

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



Facultad de Ciencias Veterinarias

Trabajo de tesis realizado como requisito para optar al título de

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS.

**ESTUDIO DEL CICLO REPRODUCTIVO Y EDADES DE LA LIEBRE EUROPEA
(*Lepus europaeus* Pallas, 1778) EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.**

AUTOR: Med. Vet. RISSO, Miguel Atilio

DIRECTOR: Dr. MENÉNDEZ, Néstor Ángel

LUGAR DE TRABAJO: Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos

MIEMBROS DEL JURADO:

BRANDETTI, Eugenio

PRACCA, Lydia

GRILLO, Virginia

CARBONE, Cecilia

OSTROSWSKI, Jorge



**La Plata
República Argentina
1996**

**a Alicia, Paula y Francisco,
a mi madre Stella y mi hermana Estela,
a mis amigos
y especialmente a la memoria de mi padre Miguel Francisco Risso.**

En primer lugar agradezco a Alicia Irma Porras y a Hilda Susana Martínez la inestimable colaboración para la realización de este trabajo.

Además, a todos los Directivos y Personal de EFASA (Empresa de Frigoríficos Azul S.A.), un lugar donde me brindaron toda la colaboración posible y aun más.

A todos los Directivos y Personal de SENASA, Regional Azul, Pcia. de Bs. As.; que tanto colaboraron en este trabajo.

A todos mis compañeros y directivos de la antigua Dirección de Recursos Naturales del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires.

A todos mis compañeros del Instituto de Patología Dr. B. Epstein y de la Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.L.P., por su ayuda y paciencia inestimables.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, al Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires y a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

Al Sr. Roberto A. Aban, por colaboración técnica en la preparación, corte y coloración de los preparados histológicos.

A la Profesora Alicia R. Izquierdo Brown por la esmerada ayuda en la corrección del manuscrito.

A la Dra. Celina Buscaglia, al Dr. Carlos Juan Perfumo y a la Dra. María Fabiana Landoni por la inapreciable asistencia en la traducción del manuscrito.

Al Dr. Miguel Ángel Petruccelli por su constante participación en la organización del manuscrito y el apoyo brindados.

A todos los que de alguna manera estuvieron y están siempre a mi lado.

Abreviaturas y Símbolos

- a.C. = Antes de Cristo.
AC = Agua corriente.
CL = Cuerpos lúteos.
CPAP,FCV,UNLP = Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.
DRNE,MP,PBS = Dirección de Recursos Naturales y Ecología, Ministerio de la Producción, Provincia de Buenos Aires.
EFASA = Empresa de Frigoríficos Azul, Sociedad Anónima.
EMB = Embriones.
EO = Estados de osificación.
ER = Estación reproductiva.
F (Fisher) = (Prueba de Análisis de Varianza).
g.l. = Grados de libertad.
HA = Hembras adultas.
HACE = Hembras activas con embriones.
HACL = Hembras activas con cuerpo lúteo y sin embriones visibles.
HAP = Hembras adultas preñadas.
HNP = Hembras no preñadas.
HP = Hembras preñadas.
HS = Hemisferio sur.
HSA = Hembras sexualmente activas (HACE + HACL).
HSI = Hembras sexualmente inactivas (sin cuerpo lúteo y sin embriones visibles).
IP = Índice de pariciones.
JPA = Producción de jóvenes por año.
LE = Liebre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778)
m ± de = media ± desvío estándar.
ME = Mortalidad embrionaria.
NCL = Número de cuerpos lúteos.
NEMB = Número de embriones.
NHAP = Número de hembras preñadas adultas.
NI = Nivel de implantación.
NO = Nivel de ovulación.
ns = Diferencias no significativas.
p = Probabilidad.
PC = Peso de cristalinos.
PGD = Peso de glándula derecha.
PGI = Peso de glándula izquierda.
PP = Peso promedio.
s = Significación.
SI. = Secreción láctea.
TOSS = Testículo u ovario, según el sexo.
VGD = Volumen de glándula derecha.

VGI = Volumen de glándula izquierda.

VP = Volumen promedio.

wk1 = Worksheet, hoja de trabajo, versión 1.

χ^2 = Prueba de Chi cuadrado.

XPGON = Peso promedio de las glándulas.

XVGON = Volumen promedio de las glándulas.

ÍNDICE

Resumen	3
Summary	4
Introducción	5
1) Reproducción	6
2) Edad	9
a) Osificación del cúbito y radio	9
b) Peso seco de los cristalinos	10
Objetivos	12
Materiales y Métodos	13
1) En el frigorífico:	13
2) A campo:	13
Muestras:	14
En las hembras:	14
En los machos:	15
Tareas de laboratorio:	15
I) Estudio del aparato reproductor:	16
Peso y dimensiones de los testículos:	16
Participación de los machos en la reproducción:	16
Peso y dimensiones de los ovarios:	17
Participación de las hembras en la reproducción:	17
Embriones:	17
II) Determinación de edades:	17
Tratamiento de los huesos del miembro anterior	17
Cristalinos:	18
Tratamiento de la información	19
Explicación de las fórmulas usadas:	19
Tratamiento de los datos:	20
Resultados	22
Discusión	28
Conclusiones	33

Tablas	34
Bibliografía	45

ESTUDIO DEL CICLO REPRODUCTIVO Y EDADES DE LA LIEBRE EUROPEA

(Lepus europaeus Pallas, 1778) EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

Miguel Atilio Risso (*)

Palabras claves: *Lepus europaeus*, reproducción, edad, peso de los cristalinos, osificación de cúbito y radio.

Resumen

Se estudió la reproducción de la Liebre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina; durante un ciclo anual completo (1986-1987) y sobre un muestreo complementario (1988- 1990), con un total final de 829 animales. Se determinó el inicio de la estación reproductiva (ER) durante el comienzo del período invernal (mayo - junio) y, el final, al comienzo del otoño (febrero - marzo); seguidos de un receso en la actividad reproductiva en los meses de marzo a mayo. Se tuvo en cuenta la evolución del peso y el volumen de las gónadas y la presencia - ausencia de espermatozoides en machos y cuerpos lúteos en la hembras. Estos datos se utilizaron como indicadores de la reproducción. Sobre un período de gestación de 42 días, se halló un porcentaje de preñez del 54.9% para las hembras adultas (HA), durante una estación reproductiva (ER) de 5 meses; con un índice de pariciones de 2.75, un promedio de 2.02 crías por parición y un valor final de 5.53 jóvenes por hembra adulta por año. Se halló una significativa correlación entre número de hembras en lactación, número de cuerpos lúteos y número de embriones; con un peso promedio de embriones cercano a los 40-60 gramos para gestaciones de 2 a 3 lebratos. La razón de sexos de machos a hembras encontrada en el ciclo anual (1:0.96), no arrojó diferencias significativas. Se determinó la edad a partir del peso seco de los cristalinos y la observación de los puntos de osificación del cúbito y del radio, con un valor de división entre jóvenes y adultos a partir de los 230 mg y un estadio óseo correspondiente a 8 meses.

(*) Docente de la Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos, Instituto de Patología Dr. B. Epstein., Facultad de Ciencias Veterinarias, U.N.L.P. Profesional Principal, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

STUDY OF THE REPRODUCTIVE CYCLE AND AGES OF THE EUROPEAN HARE (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) IN THE BUENOS AIRES PROVINCE, ARGENTINA.

Miguel Atilio Risso (*)

Key words: *Lepus europaeus*, reproduction, age, eye lens weight, ossification of the ulna and radius

Summary

The reproduction of the European Hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) in the Buenos Aires Province, Argentina, during a complete annual cycle (1986-1987) and a complementary sampling (1988-1990), with a total of 829 animals was studied. The beginning of the breeding season at early winter period (May - June) and the end of it, at the beginning of the autumn (February - March) were determined. It was followed by a period of resting in the reproductive activity from March to May. The evolution of the weight and volume of the gonads and the presence or absence of sperms and corpora lutea for males and females, respectively, were considered as indicators of active reproduction. Based on a gestation period of 42 days, a percentage of pregnancy of 54.9% was found for adult females in a 5 months reproductive period. The index of births was 2.75, with an average of 2.02 embryos by litter. Therefore, the final ratio of young per adult female per year calculated was 5.53. A statistically significant correlation was found among number of females in lactation, number of corpora lutea and number of embryos. The embryo weight average was close to 40-60 grams for births of 2 to 3 leverets for adult female. No statistically significant difference was found on the comparison of the ratio of males to females for an annual cycle (1:0.96). The division between young and adults was determined from eye lens weight and the observation of the ossification of the epiphyseal cartilage of the ulna and radius. A value of 230 mg in lens weight and stage 8 of ossification were considered as an adulthood indication.

(*) Assistant Professor of the Avian and Fur Pathology. Pathology Institute "Dr. B. Epstein", College of Veterinary Science. La Plata University. Principal Professional, Scientific Research Committee of the Province of Buenos Aires.

Introducción

La Liebre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778), cuyo nombre se origina en el latín *lepus* contracción de *levis-pes*; (*levis*: rápido ; *pes*:pie), pertenece al orden *Lagomorpha*, familia *Leporidae*. Se la conoce desde épocas pretéritas, Hipócrates (460-380 a.C.), la nombra en uso medicinal, atribuyéndole virtudes diuréticas (50). Según nos relata Sych, en 1964, 1965 (71,72), el género *Lepus* apareció en el Plioceno (Cenozoico), hace unos 12 millones de años, en Eurasia principalmente y luego se extendió a Europa central en el principio del Pleistoceno. Su expansión fue igualmente rápida en América del Norte, en uno de los periodos de intercambio de fauna entre continentes (probablemente por la unión de Alaska-Siberia) (64). Su antecesor fue el *Hypolagus brachygnathus* Kormos, un mamífero que pertenecía a la familia *Archaeolaginae* y se originó en la mitad del Mioceno (Cenozoico). La persistencia de dos especies en el mismo nicho ecológico, llevó a una fuerte competición alimentaria entre la liebre y el *Hypolagus brachygnathus*. Finalmente la primera, probablemente por su mejor adaptación al medio ambiente (mejor preparada para la carrera que el *Hypolagus brachygnathus*, que era más pesado y robusto), fue victoriosa. La desaparición de especies del género *Hypolagus* en el nuevo mundo fue conectada con la competencia con el género *Lepus* y con el probable enfriamiento de la tierra (73). Además, la muy alta correlación significativa hallada entre los mismos pares de dientes en *Hypolagus brachygnathus*, *Lepus europaeus* y *Oryctolagus cuniculus*, da evidencia de la acción de genes probablemente no diferentes. (74-76). Actualmente, la LE, se encuentra extendida por todo el centro de Europa, parte de Asia occidental, litoral del Mediterráneo y América. Fue introducida en nuestro país en 1888, en los alrededores de Rosario (1,2,6). Más tarde, en nuestra Provincia de Buenos Aires, se la enumeró como una especie exótica naturalizada y hasta se la consideró una plaga para nuestras tierras (24,62). La LE se convirtió entonces en

una de las especies más conocidas popularmente en nuestros campos y sometidas a la acción de la caza, tanto deportiva como comercial. A pesar de ello, ha sido poco estudiada en nuestro medio en materia de biología reproductiva, tema que nosotros abordamos, ya que no se conoce antecedente alguno en la Provincia de Buenos Aires. Los trabajos publicados sobre esta especie son los efectuados por Amaya y col. (1,2), Brandani y col. (9) y Bonino, (6,7), en las provincias de Santa Cruz y Río Negro e Iriart (1975, sin public.).

En los países de Europa Occidental, Europa Oriental y América del Norte, la literatura sobre estudios de la LE es muy amplia y se puede clasificar en: 1) Reproducción; 2) Edad.

1) Reproducción

Cardon en su libro "Le Lièvre et son Elevage" (21) menciona a Lévitre que, en 1908, fue uno de los primeros autores que estudió la duración de la gestación de la LE en condiciones de campo y la calculó entre 30 a 31 días. Luego es Kolosov (35), en el año 1941, quien comenzó a estudiar el ciclo reproductivo de la LE en la zona este de Europa, región del Cáucaso. El trabajo consistió en la captura de animales, la determinación de la preñez en las hembras y la espermatogénesis en los machos. Algo más adelante, Hediger, en 1948 (32) en Suiza, determinó un período de gestación de 41-42 días para liebres criadas en cautiverio, en un estudio que duró tres años. En Canadá, Reynolds & Stinson en 1959 (60), estudiaron el ciclo reproductivo de la liebre y determinaron para esa zona una producción anual de 9 lebratos por hembra, durante un ciclo anual. Estos trabajos no contaban con muestreos anuales de un ciclo completo y diferían en cuanto a la cantidad de animales muestreados y la zonas de capturas.

Es entonces, en 1959, cuando en la provincia de Poznan (Polonia), Raczynski (59) estudia la reproducción de la LE a través de un muestreo mensual con una media de 30-40

animales (n= 765 animales en total) y determina, en esa zona ubicada al oeste de Polonia, el inicio, la duración y la finalización de la actividad reproductiva. Constituyendo éste, uno de los primeros trabajos que apuntan al manejo biológico de la temporada de caza de esta especie. En Nueva Zelandia, Flux en 1967 (25,26), estudió la reproducción y su relación con el peso corporal sobre un total de 1513 liebres colectadas mensualmente durante tres ciclos anuales (1960-1963) en cuatro áreas de la zona (Waikato, Wairarapa, Canterbury y Southland). Determinando, entonces, la ER para esa localidad que se asemeja en latitud a los parámetros geográficos de nuestro país. Martinet y col., en Francia en 1970 (44), trataron la reproducción en cautividad determinando un período de gestación de 41-42 días. En 1971 y 1972, Martinet y Moret (45,46), estudiaron el período de gestación y el fenómeno de la superfetación en la LE. Louzis, en el Laboratorio Central de Investigaciones Veterinarias d'Alfort (Francia) en 1976 (42), observó la reproducción en cautiverio de la LE y determinó una duración para el ciclo reproductivo de 9 meses, un período de gestación de 41-42 días, un número de alumbramientos de 4 a 6 lebratos. Observando también que el fenómeno de superfetación ocurre con mayor frecuencia en animales en cautiverio que a campo.

Más recientemente, Martinet en 1980 (43), trató el comportamiento del ciclo estral y la ovulación en la LE, afirmando que la actividad de apareamiento es mayor en los días cercanos a la parición. En ese mismo año Frylestam en Suecia (29), estudió la reproducción en tres áreas del sur de ese país, determinando una producción de jóvenes de 6 a 8 lebratos por hembra, durante la ER. En Francia otra vez, fue Pepin en 1974, 1975 y 1981(54-56), el que realizó un muestreo anual, en forma mensual, para relacionar la temporada de caza con el ciclo reproductivo de la liebre. Caillol y col. en Francia en 1976, 1979 y 1986 (18-20), comprobaron que el apareamiento en la LE comienza en diciembre (corresponde a junio en HS) y finaliza en septiembre del año siguiente; (marzo, HS) y determinaron variaciones en los niveles de progesterona en el transcurso de la ER. La ovulación se produjo entre enero (julio, HS) y agosto (febrero, HS) y el número de hembras en ovulación fue máximo entre marzo

(septiembre, HS) y julio (enero, HS). En Holanda Broekhuizen y Martinet, en 1979 (15), publican un estudio sobre el desarrollo del crecimiento de embriones de la LE desde el décimo día de concepción y determinan pesos corporales promedios hasta momento del alumbramiento, comparándolos con lo hallado por otros autores (67,68).

Siempre trabajando con animales de edad conocida y en condiciones de semicautividad, en 1980 (13) Broekhuizen estudió el comportamiento de la madre y los lebratos durante la crianza y el amamantamiento. Concluyendo que el período de cría dura probablemente cuatro semanas y está relacionado con el descubrimiento de los lebratos por los predadores. En 1982, este último autor y Maaskamp (11,14) comprobaron, con datos aportados por cazadores deportivos y muestreos propios, que cerca del 80 % de las hembras de más de 8 meses de edad estaban ya maduras y en actividad reproductiva; determinando una producción anual de 10 lebratos por hembra adulta. Kovacs y col., en 1983, 1985 y 1986, en Hungría (37,38,51), estudiaron la proporción de hembras preñadas (HP) en el año, estableciendo que la ER finaliza en la mitad de septiembre (marzo, HS); no encontrando HP entre los meses de octubre y diciembre (abril - junio, HS). Los trabajos de Dahlbäck, Andersson y col., entre los años 1978 y 1981, sobre la biología del conejo salvaje (*Oryctolagus cuniculus*) en Suecia (4,8,22,23); y los de Parer en 1991 (53), contribuyen al estudio de la reproducción en esta especie, muy relacionada en su origen con la LE (71). Más recientemente, Vandermerwe en 1991, analizó el peso corporal y el ciclo reproductivo de la liebre de montaña (*Lepus-Timidus-Scoticus*) en el noroeste de Escocia, aplicando una metodología ya clásica en la determinación de edades y seguimiento del ciclo reproductivo (77).

2) Edad

a) Osificación del cúbito y radio

El conocimiento de la edad de los ejemplares es un aspecto que está íntimamente ligado a la biología reproductiva y tiene como finalidad comprobar si las liebres capturadas son jóvenes o adultas, estableciendo de esta manera una relación entre la edad y la madurez sexual. Este concepto, finalmente, persigue la idea de demostrar que el potencial reproductivo de la liebre ha sido probablemente su único aliado, ya que a través de sus muchos años de vida en el planeta ha soportado problemas climáticos, competencia con predadores naturales y lo más grave, la presión de caza en manos de su peor competidor, el hombre...

Podemos mencionar aquí, estudios sobre la edad que comienzan con Stroh en 1931 (69), quien señaló que el cartilago epifisiario distal del cúbito y el radio pueden palpase a través de la piel en los animales jóvenes, como una protuberancia que permite reconocer y diferenciar los ejemplares jóvenes de los adultos. El mismo autor, señaló que la desaparición de la protuberancia es gradual, hasta la edad de 9 meses. Debemos tener en cuenta que la LE está sexualmente madura a lo 8 meses (14).

En 1971, Broekhuizen, en París, en un congreso de la Unión Internacional de Biólogos de Gibier (10), clasificó estos cambios óseos en nueve estadios que en liebres de campo son comparables con los primeros meses de vida. Pepin, en Francia (54), determinó la edad mediante un método radiográfico que permitía observar la osificación de húmero, cúbito y radio, en ejemplares vivos, y dividirlos en 3 categorías: infantiles, juveniles y adultos. Broekhuizen y Maaskamp, nuevamente en Holanda en 1979 (12), aplicaron este estudio a animales criados en cautividad y en semicautividad, determinando que estos estadios son comparables a la edad en meses y confiables, probablemente, hasta el año de vida.

b) Peso seco de los cristalinos

Lord, en 1959 (41), buscando definir la edad en el conejo cola de algodón (*Sylvilagus floridanus*), es uno de los primeros investigadores que utiliza la técnica de peso seco de los cristalinos. La misma se basa en los siguientes principios: los cristalinos de los ojos de las liebres, de los conejos, y probablemente de la mayoría de los mamíferos (incluido el hombre), crecen constantemente durante toda la vida. Las nuevas fibras de la lente proliferan continuamente, por crecimiento y elongación de las células epiteliales de la zona del ecuador de la misma. Estas fibras lenticulares, ubicadas en el centro de la lente, permanecen en reposo durante la vida intrauterina. Luego, durante el desarrollo del animal y debido a la avascularidad de la lente, las células y fibras ubicadas en el centro pierden la membrana celular y se transforman en densas y rígidas, por la pérdida de agua de su citoplasma. Como hay muy poca variación en el crecimiento de los cristalinos de los mamíferos y éste además es lento; permite elaborar una curva que sirve para determinar la edad. Asimismo, esta técnica es menos sensible a los problemas de alimentación, como sí lo es la que tiene en cuenta el desarrollo dentario.

Estas comprobaciones se vieron favorecidos por los hallazgos de Friend y Severinghaus en 1967. Por ellos se conoce que el crecimiento de los cristalinos está influenciado por la alimentación de la madre durante la fase prenatal, pero, que probablemente las condiciones alimenticias, no tienen efecto durante la fase posnatal de la vida (28).

El PC puede ser medido por varios métodos. El más frecuente consiste en el fijado en formol al 10%, secado en estufa durante un tiempo determinado y pesado en balanza de precisión (27). En la LE fue utilizado por: Rieck en 1962 (61); Bujalska y col., en Polonia en 1965 (16); Rongstad en Canadá en 1966 (63); Broekhuizen, en Holanda en 1971 (10); Andersen y Jensen, en Dinamarca en 1972 (3); Cabon-Raczynska y Raczynski, en Polonia en

1972 (17); Pepin, en Francia en 1974 (54); Brandani y col., en 1978, en San Carlos de Bariloche, Río Negro (9); Andersson y col., en 1979 en Suiza (4); Broekhuizen y Maaskamp, en 1979 nuevamente en Holanda (12); Okamoto, en Japón y Poulet, en Francia, en 1980, en roedores (52,58); Suchentrunk y col., en 1991, nuevamente en la LE (70).

Rieck, en 1962 (61), es el primero en comprobar que en Europa desde septiembre (marzo, HS) hasta fines de diciembre (junio, HS), la reproducción en la LE entra en un período de descanso. Asimismo, por una brusca caída en el histograma de los PC, demuestra que es posible diferenciar entre liebres en su primer año de vida y liebres nacidas en años anteriores.

Objetivos

En el presente trabajo se estudió la reproducción de la Liebre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778), durante todo un ciclo anual, y se determinaron las edades por dos métodos: 1) observación de los puntos de osificación del cúbito y el radio; 2) determinación del peso seco de los cristalinos. Estos aspectos están íntimamente relacionados con el manejo biológico de la temporada de caza de la Liebre europea, en la Provincia de Buenos Aires.

Materiales y Métodos

Para la realización de este trabajo se muestrearon mensualmente una media de 30 liebres (n=30) durante un año completo y, además, se realizaron muestreos complementarios para contrastar los parámetros reproductivos hallados. De esta manera, se obtuvieron 829 ejemplares en total (n=829); tratando de llegar a un número de muestras significativo, como lo han hecho los autores mencionados en la literatura (9,14,25,26,29,33,34,56,59,60,77).

Las capturas se realizaron en el Partido de Azul, Provincia de Buenos Aires, y zonas aledañas. La elección de la zona mencionada se debió a que allí se desarrolla la mayor actividad de caza y procesamiento de liebres en plantas frigoríficas (24,30). El muestreo abarcó dos etapas:

1) En el frigorífico:

Durante la temporada oficial de caza, que se extiende desde el mes de mayo hasta el mes de julio de 1986 (DRNE,MP,PBS), se tomaron muestras al azar de los animales que llegaban a la playa de faenamiento de la planta (EFASA) y que eran originarios de la zona anteriormente mencionada.

2) A campo:

Al finalizar la mencionada temporada, desde el mes de agosto de 1986 y hasta el mes de abril de 1987, se capturaron ejemplares a campo, mensualmente, en la misma zona y con idéntica metodología de caza. Esta difícil tarea se realizó con la colaboración de cazadores de

la zona que trabajaban para la mencionada planta (EFASA), con la correspondiente autorización de la DRNE,MP,PBS.

Muestras:

A cada ejemplar entero, con vísceras, sin modificación alguna, se le aplicó una caravana de plástico en el miembro anterior izquierdo con el número de protocolo correspondiente. Con el ejemplar así numerado se procedió a:

En las hembras:

- 1) Registrar el peso en gramos.
- 2) Observar los genitales externos.
- 3) Seguidamente, abrir el animal según una técnica de rutina para pilíferos (36).
- 4) Una vez retirada la masa intestinal, examinar el aparato reproductor, observando:
 - a) El útero: para determinar, por la presencia de embriones, si había o no estado de preñez y su grado de desarrollo (14,21,26,29,56,59).
 - b) Los ovarios: para determinar la presencia - ausencia de folículos y cuerpos lúteos (14,26,59).
 - c) Glándulas mamarias: para determinar la presencia - ausencia de leche y su cuantificación en escala de 0 a 4 (14).
- 5) Seguidamente, extraer todo el aparato reproductor. En casos de preñeces muy avanzadas, dado que los embriones pueden superar los 100 gramos de peso (15,67), se abrió el útero y se numeraron los embriones con su protocolo de necropsia. A los ovarios se los diferenció en izquierdo y derecho.
- 6) Fijar todo el material en formol neutro al 10% y guardarlo en contenedores plásticos.

- 7) Cortar el miembro anterior izquierdo, a la altura de la articulación escápulo humeral y guardar cada uno, con su protocolo, en los mismos contenedores plásticos.
- 8) Proceder a la extracción de los globos oculares, izquierdo y derecho, cortándolos con bisturí y e incluirlos junto al aparato reproductivo, en formol al 10%.
- 9) Tomar nota de todos los datos en cuadernos, en los que cada hoja llevaba el correspondiente número de protocolo.
- 10) Trasladar el material al laboratorio de la CPAP,FCV,UNLP.

En los machos:

Se procedió de igual manera que en las hembras hasta el paso número 3.(incluido). Los siguientes pasos fueron:

- 4) Una vez abierto el animal, observar los testículos, su aspecto, tamaño, irrigación, y estado general.
- 5) Cortar los testículos, junto con el epidídimo, diferenciándolos en izquierdo y derecho. En este momento se procedió a observar la presencia - ausencia de líquido seminal en la cola del epidídimo, al hacer el corte y presionar. Ésto sirvió de dato confirmatorio ante cualquier duda, en el estudio de frotis en el laboratorio. (26,29,56,59).

Los pasos 6, 7, 8, 9, y 10 se realizaron de la misma forma que en las hembras. Esta metodología se aplicó de igual modo en animales capturados a campo, como en aquellos muestreados en frigorífico.

Tareas de laboratorio:

Podemos dividirlos en dos: I) Estudio del aparato reproductor y II) Determinación de edades.

I) Estudio del aparato reproductor:

Peso y dimensiones de los testículos:

Tanto el peso de los testículos como el del epidídimo están sujetos a considerables variaciones durante el ciclo anual. Por ello, se los consideró, como lo sugiere la literatura, como un indicador de la condición de funcionalidad sexual en los machos (14,26,59), y se tomó el peso de dichos órganos, antes de ser lavados con AC y secados (26,59).

Volumen:

La curva que representa las variaciones en el peso de los testículos coincide con la curva del volumen de los mismos. Como se considera a esta relación, un buen índice de la actividad sexual (1,14,26,29,35,59), Se tomaron las medidas del largo, ancho, y espesor de los testículos por medio de un calibre Se las expresó en milímetros, como una relación matemática que multiplica estos tres valores (59).

Participación de los machos en la reproducción:

La presencia - ausencia de líquido espermático se consideró un indicador de la actividad sexual y, por lo tanto, del principio y fin de la actividad reproductiva en los machos (9,14,29,59,77). Hay que tener en cuenta que la ovulación en la LE es inducida por el coito (14) y, por ello, el comienzo de la ER y la variación en la aparición de las primeras concepciones, dependen del desarrollo de la espermatogénesis.

Con los machos examinados en los que no se encontró líquido seminal (en el momento del corte y presión de la cola del epidídimo) se procedió luego, al diagnóstico histológico.

Peso y dimensiones de los ovarios:

Las medidas y el peso de los ovarios, junto a la presencia de cuerpo lúteo, fueron el indicador preciso del inicio y finalización de la ER. Se utilizó la misma técnica, que para testículos, descrita más arriba , para determinar las medidas y el peso de los ovarios (9,14,25,26,59).

Participación de las hembras en la reproducción:

Se consideraron como sexualmente activas y en reproducción, todas aquellas hembras en estados tempranos o avanzados de preñez, como así también las que presentaron cuerpo lúteo (1,14,19,26,29,44,45,51,59,77).

Embriones:

Para poder conocer el grado de maduración embrionaria, se utilizaron dos indicadores: el peso y el largo de los embriones (14,15,26,67). Se midió el largo, con un calibre de precisión, y se expresó esta medida en milímetros; seguidamente, se pesaron los embriones en balanza de precisión, expresando su peso en gramos.

II) Determinación de edades:**Tratamiento de los huesos del miembro anterior**

Los estadios óseos mencionados anteriormente, que coinciden probablemente con los primeros meses de vida de la LE, se pueden observar más fácilmente en los huesos limpios (12,16,17,54,69). Por lo tanto se trataron los miembros anteriores izquierdos de la siguiente manera:

1) Una vez cortados se colocaron en bolsas de nylon con su respectivo número de protocolo en su interior y se cerraron las bolsas. El número de protocolo se marcó a fuego en caravanas de plástico.

2) Pasado un período de tiempo de tres a seis meses, durante el cual el tejido blando se descompuso y pudo ser retirado de los huesos, se lavaron en AC los miembros con cepillo y se colocaron en estufa de secado durante 24-48 horas. En algunos casos se los hirvió con AC directamente en un recipiente, de 3 a 4 horas y luego se lavó todo en AC.

3) Con los huesos del miembro anterior limpio, se procedió a observar a ojo desnudo y en algunos casos con ayuda de una lupa, los siguientes puntos:

a) Los dos núcleos óseos situados en epífisis proximal del olécranon y el cartílago epifisiario situado debajo de ellos, en el cúbito.

b) El estado del disco epifisiario situado entre la epífisis proximal del radio y la diáfisis del mismo hueso.

c) Los dos discos epifisarios situados entre la diáfisis y la epífisis distal del cúbito y del radio.

Las liebres que presentaron la osificación de cartílago epifisiario distal del cúbito y del radio, y la ausencia de protuberancia, se tomaron como adultas; es decir de más de ocho meses de edad (12,16,17,54,69).

Cristalinos:

1) Extracción y Fijado:

Se extrajeron ambos globos oculares, colocándolos en una solución de formol en agua destilada (1 parte de formaldehído al 40 % + 9 partes de agua destilada).

2) Secado en estufa:

Luego de fijados en la solución de formol los globos oculares (izquierdo y derecho), se abrieron y se extrajeron los cristalinos; se los lavó en agua destilada y luego se los colocó en

estufa de secado (con circulación de aire forzado), durante 6 días a 80 ° C., según la técnica de Broekhuizen y Maaskamp (12).

3) Pesado:

Al finalizar este período, se pesaron en balanza analítica dentro de un período de tiempo que no excedía las 2 horas, según las recomendaciones dadas por Cabon-Raczynska y Raczynski, en 1972 (17). Se expresaron los pesos en miligramos y se tomó nota de los mismos en los cuadernos de datos.

Tratamiento de la información

Todos los datos fueron registrados en cuadernos, como ya se lo ha expresado, y cada hoja llevó un número, correspondiente al número de protocolo de cada ejemplar.

Los datos se pasaron a una planilla electrónica de cálculo. En principio, se utilizó el programa Lotus 123, versión 2.0 (5). En el mismo se crearon:

Una planilla llamada liebre.wk1. En cada columna se anotaron todas las variables a estudiar: número de protocolo; sexo; funcionalidad; peso corporal; PC a 80° C.; EO; peso de la glándula izquierda (TOSS); peso de la glándula derecha (TOSS); largo, ancho y espesor de la glándula izquierda (TOSS); largo ancho y espesor de la glándula derecha (TOSS); volumen de la glándula izquierda (TOSS); volumen de la glándula derecha (TOSS); lactación y observaciones.

Explicación de las fórmulas usadas:

Funcionalidad: se crearon 4 categorías, según el estado funcional de las gónadas. En los machos: Activo (presencia de líquido espermático en epidídimo y túbulos seminíferos); Reposo (ausencia del mismo). En las hembras: Preñada (presencia de cuerpo lúteo y fetos); No Preñada (ausencia de los mismos) (14,26,59).

Volumen de las glándulas: se utilizó la relación largo x ancho x espesor, de la glándula izquierda; dando como resultado el VGI. Con respecto a la derecha, se aplicó el mismo criterio; dando como resultado el VGD.

La relación final fue la media: $(VGI + VGD)/2 = XVGON$.

Peso de las glándulas: se utilizó el mismo criterio explicado para el volumen y se determinó una media de peso glandular final: $(PGI + PGD)/2 = XPGON$ (26,59).

Lactación: se crearon cinco categorías, enumeradas de 0 a 4, Desde 0 = ausencia, hasta 4 = abundancia de SL (14).

NEMB: suma de NEMB presentes en el cuerno izquierdo del útero + NEMB presentes en el cuerno derecho del útero.

NCL: suma de NCL presentes en el ovario izquierdo + NCL presentes en el ovario derecho.

Edad: Adultos = ejemplares con PC \geq 230 miligramos o EO \geq 8 (3,10-12,17,69,70).

Tratamiento de los datos:

Para realizar los cálculos y gráficos se utilizó la planilla Excel, versión 4.0 para Windows (47-49). El tratamiento de los datos varió según la naturaleza de las variables estudiadas, pero en general podemos decir lo siguiente:

Los datos *cuantitativos*, resultado de mediciones (e.g. peso, peso de las gónadas, PC, etc.), se compararon usando análisis de la varianza, prueba de Fisher (65). Los datos *enumerativos*, resultado de conteos numéricos (e.g. número de embriones, número de cuerpos lúteos, etc.), se compararon usando la prueba de Chi cuadrado (39). En los casos que se indican en las tablas se utilizó la transformación a raíz cuadrada. (66). Como software estadístico se utilizó: Systat, versión 5.02 para Windows y SPSS para Windows, versión 5.01(31,40). Se consideró un nivel de significación del 5% como significativo ($p < 0.05$) (65). Para manejo de la

información bibliográfica se usó el programa Reference Manager versión 7.00 para Windows y MS Word versión 6.0, para escribir el manuscrito.

Resultados

En la Tabla N°1 se presenta el material estudiado, clasificado en meses. Los primeros 13 meses, corresponden al ciclo anual completo (mayo de 1986 - mayo de 1987, n= 559); los siguientes 7 (14, May-88; 15, Jun-88; 16, Jul-88; 17, Nov-89; 18, Dic-89; 19, Jul-90; 20, Jul-90a; n= 270), corresponden a un muestreo de contraste de meses en forma individual. Sobre un total de 829 animales muestreados, encontramos 407 hembras (49.10%) y 422 machos (50.90%). La razón de sexos de machos a hembras fue la siguiente: 1:0.96 y, la prueba de Chi cuadrado, no arroja diferencias significativas ($\chi^2 = 14.20$, g.l. =19, $p=0.77$, $s= ns$).

En la Tabla N°2, observamos la actividad sexual de los machos expresada mensualmente, en forma de porcentaje. Sobre un total de 422 ejemplares, encontramos 297 ejemplares activos (70.4%) y 125 ejemplares en reposo (29.6%). La actividad sexual comienza en el mes de mayo (5 en la figura) y alcanza un pico en julio con 36 ejemplares activos vs 1 ejemplar en reposo (97.3% vs 2.7%). Luego, se mantiene en un nivel cercano al 20% hasta febrero (2 en la figura), donde comienza a decaer. En marzo la actividad es mínima, con 2 ejemplares activos vs 17 ejemplares en reposo (10.5% vs. 89.5%). La misma actividad se vuelve ascendente a partir de abril, con 10 ejemplares activos vs. 12 ejemplares en reposo (45.5% vs. 54.6%). Encontrándose diferencias altamente significativas en la distribución de ejemplares activos y en reposo ($\chi^2 = 184.9$, g.l. =19, $p < 0.0001$).

En la Tabla N°3, observamos la actividad sexual en machos expresada en este caso como PP y VP de testículos, en ejemplares activos y en reposo ($m \pm de$). A partir del mes de mayo (5, en la figura) comienzan a ascender los valores de PP y VP. Los ejemplares activos alcanzan un PP de 4.24 y un VP de 5.60. En el mes siguiente, la curva asciende y el PP de

ejemplares activos es de 8.63 y el VP 11.58. Continúa la curva en ascenso hasta el mes de agosto (8, en la figura); aquí observamos un PP de ejemplares activos de 13.07 y un VP de 16.49, mientras que se hace notorio la tendencia a descender representada por los ejemplares en reposo (0 animales en reposo). La curva se estabiliza, entonces, y continúa así durante toda la ER hasta llegar al mes de enero (PP de activos = 6.75, VP = 9.30), donde comienza a descender. El valor mínimo se da en el mes de marzo (3, en la figura), donde el PP de activos es de 1.71 y el VP 1.97. El análisis de correlación entre peso (p) y volumen (v) alcanza un valor significativo muy alto ($r = 0.96$, $F = 3076$, g.l. = 1/266, $p < 0.0001$) y la relación entre ambos valores se establece en una recta de regresión, que da los siguientes valores: $p = 0.4911 + 0.7261 (v)$. Al mismo tiempo, el análisis de varianza del peso corporal de los ejemplares arroja un resultado altamente significativo ($F = 3.36$, g.l. = 1/255, $p < 0.001$).

En la Tabla N°4, observamos la actividad sexual de las hembras expresada mensualmente en forma de porcentaje. Sobre un total de 407 ejemplares, encontramos 149 HP (36.6%) y 258 hembras no preñadas (HNP) (63.4%). La actividad sexual comienza en el mes de junio (6 en la figura) y alcanza un pico en julio (16 HP vs 20 HNP; 44.4% vs 55.6%). Luego, se mantiene en un nivel de preñez cercano al 50% hasta febrero (2 en la figura), donde comienza a decaer. En marzo, la preñez es mínima (1 hembra preñada vs 21 HNP (95.5% vs. 4.5%); llegando a 0% en el mes de mayo. La misma preñez se vuelve ascendente, nuevamente, a partir de abril y así se completa el ciclo. Las diferencias en la distribución de HP y HNP, analizada utilizando la prueba de Chi cuadrado, fueron altamente significativas. ($\chi^2 = 158.58$, g.l. = 19, $p < 0.001$).

En la Tabla N°5, observamos la actividad sexual en hembras expresada en este caso como PP y VP de ovarios en HP y HNP ($m \pm de$). A partir del mes de junio (6, en la figura), comienzan a ascender los valores de peso y volumen. Las HP alcanzan un PP de 3.15 y un

VP de 4.49; la curva de peso y volumen continúa ascendiendo hasta llegar al mes de agosto (8, en la figura; PP = 3.55, VP = 4.31, pico máximo). Luego, la curva alcanza un segundo pico en el mes de octubre (10, en la figura; PP = 2.34, VP = 3.11), para mantenerse en forma levemente descendente hasta llegar al mes de febrero (2, en la figura; PP = 2.39, VP = 3.20) y, luego, descender hasta un valor mínimo, en mayo del siguiente año. El análisis de correlación entre peso (p) y volumen (v) alcanza un valor significativo muy alto ($r = 0.961$, $F = 3491.1$, g.l. = 1/288, $p < 0.0001$), y la relación entre ambas variables se establece en una recta de regresión que arroja los siguientes valores: $p = 1.0 + 0.687(v)$. El análisis de varianza del peso corporal de los ejemplares arroja, en cambio, un resultado no significativo ($F = 1.31$, g.l. = 1/278, ns).

En la Tabla N°6, observamos la actividad sexual sobre un total de 186 HA en ciclo anual. En el mes de mayo, encontramos sobre 13 hembras adultas: 0 HACE, 0 HACL, 0 HSA y 13 HSI (13/13 = 100.0%). En junio, sobre 22 HA encontramos: 1 HACE, 1 HACL, 2 HSA (9.1%) y 20 HSI (90.9%). En agosto, encontramos sobre 16 HA: un 62.5 % de HACE (10/16), un 37.5% de HACL (6/16) y 0% de HSI. Así, el porcentaje de HACE llega a su punto máximo en febrero (84.6%, 11/13) y, luego, decae hasta llegar a un 0% en mayo (0/11). Observándose sobre un total de 186 HA: 62 HACE (33.3%), 66 HACL (35.5%), 128 HSA (68.8%) y 58 HSI (31.2%).

En la Tabla N°7, observamos la actividad sexual de HA en ciclo anual expresada como NO, NI y ME. El NO se definió como la cantidad de cuerpos lúteos visibles encontrados al corte del ovario, agrupado mensualmente ($x\ NO = NO/NHAP$). Se decidió no tomar en cuenta el número de cuerpos lúteos en hembras que no tenían embriones en su útero, por la dificultad que implica determinar los estados de preimplantación (59). El NI se consideró como el número de embriones visibles macroscópicamente y agrupados

mensualmente ($x \text{ NI} = \text{NI}/\text{NHAP}$); o sea, todos los estados de implantación capaces de ser establecidos macroscópicamente, en el momento de abrir el útero (1,26,29,59). La ME se consideró como la diferencia entre el número de embriones y el número de cuerpos lúteos hallados, expresada en forma de promedio mensual (ME/NHAP) (26,59).

En el mes de mayo y junio, los NO y NI son mínimos. Es, a partir del mes de julio, que encontramos un NO de 1.33 (4 cuerpos lúteos / 3 HP adultas), un NI también de 1.33 (4 embriones / 3 HP adultas) y una ME de 0, ($4 - 4 = 0$). En el mes de octubre, el NO hace un primer pico (2.83) y en los meses de diciembre y enero alcanza los valores más altos (3.38 y 3.57, respectivamente). Luego, el NO y el NI descienden hasta llegar, nuevamente, a un valor cero, en mayo.

Sobre 62 HAP encontramos los siguientes valores promedio anuales: NO = 2.61, NI = 2.02 y MO = 0.60. La distribución de embriones sobre las 62 HAP fue la siguiente: 18 HAP con 1 embrión, 26 HAP con 2 embriones, 17 HAP con 3 embriones y 1 HAP con 4 embriones.

Como puede observarse en la Tabla N°6, tomando nosotros, de acuerdo a Raczyński (59), los meses de mayor número de hembras adultas con embriones (HACE), agosto a febrero (rectángulos grandes, HACE = 56, total de adultas = 102). Las 56 HACE encontradas, divididas por el total de adultas (102) dan un porcentaje de preñez de 54.9%. Por otro lado, llevando a días los 7 meses (agosto a febrero) dan como resultado 210 días y dividiéndolos por 42 (duración de la preñez), obtenemos un resultado de 5 ciclos calculados en la ER. Luego, multiplicando el porcentaje de preñez hallado (54.9 %), por la cantidad de ciclos calculados (5), obtenemos 2.75, que representa el número de ciclos observado.

Finalmente, el número de ciclos observado (2.75) por el nivel de ovulación promedio hallado (2.02, Tabla N°7) y, ajustando las cifras de los cálculos previos a dos decimales, da como resultado 5.53, que representa el número promedio calculado de embriones producidos

por una hembra en el ciclo anual, o sea, la producción de jóvenes por año. Todos estos datos se pueden observar en la Tabla N°8.

Peso y Longitud de Embriones.

En la Tabla N°9a, analizamos la varianza del peso y del largo de los 125 embriones visibles macroscópicamente, resultantes de las 62 HAP expresadas en la Tabla N°7. Con respecto a la distribución en ambos cuernos, derecho e izquierdo, no se hallaron diferencias significativas en las medias observadas, para las gestaciones de 1 y 2 embriones, *i.e.*:

1 embrión: Fisher =0.75, g.l. = 1/16, p= ns.

2 embriones: Fisher =2.08, g.l. = 1/50, p= ns.

Para gestaciones de 3 embriones, la distribución fue significativamente diferente, *i.e.*:

3 embriones: Fisher =7.11, g.l. = 1/49, $p < 0.01$; 30 embriones en cuerno izquierdo, con una media de peso de 53.6 gramos. vs. 21 embriones en cuerno derecho, con una media de peso de 84.7 gramos.

En el análisis total de los 17 gestaciones de 3 embriones, observamos que la media de peso (66.4 gramos) fue significativamente mayor que las medias de los otros 3 agrupamientos (Fisher =4.3, g.l. = 1/124, $p < 0.01$, Tabla N°9b)

Lactación:

Sobre un total de 75 hembras lactantes se encontraron 201 cuerpos lúteos y 81 embriones. La distribución se puede observar en la Tabla N°10. Se pudo hallar un coeficiente de correlación muy alto y significativo, entre la distribución del número de HP lactantes y el número de cuerpos lúteos ($r = 0.99$, $p < 0.0001$). También, entre el número de HP lactantes y el número de embriones ($r = 0.96$, $p < 0.0001$).

Peso de Cristalinos:

En la Tabla N°11, se observan los resultados obtenidos luego de agrupar PC (secados a 80°C), obtenidos para cada EO. De esta manera se obtuvo, para cada EO encontrado (de 3 hasta 10), la media \pm desvío estándar, de cada grupo de estos 678 ejemplares, que tenían datos de determinación de edad para los dos métodos. El análisis de la varianza aplicado sobre esta distribución arroja diferencias altamente significativas ($F = 189.9$, $p < 0.005$). Luego, se contrastaron los grupos en orden ascendente (e.g. 3 vs 4; hasta 8 vs 9). En el primer contraste, no se obtuvieron diferencias significativas; mientras que, en los siguientes, los valores de F fueron altamente significativos ($p < 0.005$). Además, sobre 265 ejemplares que comprendieron, la temporada de caza (mayo - julio), se analizaron los datos de PC dentro del rango de 100 a 450 mg.; detectándose que el intervalo de frecuencia de división de edades caía dentro de la zona de 280 mg. El descenso, se producía a partir de 230 mg, por lo tanto se tomó ese intervalo y el EO = 8, como la división de jóvenes - adultos (12,16,17). Todos los criterios de división se aplicaron sobre esta base. Así se obtuvieron las 186 HA sobre 291 en total (durante los meses de mayo de 1986 a mayo de 1987) que se expresan en la Tabla N°6 y, además, pueden verse en la siguiente reseña:

EDAD	hembras	machos	Total
adultos	186	154	340
jóvenes	105	114	219
Total	291	268	559

La proporción de adultos hembras (64%) no difirió significativamente de la de adultos machos (57.5%). La proporción total de adultos fue del 61%. ($\chi^2 = 2.17$ g.l. = 1, $p = ns$).

Discusión

Reproducción

El material estudiado no arroja diferencias significativas en lo que hace a la distribución de sexos, computando las muestras del ciclo anual (ca) y las complementarias (c) (Tabla N°1). Este hallazgo concuerda con resultados de otros autores: Raczynski, encontró una relación de sexos de 380:349 (1:0.92) (59); Flux, una de 446:556 (1:1.24) (26), y nuestros datos son similares (1:0.96).

Es muy probable que la proporción de sexos varíe según el método de caza: con luz de día hay más actividad de apareamiento de los machos y las hembras se esconden (durante la ER) y, en contraste, el material cazado durante la noche equipara los dos sexos. Además, según Flux (26), la diferencias significativas encontradas en sus muestras (1:1.24) en favor de las hembras, se deben a una probable longevidad de las hembras, hecho que debería probarse con diferentes tipos de muestreo.

La actividad sexual de los machos, expresada como presencia de líquido espermático en testículo y epidídimo, comienza en el mes de mayo y, la preñez en las hembras, comienza en el mes de junio (Tablas N°2 y N°4). Alcanzan las dos un pico en julio y finalizan ambas en febrero - marzo. Esta observación coincide con lo expresado por Raczynski (59), que señala en la pagina 323: "Los primeros machos activos aparecen en diciembre (junio, en HS), mientras que las primeras HP aparecen en enero (julio, en HS). La actividad reproductiva de las hembras comienza uno o dos meses más tarde que la de los machos, y se debería a un grado de disposición de las hembras diferente al de los machos" Al mismo tiempo, si observamos el comportamiento del peso y volumen de las gónadas (Tablas N°3 y N°5), podemos señalar que la curva de crecimiento de peso y volumen comienza a evolucionar ya

en el mes de mayo, en los machos tiene un mayor desarrollo en junio y, en ambos, alcanza el pico en agosto. Esto demuestra que la actividad sexual puede ser graficada por el desarrollo del peso y el volumen de las gónadas y, por otro lado ambos parámetros correlacionan significativamente.

La finalización de la ER representada por el peso y el volumen acontece a partir del mes de marzo, estos datos coinciden por lo expresado en otros trabajos (1,14,26,29,59). En cuanto al porcentaje de hembras activas con embriones, HACE (Tabla N°6), observamos que en mayo tiende a cero y el de hembras sexualmente inactivas (HSI, sin cuerpo lúteo y sin embriones visibles) tiende a un 100%, estas cifras se incrementan levemente en junio pero demuestran ya el inicio de la actividad, que al llegar al mes de agosto se acerca al 100%. Estas observaciones coinciden con los datos de Raczynski (59) que señala que las primeras HP aparecen en enero (julio en HS) y finalizan en octubre (abril en HS). Flux (26), expresa para esta misma latitud que, la actividad sexual de hembras comienza en junio y declina en abril; agregando que el comienzo de la ER es aproximadamente el mismo en casi todos los países, teniendo poco en cuenta las condiciones ambientales, pero sí la longitud del día (factor lumínico) es el que juega el factor más importante. Nosotros podemos agregar, de acuerdo a lo observado, que en nuestro medio, la actividad reproductiva tiene su punto de inflexión en el día más corto del año que se ubica en la mitad del mes de junio. A partir de allí comienza un nuevo período de actividad.

Los niveles de implantación hallados ($n_i = 2.02$, Tabla N°7) son muy similares a los encontrados por otros investigadores (Raczynski (59) = 2.76; Flux (26) = 2.55; Amaya y col., (1) = 2.27; Pielowski (57) = 2.3).

La relación de hembras activas con embriones, sobre el total de adultas, expuesta en la Tabla N°8, arroja un porcentaje de preñez cercano al 55%. En los 5 meses de preñez calculados, obteniendo con estos datos, un IP de 2.75 y un valor final de 5.53 jóvenes por año (JPA). Los valores de JPA hallados por otros autores, se ubican en un rango de 4 a 12; Kolosov en 1941, calcula un valor de JPA de 7 (35); Amaya en 1979, 4.65 (1); Pielowski en 1971, 6.5 - 9 (57); Raczynski en 1964, 7.8 (59); Flux en 1967, 9.8 (26); Broekhuizen en 1981, 11.02 (14). Por último Frylestam en 1980 (29), calcula un IP de 2.9 y un valor de JPA de 6.8 - 8.9; afirmando que el número promedio de crías o IP, está probablemente relacionado a las condiciones climáticas favorables de la ER.

Por nuestros datos, calculamos, que para una hembra adulta, haya probablemente una ER cercana a las 3 pariciones por año, con una media de nacimientos lévente superior a 2 embriones por alumbramiento y un número final de entre 5 a 6 jóvenes por hembra adulta por año.

Los datos biométricos de los embriones coinciden con lo aportado por Broekhuizen y col., en 1979 y 1982 (11,14,15), hallando nosotros, pesos promedio cercanos a los 40-50 gramos para gestaciones de 2 embriones y de 60-70 gramos para gestaciones de 3 embriones, con una tendencia a un mayor peso en cuerno derecho.

En hembras lactantes, podemos comparar nuestros datos en forma parcial con los obtenidos por Raczynski en 1964 (59) y Broekhuizen y col., en 1981(14) y concluir que son similares en la correlación gestación-lactancia.

Los pesos corporales de las Tablas N°3 y N°5, presentan diferencias en machos y no en hembras. Este hecho esta probablemente relacionado con la escasa contribución en el peso corporal adulto de las hembras grávidas comprobado por Flux (26). El mismo observó, que

las diferencias significativas halladas en pesos corporales están relacionadas con la latitud y por ende a las condiciones climáticas.

Eldades:

1) Extracción y Fijación de los globos oculares: Es amplia la cantidad de autores que hablan sobre cómo extraer los globos oculares y cuándo realizarlo (3,10,17). Se puede decir que hay que extraer los globos oculares en el menor tiempo posible y realizar la fijación en la solución de formol. En nuestro caso, se trató de realizar esta tarea en el menor tiempo posible, pero no siempre se pudo cumplir esto por razones propias del tipo de muestreo y la distancia a recorrer. Se trató de no dejar pasar las 24 hs. de muerte, pero en algunos casos las muestras se congelaron inmediatamente a la muerte. Estos factores (tiempo y congelación) producen, según lo señala Broekhuizen en 1971(10), una disminución en los valores definitivos de peso seco. Aunque, como lo demuestran Andersen & Jensen, (3), las diferencias no exceden un porcentaje del 2%.

2) Solución de formol: La mayor parte de los trabajos hablan de una fijación en formol al 10 % (1 parte de formaldehído al 40 % + 3 partes de agua destilada) (10,17). Algunos investigadores no usaron el formol ni la fijación (16). También, se ha probado que las diferencias entre fijación al 4 % y al 10 % hacen que en la más baja concentración, el PC resultante sea algo menor (10,12). Nosotros observamos que, en algunos casos de animales con clara desaparición de la protuberancia epifisial inferior (Estadio N° 9); el PC no alcanzaba los 240-250 mg.. Probablemente, esto confirma la pequeña diferencia en mg., necesaria para llegar a la separación de jóvenes a adultos. Por todas estas observaciones, tomamos el peso de 230 mg, como umbral de segregación entre jóvenes y adultos.

3) Período de tiempo utilizado en la fijación: Andersen & Jensen, en 1972 (3), utilizaron un tiempo de fijación de 5 meses. Cabon-Raczynska & Raczynski, en 1972 (17), 1 semana; otros autores, pasaron al secado sin fijación (16). Nosotros trabajamos con un tiempo de 15 días, que en algunos casos se alargó por dificultades propias del muestreo (no más de 48 - 72 hs.).

4) Período de tiempo de secado y temperatura: Andersen & Jensen en 1972 (3), utilizaron una temperatura de secado de 90° C durante 4 días. Cabon-Raczynska & Raczynski en 1972 (17) usaron dos períodos (1°) durante aproximadamente 48 hs. mantenían una temperatura de 40-80 ° C ; (2°) luego elevaban la temperatura a 100° C en el tiempo necesario para llegar a masa constante. Nosotros utilizamos una temperatura de 80° C, durante 6 días. Además, incluimos en la estufa, una corriente de aire forzado para estabilizar la temperatura interna de la misma (41).

Conclusiones

La estación reproductiva de la Liebre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778), en nuestra Provincia de Buenos Aires, comienza en el período de mayo - junio y, finaliza, entre febrero - marzo; observándose un comportamiento similar respecto a otras estudiadas en diferentes latitudes. Entre los meses de marzo y mayo, se puede observar un receso en la actividad reproductiva.

El peso y el volumen de las gónadas, así como la presencia - ausencia de espermatozoides y cuerpos lúteos, son los mejores indicadores de la actividad reproductiva. La lactación correlaciona con el nivel de ovulación y el nivel de implantación.

Los datos obtenidos permiten concluir que para una hembra adulta haya, probablemente, una estación reproductiva de casi 3 pariciones por año, con una media de nacimientos levemente superior a 2 embriones por alumbramiento, con un peso promedio entre 40-60 gramos por embrión y un número final de entre 5 a 6 jóvenes por hembra adulta por año.

Encontramos la división entre jóvenes y adultos, a partir de un peso promedio de cristalinos de 230 mg y un estado de osificación del cúbito y radio correspondiente a N° 8. Estos métodos son, hasta el presente, los más precisos para la determinación de la edad en animales salvajes capturados a campo o criados en cautiverio.

Tablas

Tabla N°1
COMPARACIÓN DEL MATERIAL

No	Fecha	m	%	h	%	Total	%	Muestra año	r.s.	
									m	h
1	Mayo	19	4.5%	21	5.2%	40	4.8%	ca 1986	1	1.11
2	Junio	20	4.7%	30	7.4%	50	6.0%	ca 1986	1	1.50
3	Julio	37	8.8%	36	8.9%	73	8.8%	ca 1986	1	0.97
4	Agosto	22	5.2%	18	4.4%	40	4.8%	ca 1986	1	0.82
5	Setiembre	16	3.8%	24	5.9%	40	4.8%	ca 1986	1	1.50
6	Octubre	18	4.3%	22	5.4%	40	4.8%	ca 1986	1	1.22
7	Noviembre	13	3.1%	9	2.2%	22	2.7%	ca 1986	1	0.69
8	Diciembre	22	5.2%	31	7.6%	53	6.4%	ca 1986	1	1.41
9	Enero	18	4.3%	15	3.7%	33	4.0%	ca 1987	1	0.83
10	Febrero	24	5.7%	23	5.7%	47	5.7%	ca 1987	1	0.96
11	Marzo	18	4.3%	22	5.4%	40	4.8%	ca 1987	1	1.22
12	Abril	19	4.5%	17	4.2%	36	4.3%	ca 1987	1	0.89
13	Mayo	22	5.2%	23	5.7%	45	5.4%	ca 1987	1	1.05
14	May-88	24	5.7%	21	5.2%	45	5.4%	c 1988	1	0.88
15	Jun-88	26	6.2%	20	4.9%	46	5.6%	c 1988	1	0.77
16	Jul-88	6	1.4%	6	1.5%	12	1.5%	c 1988	1	1.00
17	Nov-88	21	5.0%	19	4.7%	40	4.8%	c 1989	1	0.90
18	Dic-89	4	1.0%	3	0.7%	7	0.8%	c 1989	1	0.75
19	Jul-90	35	8.3%	22	5.4%	57	6.9%	c 1990	1	0.63
20	Jul-90a	38	9.0%	25	6.1%	63	7.6%	c 1990	1	0.66
Total		422	50.9%	407	49.1%	829	100%		1	0.96

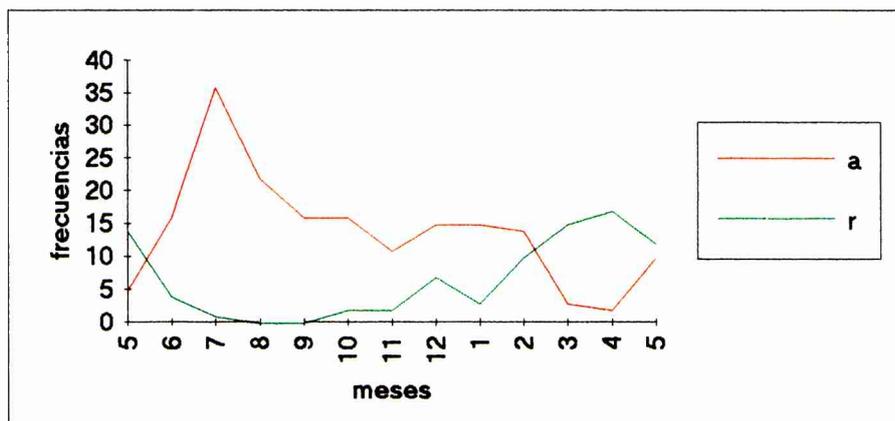
Referencias

Prueba	valor	g.l.	p	s
X ² =	14.2	19	0.77	ns
h = hembras				
m = machos				
Muestra, ca = ciclo anual completo				
Muestra, c = contrastes de meses individuales				
Prueba, X ² = prueba de Chi cuadrado				
valor = valor del estadístico				
g.l. = grados de libertad				
p = probabilidad				
s = significación				
ns = no significativo				
r.s. = razón de sexos				

Tabla N°2
Actividad sexual de los machos

No	Mes	a	r	%	%	Total	Muestra	año
1	5	5	14	26.3%	73.7%	19	ca	1986
2	6	16	4	80.0%	20.0%	20	ca	1986
3	7	36	1	97.3%	2.7%	37	ca	1986
4	8	22	0	100.0%	0.0%	22	ca	1986
5	9	16	0	100.0%	0.0%	16	ca	1986
6	10	16	2	88.9%	11.1%	18	ca	1986
7	11	11	2	84.6%	15.4%	13	ca	1986
8	12	15	7	68.2%	31.8%	22	ca	1986
9	1	15	3	83.3%	16.7%	18	ca	1987
10	2	14	10	58.3%	41.7%	24	ca	1987
11	3	3	15	16.7%	83.3%	18	ca	1987
12	4	2	17	10.5%	89.5%	19	ca	1987
13	5	10	12	45.5%	54.6%	22	ca	1987
14	May-88	3	21	12.5%	87.5%	24	c	1988
15	Jun-88	22	4	84.6%	15.4%	26	c	1988
16	Jul-88	13	8	61.9%	38.1%	21	c	1988
17	Nov-88	6	0	100.0%	0.0%	6	c	1989
18	Dic-89	4	0	100.0%	0.0%	4	c	1989
19	Jul-90	30	5	85.7%	14.3%	35	c	1990
20	Jul-90a	38	0	100.0%	0.0%	38	c	1990
Total		297	125	70.4%	29.6%	422		

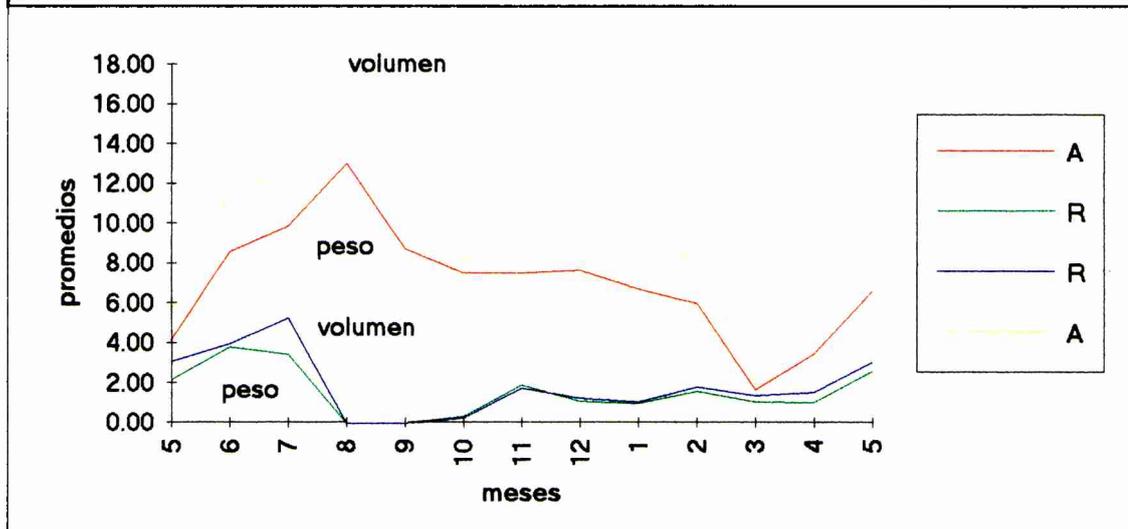
Prueba valor gl p
X² 184.9 19 <0.0001



Referencias: a = activos, presencia de espermatozoides, r = reposo, ausencia de espermatozoides, Muestra, ca = ciclo anual completo, Muestra, c = para contrastes de meses individuales, Prueba = prueba de Chi cuadrado, valor = valor del estadístico, g.l. = grados de libertad, p = probabilidad.

Tabla N° 3
Actividad sexual de los machos en el ciclo anual
Promedio de peso y volumen de los testículos en animales activos y en
reposo, expresado en gramos

No	Mes	peso		volumen		Total		peso corporal		n	Muestra	año
		A	R	A	R	p	v	m	ds			
1	5	4.24	2.22	5.60	3.12	2.75	3.77	3087.1	330.6	19	ca	1986
2	6	8.63	3.85	11.58	4.02	7.67	10.06	3121.0	439.4	20	ca	1986
3	7	9.93	3.48	12.78	5.31	9.75	12.57	3305.8	376.4	37	ca	1986
4	8	13.07	0.00	16.49	0.00	13.07	16.49	3225.5	289.5	22	ca	1986
5	9	8.76	0.00	10.60	0.00	8.76	10.60	3145.4	205.1	16	ca	1986
6	10	7.57	0.35	8.35	0.28	6.77	7.45	2859.6	917.6	18	ca	1986
7	11	7.55	1.95	8.09	1.78	6.69	7.12	3046.9	335.7	13	ca	1986
8	12	7.69	1.12	10.67	1.26	5.60	7.68	2746.4	669.5	22	ca	1986
9	1	6.75	1.02	9.30	1.09	5.80	7.93	2939.7	448.5	18	ca	1987
10	2	6.03	1.62	8.24	1.83	4.19	5.57	3005.8	412.9	24	ca	1987
11	3	1.71	1.09	1.97	1.40	1.20	1.49	2993.9	350.8	18	ca	1987
12	4	3.50	1.07	4.89	1.56	1.32	1.91	2749.7	514.3	19	ca	1987
13	5	6.67	2.65	8.37	3.11	4.48	5.50	3258.2	435.4	22	ca	1987
Total										268		



Referencias: Muestra, ca = ciclo anual completo, $y = a+b(x)$:
 recta de regresión, r = coeficiente de regresión, g.l. grados
 de libertad, p = probabilidad, F = prueba de Fisher, Anova =
 Análisis de Varianza, A = Activos, R = reposo, p = peso,
 v = volumen, m = media, n = n de las muestras, ds = desvío
 estándar.

p = peso total (A+R)
v = volumen total (A+R)

Regresión

$$y = a+b(x) ; p = 0.4911+0.7261(v).$$

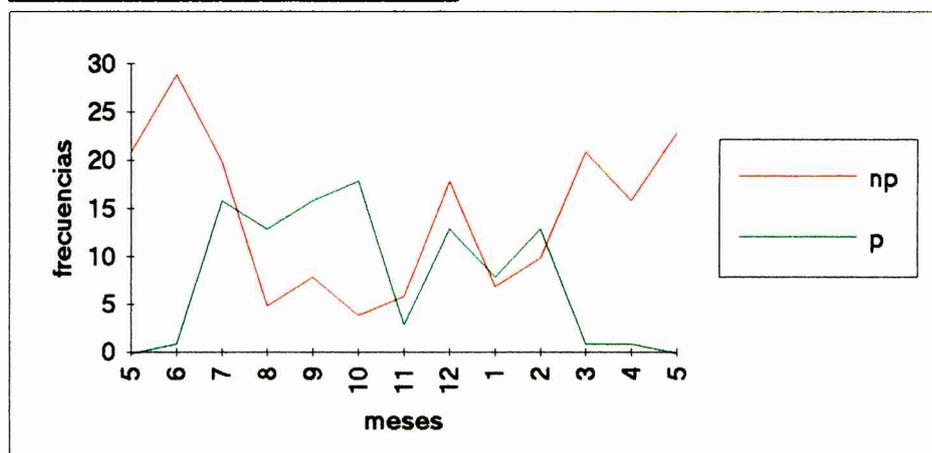
r	g.l.	F	p
0.96	1/266	3075.7	<0.0001

Anova del peso corporal

F	g.l.	p
3.366	12/255	<0.001

Tabla N°4
Actividad sexual de las hembras

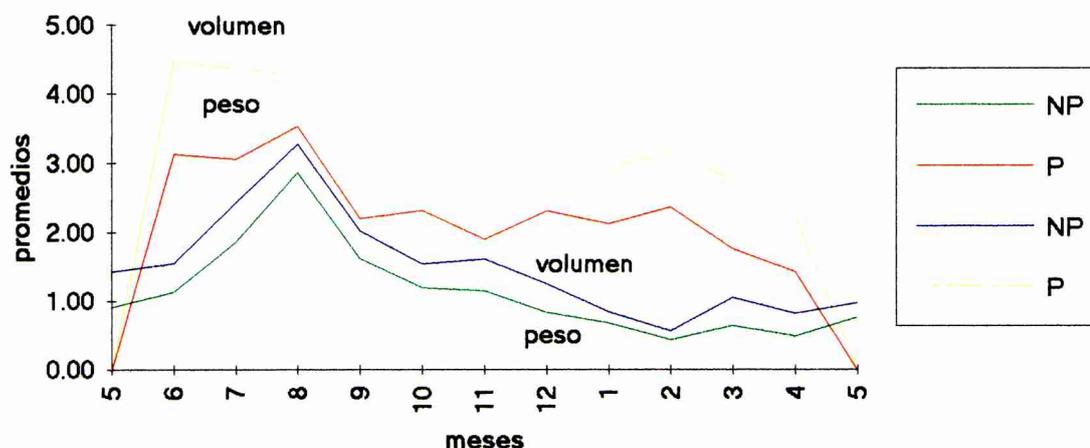
No	Mes	np	p	%	%	Total	Muestra	año	
1	5	21	0	100.0%	0.0%	21	ca	1986	
2	6	29	1	96.7%	3.3%	30	ca	1986	
3	7	20	16	55.6%	44.4%	36	ca	1986	
4	8	5	13	27.8%	72.2%	18	ca	1986	
5	9	8	16	33.3%	66.7%	24	ca	1986	
6	10	4	18	18.2%	81.8%	22	ca	1986	
7	11	6	3	66.7%	33.3%	9	ca	1986	
8	12	18	13	58.1%	41.9%	31	ca	1986	
9	1	7	8	46.7%	53.3%	15	ca	1987	
10	2	10	13	43.5%	56.5%	23	ca	1987	
11	3	21	1	95.5%	4.5%	22	ca	1987	
12	4	16	1	94.1%	5.9%	17	ca	1987	
13	5	23	0	100.0%	0.0%	23	ca	1987	
14	May-88	21	0	100.0%	0.0%	21	c	1988	
15	Jun-88	20	0	100.0%	0.0%	20	c	1988	
16	Jul-88	10	9	52.6%	47.4%	19	c	1988	
17	Nov-88	2	4	33.3%	66.7%	6	c	1989	
18	Dic-89	0	3	0.0%	100.0%	3	c	1989	
19	Jul-90	13	9	59.1%	40.9%	22	c	1990	
20	Jul-90a	4	21	16.0%	84.0%	25	c	1990	
Total		258	149	63.4%	36.6%	407			
Prueba	valor	gl	p						
X²	158.58	19	<0.001						



Referencias: p = preñadas, hembras activas con cuerpo lúteo presente.
 np = no preñadas, hembras no activas, sin cuerpo lúteo presente.
 Muestra, ca = ciclo anual completo, Muestra, c = para contrastes de meses individuales, Prueba, X² = prueba de Chi cuadrado, g.l. = grados de libertad, valor = valor del estadístico, p = probabilidad.

Tabla N°5
Actividad sexual de las hembras
Promedio de peso y volumen de los ovarios en animales preñados y no preñados, expresado en gramos

No	Fecha	peso		volumen		Total		peso corporal		n	Muestra	año
		NP	P	NP	P	p	v	m	ds			
1	5	0.93	0.00	1.45	0.00	0.93	1.45	3096.2	460.8	21	ca	1986
2	6	1.15	3.15	1.57	4.49	1.22	1.67	3352.0	289.5	30	ca	1986
3	7	1.88	3.08	2.45	4.39	2.41	3.31	3283.2	685.9	36	ca	1986
4	8	2.89	3.55	3.30	4.31	3.37	4.02	3696.7	342.3	18	ca	1986
5	9	1.64	2.22	2.05	3.03	2.03	2.70	3356.2	582.8	24	ca	1986
6	10	1.22	2.34	1.56	3.11	2.13	2.83	3421.6	567.1	22	ca	1986
7	11	1.17	1.92	1.64	2.52	1.42	1.93	3417.2	923.6	9	ca	1986
8	12	0.85	2.33	1.27	3.35	1.47	2.14	3247.4	632.6	31	ca	1986
9	1	0.69	2.14	0.86	2.94	1.47	1.97	3300.0	761.0	15	ca	1987
10	2	0.45	2.39	0.58	3.20	1.54	2.06	3327.6	954.5	23	ca	1987
11	3	0.65	1.78	1.06	2.78	0.71	1.14	3081.8	759.6	22	ca	1987
12	4	0.50	1.45	0.83	2.26	0.56	0.98	3107.4	598.4	17	ca	1987
13	5	0.78	0.00	0.99	0.00	0.78	0.99	3381.7	530.4	23	ca	1987
Total										291		



Referencias: Muestra, ca = ciclo anual completo, $y = a + b(x)$:
 recta de regresión, r = coeficiente de regresión, g.l. grados
 de libertad, p = probabilidad, F = prueba de Fisher,
 Anova = Análisis de Varianza, p = peso, v = volumen,
 m = media, n = n de las muestras, ds = desvío estándar
 NP = no preñadas, P = preñadas,
 p = peso total (NP+P)
 v = volumen total (NP+P)

Regresión
 $y = a + b(x)$
 $p = 1 + 0.687(v)$

r	g.l.	F	p
0.961	1/288	3494.1	<0.0001

 Anova de Peso Corporal

F	g.l.	p
1.31	12/278	0.21 ns

Tabla N°6
Actividad sexual de hembras adultas en el ciclo anual

Muestra					Total adultas	Porcentajes			
	HACE	HACL	HSA	HSI		HACE	HACL	HSA	HSI
Mayo	0	0	0	13	13	0.0%	0.0%	0.0%	100.0%
Junio	1	1	2	20	22	4.5%	4.5%	9.1%	90.9%
Julio	3	19	22	5	27	11.1%	70.4%	81.5%	18.5%
Agosto	10	6	16	0	16	62.5%	37.5%	100.0%	0.0%
Setiembre	6	14	20	0	20	30.0%	70.0%	100.0%	0.0%
Octubre	12	7	19	1	20	60.0%	35.0%	95.0%	5.0%
Noviembre	2	2	4	2	6	33.3%	33.3%	66.7%	33.3%
Diciembre	8	7	15	2	17	47.1%	41.2%	88.2%	11.8%
Enero	7	3	10	0	10	70.0%	30.0%	100.0%	0.0%
Febrero	11	2	13	0	13	84.6%	15.4%	100.0%	0.0%
Marzo	1	1	2	4	6	16.7%	16.7%	33.3%	66.7%
Abril	1	3	4	1	5	20.0%	60.0%	80.0%	20.0%
Mayo	0	1	1	10	11	0.0%	9.1%	9.1%	90.9%
Total	62	66	128	58	186	33.3%	35.5%	68.8%	31.2%

Referencias

HACE Hembras activas con embriones

HACL Hembras activas con cuerpo lúteo y sin embriones visibles

HSA Hembras sexualmente activas (HACE + HACL)

HSI Hembras sexualmente inactivas(sin cuerpo lúteo y sin embriones visibles)

Tabla N°7
Actividad sexual de las hembras adultas en el ciclo anual
Nivel de ovulación, nivel de implantación, mortalidad embrionaria

Mes	x NO	x NI	x ME	NO	NINHAP	Embriones				Total
						1	2	3	4	
5	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0	0	0	0
6	1.00	1.00	0.00	1	1	1	1	0	0	1
7	1.33	1.33	0.00	4	4	3	2	1	0	3
8	1.40	1.20	0.20	14	12	10	8	2	0	10
9	2.33	2.33	0.00	14	14	6	0	4	2	6
10	2.83	2.17	0.67	34	26	12	3	4	5	12
11	2.50	2.50	0.00	5	5	2	0	1	1	2
12	3.38	2.38	1.00	27	19	8	1	3	4	8
1	3.57	2.29	1.29	25	16	7	1	4	1	7
2	3.09	2.18	0.91	34	24	11	2	5	4	11
3	2.00	2.00	0.00	2	2	1	0	1	0	1
4	2.00	2.00	0.00	2	2	1	0	1	0	1
5	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0	0	0	0
Total	2.61	2.02	0.60	162	125	62	18	26	17	62

NO nivel de ovulación (n)
NI nivel de implantación (n)
NHAP hembras adultas preñadas (n)
x NO media de nivel de ovulación (NO/NHAP)
x NI media de nivel de implantación (NI/NHAP)
x ME media de mortalidad embrionaria (ME/NHAP)

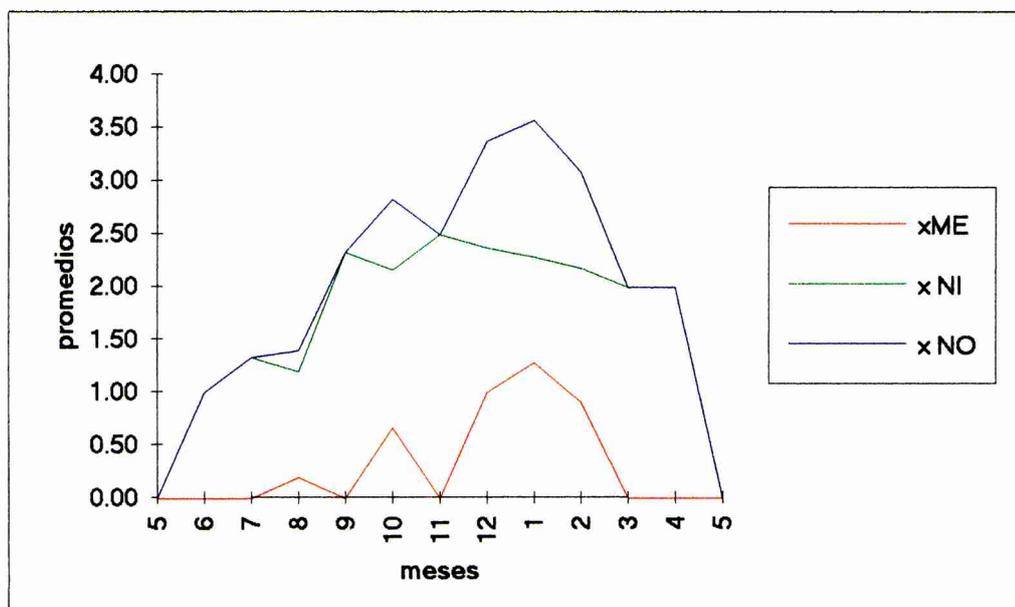


Tabla N° 8 Producción de jóvenes por año

HACE	56
ADULTAS	102
PORCENTAJE	54.9%
CICLOS DE PREÑEZ CALCULADOS	5.00
CICLOS DE PREÑEZ OBSERVADOS	2.75
PROMEDIO DE NIVEL DE OVULACIÓN	2.02
PRODUCCIÓN DE JÓVENES POR AÑO	5.53

Tabla N° 9a Peso y longitud de los embriones, analizados por los cuernos ováricos izquierdo y derecho respectivamente, de las 62 hembras adultas preñadas.

Cuerno Ovárico Izquierdo						Cuerno Ovárico Derecho						g.l.	F	p
E	ne	m	de	m	de	E	ne	m	de	m	de			
1	7	46.6	47.2	7.7	4.4	1	11	30.4	31.9	7.0	4.0	1/16	0.75	ns
2	26	49.3	41.7	9.2	3.2	2	26	33.1	38.8	8.0	3.8	1/50	2.08	ns
3	30	53.6	41.3	9.0	3.7	3	21	84.7	40.5	10.6	2.2	1/49	7.11	**
4	3	38.4	9.0	8.9	0.9	4	1	27.1		8.6				
Total	66	50.4	41.4	8.9	3.5	Total	59	50.9	45.1	8.7	3.6			

Referencias:

E = agrupamientos de embriones, HAP = número de hembras adultas preñadas, m = media, ne = n de embriones, de = desvío estándar, F = Fisher, g.l. = grados de libertad, ns = diferencias no significativas, ** $p < 0.01$, p = probabilidad. s = medias dentro de la misma columna, con diferentes letras difieren significativamente.

Tabla N° 9b Peso y longitud de los embriones totales (n =125) en las 62 hembras adultas preñadas.

E	peso					largo						
	HAP	ne	m	de	F	p	s	n	m	de	F	s
1	18	18	36.7	38.1	4.3	**	b	18	7.3	4.1	2.12 *	b
2	26	52	41.2	40.7			b	50	8.6	3.5		b
3	17	51	66.4	43.4			a	49	9.6	3.2		a
4	1	4	35.6	9.3			b	4	8.8	0.8		b
Total	62	125	50.6	42.6				121	8.8	3.5		

Referencias:

E = agrupamientos de embriones, HAP = número de hembras adultas preñadas,
 m = media, ne = n de embriones, de = desvío estándar, F = Fisher,
 g.l. = grados de libertad, ns = diferencias no significativas, ** $p < 0.01$, p = probabilidad.
 s = medias dentro de la misma columna, con diferentes letras difieren significativamente.

Tabla N° 10 Grados de lactación, cuerpos lúteos y embriones.

grado	hembras	cl	emb
0	0	0	0
1	4	14	2
2	49	128	47
3	14	37	19
4	8	22	13

Referencias:

grado = grado de lactación
 hembras = número de hembras
 cl = número de cuerpos lúteos
 emb = número de embriones

Tabla N° 11

Promedio de peso de cristalinos agrupados por estados de osificación y expresados en miligramos ($m \pm de$).

EO	media	de	n	contraste	Fisher	p
3	81.72	9.07	9			
4	97.85	29.91	28	3 vs 4	2.40	ns
5	131.10	23.34	39	4 vs 5	25.29	<0.005
6	148.20	29.39	72	5 vs 6	9.67	<0.005
7	177.60	29.50	114	6 vs 7	43.49	<0.005
8	207.22	25.03	59	7 vs 8	42.82	<0.005
9	257.47	45.62	344	8 vs 9	67.71	<0.005
10	279.58	50.24	13	9 vs 10	2.90	ns

Referencias:

EO = Estados de osificación, media = promedio de peso de cristalinos, de = desvío estándar, n = n de las muestras, contraste = contraste de grupos, Fisher = análisis de la varianza, p = probabilidad.

Bibliografía

- 1.- AMAYA, J.N.; ALSINA, M.G.; BRANDANI, A.A. (1979). Ecología de la Liebre europea (*Lepus europaeus Pallas*) Parte II. Reproducción y peso corporal de una población del área de San Carlos de Bariloche. Serie Ecología y Control de la Fauna Silvestre. INTA Bariloche. 9:1-36.
- 2.- AMAYA, J.N.; BONINO, N.A.; CLARKE, R.; DIAZ, M. (1987). Informe Preliminar sobre la situación actual de la Liebre europea (*Lepus europaeus, Pallas*) en la Provincia de Santa Cruz. Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería. Consejo Agrario Provincial de Santa Cruz. 1-98.
- 3.- ANDERSEN, J.; JENSEN, B. (1972). The weight of the Eye Lens in the European Hares of Known Age. Acta Theriol. 17: (8) 87-92.
- 4.- ANDERSSON, M.; DAHLBÄCK, M.; MEURLING, P. (1979). Biology of the Wild Rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden: I. Breeding Season and II. Modifications in the Onset of Breeding in Relation to Whether Conditions. Swedish Wildlife Research, Viltrevy 11: (2) 102-140.
- 5.- BARAS, E.M. (1987). Lotus 1-2-3, Guía del Usuario. Osborne/Mcgraw-Hill. 2da. Ed. Madrid, España 379 p.
- 6.- BONINO, N.A. (1986). La Liebre Europea I. Aspectos Bio-Ecológicos e Importancia Económica. Fauna Silvestre INTA Bariloche Especial 2: (1) 1-5.
- 7.- BONINO, N.A. (1986). La Liebre Europea II. La Liebre como problema. Métodos de control. Fauna Silvestre INTA Bariloche Especial 3: (1) 1-4.
- 8.- BORG, B.; ANDERSSON, M.; MEURLING, P. (1978). Biology of the Wild Rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden. III Histology of the Uterus in the Non-breeding Season. Acta zool. (Stockh.) 59: (3-4) 253-260.
- 9.- BRANDANI, A.A.; AMAYA, J.N.; ALSINA, M.G. (1978). Ecología de la Liebre europea (*Lepus europaeus Pallas.*) Parte I. Estimadores de la edad y estructura de una población del área de San Carlos de Bariloche (Río Negro). Serie Ecología y Control de la Fauna Silvestre. INTA Bariloche. (1) 1-28.
- 10.- BROEKHUIZEN, S. (1971). Age determination and age composition of hare populations. Union Internationale des Biologistes du Gibier, Actes du Xe Congrès. Paris. 477-489.
- 11.- BROEKHUIZEN, S. (1982). Hazen in Nederland. En: Klomp H, Research Institute For Nature Management. (eds.): Hazen in Nederland. R.I.N.M. Arnhem, The Netherlands, 2-26.

- 12.- BROEKHUIZEN, S.; MAASKAMP, F. (1979). Age determination in the European hare (*Lepus europaeus Pallas*) in The Netherlands. Sonderdruck aus Z. f. Säugertierkunde 44: (3) 162-175.
- 13.- BROEKHUIZEN, S.; MAASKAMP, F. (1980). Behaviour of does and leverets of the European hare (*Lepus europaeus*) whilst nursing. J. Zool. Lond. (191) 487-501.
- 14.- BROEKHUIZEN, S.; MAASKAMP, F. (1981). Annual production of young in European hares (*Lepus europaeus*) in the Netherlands. J. Zool. Lond. (193) 499-516.
- 15.- BROEKHUIZEN, S.; MARTINET, L. (1979). Growth of embryos of the European hare (*Lepus europaeus Pallas*). Sonderdruck aus Z. f. Säugertierkunde 44: (3) 175-179.
- 16.- BUJALSKA, G.; CABON-RACZYNSKA, K.; RACZYNSKI, J. (1965). Studies on the European Hare. VI. Comparison of the Different Criteria of Age. Acta Theriol. 10: (1) 1-10.
- 17.- CABON-RACZYNSKA, K.; RACZYNSKI, J. (1972). Methods for Determination of Age in the European Hare. Acta Theriol. Vol 17: (7) 75-86.
- 18.- CAILLOL, M.; MARTINET, L. (1976). Preliminary results on plasma progesterone levels during pregnancy and superfetation in the hare, (*Lepus Europaeus Pallas*). J. Reprod. Fertil. (46) 61-64.
- 19.- CAILLOL, M.; MARTINET, L. (1979). Comportement D'oestrus, croissance folliculaire et évolution de la progestérone circulante pendant la gestation et la pseudogestation chez la hase (*Lepus europaeus Pallas*) élevé en captivité étroite. Bull. mens. Off. Nation. Chasse. 12: (1) 181-192.
- 20.- CAILLOL, M.; MEUNIER, M.; MONDAIN MONVAL, M.; SIMON, P. (1986). Seasonal variations in the pituitary response to LHRH in the brown hare (*Lepus europaeus Pallas*). J. Reprod. Fertil. 78:479-486.
- 21.- CARDON, C. (1950). Reproduction. En: Crépin-Leblond et Cie É. (ed.): Le Lièvre et son Elevage. Crépin-Leblond et Cie, É. Paris, 19-40.
- 22.- DAHLBÄCK, M.; ANDERSSON, M. (1981). Biology of the Wild Rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden. V. Seasonal variation of weight of the anal and inguinal glands. Sonderdruck aus Z. f. Säugertierkunde 46: (5) 280-283.
- 23.- DAHLBÄCK, M.; ANDERSSON, M. (1981). Biology of the Wild Rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden. IV. Leydig Cell Activity and Seasonal Development of Two Male Accessory Organs of Reproduction. Acta zool. (Stockh.) 62: (1) 113-120.

- 24.- DIRECCION DE RECURSOS NATURALES Y ECOLOGIA, Dto. FAUNA Y EXPLOTACION ANIMAL;. MARIO DE LA PRODUCCION (1988). Informe interno sobre estadística de Liebre europea (*Lepus europaeus Pallas*) en los últimos cinco años. Provincia de Buenos Aires. Dirección de Recursos Naturales y Ecología. 1-5.
- 25.- FLUX, J.E.C. (1965). Timing Of The Breeding Season In The Hare, *Lepus Europaeus Pallas*, And Rabbit, *Oryctolagus Cuniculus (L.)*. *Mammalia* (29) 557-562.
- 26.- FLUX, J.E.C. (1967). Reproduction and body weights of the hare *Lepus europaeus Pallas*, in New Zealand. *New Zealand Journal of Science* 10: (2) 357-401.
- 27.- FRIEND, M. (1967). Some observations regarding eye-lens weight as a criterion of age in animals. *N. Y. Fish and Game J.* 14:91-121.
- 28.- FRIEND, M.; SEVERINGHAUS, C.W. (1967). Influence of nutrition of eye-lens weight in deer. *N. Y. Fish and Game J.* 14:166-175.
- 29.- FRYLESTAM, B. (1980). Reproduction in the European hare in southern Sweden. *Holarctic Ecology* (3) 74-80.
- 30.- FUJITA, H.O.; CALVO, J.O. (1981). Las exportaciones de productos y subproductos de la fauna silvestre en el quinquenio 1976-1980. INTA, Balcarce. 1: (1) 1-26.
- 31.- GARCIA, A., M.; LOPEZ GARCIA, J.J. (1994). Fundamentos de Estadística con SYSTAT, ver. 5.02 para Windows. Ed. Ra-Ma. 1ra. Ed. Madrid, España 630 p.
- 32.- HEDIGER, H. (1948). Die Zucht des Feldhasen (*Lepus europaeus Pallas*) in Gefangenschaft. *Physiol. comp. Oecol.* 1:46-62.
- 33.- KEITH, L.B.; MESLOW, E.C.; RONGSTAD, O.J. (1968). Techniques for Snowshoe Hare Populations Studies. *J. Wildl. Magmt.* 32: (4) 801-812.
- 34.- KEITH, L.B.; WINDBERG, L.A. (1978). A Demographic Analysis of the Snowshoe Hare Cycle. *J. Wildl. Magmt.* 58: (1) 3-70.
- 35.- KOLOSOV, A.M. (1941). Reproductive biology in the common hare (*Lepus europaeus Pallas*). In Russian Transl. 113 Bureau Animal Popul. Oxford Univ. *Zoologicheskyy Zhurnal* 20:154-171.
- 36.- KOTSCHE, W.; GOTTSCHALKL, C. (1974). Enfermedades del Conejo y de la Liebre 1ra Ed. Editorial Acribia Z, España 245 p.

- 37.- KOVACS, G. (1983). Survival pattern in adult European hares. *Acta Zool. Fennica* (174) 69-70.
- 38.- KOVACS, G. (1986). A Szaporodási Ciklus Befejezo Szakasa A Mezeinyúlnál: Mikor Kezdodjön A Vadászati Idény? *Vadbiológia* (1) 23-29.
- 39.- LISON, L. (1976). *Estadística Aplicada a la Biología Experimental* Editorial Universitaria de Buenos Aires. 1ra. Ed. Buenos Aires 357 p.
- 40.- LIZARSOAIN, L.; JOARISTI, L. (1995). *SPSS para Windows, versión 6.0*. 1ra.Ed. Editorial. Parainfo S.A., Madrid, España 480 p.
- 41.- LORD, R.D. (1959). The lenses as an indicator of age in Cottontail Rabbits. *J. Wildl. Magmt.* 23: (1) 358-360.
- 42.- LOUZIS, C. (1976). Contribution a l'étude de la reproduction du lièvre européen (*Lepus europaeus Pallas*) en captivité étroite. *Rec. Méd. Vét.* 152: (9) 543-546.
- 43.- MARTINET, L. (1980). Oestrous behaviour, follicular growth and ovulation pregnancy in The Hare (*Lepus europaeus Pallas*). *J. Reprod. Fertil.* (59) 441-445.
- 44.- MARTINET, L.; LEGOUIS, J.J.; MORET, B. (1970). Quelques observations sur la reproduction du lièvre européen (*Lepus europaeus Pallas*) en en captivité. *Annls. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 10: (2) 195-202.
- 45.- MARTINET, L.; MORET, B. (1971). Observations préliminaires sur la reproduction du lièvre européen (*Lepus europaeus Pallas*) en captivité; influence du photopériodisme. *Union Internationale des Biologistes du Gibier, Actes du Xe Congrès.* Paris.555-561.
- 46.- MARTINET, L.; RAYNAUD, F. (1972). Mécanisme possible de la superfétation chez la Hase. *C. R. Acad. Sc. Paris* 274: (1) 2683-2686.
- 47.- MICROSOFT, C. (1992). *Manual del usuario, Excel, Versión 4.0 para Windows. Hoja de cálculo con gráficos y base de datos.* Ed. Microsoft Corporation. 4ta. Ed. U.S.A. 658 p.
- 48.- MICROSOFT, C. (1992). *Referencia de funciones, Excel, Versión 4.0 para Windows* Ed. Microsoft Corporation. 4ta. Ed. U.S.A. 702 p.
- 49.- MICROSOFT, C. (1992). *Manual del usuario. Tomo II. Excel, Versión 4.0 para Windows.* Ed. Microsoft Corporation. 4ta. Ed. U.S.A. 311 p.
- 50.- MONTANER Y SIMON (1912). *Diccionario Enciclopédico Hispano - Americano* Ed. Montaner y Simón. 1ra. Ed. Barcelona, España. 1292p.

- 51.- NIKODEMUSZ, E.; KOVACS, G.; VETESI, F. (1985). On the pathology of the reproductive tract in the European Hare. XVII Congress of the International Union of Game Biologists, Brussels. 773-775.
- 52.- OKAMOTO, K. (1980). Age determination by eye lens weight in the Norway rat. J. Mammal. Soc. Jap. 31: (3) 193-200.
- 53.- PARER, I.; LIBKE, J.A. (1991). Biology of the Wild Rabbit, *Oryctolagus-Cuniculus* (L), in the Southern Tablelands of New-South-Wales. Wildlife Research 18:327-341.
- 54.- PEPIN, D. (1974). Mise au point de techniques pour l'étude de populations de Lièvres. Bulletin de L'Office National de la Chasse. Paris. Spécial 2:77-119.
- 55.- PEPIN, D. (1975). L'anoestrus saisonnier du lièvre (*Lepus europaeus Pallas*) et sa prise en compte pour fixer l'ouverture de sa chasse. Jouy en Josas, Paris. Bulletin de L'Office National de la Chasse. 127-135.
- 56.- PEPIN, D. (1981). Étude de la Reproduction du Lièvre (*Lepus europaeus Pallas*) dans le Bassin Parisien. Bulletin de L'Office National de la Chasse. Paris.3-26.
- 57.- PIELOWSKI, Z. (1971). Length of Life of the Hare. Acta Theriol. 16: (6) 89-94.
- 58.- POULET, A.R. (1980). Détermination de l'age par la pesse des cristallins chez cinq espèces de rongeurs Muridés et Gerbillidés de l'ouest de l'Afrique. Mammalia 44: (3) 381-398.
- 59.- RACZYNSKI, J. (1964). Studies on The European hare (*Lepus europaeus Pallas*). Reproduction. Acta Theriologica 9: (19) 305-353.
- 60.- REYNOLDS, J.; STINSON, R.H. (1959). Reproduction in the European hare in Southern Ontario. Canadian Journal of Zoology 37: (5) 627-631.
- 61.- RIECK, W. (1962). Analyse von Feldhasenstrecken nach dem Gewicht der Augenlinse. 5th.Congr.Intern.Union Game Biol. Bologna. 21-29.
- 62.- RINGUELET, R.A.; ARAMBURU, R.H. (1957). Enumeración Sistemática de los Vertebrados de la Provincia de Buenos Aires. La Plata. Ministerio de Asuntos Agrarios, Provincia de Buenos Aires. 1-93.
- 63.- RONGSTAD, O.J. (1966). A cottontail rabbit lens-growth curve from souther Wisconsin. Journal of Wildlife Management 30:114-121.
- 64.- SIMPSON, G.G. (1947). Holartic Mammalian faunas and continental relationships during the cenozoic. Bull. geol. Soc. Am. 58:613-668.

- 65.- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. (1984). *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Reverte. 1ra. Ed. Barcelona, España. 363 p.
- 66.- STEEL, G.D.; TORRIE, J.H. (1985). *Bioestadística Principios y Procedimientos* Ed. McGraw-Hill Latinoamericana SA. 2da. Bogotá, Colombia. 622 p.
- 67.- STÉRBA, O. (1978). Prenatal Growth and Development of *Oryctolagus cuniculus* and *Felis catus*. *Folia Zoologica* 27: (1) 1-12.
- 68.- STÉRBA, O. (1996). Prenatal Development and Growth of *Lepus europaeus*. *Folia Zoologica* 30: (2) 147-154.
- 69.- STROH, G. (1931). Zwei sichere Altersmerkmale beim Hasen. *Berliner. Tierärztliche. Wschar.* 47:180-181.
- 70.- SUCHENTRUNK, F.; WILLING, R.; HARTL, G.B. (1991). On Eye Lens Weights and Other Age Criteria of the Brown Hare (*Lepus europaeus Pallas*). *Zeitschrift Für Säugetierkunde* 56:365-374.
- 71.- SYCH, L. (1964). Fossil *Leporidae* from the Pliocene and Pleistocene of Poland. Report of The VI International Congress on Quaternary. Warsaw. 591-594.
- 72.- SYCH, L. (1965). Fossil *Leporidae* from the Pliocene and Pleistocene of Poland. *Acta. zool. cracov.* 10: (1) 1-88.
- 73.- SYCH, L. (1966). Were the Ungulated Mammals ancestors of the Hare? *Przeglad Zoologiczny* 10: (1) 65-71.
- 74.- SYCH, L. (1967). Fossil Endocranial Cast of *Hypolagus brachygnathus* Kormos (*Leporidae, Mammalia*). *Acta zool. cracov.* 12: (3) 27-30.
- 75.- SYCH, L. (1967). Unworn teeth of *Hypolagus brachygnathus* Kormos (*Leporidae, Mammalia*). *Acta zool. cracov.* 12: (2) 1-27.
- 76.- SYCH, L. (1980). Lagomorpha (Mammalia) from the Pliocene and Early Pleistocene of Poland. *Folia Quaternaria* (51) 57-60.
- 77.- VANDERMERWE, M.; RACEY, P.A. (1991). Body Composition and Reproduction in Mountain Hares (*Lepus-Timidus-Scoticus*) in North-East Scotland *Journal of Zoology* 225:676-682.