práctica es de alto valor para el desarrollo de estos programas

Consideraciones finales a la propuesta del diseño de gestión.

En cuanto a las características en el diseño de gestión, se deberá tener presente el número de fundadores (individuos no emparentados de origen silvestre) que serán necesarios para alcanzar las metas genéticas y demográficas de la población *ex situ*.

Esto puede implicar la utilización de los descendientes de los fundadores generados a nivel *ex situ* y/o el ingreso adicional de individuos del medio silvestre para renovar la genética, en este último caso siguiendo las consideraciones y los protocolos de colecta de este trabajo.

Por otra parte, el número de individuos que se mantendrán o producirse a nivel *ex situ* dependerá tanto de las capacidades insitucionales técnicas (por ejemplo, espacio) y del nivel de desarrollo de las alternativas de crinaza (CA) y (CN), de esta manera, la meta más próxima podría ser llegar la de introducir al medio silvestre individuos generados en el marco de este programa y determinar si existe viabilidad de los descendientes y con ello cuantificar el aporte a la conservación.

En cuanto a la duración necesaria del programa (en generaciones y en años), se deberán establecer al menos algunas metas o hitos que definan la trayectoria del programa; para lo cual las líneas de acción propuestas serán los marcos referenciales.

Finalmente, dado a que las instituciones zoológicas que formarán parte del plan de acción, poseen características diferentes en cuanto su organización, infraestructura y capacidades técnicas, esta propuesta de gestión ayudará a establecer ciertos criterios y recomendaciones para que el programa de cría pueda lograr sus metas en cualquier institución.

DISCUSIÓN

Las actividades desarrolladas en este trabajo permitieron generar los protocolos estandarizados de crianza artificial para el pingüino de Humboldt, que dieron como resultado los primeros individuos generados bajo estas estrategias en el Zoológico Nacional de Chile. Actualmente estos individuos poseen una descendencia exitosa que, bajo el diseño de gestión propuesto, lo establece como una herramienta efectiva de conservación *ex situ*.

El diseño de gestión basado en un modelo colaborativo, permitirá que estas pequeñas poblaciones distribuidas en distintas instituciones funcionen como una gran población en donde la representatividad genética de la especie sea uno de los objetivos principales. Lo relevante de estos programas colaborativos es que los zoológicos tienen el potencial de ser centros expertos de manejo de pequeñas poblaciones por lo que deben involucrarse en programas de crianza globales o regionales (Leizagoyen, 2005).

El Zoológico Nacional de Chile dentro de sus políticas en materias de conservación, y al igual que zoológicos europeos y norteamericanos, es que las descendencias de los programas colaborativos de cría deben ser usadas para reforzar poblaciones silvestres, especialmente aquellas especies que sin intervención de manejo podrían extinguirse (Black 1995, Black *et al.,* 1997, Jones y Swinnerton 1997, Safford y Jones 1998, Garnet y Crowley 2000, Swinnerton 2001). Por otra parte, este programa de cría significó un cierto grado de especialización sobre la especie, lo que es particularmente importante ya que la especialización aumenta el éxito de los programas de cría (Conway, 2010).

En relación al manejo bajo condiciones de cautiverio del pingüino de Humboldt, existe una variada fuente de información (Crissey y McGill, 1994; Ellis y Branch 1994; Beall y Branch, 2005; Henry & Sirpenski, 2005 y AZA, 2014), con fines de exhibición en colecciones zoológicas, en algunos de ellos especificando los riesgos inherentes al trabajo con grupos pequeños de individuos (Onely y Ellis, 1998; Blay y Côte, 2001). Este documento, sin embargo, ha sido desarrollado con el objetivo de crear una herramienta de conservación integral que abarca desde la generación de protocolos de colecta de huevos silvestres, incubación y crianza de polluelos que pueden ser utilizados, por ejemplo, en caso de rescate ante emergencias ambientales, para actividades de reintroducción o bien para sostener poblaciones de salvaguarda, según sea el modelo de gestión para lo que se necesite emplear.

Experiencias respecto a emergencias ambientales se pueden obtener de The Southern African Foundation for the Conservation of Coastal Birds (SANCCOB), donde por ejemplo en noviembre del 2006, 700 pollos abandonados de pinguinos africanos (*Spheniscus demersus*) fueron ingresados al centro de rescate para su crianza, que sin intervención hubieran muerto (Barham *et al*., 2008).

Para el pingüino de Humboldt también se ha descrito abanono de polluelos y deserción de nidos especificamente en la estación de otoño e invierno Simeone *et al*., (2002). Por tal motivo fue necesaria la creación de un protoclo de colecta para este trabajo. Existen pocas experiencias de colecta de huevos silvestres, una de ellas realizadas por (Todd, 1987) para pingüinos antáricos.

El protocolo de colecta de huevos se desarrolló en 12 pasos, de ellos los más relevantes se relacionaron a la manipulación, traslado y control de los parámetros físicos (temperatura y humedad). En los puntos (i y ii) de este protocolo se especifica que, para los fines de este programa, se debe realizar la colecta de huevos en las estaciones donde ocurre una mayor pérdida natural y de esta manera reducir las perturbaciones que puedan afectar la actividad reproductiva de las colonias intervenidas.

Una de las recomendaciones del Grupo Asesor del Taxón de Pingüinos de la AZA (2014), señalan que, en situaciones controladas, los huevos deben ser transportados en el último tercio de su período de incubación o justo antes del momento de la eclosión. Para el caso de las especies que ponen dos huevos, es mejor transportar después de la segunda postura, ya que la incubación de los huevos no comienza hasta que las posturas estén completas que es cuando los huevos pueden soportar cambios de temperatura. Sin embargo, en este trabajo no hubo certeza del tiempo de incubación de los huevos colectados debido a que la colecta fue sobre las posturas abandonadas existentes de esa estación.

Respecto a utilizar la crianza artificial como estrategia para reforzar poblaciones de aves bajo amenaza, es una práctica ampliamente utilizada (Jones y Merton, 2012). Esta aproximación ha sido empleada con éxito en combinación con la translocación en la conservación de al menos 11 especies de aves en el mundo (Miskelly *et al*., 2009; Jones y Kress, 2012). Sin embargo, los esfuerzos en la restauración o los reforzamientos poblaciones en pingüinos son escasos (Jones & Kress, 2012), a pesar de eso la familia Spheniscidae puede presentar buenos candidatos.

Todos los miembros de esta familia se independizan una vez que los polluelos han cambiado su plumaje, generalmente poseen bajos niveles de asistencia parental después

de la etapa de guardería, y pueden ser fácilmente alimentados a mano (Gummer, 2003). Por ejemplo, en la crianza artificial del pingüino africano (*Spheniscus demersus*) los polluelos criados a mano invariablemente son liberados en excelentes condiciones por encima del promedio de la masa de los ya emplumados, y además muestran una amplia experiencia al nado en las primeras visitas al mar (Barham *et al*., 2008). Estos resultados confirmaron los hallazgos de Whittington (2002), de polluelos de pingüinos africanos criados a mano tenían una razonable sobrevivencia en estado silvestre.

Si bien Miskelly y Taylor, (2004) indican que una prolongada alimentación a mano puede reducir el éxito de la muda en algunas aves. En este programa los procesos de crianza artificial no afectaron el desarrollo normal del polluelo y a su muda, presentando una buena adaptación a las condiciones de cautiverio, evidenciando además exito reproductivo en sus etapas adultas y con viabilidad de su descendencia. Estos rasgos pueden favorecer el manejo de los miembros de este género (Spheniscus) a las condiciones de cautiverio.

A pesar de que las evidencias muestran que la crianza natural puede ser una estrategia que desde el punto de vista biológico entrega mayores beneficios que la crianza artificial, también lo es desde el punto de vista logístico y económico, puesto que se utilizan menos recursos e inversión de personal para su funcionamiento. Sin embargo, desde una visión integrada de conservación ambas estrategias deben ser complementarias. En este sentido, en este trabajo se dan a conocer y a entender los principales procesos y factores que pueden determinar el éxito en ambas estrategias de crianza.

Para el desarrollo de los protocolos fue necesario realizar algunos ajustes para su implementación. En general, las etapas de incubación y los procesos de alimentación asistida requirieron los mayores ajustes debido a que en estas etapas donde se presentaron las pérdidas (muertes) de individuos (figura 8). No obstante, se ha descrito una alta tasa de mortalidad dentro de los primeros 20 días después de la eclosión, no sólo en pingüinos de Humboldt, sino también en otras especies de pingüinos como *Eudyptula minor* (Scribano y Banks, 1978) y en otros reportes sobre la crianza de pingüinos (Manton, 1978; Scribano y Banks, 1978; Van Bocxstaele, 1978; Wiliams y Golding, 1987), algunos de ellos asociados omphalitis (infección al saco vitelino).

Especificamente para la incubación artificial, la temperatura y humedad son determinantes en el calentamiento y evaporación de agua de los huevos (AZA, 2014). El

aire seco es un mal conductor de calor y, por tanto, es necesario aumentar la humedad a fin de lograr la temperatura óptima para los huevos (North & Bell, 2000).

En este trabajo se constató al menos un caso en que la yema no fue absorbida adecuadamente y la apertura umbilical no selló correctamente. Esto pudo haber tenido su origen en tres causas: un brusco aumento de la temperatura durante el proceso de incubación; que el pollo se encuentre edematoso (lleno de líquido); o bien como resultado de una inapropiada asistencia durante la eclosión (Harrison y Foot, 2006).

Por otra parte, la rotación de los huevos dentro de las incubadoras fue otro factor que requirió ajuste. La importancia de la rotación durante el proceso de incubación artificial radica en que los huevos de pingüinos de Humboldt presentan una gran cantidad de albúmen (Deeming *et al*., 1991), lo que una incorrecta rutina de rotación impedirá el desarrollo equilibrado del área vascular, así como una deshidratación normal del huevo (Jordan, 1989). Durante los primeros ensayos de este trabajo, en al menos dos casos se observaron embriones adheridos a la membrana del cascarón y con restos de albumen, que respondería a fallas en la rutina de rotación (AZA, 2014). Por lo general, los embriones que alcanzan la etapa final de desarrollo pero que no eclosionan, poseen grandes cantidades de residuos de albumen, lo que son signos característicos de un problema de giro durante la incubación (Tullett & Deeming, 1987; Deeming, 1989a).

Los huevos con grandes cantidades de albumen, como el caso de las especies altriciales (Carey *et al*., 1980), necesitan patrones distintos de rotación que las aves precociales que poseen gran cantidad de yema (Deeming, 1989b, 1991). Por tal motivo, en este programa las rutinas de rotación automáticas (programadas) de las incubadoras que se utilizaron fueron reemplazadas por rutinas manuales de volteo de los huevos, lo cual aseguró mejores resultados.

El desarrollo del protocolo de alimentación nos evidenció que es importante no alimentar según la demanda del polluelo y es mejor restringirse a la capacidad del mismo. Muchos de los problemas encontrados con la crianza manual parecen estar asociados con la sobrealimentación (Deeming *et al*., 1991). La consistencia de la dieta en los primeros días también fue crucial, los ensayos nos arrojaron que un alimento demasiado líquido puede hacer que el polluelo se hinche, lo que resulta en apatía al alimento, regurgitación y pérdida de apetito. En general, las especies del género Spheniscus criadas artificialmente no llegan fácilmente a los 1000 grs de peso o los 30 días de edad, y puede estar acompañado por una resistencia a consumir alimento, este comportamiento

puede ser normal y se correlaciona a cuando los polluelos empiezan a investigar fuera de la madriguera (AZA, 2014).

La ventilación fue otro de los aspectos a considerar para llevar a cabo un buen proceso de cría. En base a la experiencia y lo descrito en literatura, es que se debe considerar una buena ventilación evitando corrientes de aire con suciedad. Una ventilación deficiente genera una mala calidad del aire (niveles de amoniaco elevados), así como el calor excesivo pueden generar problemas respiratorios que pueden restringir su crecimiento (Scribano y Banks, 1978) y, en nuestra experiencia, esto puede conducir a la muerte en casos extremos.

Uno de los problemas ampliamente reportados y asociados a la mala ventilación, es la aspergilosis (Sherley *et al*., 2014). Esta enfermedad infecciosa es causada por el hongo Aspergillus, el cual es ubicuo en el ambiente y que en general se encuentra en áreas interiores o recintos cerrados. Para el caso de este trabajo, esta situación fue controlada con buenos sistemas de venitación y manejos bioseguros.

A pesar de las fallas registradas en las primeras pruebas de crianza de este programa, los buenos resultados posteriores indican que los ajustes realizados a los protocolos de colecta, incubación y crianza artificial fueron los apropiados y por tanto implementados con éxito.

Para la implementación de la crianza natural, lo más determinante fue promover la “adopción” de los huevos colectados por parte de padres sustitutos. Las disposición de nidos artificiales, así como el número de individuos que conformaban la colonia promovieron la formación de parejas, ya que la reproducción de esta especie es facilitada socialmente (Berger, 1981; Setiawan *et al*., 2007).

El cuidado de los huevos padres sustitutos, es una opción utilizada por muchas instalaciones para maximizar la capacidad de supervivencia del polluelo y reducir la necesidad de criar directamente con asistencia humana. Estao también puede también ser utilizado para dar a las parejas más jóvenes o menos experimentadas, o incluso parejas del mismo sexo, una oportunidad para criar un polluelo.

Considerando lo anterior, un hallazgo relevante fue la identificación de parejas del mismo sexo (macho-macho) dentro del grupo de padres sustitutos, éstos al igual que las parejas heterosexuales criaron y cuidaron de manera efectiva a sus polluelos. Existen registros previos respecto a la formación de parejas del mismo sexo en el Zoológico Nacional de Chile, pero cuyos datos no han sido publicados.

Este tipo de conductas han sido documentadas para al menos 130 especies de aves (Bagemihl, 1999), en donde pocas adoptan las conductas homosexuales como una rutina base, pero existen algunas excepciones (McFarlane *et al*., 2010). Estas conductas pueden aparecer como resultado de las interacciones individuales asociadas con la dinámica del sesgo reproductivo, los efectos de la disponibilidad sexual en contextos sociales específicos y las interacciones socio sexuales que, en las aves, parecen ser más una manifestación de dominancia frente a conflictos que relaciones afines (Poiani, 2008).

Varios son los reportes de formación de parejas del mismo sexo en pingüinos en cautiverio, no obstante, no ha sido bien abordado ni estudiado. A estas conductas se les han descrito como Same-sex Sexual Behavior (SSB) (Bailey y Zuk, 2009; Talburt & Matus 2012; Bailey *et al*., 2016). Estas conductas también se han visto en pingüinos de magallanes, papúa, pequeño azul, rey, de penacho amarillo, penacho anaranjado, y africanos (AZA, 2014).

Independientemente del potencial adaptativo de estas conductas, los patrones sugieren que el comportamiento homosexual como fenómeno en las aves es más probable que ocurra cuando los individuos compensan la inversión de tiempo parental por la oportunidad de apareamiento (McFarlane *et al*., 2010). Finalmente, este hallazgo no representó ningún obstáculo para el programa, más bien resultó ser una herramienta efectiva de manejo para la crianza.

Si bien los programas colaborativos representan un desafío y han recibido críticas debido a problemas como por ejemplo el riesgo de hibridación, los altos costos y el desvío de recursos fuera de la protección del hábitat (Rahbek, 1993; Bowkett, 2009), la gestión basada en ellos constituyen la única opción para poblaciones o grupos pequeños de individuos de una especie, y son efectivos para evitar su extinción hasta lograr restaurar el hábitat apropiado (Conway, 2010; Conde *et al*., 2011).

Para el caso de este trabajo, a nivel nacional existe solo una institución además del Zoológico Nacional con una población de pingüinos de Humboldt para integrar el programa colaborativo. Por lo tanto, para promover la participación de las instituciones se plantea que la coordinación de esta red debiera estar centradar en el Comité de Manejo Cooperativo de Especies (CMCE) de la Asociación Latinoamericana de Zoológicos y Acuarios (ALPZA).

Un ejemplo de lo anterior, es que el año 2010 se comenzó un programa colaborativo para el manejo de poblaciones de pingüinos de Humboldt en cautiverio entre (ALPZA) y la asociación europea de zoológicos (EAZA) (Cubillos *et al*., 2010). A través de

este programa se establecieron las redes necesarias con las instituciones latinoamericanas para proyectar el actual programa de cría que este trabajo expone.

Las redes colaborativas de zoológicos pueden tener diferentes alcances en conservación, pero es claro que poseen conocimiento suficiente sobre manejo animal con los que pueden desarrollar los programas colaborativos de cría (Ryder y Feistner, 1995). Además que colectivamente conforman el tercer mayor apoyo financiero para la conservación de especies en sus hábitats naturales después de The Nature Conservancy y la red World Wildlife Fund (Gusset y Dick, 2010), proporcionando US $ 350 millones / año, al tiempo que participan activamente en muchos de esos proyectos.

Trabajar bajo un marco colaborativo de cría, puede actualmente ser la alternativa para enfrentar las actuales tendencias poblacionales del pingüino de Humboldt, que de acuerdo a los valores registrados en un censo nacional se consideran en general bajos comparados a estudios anteriores (Simeone *et al.,* 2018). A pesar que las causas de estas bajas no están claras podrían atribuirse a algunas amenazas identificadas que coinciden con aquellas reportadas para la especie (BirdLife International 2017).

Los resultados del presente trabajo constituyen una herramienta de conservación integrada efectiva que no debiera implementarse cuando las especies han alcanzado números dramáticamente bajos, en cuyo punto sus posibilidades de éxito son menores (Conde *et al.,* 2011).

Aunque individualmente los zoológicos pueden no tener grandes poblaciones de una especie particular, colectivamente, los zoológicos tienen poblaciones altamente amenazadas (Conde *et a*l., 2011) y que como red global deben esforzarse por garantizar que sus poblaciones puedan sobrevivir a largo plazo.

Finalmente, los programas de cría elaborados por zoológicos constituyen una herramienta más para ayudar a la conservación de la biodiversidad. Las poblaciones de pingüinos de Humboldt bajo cuidado humano surgen como una fuente de recursos, tanto biológicos como educativos, además de ser promotores de recursos para actividades que contemplen la conservación *ex situ* e *in situ,* tanto desde la dimencisón humana como para la protección y cuidado de nuestro patrimonio natural.

CONCLUSIONES

El desarrollo de los protocolos estandarizados para el manejo del pingüino de Humboldt en condiciones de cautiverio, fue determinante para llevar a cabo el primer programa de cría para esta especie desarrollado en Chile. Los buenos resultados obtenidos permitirán además contar con un grupo estable y reproductivo de esta especie que potencialmente podrán funcionar como poblaciones de salvaguarda o bien las futuras generaciones de individuos del actual programa de cría podrán formar parte de programas de sumplemento poblacional o reintroducción.

En este sentido, una de las contribuciones de este trabajo a la conservación de esta especie, es dar a conocer y a entender los principales procesos y factores que pueden determinar el éxito de las estrategias de crianza artificial y natural, las que podrían ser implementadas en conjunto, y así maximizar los esfuerzos y recursos para este tipo de programas de conservación.

A pesar de las fallas registradas en las primeras pruebas de crianza, los buenos resultados posteriores indican que los ajustes realizados a los protocolos de colecta, incubación y crianza artificial fueron los necesarios y aseguraron el éxito de las crianzas posteriores .

Una recomendación que surge a partir de los resultados de este trabajo, es que, si las condiciones para desarrollar la crianza artificial no son posibles, la alternativa de la crianza natural a través de la mantención de parejas estables resultaría un complemento óptimo para los objetivos del programa de cría.

Por último, el diseño de gestión propuesto basado en un modelo colaboratvio entre las diferentes instituciones que formen parte del programa de cría, sumado a los protocolos de manejo constituyen en su conjunto una herramienta de conservación integrada efectiva, que debido al status actual de esta especie cobra aún mayor relevancia.

FINANCIAMIENTO

Este trabajo cuenta con el financiamiento del Parque Metropolitano de Santiago, Shimonoseki Science Marine Museum (Japón), Penguin Conference Japan (PCJ), la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA), quien a través de su programa de voluntariados internacionales facilitó la estadía de un voluntario japonés especialista en procesos de crianza artificial de pingüinos de Humboldt durante el perído 2011-2013.

BIBLIOGRAFÍA

ABÁIGAR, T. 2002. Conservación y manejo de una especie amenazada en cautividad: *Gazella dorcas neglecta*, registro internacional Volumen 8 de Biblioteca de Ciencias Editorial CSIC - CSIC Press.

ALPZA. 2016. "Taller de Planificación Estratégica ALPZA-CBSG para la Conservación Integrada" Buenos Aires del 29 al 31 de mayo de 2015.

ARAYA, B. y TODD, F. 1987. Status on the Humboldt Penguin in Chile following the 1982-83 El Niño. Proceedings of the Jean Delacour/IFCB Symposium on breeding birds in captivity, Los Angeles, CA. pp. 148–157.

ARAYA, B., GARLAND, D., ESPINOZA, G., SANHUEZA, A., SIMEONE, A., TEARE, A., ZAVALAGA, C., LACY, R. y ELLIS, S. (eds). 2000. Taller de análisis de la viabilidad del hábitat y de la población del pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*). Informe final, IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group, Apple Valley.

AVILÉS, R. 2008. Conservación *ex situ*. En Biodiversidad de Chile, Patrimonios y Desafíos, CONAMA. Ocho Libros Editores (p. 562). (Santiago de Chile). 640pp.

AZA. 2014. Manual sobre cuidado de pingüinos (Spheniscidae). Grupo Asesor Taxón de Pingüinos de la Silver Spring, MD: Asociación de Zoológicos y Acuarios-USA.

BAILEY, N.W. y ZUK, M. 2009. Same-sex sexual behavior and evolution. Trends in Ecology & Evolution, 24, 439-446.

BAILEY, J. M., VASEY, P. L., DIAMOND, L. M., BREEDLOVE, S. M., VILAIN, E., y EPPRECHT, M. 2016. Sexual Orientation, Controversy, and Science. *Psychological Science in the Public Interest*, *17*(2), 45–101. https://doi.org/10.1177/1529100616637616

BAGEMIHL B. 1999. Biological exuberance. Animal homosexuality and natural diversity. London: Profile Books.

BALMFORD A. 2000. Priorities for captive breeding - which mammals should board the ark? In: Entwistle A, Dunstone N, editors. Priorities for the conservation of mammalian diversity: Has the Panda had its day? Cambridge: Cambridge University Press; p 291-307.

BALMFORD, A., KROSHKO, J., LEADER-WILLIAMS, N. y MASON, G. 2011. Zoos and Captive Breeding. Science. 3:1149-50.

BARBOSA, A., y ESPESO, G. 2005. International Studbook Gazella dama mhorr. Biblioteca de Ciencias. Consejo Superior de Investigaciones Cientificas.

BARHAM, P.J., UNDERHILL, L.G., CRAWFORD, R.J.M., ALTWEGG, R., LESHORO, M.T. 2007. Differences in breeding success between African penguins (*Spheniscus demersus*) that were not oiled in the MV Treasure oil-spill in 2000. Emu 107: 7-13.

BARHAM, P.J., UNDERHILL, L.G., CRAWFORD, R.J.M., ALTWEGG, R., LESHORO, M.T. 2008. The efficacy of hand – rearing penguin chicks: evidence from African Penguins (*Spheniscus demersus*) orphaned in the Treasure oil spill in 2000. Bird conserv Int 18: 144-152.

BEALL, F., y BRANCH, S. 2005. Housing and Enclosure Requirements. Penguin Husbandry Manual (3rd ed.). American Zoo and Aquarium Association.

BECK, B.B., RAPAPORT, L.G., PRICE, M.S. y WILSON, A. 1994. Reintroduction of captive born animals. In: Olney PJS, Mace GM, Feistner ATC, editors. Creative conservation: Interactive management of wild and captive animals. London: Chapman and Hall; p 265-84.

BELLARD, C., BERTELSMEIER, C., LEADLEY, P., THUILLER, W. y COURCHAMP, F. 2012. Impacts of climate change on the future of biodiversity. Ecology Letters 15: 365–377.

BERGER, J. 1981. A model for the evolution of mixed-species colonies of Ciconiiformes. The Quarterly Review of Biology, 56, 143-167.

BIRDLIFE INTERNATIONAL (2020) Species factsheet: *Spheniscus humboldti*. Downloaded from http://www.birdlife.org on 19/08/2020.

BLACK, J. M. 1995. The Nene *Branta sandvicensis* recovery initiative: research against extinction. Ibis 137 (Suppl. 1): S153–S160.

BLACK, J. M., MARSHALL, A. P., GILBURN, A., SANTOS, N., HOSHIDE, H., MEDEIROS, J., MELLO, J., NATIVIDAD HODGES, C. y KATAHIRA, L. 1997. Survival, movements, and breeding of released Hawaiian Geese: an assessment of the reintroduction program. J. Wild. Manage. 61: 1161–1173.

BLAY, N., y CÔTE, M.I. 2001. Optimal conditions for breeding of captive Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*): A survey of British Zoos. Zoo Biology 20:545-555.

BOWKETT, A.E. 2009. Recent captive-breeding proposals and the return of the ark concept to global species conservation. Conservation Biology 23: 773–776.

BOYD C., M. THOMAS, BROOKS, STUART H. M. BUTCHART, GRAHAM J. EDGAR, GUSTAVO A. B. DA FONSECA, F. HAWKINS, M. HOFFMANN, W. SECHREST, SIMON N. STUART y PETER PAUL VAN DIJK. 2008. Spatial scale and the conservation of threatened species. Conservation Letters 1:37–43 © Blackwell Publishing, Inc.

BRADSHAW, G. A. y BORCHERS, J. G. 2000. Uncertainty as information: narrowing the science-policy gap. Conservation Ecology 4(1): 7. [online] URL: http://www.consecol.org/vol4/iss1/art7.

BRAMBELL, M.R. 1977. Reintroduction. International Zoo Yearbook. 17:112-6.

BROOKE, M.L., T.C., O'CONNELL, D. WINGATE, J. MADEIROS, G.M. HILTON, N. RATCLIFFE. 2010. Potential for rat predation to cause decline of the globally threatened

Henderson petrel *Pterodroma atrata*: evidence from the field, stable isotopes and population model- ling. Endang Species Res 11:47–59.

BROOK, B.W., SODHI, N.S., y BRADSHAW, C.J.A. 2008. Synergies among extinction drivers under global change. Trends in Ecology and Evolution 23: 453–460.

BYERS O., C. LEES, J. WILCKEN, y SCHWITZER. 2013. The one approach: The philosophy and Implementation of CBSG's Approach to integrated species conservation Planning. En: Towards integrated species conservation, WAZA magazine. Vol 14 (p.2). 45pp.

BUTYNSK, I.T. 1994. How the smaller zoos can contribute to in situ conservation in Africa: The Zoo Atlanta approach. AZA American Zoo and Aquarium Association annual conference proceedings 1994.Wheeling, WV. American Zoo and Aquarium Association. Pp. 61-66.

BUTCHART, S.H.M., WALPOLE, M., COLLEN, B., VAN STRIEN, A. y SCHARLEMANN, J.P.W. 2010. Global biodiversity: indicators of recent declines. Science 328: 1164– 1168.

BUSTAMANTE, J., ALLÉS, A. y ESPADAS, M. 2002. Guía de incubación. En: Información técnica. Centro de Capacitación y Experiencias Agrarias de Mahón (Menorca).No 35. pp. 1-15.

CAREY, C., RAHN, H. y PARISI, P. 1980. Calories, water, lipid and yolk in avian eggs. Condor 82:335-343.

CHENEY, C. 1998. The current situation of the Humboldt Penguin in Chile and Peru: a report from the Population and Habitat Viability Analysis meeting, part 1. Penguin Conservation 11: 4-9.

CHIVERS. D.J. 1991. Guidelines for re-introductions: procedures and problems. In: Gipps JHW, editor. Beyond captive breeding: re-introducing endangered mammals to the wild. Symposia, Zoological Society of London 62. Oxford. Clarendon Press; p 89-99.

COLLEN, B., LOH, J., WHITMEE, S., MCRAE, L., AMIN. R. 2009. Monitoring change in vertebrate abundance: The Living Planet Index. Conservation Biology 23: 317–327.

CONAMA. 1993. Propuesta de Plan Nacional para la Biodiversidad en Chile. Santiago.

CONDE D.A., FLESNESS, N., COLCHERO, F., JONES, O.R. y SCHEUERLEIN, A. 2011. An emerging role of zoos to conserve biodiversity. Science 331: 1390–1391.

CONDE, D.A., COLCHERO, F., GUSSET, M., PEARCE-KELLY, P., BYERS, O., *et al.* 2013. Zoos through the Lens of the IUCN Red List: A Global Metapopulation Approach to Support Conservation Breeding Programs. PLoS ONE 8(12): e80311. Doi: 10.1371/journal.pone.0080311.

CONWAY, W. 1999. The changing role of zoos in the 21st century. Keystone for the Annual Conference of the World Zoo Organization. Pretoria, South Africa, 18 October 1999.

CONWAY, W.G. 2010. Buying time for wild animals with zoos. Zoo Biology 30: 1– 8.

CONWAY, W.G. 2011. Buying Time for Wild Animals with Zoos. Zoo Biology 30: 1–8.

CRISSEY, S. y MCGILL, P. 1994. Diet and Nutrition. In: Penguin Husbandry Manual. American Association of Zoos and Aquariums.

CULIK, B.M., HENNICKE, J.C. y MARTIN. T. 2000. Humboldt Penguins outmanoeuvring El Niño. The Journal of Experimental Biology 203: 2311-2322.

CUBILLOS G., BUENO M., DE WITT P. 2010. Penguin Power: the creation of a captive population of Humboldt penguins in South America reveals the success that cooperative program between EAZA and ALPZA can achieve. Zooquaria Issue. Quarterly Publications of European Association of Zoo and Aquaria. N° (71) autum 2010.

DEEMING, D.C. 1989a. Characteristics of unturned eggs: a critical period, retarded embryonic growth and por albumen utilization. Brit. Pult. Sci. 18:231-238.

DEEMING, D.C. 1989b. An investigation into the physiological basis of egg turning during incubation in birds. Unpublished PhD thesis. University of Reading.

DEEMING, D.C., HARVEY, R.L., HARVEY, L., CAREY, S. y LEUCHARS, D. 1991. Artificial incubation and hand rearing of Humboldt penguins. Int. Zoo Yb. 30:165-173.

DEEMING, D.C. 1991. Reasons for the dichotomy in the need for egg turning during incubation in birds and reptiles. In Egg incubation: its effect on embryonic development in birds and reptiles.

DEEMING, D.C. 1997. Ratite egg incubation; A practical guide. Pages 23–24, 60–61. in: Ratite Conference. High Wycombe, Buckinghamshire, UK.

DOVE, T. y BYRNE, J. 2014. Do zoo visitors need zoology knowledge to understand conservation messages? An exploration of the public understanding of animal biology and of the conservation of biodiversity in a zoo setting. International Journal of Science Education, Part B: Communication and Public Engagement 4: in press. DOI:10.1080/21548455.2013.822120.

ELLIS-JOSEPH, S. 1990. Patterns of incubation behavior in captive housed Adelia penguins: implications for long-term penguin breeding programs. American Association of Zoological Parks and Aquariums Regional Conference Proceedings, 115-120.

ELLIS, S., y BRANCH, S. (Eds.). 1994. Penguin Husbandry Manual (1st Ed.). Bethesda, MD: American Zoo and Aquarium Association.

ELLIS, S., CROXALL, J.P. y COOPER, J. (Eds). 1998. Penguin Conservation and Assessment Plan. Apple Valley: IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group.

ESSON, M., y MOSS. A. 2013. The risk of delivering disturbing messages to zoo family audiences. Journal of Environmental Education 44:79–96.

ESTADES, C. 2008. Investigación para la conservación de la Biodiversidad. En: CONAMA, 2008. Biodiversidad de Chile, Patrimonio y Desafíos, Ocho Libros Editores (Santiago de Chile), 640 pp.

FA, J.E., FUNK, S.M. y O'CONNELL, D. 2011. Zoo Conservation Biology. Cambridge: Cambridge University Press.

FRANKHAM, R., 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. Molecular Ecology 17, 325–333.

FRANKHAM, R., BALLOU, J.D., BRISCOE, D.A., 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

GARNETT, S. T. y CROWLEY, G. M. 2000. The action plan for Australian birds 2000. Canberra: Environment Australia.

GASCON, C., COLLINS, J. P., MOORE, R. D., CHURCH, D. R., MCKAY, J. E. y MENDELSON J. R. 2007. Amphibian Conservation Action Plan. IUCN/SSC Amphibian Specialist Group III (Eds). Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 64pp.

GIPPOLOTI, S. 2012. *Ex situ* conservation program in European zoological gardens: Can we afford to lose them? Biodiversity and Conservation. 21(6):1359-64.

GONZÁLEZ, G. 2004. Colecciones zoológicas y cría en cautiverio. EN Cría en Cautividad de Fauna Chilena, IRIARTE, A., TALA, C., GONZÁLEZ, B., ZAPATA, B., GONZÁLEZ, G. y MAINO, M. (Eds). Libro resumen del Seminario Internacional sobre Cría en Cautividad de Fauna Chilena, Santiago noviembre 2011.470 pgs.

GRIFFITHS, R.A. y PAVAJEAU, L. 2008. Captive Breeding, Reintroduction, and the Conservation of Amphibians. Conservation Biology, Volume 22, No. 4, 852–861. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2008.00967. x.

GUMMER H. 2003. Chick translocation as a method of establishing new surface-nesting seabird colonies: a review. DOC Science Internal Series 150. Department of Conservation, Wellington.

GUSSET, M. y DICK, G. 2010. 'Building a future for wild- life'? Evaluating the contribution of the world zoo and aquarium community to in situ conservation. Int. Zoo Yearbook 44, 183–191.

GUSSET, M. y DICK, G. 2011. The global reach of zoos and aquariums in visitor numbers and conservation expenditures. *Zoo Biol*. 30(5):566-569. doi:10.1002/zoo.20369.

HAYS, C. 1984. The Humboldt penguin in Peru. Oryx 18: 92–95.

HENRY, L., y SIRPENSKI, G. 2005. Reproduction. Penguin Husbandry Manual (3rd ed.). American Zoo and Aquarium Association.

HILTON, G.M. y CUTHBERT, R.J. 2010. The catastrophic impact of invasive mammalian predators on birds of the UK overseas territories: a review and synthesis. Ibis 152:443–458.

HIRIART-BERTRAND, L., SIMEONE, A., REYES-ARRIAGADA, R., RIQUELME, V., PÜTZ, K. & LÜTHI, B. 2010. Description of a mixed-species colony of Humboldt (*Spheniscus humboldti*) and Magellanic Penguin (*S. magellanicus*) at Metalqui Island, Chiloe, southern Chile. Boletín Chileno de Ornitología 16: 42–47.

HOFFMAN, M., HILTON-TAYLOR, C., ANGULO, A. *et al*. 2010. The Impact of Conservation on the Status of the World's Vertebrates Science 330, 1503 2010; doi: 10.1126/science.1194442.

IRIARTE, A. 1994. Conservación y uso sustentable de fauna silvestre en Chile. En: Seminario Medio Ambiente, Biodiversidad y Actividades Productivas. 14 y 15 junio, 1994. Edificio Diego Portales, Santiago.

IRIARTE, J., LOBOS, G.y JAKSIC. F. 2005. Invasive vertebrate species in Chile and their control and monitoring by governmental agencies. Revista Chilena de Historia Natural 78:143-154.

ICSU. 2010. Biodiversity knowledge, research scope and priority areas: An assessment for Latin America and the Caribbean. ICSU, Regional Office, Rio de Janeiro, Brazil.

IUDZ/CBSG (IUCN/SSC). 1993. The World Zoo Conservation Strategy; The rol of zos and aquaria of the world in global conservation. IUDZG. USA. 120pp

IUCN. 1998. Guidelines for Re-introductions. IUCN/SSC Re-introduction Specialist Group, IUCN, Gland, Switzerland, and Cambridge, United Kingdom.

IUCN (2003). An Assessment of progress 2002: The IUCN Programme. IUCN, Gland Switzerland and Cambridge, UK. 64 pp. ISBN 2-8317-0704-8.

IUCN/SSC 2014. Guidelines on the Use of Ex Situ Management for Species Conservation. Version 2.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission.

JARVIS, M.J.F., KEFFEN, R.H. y C. JARVIS. 1985. Some physical requirements for ostrich egg incubation. Ostrich 56:42–51.

JONES, C. G. y SWINNERTON, K. J. 1997. A summary of the conservation status and research for the Mauritius Kestrel (*Falco punctatus*), Pink Pigeon (*Columba mayeri*) and Echo Parakeet (*Psittacula eques*). Dodo (J. Jersey Wildl. Preserv. Trust) 33: 72–75.

JONES, H.P., WILLIAMHENRY, R. HOWALD, G.R., TERSHY, B.R. y. CROLL, D.A 2005. Predation of artificial Xantus's murrelet (*Synthliboramphus hypoleucus scrippsi*) nests before and after black rat (*Rattus rattus*) eradication. Environ Conserv 32:320–325.

JONES H.P., TERSHY, B.R., ZAVALETA, E.S., CROLL, D.A., KEITT, B.S., FINKELSTEIN, M.E. y HOWALD, G.R. 2008. Severity of the effects of invasive rats on seabirds: a global review. Conserv Biol 22:16–26.

JONES, H.P. 2010. Seabird islands take mere decades to recover following rat eradication. Ecol Appl 20:2075–2080.

JONES, H.P. y KRESS, S.W. 2012. A review of the world's active seabird restoration projects. J. Wild Manage 76: 2-9.

JONES, C.G. y MERTON, D.V. 2012. A tale of two islands: the rescue and recovery of endemic birds in New Zeeland and Mauritius. In: Ewen J., Armstrong, D., Parker, K., Seddon, P: Editors. Reintroduction Biology: Integrating Science and Management. Chichester, UK: Wiley-Blackwell. 33-72.

JORDAN, R. 1989. Parrot incubation procedures. Ontario, Canada: Silvio Mattacchione and Co.

KLEINMAN, D.G. 1986. Reintroduction of captive mammals for conservation. Bioscience. 39:152-60.

LEIZAGOYEN, C. 2005. Conservación "*ex situ*": los zoológicos y la genética de la conservación. Agrociencia. (2005) Vol. IX N° 1 y N° 2 pg. 597 – 602.

MACE, G., BAILLIE, J. BEISSINGER, S. y REDFORD, K. 2001. Assessment and Management of Species at Risk. En: Soulé M. & G. Orians (eds) Conservation Biology: research priorities for the next decade. Island Press, Washington D.C. pp 11-15.

MACFARLANE, R., BLOMBERG, S. y VASEY, P. 2010. Homosexual behavior in birds: frequency of expression is related to parental care disparity between the sexes. Animal Behavior 89: 375-390.

MANTON, V.J.A. 1978. Hand-rearing Humboldt`s penguin *Spheniscus humboldti* at Whipsnade Park. Int Zoo Yb. 18:59-61.

MARTIN, J.L., THIBAULT, J.C. y BRETAGNOLLE. V. 2000. Black rats, island characteristics, and colonial nesting birds in the Mediterranean: consequences of an ancient introduction. Conserv Biol 14:1452– 1466.

MATTERN T., ELLENBERG, U., LUNA-JORQUERA, G. y DAVIES, L. 2004. Humboldt Penguin Census on Isla Chañaral, Chile: Recent Increase or Past Underestimate of Penguin Numbers? Waterbirds 27(3): 368-376.

MISKELLY, C.M. y TAYLOR, G.A. 2004. Establishment of a colony of common diving petrels (*Pelecanoides urinatrix*) by chick transfers and acoustic attraction. Emu 104: 205-211.

MISKELLY, C.M., TAYLOR, G.A., GUMMER, H. y WILLIAMS, R. 2009. Translocations of eight species of burrow-nesting seabirds (genera Pterodroma, Pelecanoides, Pachyptila and Puffinus: Family Procellariidae). Biol Conserv 142 :1965-1980. Doi: 10.1016/j.biocon.2009.03.027.

MOORS P.J. y ATKINSON. I.A.E. 1984. Predation on seabirds by introduced animals and factors affecting its severity. In: Croxall, J.P., Evans, P.G.H., Schreiber, R.W. (Eds) Status and conservation of the world's seabirds. In: International council for bird conservation technical publication no. 2, Cambridge, pp 667–690.

MORENO, C.A. 2000. Recursos del Mar y del Borde Costero. En: Informe País. Estado del Medio Ambiente en Chile 1999. Centro de Análisis de Políticas Públicas. Universidad de Chile. Santiago.

MORENO, E. y ESPESO, G. 2008. International studbook. Cuvier´sgazelle (*Gazella cuvieri*). CSIC, Roquetas de Mar, Almería.

NEWTON, I. 1998. Population limitation in birds. Academic, London.

NORTH, M. y BELL, D. 2000. Factores que afectan la incubabilidad. En: Manual de Producción avícola. Editorial El Manual Moderno. México. 3ra edición. pp: 97- 114.

ONELY, P.J.S. y ELLIS, P. 1988. Int Zoo Yb 28:399-400.

ORMAZÁBAL, C. 1993. The conservation of biodiversity in Chile. Revista Chilena de Historia Natural 66:383-402.

PACKER, J. y BALLANTYNE, R. 2010. The role of zoos and aquariums in education for a sustainable future. New Directions for Adult and Continuing Education 2010:25–34.

PIOANI, A. 2008. Same-sex mounting in birds: Comparative test of a synthetic reproductive skew model of homosexuality. The Open Ornithology Journal, 1: 36 – 45.

PRITCHARD, D.J., FA, J.E., OLDFIELD, S. y HARROP, S.R. 2011. Bring the captive closer to the wild: redefining the role of ex situ conservation. Oryx 46: 18–23.

RAHBEK, C. 1993. Captive breeding – a useful tool in the preservation of biodiversity? Biodiversity and Conservation 2: 426–437.

REDFORD, K.H., JENSEN, D.B., BREHENY, J.J. 2012. Integrating the captive and the wild. Science 338: 1157–1158.

RICKETTS, T.H., DINERSTEIN, E. BOUCHER, T. *et al*. 2005. Pinpointing and preventing imminent extinctions. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 102, 18497.

RYDER, O.A. y FEISTNER, A.T.C. 1995. Research in zoos: a growth area in conservation. Biodiversity and Conservation 4: 671–677.

SAFFORD, R. J. y JONES, C. J. 1998. Strategies for land-bird conservation on Mauritius. Conserv. Biol. 12: 169–176.

SAG. 2006. Programa de vigilancia epidemiologica instructivo técnico n° 1 vigep/it3 bioseguridad personal durante el manejo de aves. (https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/IT_BIOSEGURIDAD_MANEJO_AVES.pdf) Ord.:B33/N° 821 del 10 de marzo del 2006. Ministerio de Salud. División de Políticas Públicas Saludables y Promoción.

SAN GABRIEL, A. 1980. Patología de la incubación. Enfermedades del polluelo. - España AEDOS 1980 - 109 páginas; ISBN:8470030825.

SCRIBANO, E. y BANKS, C. 1978. Hand-rearing fairy penguins. Int Zoo Yb. 18:62-65.

SETIAWAN, A. N., DAVIS, L. S., DARBY, J. T., LOKMAN, P. M., YOUNG, G., BLACKBERRY, M. A., CANNELL, B. L., y MARTIN, G. B. 2007. Hormones and Behavior, 51, 46–53.

SHERLEY, R.B., WALLER, L.J., STRAUSS, V., GELDENHUYS, D., UNDERHILL, L.G., y PARSONS, N.J. 2014. Hand Rearing, Release and Survival of African Penguin Chicks Abandoned Before Independence by Molting Parents. *PLoS ONE, 9*.

SHOEMAKER, A. y FLESNESS, N. 1996. Records, Studbooks, and ISIS Inventories. In Wild Mammals in Captivity, ed. D. G. Kleiman, M. E. Allen, K. V. Thompson, and S. Lumpkin, 600- 603. Chicago, IL: University of Chicago.

SIMEONE, A. y BERNAL, M. 2000. Effects of habitat modification on breeding seabirds: a case study in central Chile. Waterbirds 23 (3): 449-456.

SIMEONE, A., ARAYA, B., BERNAL, M., DIEBOLD, E., GRZYBOWSKI, K., MICHAELS, M., ANDREW, J.T., WALLACE, R.S. y WILLIS. M.J. 2002. Oceanographic and climatic factors influencing breeding and colony attendance patterns of Humboldt penguins *Spheniscus humboldti* in central Chile. Marine Ecology Progress Series 227: 43-50.

SIMEONE, A., LUNA-JORQUERA, G. BERNAL, M. GARTHE, S. SEPÚLVEDA, F. VILLABLANCA, R. ELLENBERG, U. CONTRERAS, M. MUÑOZ, J. y PONCE, T. (2003). Breeding distribution and abundance of seabirds on islands off north- central Chile. Revista Chilena de Historia Natural 76: 323-333.

SIMEONE, A. y LUNA-JORQUERA, G. 2012. Estimating rat predation on Humboldt Penguin colonies in north-central Chile. Journal für Ornithologie 153: 1079-1085.

SIMEONE, A., AGUILAR, R. y LUNA-JORQUERA G. 2018. Informe final Proyecto FIPA N°2016-33: “Censo de Pingüinos de Humboldt”. 57 pp. Consultor: Corporación CULTAM

SWINNERTON, K. 2001. Ecology and conservation of the Pink Pigeon Columba mayeri on Mauritius. Dodo (J. Jersey Wildl. Preserv. Trust) 37: 99.

TALBURT, S., y MATUS, C. 2012. Orienting ourselves to the gay penguin. Emotion, Space and Society. 5. 10.1016/j.emospa.2011.01.005.

TODD F. 1987. The penguin encounter at Sea World, San Diego. Int Zoo Yb. 26:104-109.

TRIBE, A. y BOOTH, R. 2003. Assessing the role of zoos in wildlife conservation. Human Dimensions of Wildlife. 8:65-74.

TULLETT, S.G. y DEEMING, D.C. 1987. Failure to turn eggs during incubation: the effects on embryo weight, development of the chorioallantois and the absortion of albumen. Brit. Poult. Sci. 28:239-249.

VAN BOCXSTAELE, R. 1978. Breeding and hand rearing the black-footed penguin *Spheniscus demersus* at Antwerp Zoo. Int. Zoo Yb. 18: 42-46.

VIANNA, J.A., CORTES, M., RAMOS, B., SALLABERRY-PINCHEIRA, N., GONZÁLEZ-ACUÑA, DANTAS, G.P.M., MORGANTE, J., SIMEONE, A. y LUNA-JORQUERA. G. 2014. Changes in abundance and distribution of Humboldt Penguin *Spheniscus humboldti*. Marine Ornithology 42: 153–159.

WALLACE, R.S., GRZYBOWSKI, K., DIEBOLD, E., MICHEALS, M.G., TEARE, J.A. y WILLIS, M.J. 1999. Movements of Humboldt Penguins from a breeding colony in Chile. Waterbirds 22: 441–444.

WALLACE, R.S., y ARAYA, B. 2015. Humboldt Penguin (*Spheniscus humboldti*) population in Chile: Counts of moulting birds, February 1999-2008. Marine Ornithology 43: 107-112.

WAZA. 2005. Building a Future for Wildlife - The World Zoo and Aquarium Conservation Strategy. © WAZA 2005 ISBN 3-033-00427-X.

WILSON, R.P., DUFFY, D.C., WILSON, M-P & ARAYA, B. 1995. Aspects of the ecology of species replacement in Humboldt and Magellanic penguins in Chile. Le Gerfaut 85: 49–61.

WILLIAMS, M.G. y GOLDING R. 1987. Breeding and rearing the Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*) at Cots Wold Wildlife Park, Burford, Oxon. The development of a successful hand rearing technique. The Journal of the Avicultural Society Vol 93. 2.

WILLIAMS, T.D. 1995. The penguins. Oxford University Press, Oxford Yorio P, Boersma PD (1994) Consequences of nest desertion and inattendance for Magellanic penguin hatching success. Auk 111:215–218.

WHITTINGTON, P. A. 2002. Survival and movements of African penguins, especially after oiling. PhD thesis, University of Cape Town, South Africa.

WOLFAARDT, A.C., WILLIAMS, A.J., UNDERHILL, L.G., CRAWFORD, R.J.M. Y WHITTINGTON, P.A. 2009. Review of the rescue, rehabilitation and restoration of oiled seabirds in South Africa, especially African penguins *Spheniscus demersus* and Cape gannets *Morus capensis*, 1983–2005, African Journal of Marine Science, 31:1, 31-54, DOI: 10.2989/AJMS.2009.31.1.3.774.

ZIPPEL, K., BULEY, K., GIBSON, R. GILLESPIE, G.R. JHONSON, R., LACY R.C., MARANTELLI, G. y MENDELSON, J.R. 2008. On the role of *ex situ* management in the conservation of amphibians. Pp. 128-129 In Threatened Amphibians of the World. Stuart, S.N., M- Hoffman, J.D. Chanson, N.A. Cox, R.J. Berridge, P. Ramani, and B.E. Young (Eds.). Lunx Edicions, Barcelona, Spain.

ZIPPEL, K., JHONSON, K., GAGLIARDO, R., GIBSON, R., MCFADDEN, M., BROWNE, R., MARTINEZ C., y TOWNSEND, E. 2011. The Amphibian Ark: A global community for *ex situ* conservation of amphibians. Herpetological Conservation and Biology & (3): 340-352.

Anexo 1: Registro fotográfico

Foto 1: Sala de crianza

Anexo 1:

Foto 2: Identificación de nidos y monitoreo en la colonia natural de pinguinos de Humboldt en islote Locos.

Foto 3: Hallazgo de dos huevos abandonados en una cueva usada como nido a el islote Pájaros Niños de Algarrobo.

Anexo 1:

Foto 4: Colecta de huevo con brazo extensor prensil. Un correcto manejo es tomarlos evitando movimientos bruscos y trasladarlo en la misma posición en que fue encontrado.

Foto 5: El huevo es marcado (numerado) de forma suave con un lápiz grafito, se registra el número del nido y georeferenciación.

Anexo 1:

Foto 6: Medidas del largo y ancho del huevo realizado con pie de metro digital.

Foto 7: Se registraron las medidas del huevo con un pie de metro digital, y el peso con balanza digital portátil.

Anexo 1:

Foto 8: Durante la colecta los huevos son dispuestos en una caja de transporte transitoria.

Foto 9: De la caja de transporte transitoria, los huevos son traspasados para el traslado al centro de crianza en Santiago a una cámara de incubación portátil.

Anexo 1:

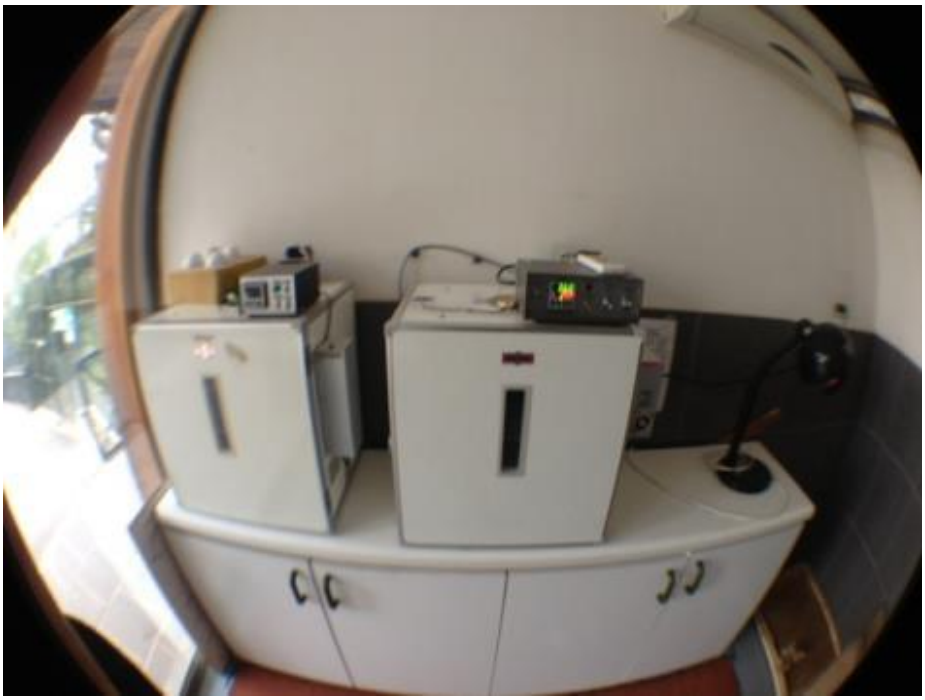


Foto 10: En la sala de crianza los huevos deben limpiarse previo a su incubación dentro de las cámaras.

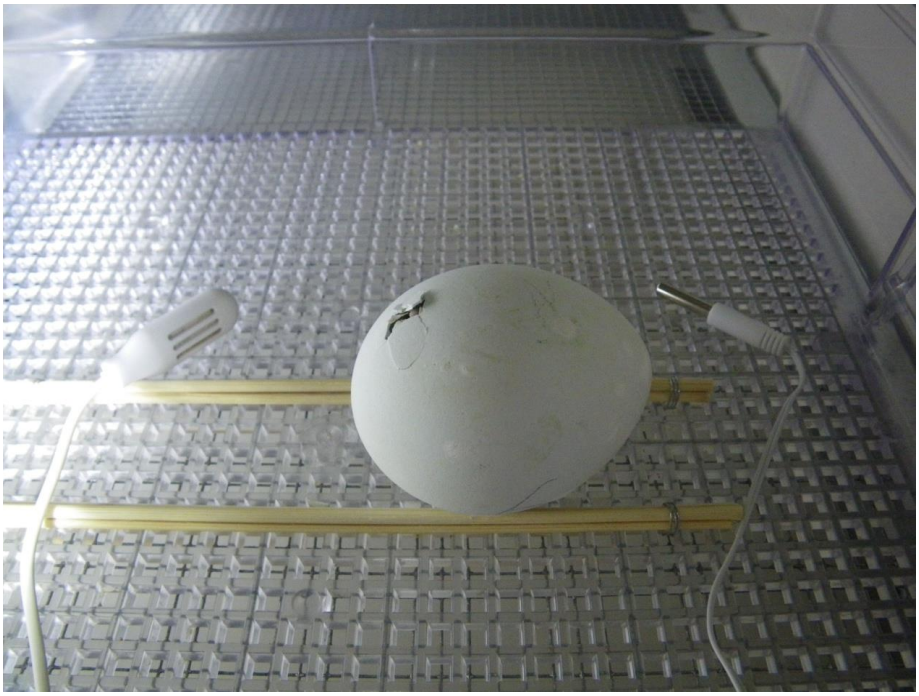


Foto 11: Picaje del cascarón del huevo dentro de la cámara de incubación. Se observan los sensores de temperatura y humedad a sus costados.

Anexo 1:

Foto 12: Una vez que el huevo este picado en su cáscara es transportado a la nacedora. Dentro se encuentra el aspersor con agua destilada para los huevos y toallas húmedas bajo los huevos.

Foto 13: el papel húmedo o gasa debe ubicarse bajo el huevo para favorecer el traspaso de humedad al huevo en proceso de eclosión.

Anexo 1:

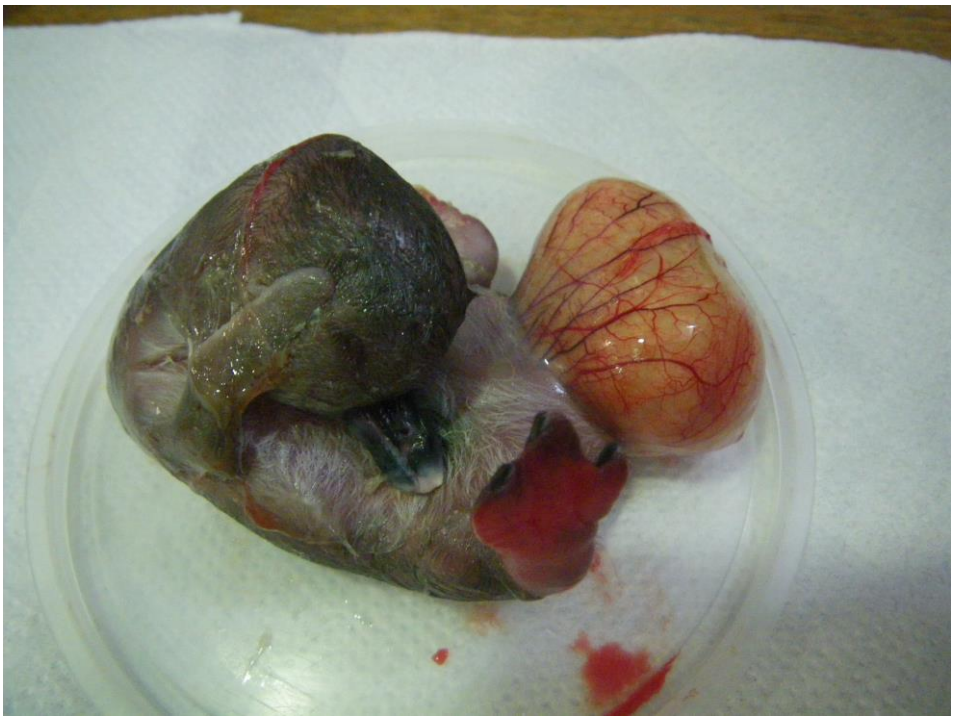


Foto 14: embrión que no alcanza a llegar a término. Se observa yema no absorbida sin cierre umbilical.

Foto 15 (izquierda): Los polluelos en la medida que eclosionan se separan del resto de los huevos de la incubadora.

Foto 16 (derecha): Una vez eclosionado el primero, este con su piar estimula la eclosión del segundo polluelo.

Anexo 1:

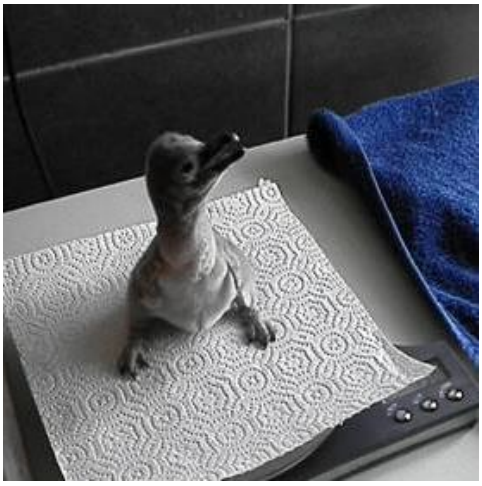


Foto 17 (izquierda): Los primeros días de alimentación el polluelo debe ser pesado a primera hora, sin consumo de alimento.

Foto 18: (derecha): Estimulación del polluelo para otorgar la dieta, procurando mantener la cabeza erguida.

Foto 19 (izquierda): alimentación del polluelo con sonda.

Foto 19 (derecha): sistema donde los polluelos eran mantenidos hasta lograr el peso óptimo para el traaldo a la colonia de cautiverio.

Anexo 1:

Foto 20a: Pollos criados bajo la estategia de (CA) (PMS-1 y PMS-2) con 80 días de vida. Una vez logrado esta etapa pueden ser introducidos a la colonia.

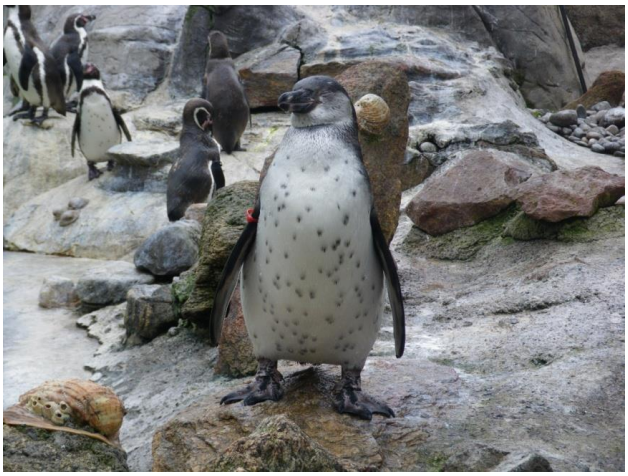


Foto 20b: Introducción gradual de los polluelos. Se realizaron rutinas diarias de visitas al recinto para que socialicen con el resto de los individuos de la colonia.

Foto 21: Se observan algunas conductas agonistas en las primeras interacciones. Generalmente la primera introducción a la piscina es asistida, es decir el manejador de estas aves introduce al ave de manera suave a la piscina. En este caso los pollos ingresados a la colonia ingresaron de forma independiente sin necesidad de asistencia.

Anexo 1:

Foto 22: Huevo artificial, este huevo de yeso presenta la misma forma, peso, color y textura de un huevo natural.

Foto 23: Una vez que los huevos colectados llegan al recinto de pingüinos de Humboldt del Zoológico, son cambiados por los artificiales que han sido incubados por la pareja de “padres sustitutos”.

Foto 24: Los pingüinos criados bajo la estrategia de (CN), son cuidados y alimentados por sus padres sustitutos. En la fotografía se aprecian dos de los pingüinos “adoptados” (Locos 1 y Locos 2) siendo alimentados por uno de sus padres.

Anexo 2: Listado de materiales

Materiales terrenos:

- Cámara fotográfica Sony Cyber-Shot G 10X. (Educación).
- Cámara filmadora (Sony).
- Contador manual (censo).
- GPS (Garmin).
- Pizarra blanca.
- Plumón.
- Libretas de notas.
- Linternas.
- Pilas.
- Binoculares / Scope / trípode.
- Planillas de registros.

Materiales para colecta:

- Cámara de incubación Portatil eléctrica (OY0234)
- Termostato (Habistat 300W).
- Termómetro.
- Brazo extensor.
- Cajas de aislapol (portables).
- Agua destilada.
- Planillas de registro.

Materiales para alimentación de polluelos:

- Tabla de picar
- Cuchillo corta carne
- Picadora

- Juguera
- Cuchara
- Colador de malla muy fina (pasa puré)
- Colador de malla normal
- Fuentes con tapas (pequeñas, medianas y grandes)
- Hervidor eléctrico
- Jeringas de 10, 20 y 60ml
- Sonda de 8, 10 y 12hr

Materiales para la crianza de los polluelos:

- Balanza para pesar cada 0.1gramo
- Balanza para pesar cada 1gramo
- Balanza para pesar cada 5gramos
- Termómetro con cable
- Balanza digital (DIAMONDO Model 500)
- Balanza electronica digital (SOEHNLE).
- Higrómetro con cable (TH060H; TH01C).
- Incubadora (Incubator SHOWA P-008A)
- Nacedora (GOF - 1554HATCHER).
- Lámparas extensoras.
- Ampolletas de cerámica sin luz de 40 a 100wat (HDO32B)
- Ampolleta infrarroja
- Sustrato de plástico lavable
- Cerco o corral.
- Monitor plus web cam
- Monitor TV for nursery room

Anexo 3: fórmulas de alimentación y rutinas

INCUBACION DE HUEVOS	
Temperatura de la incubadora	37℃ (máximo)
Humedad de la incubadora	60% (máximo)
Abrir la puerta 3 veces por día para bajar la temperatura de la incubadora. (La calefacción se corta. Dejar mas o menos por 5 minutos a 27℃)	

CRIANZA DE PICHONES	
DIA 1-7	35℃ (max)
DIA 8-14	30℃ (max)
DIA 15 a 500 grs de peso	28℃ (max)
501 a 1.000 grs de peso	25℃ (max)
más de 1.000 grs de peso	según las circunstancias

ALIMENTACION DE POLLUELOS						
Pesar a los pollos todos los dÍas en la mañana.						
Calentar la formula y el pescado a 30ºC antes de alimentar						
DIA	**ALIMENTO**	**CANTIDAD DE ALIMENTO**	**HORARIO DE ALIMENTACION**			
DIA 1	Agua caliente (30ºC)	3-5 grs	A las 6-8 horas de salir del cascaron se entrega el agua. Si sale del cascaron en la noche, damos el agua en la mañana y se alimenta a las 15:00hrs y 18:00 hrs.			
DIA 2-7	FORMULA	Maximo 10% de su Peso. Si aun tiene alimento en su estomago, entregar menos cantidad de alimento.	09:00	12:00	15:00	18:00
DIA 8 a 500 grs de peso	FORMULA		09:00	12:00	15:00	18:00
501 a 1.000 grs de peso	pescado cortado (1 a 2 cm)		09:00	11:30	14:00	17:30
más de 1.000 grs de peso	pescado cortado (3 a 5 cm)		09:00	12:00	17:00	

<table>
<tr><td colspan="3">FÓRMULAS</td></tr>
<tr><td colspan="3">Lavar y desinfectar las manos antes de preparar la fórmula.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Limpiar y desinfectar utensilios antes y despues de usarlos.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Mantener la fórmula refrigerada</td></tr>
<tr><td colspan="3">La duración de la fórmula es de un dia. Todos los dias se debe preparar una nueva fórmula.</td></tr>
<tr><td>DIA 2-7</td><td>300 grs de pescado sin cabeza ni aleta caudal.
Agregar 120 grs de agua y una pastilla de Mazuri.
Mezclar poco a poco en la batidora.
Pasar la mezcla por un pasapurés y obtener 160g.
Añadir 12 grs de mamistop a los 160 grs y mezclar bien.</td><td rowspan="2">La cantidad de agua se regula según la consistencia del excremento.</td></tr>
<tr><td>DIA 8-500 grs</td><td>800 grs de pescado sin aleta caudal.
Agregar 200 grs de agua y 4 pastillas de Mazuri.
Mezclar poco a poco en la batidora.
Pasar la mezcla por un colador y obtener 500g.
Añadir 10 grs de mamistop a los 500 grs y mezclar bien.</td></tr>
</table>