

ISSN 1514259-0

Analecta Veterinaria

Publicación de la Facultad de Ciencias Veterinarias

Volumen 23 n° 1 2003



Universidad Nacional de La Plata

La Plata. Buenos Aires. Argentina



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias

Autoridades
Decano

Méd.Vet. Eduardo Rafael Pons

Vicedecano

Dr. Edgardo Nosetto

Secretario Académico

Dr. Marcelo Pecoraro

Secretario de Postgrado

Dra. Pilar Peral García

Secretario de Extensión Universitaria

Méd.Vet. Alicia Antonini

Secretario de Ciencia y Técnica

Dr. Edgardo Nosetto (a cargo)

ANALECTA VETERINARIA

Director

Dr. Nestor Oscar Stanchi

Editor Responsable

Dr. Eduardo Marotta

Secretario de Redacción

Méd. Vet. Daniel O. Arias

Comité Editorial

(Facultad de Ciencias Veterinarias)

Dra. Liliana Lagrecca

Dr. Eduardo Gimeno

Bact. Carlos Gómez

Dr. Florestán Maliandi (h)

Dr. Pablo E. Martino

Méd.Vet. Enrique Pennimpe

Dra. Pilar Peral García

Dr. Carlos Perfumo

Responsable Versión Electrónica

Méd.Vet. Santiago Corva

Supervisión de Estilo

Méd.Vet. Julio Bernal

ANALECTA VETERINARIA

ANALECTA VETERINARIA vol. 23 n° 1, 2003

**Publicación de la
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata**

Consultores:

L. Basso (Argentina) F. Capano (Uruguay), A. Conigliaro (Argentina), L. Estol (Argentina), E. Montero Gei (Costa Rica), A. Parma (Argentina), R. A. Fernández (Argentina), J. Lasta (Argentina), L. Rodríguez Roque (Costa Rica), A. Fernández Alosa (Brasil), H. Tersolo (Argentina), J. Zorzópolos (Argentina), E. Gimeno (Argentina), C. Schenk (Argentina), E. Coppo (Argentina), L.M. Friche Passos (Brasil), J.M. Gutiérrez (Costa Rica), R. Cacchione (Argentina), F. Cortés Benavides (España), M. Carballo (España), R.M. Dauder (España), R. de Torres (Argentina), P. Ostrosky-wegman (España), J. Surralles Calonge (España), N. Auza (Argentina), M. Barrandeguy (Argentina), M. Carballo (Argentina), J.A. Coppo (Argentina), C. Corbellini (Argentina), F. Costa (Argentina), C. Eddi (Argentina), A. Fosatti (Argentina), E. Gentilini (Argentina), S. Gómez Cabrera (Argentina), C. Gómez Dumm (Argentina), J. González Tomé (Argentina), A. Guglielmone (Argentina), I. von Landzewitsch (Argentina), N. Leardini (Argentina), L. León Vizcaino (España), H. Molinuevo (Argentina), E. Moras (Argentina), S.J. de Oliveira (Brasil), J. Pereira (Argentina), J. Pistani (Argentina), B. Ruksan (Argentina), B. Rutter (Argentina), Sánchez Negrete M (Argentina), E. Smitsaart (Argentina), J. Troiano (Argentina), C. Carfagnini (Argentina), J. de Filippo (Argentina), C. Machado (Argentina), I. Sommerfelt (Argentina), C. Lerena (Argentina).

La revista ANALECTA VETERINARIA es una publicación semestral de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos en el campo de las Ciencias Veterinarias, generados en esta Unidad Académica y en otras instituciones. Asimismo, reflejará las actividades académicas de postgrado, de extensión y de educación a distancia que se desarrollan en esta Casa de Estudio.

The Journal ANALECTA VETERINARIA is a biannual publication of the College of Veterinary Sciences of the National University of La Plata, Argentina. It is dedicated to the diffusion of scientific reports in the field of the Veterinary Sciences, generated in this and in other institutions. Also, it will reflect the academic activities of graduate school, of extension and of distance education that they are developed in this College.

ISSN 0365514-8 Versión Impresa

ISSN 1514259-0 Versión Electrónica

ISSN 1666295-4 Versión CD-ROM

Registro Propiedad Intelectual 77383

Dirección postal: CC 296 (B1900AVW)

La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA

Las opiniones expresadas por los autores que contribuyen a esta revista no reflejan necesariamente las opiniones de este medio, ni de las entidades que la auspician o de las instituciones a que pertenecen los autores.

Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier metodología actual o a crearse del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. Autorizada la reproducción con fines académicos-docentes mencionando la fuente. El uso de nombres comerciales está destinado únicamente para la identificación y no implica el respaldo directo o indirecto de los Ministerios de la Nación Argentina ni de los países respectivos de donde provengan los trabajos. Tampoco se garantizan ni respaldan los productos promocionados en los avisos de publicidad.

Acceso Electrónico a

ANALECTA VETERINARIA

Si tiene acceso a INTERNET, puede recuperar la revista electrónicamente y en forma gratuita mediante el protocolo de traslado de archivo (File Transfer Protocol) (FTP anónimo). Los números de la revista a partir del Volumen 18 están disponibles en formato de archivo: pdf (Portable Document File-Adobe Acrobat Reader®) siendo idéntica a la versión impresa de la revista y puede imprimirse en cualquier impresora que permita diferenciar escala de grises o colores. Se recomienda que la misma posea un resolución mínima de 600 x 600 dpi.

Dirección electrónica:

Puede recuperar la revista accediendo a la página en la Web
<http://www.fcv.unlp.edu.ar>

Para más información sobre cómo recibir ANALECTA VETERINARIA electrónicamente, enviar un e-mail a la dirección: analecta@fcv.unlp.edu.ar

Si tiene dificultades para recuperar la revista electrónicamente envíe un mail a:

sgcorva@fcv.unlp.edu.ar

ANALECTA VETERINARIA está indizada en el Índice Latinoamericano de Revistas Científicas LATINDEX (www.latindex.unam.mx),

Ulrich's International Periodicals Directory (www.ulrichsweb.com)

Zoological Records (www.biosis.org.uk/products_services/zrss.html).

Citación de la versión electrónica: La citación de los artículos aparecidos en la versión electrónica de ANALECTA VETERINARIA (VE) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Costa E.F. y col. Alteraciones en la diferenciación y proliferación celular cutánea en bovinos, inducidas por Hipervitaminosis D de origen vegetal. *Analecta Veterinaria (VE)* 1998; 18,1/2: 7-13 (7 pantallas). Recuperable de www.fcv.unlp.edu.ar

Citación de la versión CD-ROM: La citación de los artículos aparecidos en la versión en CD-ROM de ANALECTA VETERINARIA (CD-ROM) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Tittarelli C.M. y col. Efecto de las lluvias sobre la composición mineral de gramíneas y *Lotus glaber mill* del partido de Magdalena. *Analecta Veterinaria (CD-ROM)* 2001; 21,1: 54-57 (4 pantallas).

ANALECTA

Pronunciación: «a-n&l-'ek-t&

Etimología: LatinModerno *analecta*, del Griego *analekta*, plural neutro de *analektos*, verbo de *analegein* recolectar, de *ana-* + *legein* reunir: selección miscellanea de pasajes escritos, cartas.

Impresión

Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata
CC296 (B1900AVW) La Plata,
Buenos Aires, Argentina

Diseño

Prof.Dr. Nestor Oscar Stanchi

Todos los trabajos publicados en ANALECTA VETERINARIA son sometidos a revisores externos

All articles published in ANALECTA VETERINARIA are submitted to external scientific reviewers



Impreso en papel libre de ácido
Printed in acid-free paper

Impreso en Argentina
Printed in Argentina

Se solicita canje - On demande l'échange - We ask for exchange - Si prega lo scambio - Man bitter um austausch

ANALECTA VETERINARIA Vol 23 n° 1, 2003

Artículos de Investigación

Research articles

EFFECTOS DEL DESTETE PRECOZ SOBRE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS SÉRICAS EN TERNEROS CRUZA CEBÚ. Effects of Early Weaning on Serum Lipids and Lipoproteins in Half-bred Zebu Calves. JA Coppo 5-12

MORTALIDAD EN UN FEEDLOT DE LA PLATA (BUENOS AIRES-ARGENTINA): CAUSAS, DISTRIBUCIÓN MENSUAL E IMPACTO ECONÓMICO. Mortality in a Feedlot from La Plata (Buenos Aires-Argentina): Causes, Monthly Distribution and Economic Impact. EF Costa, M J Giuliadori, M Dezzilio, J Romero 13-19

ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE LA LIEBRE EUROPEA (*LEPUS EUROPAEUS* PALLAS, 1778) EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA Parte I. Estimation of Reproductive Parameters of the European Hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) in the Province of Buenos Aires, Argentina Part I MA Risso, HS Martínez, AI Porras, AM Vilches, EB Bonzo, NA Menéndez 20-29

Artículos de Revisión

Review articles

BIOTECHNOLOGY IN CANINE REPRODUCTION: AN UPDATE. Biotecnología en la reproducción canina: una actualización. C Gobello, Y Corrada 30-37

Comunicaciones breves

Short communications

PENILE HYPOPLASIA IN A ROTTWEILER: A CASE REPORT. Hipoplasia de pene en un rottweiler: Informe de un caso. C Gobello, JC De Luca, Y Corrada, M García, P Peral García 38-41

SARNA SARCÓPTICA (ESCABIOSIS) EN CANINOS: ACTUALIDAD DE UNA ANTIGUA ENFERMEDAD. Canine Sarcoptic Scabies: Current Situation of an Old Disease. AL Giordano, AN Aprea 42-46

EFFECTOS DEL DESTETE PRECOZ SOBRE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS SÉRICAS EN TERNEROS CRUZA CEBÚ

JA Coppo

Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad Nacional del Nordeste.

RESUMEN: El objetivo del estudio fue investigar eventuales modificaciones séricas de algunos indicadores metabólico-nutricionales lipídicos en terneros sometidos a destete precoz, maniobra que provoca retrasos de crecimiento. En 4 años sucesivos fueron realizados 4 ensayos de 120 días de duración, sobre pastura natural, empleando en total 120 terneros: 60 controles (C) en amamantamiento y 60 experimentales (E) sometidos a destete precoz y suplementados con alimento balanceado. Bajo un diseño de medidas repetidas, se efectuaron pesajes y análisis sanguíneos a los 0, 7, 14, 21, 28, 60, 90 y 120 días. Hacia el final, en E fueron verificadas disminuciones significativas ($p < 0,05$) de triglicéridos ($0,21 \pm 0,09$ versus $0,36 \pm 0,10$ g/l en C), colesterol total ($0,94 \pm 0,25$ versus $1,07 \pm 0,29$ g/l), C-HDL ($0,66 \pm 0,11$ versus $0,70 \pm 0,12$ g/l), lipoproteína α ($78,4 \pm 5,5$ versus $82,9 \pm 6,3$ %) y peso ($139,4 \pm 11,6$ versus $158,7 \pm 11,7$ kg), así como aumentos de lipoproteína β ($20,5 \pm 5,0$ versus $17,1 \pm 5,9$ %). El inicio de las diferencias significativas entre C y E ocurrió a partir de la primera y segunda semanas. Los resultados sugieren un estado de hiponutrición en el grupo E. Al final del ensayo (día 90), el peso revirtió su tendencia declinante, cambio que fue precedido por la estabilización de las concentraciones de triglicéridos y colesterol, mejorías que son atribuidas al crecimiento compensatorio.

Palabras claves: ternero, destete precoz, hiponutrición, lípidos y lipoproteínas séricas

EFFECTS OF EARLY WEANING ON SERUM LIPIDS AND LIPOPROTEINS IN HALF-BRED ZEBU CALVES

ABSTRACT: The objective of the study was to investigate eventual serum modification of some lipid metabolic-nutritional indicators in calves submitted to early weaning, practice that causes growth delay. Four assays of 120 days length were carried out in 4 successive years on native grassland, using 120 calves, 60 of them were lactating (C) and 60 were early weaned (E) and given a commercial supplement. Weighing and blood determinations, under a repeated measures design were made on days 0, 7, 14, 21, 28, 60, 90 and 120. Significant decreases ($p < 0,05$) of triglycerides (0.21 ± 0.09 versus 0.36 ± 0.10 g/l), total cholesterol (0.94 ± 0.25 versus 1.07 ± 0.29 g/l), C-HDL (0.66 ± 0.11 versus 0.70 ± 0.12 g/l), α lipoprotein (78.4 ± 5.5 versus 82.9 ± 6.3 %) and live weight (139.4 ± 11.6 versus 158.7 ± 11.7 kg), as well as β lipoprotein increases (20.5 ± 5.0 versus 17.1 ± 5.9 %), were verified in E at the end. Significant differences between C and E began between the first and second weeks. Results suggest a malnutrition state in group E. At the end of trials (day 90), live weight reverted its declining tendency, change that was preceded by stabilization of triglycerides and cholesterol concentrations. These improvements are attributed to compensatory growth.

Key words: calf, early weaning, malnutrition, serum lipids and lipoproteins

Fecha de recepción: 28/07/03

Fecha de aprobación: 27/11/03

Dirección para correspondencia: José Antonio Coppo, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. Sar-
gento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel./Fax 03783-425753 (Int. 153).

E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Las concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas reflejan los cambios del metabolismo lipídico que ocurren en el medio interno del animal. Los lípidos, nutrientes predominantemente energéticos, provienen de los alimentos y de la biosíntesis orgánica, siendo eliminados por combustión tisular y excreción biliar y láctea (1).

En los rumiantes, el incremento dietario de energía es capaz de causar aumentos plasmáticos de triglicéridos y colesterol, así como modificaciones de lipoproteínas (2). Los triglicéridos, componentes importantes de los quilomicrones, se hidrolizan a glicerol y ácidos grasos, los cuales pueden utilizarse para la síntesis de nuevos triglicéridos y fosfolípidos u oxidarse para liberar energía. El colesterol, necesario para la síntesis de sales biliares, vitamina D y hormonas gonadales y corticoadrenales, proviene de la dieta pero también es sintetizado *de novo* por el hígado (1, 3). Si bien la magnitud de esta biosíntesis parece ser inversamente proporcional a la cantidad de colesterol absorbida por el intestino, la importancia de este control por retroalimentación no está suficientemente esclarecida en los rumiantes (3).

Tanto a partir del sitio de absorción intestinal como de los órganos que efectúan su biosíntesis, como el hígado, los lípidos son transportados hacia los tejidos periféricos por el plasma y la linfa, unidos a lipoproteínas. Éstas permiten el transporte de lípidos a través de un medio acuoso, solubilizándolos por medio de proteínas (1).

Las lipoproteínas son partículas esféricas que poseen un núcleo compuesto por triglicéridos y ésteres de colesterol, así como una superficie donde las apoproteínas se asocian con colesterol y fosfolípidos. Las principales lipoproteínas aisladas por electroforesis se denominan mediante un sistema análogo al utilizado para otras proteínas plasmáticas, como α , β y pre- β lipoproteínas, la última de las cuales es muy escasa en rumiantes adultos (4). Cuando son separadas en base a la densidad de ultracentrifugación, se denominan por sus densidades relativas: lipoproteínas de alta densidad (HDL), de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL) (3, 5). Los quilomicrones, originados en el intestino, fisiológicamente solo existen en la etapa post-prandial, acarreado triglicéridos hacia los tejidos para su oxidación o depósito (1, 5).

La lipoproteína α se encarga del *transporte*

reverso del colesterol, llevándolo desde los tejidos hacia el hígado, para su eliminación biliar. Las lipoproteínas β y pre- β están a cargo del *transporte directo* del colesterol, conduciéndolo hacia órganos y tejidos para su utilización o almacenamiento, pudiendo depositarlo (aterogénesis) en las paredes vasculares (1, 3, 5).

El metabolismo lipoproteico revela características similares entre especies animales, pero no es exactamente igual en todas ellas. Los rumiantes, así como los equinos, caninos, felinos y ratas, poseerían «patrón HDL», caracterizado por predominio de lipoproteína α en el plasma. En estos animales el colesterol es captado por HDL antes que LDL, evitándose efectos nocivos debido a la acción protectora atribuible a la lipoproteína α . Seres humanos, cerdos, conejos, marmotas y varias especies de monos, responden al «patrón LDL», en el cual las dietas grasas provocan elevación de lipoproteína β y aumento del riesgo aterogénico (5). El laboratorio permite hoy discernir la cantidad de colesterol transportado por las lipoproteínas α (C-HDL) y β (C-LDL). En animales con «patrón HDL» las elevaciones plasmáticas de colesterol total provocarían aumento de C-HDL, a la inversa de lo que ocurriría en animales con «patrón LDL» (6).

Existen escasos datos sobre las modificaciones fisiológicas de lípidos y lipoproteínas producidas por el destete precoz. En el sistema extensivo de cría de bovinos para carne, esta práctica consiste en la separación abrupta entre la vaca y su ternero de 2 meses de edad (70 kg de peso mínimo), en reemplazo del destete convencional que se realiza a los 6-8 meses con pesos de 150 ± 15 kg (7). Tiende a la intensificación de la ganadería de cría y al mejoramiento de la performance reproductiva de los vientres, al generar mayor disponibilidad de forraje destinado a tal función, ya que la lactancia se suprime y el ternero recibe alimentación artificial (8). Empresarialmente su impacto económico es extraordinario ya que permite aumentar significativamente la carga animal por hectárea y elevar los porcentajes de preñez (9), infortunadamente a expensas de una menor ganancia de peso de los terneros, cuya causa es motivo de controversia (7, 8, 10-12).

El objetivo del trabajo fue investigar los cambios lipídicos y lipoproteicos que el destete precoz pudiera provocar en suero de terneros cruza cebú, así como relacionar dichos indicadores metabólico-nutricionales con la evolución del peso de animales controles y experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental: se utilizó el diseño prospectivo de medidas repetidas, considerando al *tratamiento* (destete precoz versus continuidad de la lactancia) y al *tiempo* (desarrollo, ontogenia) como variables independientes, en tanto que los lípidos séricos y el peso operaron como variables dependientes, siendo determinados en 8 ocasiones durante lapsos de 4 meses (finales de primavera y verano), en 4 años sucesivos de ensayos (120 animales en total).

Animales: cada año se utilizaron 30 terneros lactantes media sangre cebú (60-75 días de edad y 60-90 kg de peso vivo), 50 % hembras y 50 % machos castrados, clínicamente sanos y fenotípicamente homogéneos, desparasitados y vacunados acorde al manejo sanitario habitual del establecimiento. Se aleatorizaron en grupos control (C) y experimental (E), de 15 animales cada uno, los cuales se mantuvieron en potreros contiguos, de pastura similar. Los terneros controles continuaron su amamantamiento al pie de madre, en tanto que los experimentales fueron destetados (día 0) y suplementados con un balanceado comercial (16 % proteínas, 7 % fibra, 4 % extracto etéreo, 0,64% calcio, 0,53 % fósforo, EM = 2,77 Mcal/kg MS), administrado inicialmente a razón del 1,5 % del peso vivo, para luego decrecer en función del progresivo incremento del consumo de pastura (final = 0,7 % PV). Diariamente, con el auxilio del personal del establecimiento, se vigiló el comportamiento y estado de salud de los animales, así como el consumo de suplemento.

Toma de muestras: pesajes y extracciones de sangre se realizaron a los 0, 7, 14, 21, 28, 60, 90 y 120 días. La mayor frecuencia inicial (semanal) con relación a la final (mensual) se planificó previendo que los cambios más conspicuos pudieran ocurrir cercanamente al *shock* del destete precoz; frecuencias más altas se consideraron contraproducentes por conspirar contra la ganancia de peso (arreas, pesajes, extracciones de sangre). La prolongación de los controles hasta el cuarto mes de ensayo (seis meses de vida del ternero) se proyectó a efectos de constatar las diferencias entre ambos lotes, al momento del destete convencional. Tras un ayuno de 12 horas, se extrajo sangre por venopunción yugular, sin anticoagulante, en horario uniforme (7-8 horas AM), centrifugándose (700 g, 10 min) para obtener suero, el cual fue conservado a 4 °C hasta su procesamiento en laboratorio, efectuado dentro de las 6 horas post-extracción a efectos de evitar alteraciones lipídicas atribuibles al lapso de almacenamiento.

Técnicas analíticas: con un espectrofotómetro Labora Mannheim 4010, termostatzado a 37 °C, en cubetas descartables de 10 mm de paso de luz, utilizando reactivos Wiener Lab, se realizaron determinaciones de triglicéridos (técnica de la lipasa-peroxidasa, lecturas a 546 nm), colesterol total (colesterol-oxidasa/peroxidasa, 505 nm) y colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) y de baja densidad (C-LDL), mediante precipitación selectiva de la lipoproteína y valoración enzimática del colesterol por el método ya mencionado. Las lipoproteínas α y β fueron separadas por electroforesis en gel de agarosa, con buffer de veronal y coloración Fat Red 7B (Biopur), para ser posteriormente valoradas en un densitómetro Citocon CT-440 automático, provisto de impresora de curvas y fracciones.

Procesamiento estadístico: la homogeneidad inicial de las poblaciones fue constatada mediante intervalos de confianza (IC \pm 95 %) y la normalidad distributiva por el test de Wilk-Shapiro (WS). Las estadísticas descriptivas paramétricas (media aritmética \bar{x} , desvío estándar DE) fueron obtenidas a partir de procedimientos convencionales. El análisis de la variancia (Anova) de medidas repetidas fue calculado informáticamente (*Statistica 1999*) e incluyó la significación de los efectos tratamiento y tiempo, así como la interacción entre ambos. Sexo y año de ensayo fueron introducidos como covariables. Post-Anova, la significación de las diferencias entre C y E fue determinada por test de Tukey. Los coeficientes de correlación se calcularon por el procedimiento de Pearson. Para todas las inferencias se estipuló $\alpha = 5\%$ ($p < 0,05$), por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

RESULTADOS

La superposición de IC \pm 95 % cubriendo la media aritmética, aseguró la homogeneidad inicial de las variables dependientes. La distribución simétrica de los valores (WS), autorizó el uso de estadísticas paramétricas. El Anova de medidas repetidas no detectó interacciones entre los efectos tratamiento y tiempo, las diferencias entre años y sexos tampoco fueron significativas. No se registraron trastornos de salud en ningún animal y el consumo de suplemento fue completo. Las concentraciones obtenidas para lípidos y lipoproteínas séricas se exponen en Tabla 1.

El Anova de medidas repetidas detectó que el efecto tiempo (C+E) fue significativo para los aumentos de C-LDL, lipoproteína β y peso, así como para las disminuciones de triglicéridos, colesterol total, C-HDL y lipoproteína α . El efecto tra-

Tabla 1. Valores iniciales y finales ($\bar{x} \pm DE$) en terneros experimentales (E) y controles (C).
Table 1. Initial and final values ($\bar{x} \pm SD$) in experimental (E) and control (C) calves.

parámetro	inicial (día 0)		final (día 120)	
	lote C (n = 60)	lote E (n = 60)	lote C (n = 60)	lote E (n = 60)
triglicéridos (g/l)	0,43 ± 0,13	0,42 ± 0,12	0,36 ± 0,10	0,21 ± 0,09 *
colesterol total (g/l)	1,15 ± 0,32	1,09 ± 0,31	1,07 ± 0,29	0,94 ± 0,25 *
C-HDL (g/l)	0,78 ± 0,13	0,81 ± 0,14	0,70 ± 0,12	0,66 ± 0,11 *
C-LDL (g/l)	0,21 ± 0,09	0,17 ± 0,08	0,24 ± 0,08	0,23 ± 0,13
lipoproteína α (%)	83,7 ± 6,6	85,2 ± 5,7	82,9 ± 6,3	78,4 ± 5,5 *
lipoproteína β (%)	16,3 ± 6,4	14,8 ± 5,7	17,1 ± 5,9	20,5 ± 5,0 *

* diferencias finales significativas entre C y E (p < 0,05).

tamiento (E) fue significativo para las disminuciones de triglicéridos, colesterol total, C-HDL, lipoproteína α y peso, así como para el aumento de lipoproteína β; no hubo significación estadística para los cambios de C-LDL.

Las comparaciones múltiples de medias revelaron que, para triglicéridos y peso, las diferencias entre C y E comenzaron a ser significativas a partir del día 7, en tanto que colesterol total, C-HDL y lipoproteínas α y β se diferenciaron estadísticamente a partir del día 14. Con algunos altibajos, los triglicéridos descendieron suavemente en C pero pronunciadamente en E, especialmente durante las primeras semanas, para luego estabilizarse y esbozar un aumento que no llegó a alcanzar los valores de C (Figura I). Las variaciones de triglicéridos en E correlacionaron significativamente con las de lipoproteínas α (r = +0,70, p = 0,05) y β (r = -0,70, p = 0,05).

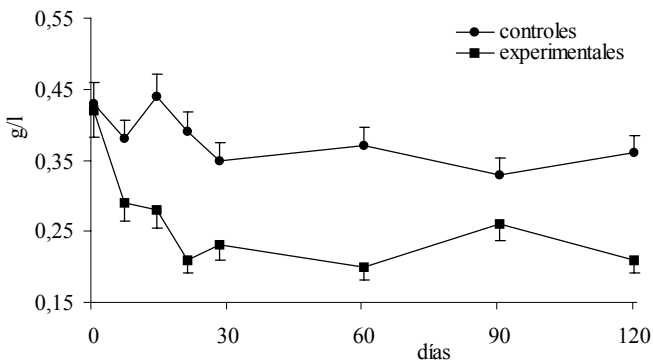


Figura I. Evolución de triglicéridos en terneros controles y destetados.
Figure I. Triglycerides evolution in control and weaned calves

El colesterol total disminuyó en ambos lotes (Figura II), más pronunciadamente en E (p < 0,05), grupo donde reveló alto grado de asociación lineal con las lipoproteínas α (r = +0,95, p = 0,01) y β (r = -0,92, p = 0,01), como así también con C-HDL (+0,78, p = 0,02).

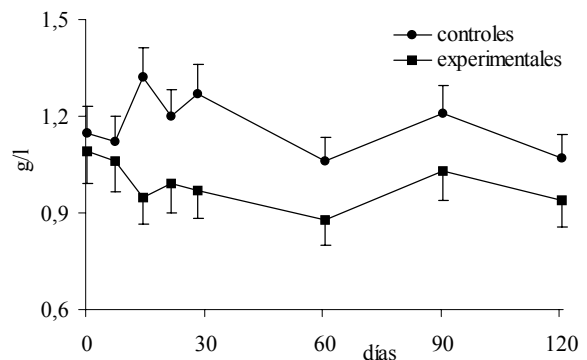


Figura II. Evolución de colesterol total en terneros controles y destetados.
Figure II. Total cholesterol evolution in control and weaned calves.

La concentración de C-HDL disminuyó en ambos lotes (Figura III), más pronunciadamente en E (p < 0,05), en tanto que la tasa de C-LDL aumentó ligeramente, sin diferencias significativas entre terneros lactantes y destetados. En E, C-HDL correlacionó significativamente con C-LDL (-0,71, p = 0,04), lipoproteínas α (+0,73, p = 0,03) y β (-0,73, p = 0,03).

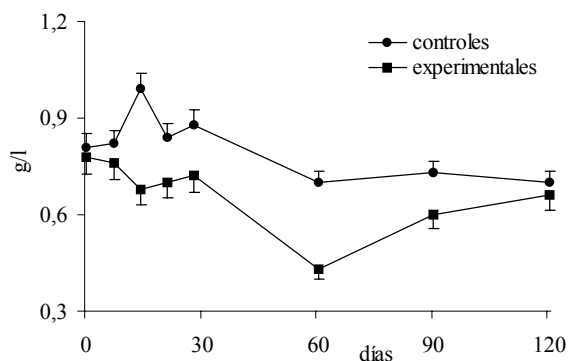


Figura III. Evolución de C-HDL en terneros controles y destetados.

Figure III. HDL-C evolution in control and weaned calves.

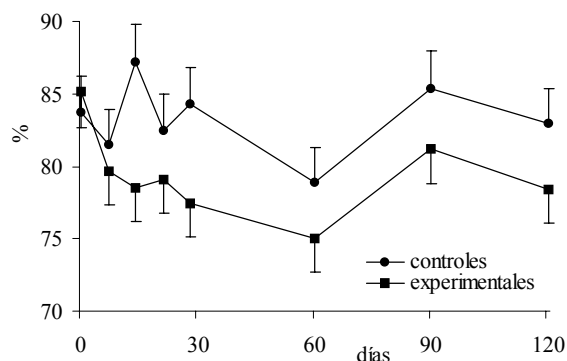


Figura IV. Evolución de lipoproteína α en terneros controles y destetados.

Figure IV. Lipoprotein α evolution in control and weaned calves.

En ambos lotes, las disminuciones de C-HDL y los aumentos de C-LDL fueron concomitantes al descenso de colesterol total, como se desprende de la Tabla 2. En los animales testigos, disminuciones de colesterol total del orden del 7 % se correspondieron con decrementos de C-HDL del orden del 10 %. En los terneros experimentales, cuando el colesterol total declinó un 14%, la tasa de C-HDL lo hizo en un 18 %. La proporción de C-LDL varió en forma inversamente proporcional a la de C-HDL, pero las diferencias no fueron significativas.

En ambos lotes (Figura IV), la tasa de lipoproteína α declinó a lo largo del estudio (*efecto tiempo significativo*), con más bajos valores en E que en C (*efecto tratamiento significativo*). En E, la lipoproteína α correlacionó de manera altamente significativa con la lipoproteína β ($r = -0,99$, $p = 0,001$).

Los pesos, inicialmente similares ($C = 78,9 \pm 6,9$ versus $E = 77,8 \pm 7,0$ kg), al culminar los estudios fueron más altos en C ($158,7 \pm 11,7$ kg) que en E ($139,4 \pm 11,6$ kg), representando ganancias de 666 versus 513 g/animal/día respectivamente ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Los valores iniciales encuadraron en el intervalo de referencia para la raza, edad y zona geográfica (1). En general, las variaciones detectadas en C se atribuyen a la ontogenia (pasaje gradual del estadio monogástrico a poligástrico) (4), en tanto que los cambios en E necesariamente deben imputarse al estado de subnutrición provocado por el abrupto cese del amamantamiento.

La progresiva disminución de triglicéridos en C coincidió con la reducción del aporte de leche materna, donde estos lípidos existen en concentraciones de 3-4%, así como con el incremento del consumo de pasturas, donde las grasas usualmente no superan el 0,8 % (13).

Los triglicéridos séricos son considerados como buenos indicadores metabólico-nutricionales en bovinos (14). La lipemia sería influenciada considerablemente por el contenido graso de la dieta, aumentando cuando el alimento es rico en lípidos y disminuyendo en los estados de malnutrición crónica (13). En cruza cebú del nordeste argentino, la suplementación energético-proteica se reveló capaz de incrementar los triglicéridos plasmáticos tanto en vacas como en terneros (2).

Tabla 2. Disminuciones de C-HDL y aumentos de C-LDL concomitantes al descenso del colesterol total (\bar{x}).
Table 2. C-HDL decrease and C-LDL increase concomitant to total cholesterol descent (\bar{x}).

lote	colesterol total			C-HDL			C-LDL		
	inicial (g/l)	final (g/l)	disminución (%)	inicial (g/l)	final (g/l)	disminución (%)	inicial (g/l)	final (g/l)	aumento (%)
C	1,15	1,07	7	0,78	0,70	10	0,21	0,24	14
E	1,09	0,94	14	0,81	0,66	18	0,17	0,23	35

El hecho que el suplemento balanceado haya poseído un 4 % de materia grasa, similar al de la leche, implica –antes que insuficiencia de lípidos en la dieta– que la caída de triglicéridos en E quizás debiera relacionarse a la escasa digestibilidad de la grasa utilizada en la elaboración de los *pellets*. Lamentablemente no fue posible indagar el origen de tales lípidos, aunque es sabido que en las plantas elaboradoras es común el uso de grasas vegetales y animales (aves, pescados), que no siempre cumplen los requisitos necesarios para que el ternero efectúe su completa digestión y absorción, como ser: longitud de la cadena de los ácidos grasos, proporción de ácidos grasos insaturados y grado de emulsión alcanzada (tamaño de los glóbulos grasos formados). Exceptuando la grasa butirosa, otros lípidos serían irregularmente digeridos por el ternero debido a su escasa cuantía de enzimas lipolíticas; la grasa de pescado sería indigerible para el ternero lactante (13).

La más intensa disminución de triglicéridos en E quizás también se relacione con el aumento de *insulina* (4) provocado por la alta disponibilidad de glúcidos solubles del suplemento balanceado suministrado. En novillos precozmente destetados, dietas de alto contenido de fibra habrían provocado elevación del acetato ruminal, pero el suministro de concentrados (como en el presente caso) habría causado incremento del propionato ruminal, con aumento de la secreción de insulina y mayor deposición de grasa intramuscular (15). En ratas, el destete precoz también afectaría la homeostasis glucídica, conduciendo a elevaciones plasmáticas de insulina (16). El aumento de insulina activa la lipoproteinlipasa, enzima existente en la superficie endotelial de los vasos sanguíneos, que cataliza la degradación de los triglicéridos transportados por quilomicrones y VLDL, disminuyendo la trigliceridemia. Por el contrario, la ausencia de insulina cursa con elevación de triglicéridos y colesterol (4).

En C, las disminuciones de colesterol total se atribuyen a la paulatina reducción del consumo de leche materna y en E al cese abrupto del amamantamiento. El contenido de colesterol es alto en la leche vacuna (15 mg/dl), circunstancia que sumada al alto grado de saturación de sus ácidos grasos, provoca que la grasa de leche sea considerada hipercolesterolemizante para el ser humano (4).

Además de variar por la calidad de la dieta, la concentración plasmática de colesterol se modificaría por la edad del ternero, declinando en forma inversamente proporcional al desarrollo;

terneros de 30 días de vida habrían registrado concentraciones de 0,90 g/l, que habrían disminuido a 0,63-0,68 g/l a los 3-6 meses de edad (17). Hacia el fin del amamantamiento, los terneros revelarían una caída de sus tenores plasmáticos de colesterol total (18). Similares cambios ocurrirían en ovinos, donde el colesterol total sería más alto en la lactación (corderos: 0,55 a 2,08 g/l), disminuyendo en los adultos (0,32 a 0,89 g/l) (19).

El colesterol también operaría como indicador nutricional en bovinos (14, 18, 20). Su nivel sérico dependería del tipo de dieta, especialmente del contenido de colesterol de los alimentos ingeridos (13, 17), aumentando cuando las ingestas son ricas en grasas (2, 6) y disminuyendo en estados de desnutrición (19). El estado metabólico sería digno de consideración, pues las vacas secas revelarían menores tasas plasmáticas de colesterol que aquéllas en amamantamiento (13). No se descarta que en E, eventuales aumentos de insulina puedan haber coadyuvado a la reducción del colesterol sérico (4).

Los rumiantes encuadrarían en el “patrón HDL”, donde los excesos de colesterol dietario producirían elevación de C-HDL (ligado a lipoproteínas α), circunstancia que los protegería del riesgo aterogénico. En el bovino, la mayor parte del colesterol total sería transportado como C-HDL, a diferencia de las especies que poseen “patrón LDL”, estrechamente relacionadas a un mayor riesgo aterogénico (1, 5).

Los resultados aquí obtenidos validan la postura que los bovinos poseen más colesterol ligado a HDL que a LDL. En efecto, tomando los promedios iniciales de ambos lotes, para un colesterol total de 1.12 g/l, surgiría que 0.79 g/l (80%) viajarían por sangre unidos a HDL y solamente 0.19 g/l (20%) lo harían asociados a LDL. La misma proporción se constataría en los valores finales.

Si la aseveración que “las hipercolesterolemias del bovino elevan la concentración de C-HDL” (3) fuera analogada con su *antítesis*, podría traspolarse que “las disminuciones de colesterol reducirían la tasa hemática de C-HDL”, lo cual parecería haber ocurrido en los terneros del presente estudio (Tabla 2). Acorde a las manifestaciones precedentes, se postula que C-HDL varió en función de la concentración del colesterol total que debió transportar. Al declinar este último en ambos lotes, entre los días 0 y 120, también declinó C-HDL (*efecto tiempo significativo*). Al registrar el

colesterol total valores más bajos en animales destetados desde el día 14 en adelante ($IC \pm 95 \%$), similar comportamiento registró C-HDL (*efecto tratamiento significativo*).

Pese a que los porcentajes de aumento de C-LDL (Tabla 2) son altisonantes (14 % en C y 35 % en E), expresados en términos absolutos quedan minimizados por su escasa cuantía (0,03 y 0,06 g/l respectivamente). Quizás la tendencia incrementativa de C-LDL responda a causas ontogénicas, pues otros investigadores constataron que se elevaría levemente en función al avance del desarrollo del ternero (17).

Las declinaciones de lipoproteína α en terneros experimentales y controles se imputan a la acción conjunta de la ontogenia y los descensos lipídicos del plasma (5). La lipoproteína β registró cambios inversos. Se ratifica que en terneros las tasas de lipoproteína α son mayores que las de lipoproteína β , tal como reportan otros autores (4).

En este estudio se registraron modificaciones puestas a las obtenidas al suplementar bovinos con dietas hipergrasas (semilla de algodón), donde la hiperlipemia provocó elevaciones plasmáticas de lipoproteína α , con descenso de lipoproteína β (2, 6). En vacas lecheras, hipercolesterolemias superiores a 5 g/l serían perfectamente toleradas durante extensos períodos -sin consecuencias patológicas- debido al aumento de lipoproteína α , que en los bovinos acarrea la mayor parte del colesterol plasmático (C-HDL) (3).

No fue registrada la presencia de quilomicrones debido al ayuno previo, como así tampoco la de lipoproteína pre- β (VLDL), quizás por la sensibilidad del método utilizado, ya que esta fracción es muy escasa (a veces nula) en bovinos (1, 4).

La mayor ganancia diaria de peso en terneros lactantes con relación a los precozmente destetados, fue constatada por otros investigadores que comunicaron -para la misma zona geográfica- diferencias de 627 versus 585 g (7), 635 versus 578 g (10), 670 versus 596 g (8) y 707 versus 548 g (11).

Las diferencias de peso entre C y E se incrementaron sostenidamente hasta el tercer mes post-destete, para luego reducirse en el curso del último mes. Este hecho se debió a una inflexión en la curva de crecimiento de los lotes destetados, indi-

cando una recuperación ya observada por otros investigadores en el largo plazo (21). Tal recuperación podría explicarse en los términos del *crecimiento compensatorio*, fenómeno consistente en un desarrollo anormalmente rápido (*crecimiento de recuperación*) tendiente a recobrar el peso corporal perdido por falta de adecuada alimentación (22). Luego de períodos de indisponibilidad relativa de alimentos o pérdidas de peso, los animales desplegarían una capacidad para desarrollarse más intensa y aceleradamente, que involucra incremento del consumo de alimentos (*hiperfagia*) y mayor eficiencia metabólica (23). Terneros precozmente destetados revelarían, durante el invierno siguiente, aumentos de peso atribuibles a *ganancias compensatorias* (21).

En E, la inflexión de la curva de peso (día 90) fue precedida por cambios en la marcada tendencia inicial declinante de colesterol (día 14) y triglicéridos (día 21), cuyas concentraciones séricas se estabilizaron y esbozaron aumentos que no llegaron a alcanzar los valores de C. Tal evolución quizás enmarque dentro de los fenómenos de hiperfagia y mayor eficiencia metabólica propios del crecimiento compensatorio (21, 23).

Pese a que los bovinos cruza cebú serían más resistentes a condiciones alimentarias adversas, debido a su mayor eficiencia en la utilización de los nutrientes (24), en comunicaciones anteriores se reportó que terneros cruza cebú precozmente destetados también revelaban, con relación a testigos en amamantamiento, disminuciones de otros indicadores nutricionales como hemoglobina, hierro, cobre, albúminas y urea (25).

En conclusión, terneros cruza cebú sometidos a destete precoz y suplementados con un balanceado comercial, registraron disminuciones significativas en sus concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol total, C-HDL y lipoproteína α , así como aumentos de lipoproteína β , que se atribuyen a la acción conjunta de la ontogenia y el abrupto cambio de dieta, que suprimió las ventajas nutricionales de la leche materna y les provocó menores ganancias de peso que las de sus congéneres en amamantamiento.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue financiado por CONICET (PIP 577/98). Se reconoce la valiosa colaboración prestada por N.B. Coppo, M.A. Revidatti, A. Capellari y A.L. Slanac.

BIBLIOGRAFÍA

1. Coppo JA. Fisiología Comparada del Medio Interno, Ed. Dunken, Buenos Aires, 2001.
2. Coppo JA. Effects of dietary lipidic charge in the concentration of bovine lipids and lipoproteins. Its influence on the saturation degree of fatty acids' stored lipids. *Acta Physiol Pharm.* 40: 289-297, 1990.
3. Kaneko JJ. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4^o ed., Academic Press, San Diego, 1989.
4. Cirio A, Tebot I. Fisiología Metabólica de los Rumiantes, Ed. CSIC, Montevideo, 2000.
5. Bauer JE. Metabolismo comparado de lípidos y lipoproteínas. *Pet's Ciencia* 13: 362-376, 1997.
6. Coppo JA. L' utilisation de suppléments nutritifs qui accroissent le degré de saturation des acides gras corporels des bovins. Vers l' augmentation du risque athérogène chez l' homme. *Ann Biol Clin* 50: 263-264, 1992.
7. Galli IO, Monje AR, Hofer CC. Destete precoz: clave para nuevos sistemas de producción de carne vacuna en la Provincia de Corrientes. Premio Fundación Schiffo, VIII Jornadas Veterinarias de Corrientes, 1995. Public. INTA Concepción del Uruguay, Argentina, 33 p., 1995.
8. Arias AA, Revidatti MA, Capellari A, Slobodzian A. Técnicas para la intensificación de la ganadería de cría en el noroeste de la Provincia de Corrientes. Manejo del destete precoz. *Actas de Ciencia & Técnica UNNE* 2: 427-430, 1996.
9. Arthington JD, Kalmbacher RS. Effect of early weaning on the performance of three-year-old, first-calf beef heifers and calves reared in the subtropics. *J Anim Sci.* 81: 1136-1141, 2003.
10. Sciotti AE, Carrillo J, Melucci LM, Cano A. Efecto del destete precoz en vacas primíparas y de última parición sobre los pesos y ganancias de peso de los terneros y sus madres. *Anales XX Congreso Argentino de Producción Animal*, Río Hondo, Argentina, p. 33, 1996.
11. Peruchena CO. Destete precoz, manejo y nutrición de los terneros. *Anales Jornada Técnica sobre Destete Precoz*, INTA Corrientes, Argentina, p. 1-18, 1996.
12. Coppo JA, Coppo NB, Revidatti MA, Capellari A. Modificaciones del leucograma en terneros cruza cebú precozmente destetados. *Rev Vet.* 10/11: 14-21, 2003.
13. Kolb E. Fisiología Veterinaria, 3^o ed., Acribia, Zaragoza, 1987.
14. Rodríguez EJ, Carande VG, Rodríguez VA. Efecto de la restricción y la realimentación sobre la concentración de metabolitos sanguíneos. *Prod Anim.* 5: 1-12, 1985.
15. Schoonmaker JP, Cecava VM, Faulkner DB, Fluharty FL, Zerby HN, Loerch SC. Effect of source of energy and rate of growth on performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, and serum glucose and insulin of early-weaned steers. *J Anim Sci.* 81: 843-855, 2003.
16. Macho L, Fickova M, Zorad S. The effect of early weaning on insulin receptors in rat liver. *Endocr Regul.* 29: 157-162, 1995.
17. Márquez YC, Mendoza C, López-Ortega A. Niveles plasmáticos de colesterol total, HDL y LDL en becerras mestizas lactantes. *Anales del XVI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, Comunicación TLb 21, 1998.
18. Marcos ER, Beltramino RF. Variaciones sanguíneas en terneros de tambo bajo distintos tipos de crianza artificial. *Prod Anim.* 4: 225-232, 1984.
19. Gómez-Piquer J. *Manual Práctico de Análisis Clínicos en Veterinaria*, Ed. Mira, Zaragoza, 1992.
20. Islas A, Merino V, Rojas J. Evaluación metabólica de vacas de alta producción en el periparto. *Anales del XVI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, Comunicación TLa 61, 1998.
21. Simeone A, Beretta V, De León M, Silvera E, Torres S. Suplementación estival e invernal a terneros Hereford destetados precozmente pastoreando una pradera de *Lotus corniculatus*. *Prod Anim.* 18: 73-74, 1998.
22. Yambayamba ES, Price MA, Foxcroft GR. Hormonal status, metabolic changes and resting metabolic rate in beef heifers undergoing compensatory growth. *J Anim Sci.* 74: 57-69, 1996.
23. Ryan WJ, Williams IH, Moir RJ. Compensatory growth in sheep and cattle. I. Growth pattern and feed intake. *Austr J Agric Res.* 44: 1609-1621, 1993.
24. Howes JR. Potencial digestivo del Brahman comparado con el de Hereford. *Cebú* 36: 36-38, 1989.
25. Coppo JA. Early weaning as cause of malnutrition in half-bred Zebu calves. *Vet Res Comm.* 27: 207-210, 2003.

MORTALIDAD EN UN FEEDLOT DE LA PLATA (BUENOS AIRES- ARGENTINA): CAUSAS, DISTRIBUCIÓN MENSUAL E IMPACTO ECONÓMICO

EF Costa^{1,2}, M J Giuliadori¹, M Dezzilio³, J Romero²

¹Cátedra de Patología Médica, ²Centro de diagnóstico e investigaciones veterinarias (CEDIVE).
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. ³Actividad privada.

Resumen: Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar las causas de muerte, la distribución mensual, la tasa de mortalidad y las pérdidas económicas en un engorde a corral comercial de La Plata (Buenos Aires, Argentina). Se registraron las muertes diariamente y se realizaron las necropsias correspondientes durante todo el año 1999. En total se revisaron 18.695 animales y se realizaron 129 necropsias. La mortalidad anual fue de 0.69 % y la mortalidad mensual promedio fue de 0.216 %. El 74 % de las muertes se registró entre febrero y mayo. El riesgo relativo de muerte fue 3 veces mayor durante el período de adaptación (<30 días en el feedlot) comparado con el producido durante el período de terminación (>30 días en el feedlot). Las muertes de origen tóxico (37%) y respiratorio (29.9%) fueron las más importantes en adaptación, mientras que en terminación fueron las de origen digestivo (68%). La intoxicación con monensina, la bronconeumonía y la acidosis ruminal significaron el 68.9% de las muertes. El 92,2% de las muertes se pueden prevenir mediante vacunas o correcciones de manejo. Por último, una muerte costó 351,2\$ en adaptación y 717,9\$ en terminación, y en total, en ese feedlot durante 1999 se perdieron 57039,2\$ por las 129 muertes.

Palabras clave: Mortalidad, Feedlot, Bovinos de carne

MORTALITY IN A FEEDLOT FROM LA PLATA (BUENOS AIRES-ARGENTINA): CAUSES, MONTHLY DISTRIBUTION AND ECONOMIC IMPACT

Abstract: The objectives of the present study were to assess mortality rate, causes of death, monthly distribution of deaths, and economic impact of deaths in a feedlot from La Plata, Argentina during 1999. The commercial feedlot had a mean monthly population of 4931 (SD: 981). Animals were Angus, Hereford and Angus x Hereford, initial bodyweight was 170 - 210 kg, feeding period was 70 - 90d, and final bodyweight was 280 - 330 kg. Pens were checked twice daily by feedlot personnel, and dead animals were recorded and necropsied. A total of 52700 beef cattle heads were evaluated, and 129 necropsies were recorded and performed. Study population was divided into 1) Adaptive period (<30d on feedlot) and 2) Fattening period (>30d on feedlot). Mortality rate was assessed in annual and monthly basis. Deaths were classified according to causative origin and their preventable nature. Finally, relative risk for death and financial loss associated with mortality were estimated. Annual mortality rate was 0.69% and monthly mortality rate was on average 0.216 %. Seventy five % of death losses occurred in adaptive period and the remaining 25% in fattening period. Seventy four % of death losses occurred from February through May. Toxic and digestive deaths (37 and 30 %, respectively) were the most important in adaptive period, while digestive deaths (68%) were the most common in fattening period. Monensin toxicity, rumen acidosis and bronchopneumonia caused 68.9 % of total death losses. Ninety two point two % of deaths were classified as preventable death. The relative risk for death was 3 times higher during the adaptive period than in the fattening period. A dead animal caused a loss of \$351.2 in adaptive period, and \$717.9 in fattening period. In sum, the 129-recorded deaths represented a loss of over \$57000. In conclusion, it is recommended for this feedlot to adopt a health program, firstly, because dead animals are costly, and secondly, because most deaths can be prevented.

Key Words: Mortality, Feedlot, Beef cattle

Fecha de recepción: 05/06/03

Fecha de aprobación: 28/08/03

Dirección para correspondencia: E.F.Costa, C.C. 296, (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA. Tel: 54 (0221) 423-6663/6664 **E-mail:** nono@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

El engorde a corral (feedlot) durante la década del 90 creció marcadamente en la República Argentina y pasó de producir 300.000 cabezas en 1992 a 1.500.000 en 1998 (1). Se trabaja con tres categorías: los novillitos, que engordan unos 150 kg para llegar a faena con 340 kg; las vaquillonas, que ganan unos 110 kg para alcanzar a un peso final de 300 kg; y los terneros, que engordan unos 100 kg y van al matadero con 260 kg (2). En el engorde a corral las enfermedades generan pérdidas económicas no sólo por las muertes que ocasionan, sino además, porque perjudican la productividad de los animales, aumentan las labores de tratamiento y el costo de los medicamentos (3). Debido a que se desconoce la importancia que poseen las enfermedades en el feedlot, los objetivos del presente trabajo fueron evaluar en un engorde a corral comercial del partido de La Plata (Bs. As., Argentina): 1) las causas de muerte, 2) la distribución mensual, 3) la tasa de mortalidad, y 4) las pérdidas económicas. Este trabajo forma parte de un estudio compuesto para estimar el impacto de las enfermedades en el feedlot, en el que la 1° parte estudia la mortalidad y la 2° la morbilidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en un feedlot comercial del partido de La Plata (Ruta 36, km 70), con una población mensual promedio de 4931 animales (DS: 981) alojados en 23 corrales. Los animales, de biotipo británico (p.ej.: Aberdeen Angus, Hereford y su cruce), provenían de compra directa en el campo y de remate feria, y eran adaptados durante 10-15 días a comer de comedero y a beber de bebedero en un campo aledaño. Al ingreso al feedlot eran vacunados contra enfermedades clostridiales, IBR y queratoconjuntivitis, y además, se les dosificaba un endectocida y un implante anabólico. El peso de ingreso era de 170-210 kg, mientras que el de faena era de 280-330 kg. La duración del ciclo de engorde era de 70-90 días. La alimentación base se elaboraba con silo de maíz, granos de maíz y de sorgo, expeller de girasol, afrechillo de trigo y núcleo vitamínico-mineral. El contenido de fibra de la ración inicial (0-10 días) era de 20%, el de la dieta intermedia (10-20 días) era de 10% y el de la final (20-90 días) era de 5%. Los animales se clasificaron en: adaptación (< 30 días en el feedlot) y terminación (> 30 días). El 34 % (DS: 17) de la población estaba en adaptación y el 66 % (DS: 17) en terminación. Durante todo el año 1999, personal del establecimiento recorría 2 veces por día cada corral y registraba las muertes. Todas las necropsias fueron realizadas por el

mismo autor (CEF). En total se realizaron 52.700 observaciones, pertenecientes a 18.695 animales (cada animal se observó 2,8189 veces) y se realizaron 129 necropsias. La mortalidad se calculó en base anual (N° muertes en el año dividido por el N° total de animales, multiplicado por 100) y en base mensual (N° muertes en el mes dividido por el N° total de animales a fin de mes, multiplicado por 100) (4). Las muertes, de acuerdo al origen del problema, se clasificaron como digestivas (acidosis ruminal, timpanismo, síndrome de no-adaptación y paraqueratosis ruminal); respiratorias (bronconeumonía fibrinosa y pleuroneumonía); tóxicas (intoxicación por monensina); accidentales (fracturas, ahogados, miositis supurativa y traumas), otras (pielonefritis, peritonitis, absceso epidural y edema maligno) y sin diagnóstico. Se evaluaron las causas de muerte teniendo en cuenta si podían o no prevenirse. Se consideran muertes con prevención a aquellas que se pueden prevenir mediante vacunación, corrección de manejo, mejora de las instalaciones, etc. (5). Se realizó un estudio de Chi² para tendencias para evaluar el riesgo de muerte en adaptación y terminación aplicando el programa Epi Info versión 6.03 B (6). Para evaluar las pérdidas económicas por muerte en adaptación y en terminación se incluyeron el costo de reposición de los animales, el gasto en insumos del procesamiento de arribo (vacunas, antiparasitario e implante anabólico, no incluye mano de obra) y la alimentación, según los valores vigentes para el año 1999 (Ley de Convertibilidad: 1\$ = 1US\$) (7).

RESULTADOS

La mortalidad anual calculada para todos los animales recibidos en el feedlot durante el período de estudio fue de 0,69 %. La mortalidad mensual promedio representó el 0,216 %, siendo el promedio en adaptación de 0,664 % y en terminación de 0,097 % (Tabla 1). Se observaron dos picos de mortandad en adaptación, uno consecuencia de un brote de bronconeumonía en febrero - marzo (0,735 y 0,980%) y otro causado por intoxicación con monensina en mayo (4,1%). El 85 % de las muertes (82/97) en adaptación se registró entre febrero y mayo, momento en que se produjo el 74 % de las muertes (n: 95/129) en la población total. En la tabla 2 se muestran las muertes agrupadas según el origen causal. En adaptación, las muertes de origen tóxico (37%) y respiratorio (29.9%) fueron las más importantes, mientras que en terminación lo fueron las de origen digestivo (68%). Además, se observa que el 75 % de las muertes (97/129) se produjo en adaptación y el 25 % restante en terminación (32/129).

Tabla 1: Mortalidad mensual para adaptación y terminación en un Feedlot del partido de La Plata (Argentina) registrada durante 1999.

Table 1: Monthly mortality in Adaptive and fattening periods recorded in a feedlot from La Plata (Argentina) during 1999.

Mes	Adaptación ^a			Terminación ^b			Población Total		
	C ¹	N ²	% ³	C ¹	N ²	% ³	C ¹	N ²	% ³
E	2.398	2	0,083	812	1	0,123	3.210	3	0,093
F	1.517	11	0,725	2.578	1	0,039	4.083	12	0,294
M	2.450	24	0,980	3.168	6	0,189	5.618	30	0,534
A	917	6	0,654	4.625	2	0,043	5.542	8	0,144
M	1.000	41	4,100	4.716	4	0,085	5.716	45	0,787
J	1.489	3	0,201	3.938	2	0,051	5.427	5	0,092
J	952	5	0,525	3.443	4	0,116	4.395	9	0,205
A	1.999	0	0,000	2.714	5	0,184	4.713	5	0,106
S	507	2	0,394	3.166	0	0,000	3.673	2	0,054
O	891	2	0,224	2.298	0	0,000	3.189	2	0,063
N	1.281	1	0,078	2.310	4	0,173	3.591	5	0,139
D	1.605	0	0,000	1.926	3	0,156	3.531	3	0,085
X	1.417	8.1	0,664	2.975	2.7	0,097	4.391	10.8	0,216
DS	617	12.3	1,127	1.123	2.0	0,070	981	13.2	0,224

Adaptación^a: <30 d en el feedlot, Terminación^b: >30 d en el feedlot. C¹: número de cabezas, N²: Número de muertes; %³: mortalidad mensual [(N° muertes en el mes / N° total de animales a fin de mes) x 100]. X: promedio; DS: desvío estándar.

En la tabla 3 se presentan las causas de muerte y su clasificación de acuerdo a la prevención. La intoxicación con monensina, la bronconeumonía y la acidosis ruminal significaron el 68.9% (89/129) de las muertes, y las tres se pueden prevenir. En total, el 92,2% (119/129) de las muertes se pueden prevenir. En la tabla 4 se muestra el riesgo relativo de muerte que fue 3.03 veces mayor para los animales en adaptación que en terminación. En la tabla 5 se presenta el impacto económico de la mortalidad. Una baja en adaptación significó \$ 351,2, mientras que una en terminación representó \$ 717,9. En total, en ese feedlot se perdieron por las 129 muertes \$ 57.039,2 durante 1999.

DISCUSIÓN

En la bibliografía internacional se menciona una mortalidad anual de 0,57 – 1,07 % para el engorde a corral de terneros recién destetados

y de animales de más de un año (3). Particularmente para los terneros recién destetados, como los que se emplean en nuestros feedlots, la mortalidad descrita es de 0,9 – 1,1 % en Ontario, Canadá (8); de 2,5 – 3,0 % en el sudeste de California, EE.UU.; de 1,4 % en el nordeste de California, EE.UU.; de 1,0 % en Colorado, EE.UU., (9) y de 1,18 % en Alberta, Canadá (10). La mortalidad mensual promedio informada en feedlots de California, Colorado, Iowa, Idaho, Kansas, Nebraska, Oklahoma y Texas, EE.UU., con un tamaño comparable al referido en el presente trabajo, fue de 0,326 % (rango: 0,176 – 0,472) (4). Por tanto, nuestros datos (0,69 % anual y 0,216 % mensual) coinciden con los valores previamente informados.

Vogel y Parrot (4) informaron una incidencia más baja de muertes a fines de primavera y principios de verano (junio: 0,176 %) y más alta a

Tabla 2: Muertes en adaptación y terminación, agrupadas según el origen causal, en un feedlot del partido de La Plata (Argentina) durante 1999.

Table 2: Deaths occurred in Adaptive and fattening periods grouped according to causative origin in a feedlot from La Plata (Argentina) during 1999.

Origen causal	Adaptación ¹		Terminación ²		Población Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Tóxicas^a	36	37,11	-	0,00	36	27,91
Digestivas^b	13	13,40	22	68,75	35	27,13
Respiratorias^c	29	29,90	-	0,00	29	22,48
Accidentales^d	17	17,53	1	3,13	18	13,95
Sin diagnóstico^e	1	1,03	5	15,63	6	4,65
Otras^f	1	1,03	4	12,50	5	3,88
Total	97	100,00	32	100,00	129	100,00

Adaptación¹: < 30 d en el feedlot, Terminación²: > 30 d en el feedlot. N°: número de muertes, %: porcentaje de muertes.

Tóxicas^a (intoxicación por monensina), digestivas^b (acidosis ruminal, timpanismo, síndrome de no-adaptación y paraqueratosis ruminal), respiratorias^c (bronconeumonía fibrinosa y pleuroneumonía), accidentales^d (fracturas, ahogados, miositis supurativa y traumas), sin diagnóstico^e (sin lesiones diagnósticas), y otras^f (pielonefritis, peritonitis, absceso epidural y edema maligno).

fines de otoño (noviembre: 0,472 %). Los autores atribuyen esa variación a cambios climáticos y a diferencias en la edad del ganado que entra a los feedlots, puesto que en la primavera ingresan más pesados y en el otoño más livianos (recién destetados). En nuestro trabajo el porcentaje mayor de muertes (74 %) se produjo entre fines de verano y otoño (febrero - mayo). La explicación serían los brotes de bronconeumonía en febrero y marzo en un lote de animales comprados con un peso muy bajo (aprox. 120 kg) y sometidos a un transporte demasiado prolongado (>500 km), y la intoxicación con monensina en mayo por errores en el mezclado de la ración.

Si bien nuestros datos de mortalidad anual y mensual coinciden con los índices mencionados en la bibliografía internacional (4, 8, 9, 10), difieren en que describen a los problemas respiratorios como la principal causa de muerte, mientras que en el presente trabajo las principales causas de muerte fueron las tóxicas y las digestivas. Esta diferencia podría deberse a que el manejo alimenticio en este feedlot no fue del todo adecuado. Se detectaron errores de mezclado (p.ej.: en la intoxicación con monensina), y de entrega de alimentos (p.ej.: variación marcada en la cantidad distribuida día a día a cada corral) que puede haber desencadenado las acidosis.

Church (9) menciona que los exámenes post

mortem son el método de diagnóstico más confiable en el feedlot, y recomienda incluir en los programas de sanidad las necropsias de todos los animales muertos. Esto coincide con nuestros datos debido a que las muertes sin diagnóstico significaron un porcentaje muy bajo (< 5 %). Las muertes sin diagnóstico podrían incluirse dentro del síndrome de muerte súbita que se caracteriza porque los animales en terminación son encontrados muertos sin signos previos de enfermedad y sin una causa aparente de muerte. Aunque se supone que el problema podría ser de origen digestivo como la acidosis y el timpanismo (11). Esto coincidiría con nuestros datos porque el 83,3 % de las muertes sin diagnóstico ocurrieron en terminación.

Lechtenberg et al. (12) sugieren que las muertes accidentales no deben superar el 3 % del total, y en nuestro trabajo significaron el 13,95 % (17,53 % de las muertes de adaptación). Esto se debería a fallas en el diseño, en la construcción y en el mantenimiento de las instalaciones, además de errores en el armado de los grupos de animales para cada corral (p.ej.: mezcla de diferente tamaño).

El destete, la comercialización, el transporte, la privación de agua y alimento, la exposición al barro, a la nueva ración, a un nuevo orden social y a nuevos patógenos generan estrés. Los

Tabla 3: Causas y número de muertes registradas durante 1999 en un feedlot comercial del partido de La Plata (Argentina), considerando si es posible prevenirlas.

Table 3: Causes and number of death and their preventable nature in a feedlot from La Plata (Argentine) during 1999.

	Adaptación ¹	Terminación ²	Total	Prevención ³
Intoxicación p/ monensina	36	-	36	Posible
Bronconeumonía	27	-	27	Posible
Acidosis ruminal	10	16	26	Posible
Traumas	6	-	6	Posible
Sin diagnóstico	1	5	6	No
Fracturas	5	-	5	Posible
Timpanismo ruminal	-	4	4	Posible
No-adaptación	3	-	3	Posible
Miositis supurativas	3	-	3	Posible
Paraqueratosis ruminal	-	2	2	Posible
Pleuroneumonía	2	-	2	Posible
Pielonefritis	1	-	1	No
Ahogados	-	1	1	Posible
Absceso epidural	-	1	1	No
Edema maligno	-	1	1	Posible
Peritonitis	-	1	1	No
Trombosis arteria pulmonar	-	1	1	No

Adaptación¹: < 30 d en el feedlot, Terminación²: > 30 d en el feedlot, Prevención³: Posible, se puede prevenir mediante vacunación, corrección de manejo e instalaciones, etc., No, sin prevención.

agentes estresantes reducen la productividad y aumentan la morbilidad y la mortalidad en el feedlot (13). Se ha descrito una correlación positiva y significativa entre la morbilidad, el costo de los tratamientos y la mortalidad en el feedlot (8). En el presente trabajo se encontró un riesgo relativo de muerte 3 veces mayor en adaptación que en terminación. Estos datos coinciden con lo informado por Smith (3) quién encontró mayor morbilidad y mortalidad durante los primeros 45 días en el feedlot. Por lo mencionado anteriormente, el estrés y la inmunodepresión asociada serían los responsables del mayor riesgo de muerte en adaptación.

Si bien todas las muertes registradas fueron causadas por 17 enfermedades, tres de ellas

(intoxicación por monensina, acidosis y bronconeumonía) significaron el 68,9 % del total. Además, estas tres entidades se pueden prevenir. En general, la mayoría de las muertes (92,2 %) fueron causadas por enfermedades posibles de prevenir mediante vacunación o corrección de manejo. Esto último coincide con lo informado por Church (9) que remarca la importancia del programa de sanidad en el feedlot debido a que prácticamente todas las muertes se pueden prevenir.

Por último, los costos por las 129 muertes del feedlot (sin incluir los honorarios veterinarios ni los tratamientos) representaron unos \$ 57039,2 (\$ 351,2 / animal de adaptación y \$ 717,9 / animal muerto en terminación) lo que plantea seriamente la necesidad de implementar un programa

Tabla 4: Estudio de riesgo relativo de muerte en las categorías de adaptación y terminación de un feedlot de La Plata (Argentina).

Table 4: Relative risk for death in Adaptive and fattening periods found in a feedlot from La Plata (Argentina) during 1999.

	N° animales ^a	N° muertes	OR ^b
Adaptación¹	18.598	97	3,03
Terminación²	18.566	32	1,00

Adaptación¹: <30 d en el feedlot, Terminación²: >30 d en el feedlot.
N° animales^a: en riesgo para cada categoría. OR^b: Odds Ratio. Chi²:
54.498, p<0.001

Tabla 5: Impacto económico de las muertes en las categorías de adaptación y terminación de un feedlot de La Plata (Argentina) durante 1999.

Table 5: Economic impact of recorded deaths in Adaptive and fattening periods for a feedlot from La Plata (Argentina) during 1999.

	Reposición ¹	Sanidad ²	Alimentación ³	Total/cabeza ⁴	Mortalidad ⁵	Costo total ⁶
Adaptación^a	243,2	6	102	351,2	34.066,4	
Terminación^b	243,2	6	468,7	717,9	22.972,8	57.039,2

Adaptación^a: <30 d en el feedlot, Terminación^b: >30 d en el feedlot.

Reposición¹: costo de la reposición a \$ 1,28/kg (1\$=1US\$) (Bertelli, 2000); Sanidad²: costo de la sanidad por cabeza (no incluye costo de tratamiento de enfermedades) (Bertelli, 2000); Alimentación³: costo del alimento consumido por un animal en adaptación (peso de ingreso: 190, ganancia de peso: 1,5 kg/d, promedio de días en adaptación hasta la muerte: 15, conversión alimenticia: 5,6 y kg de ración: \$ 0,8) y en terminación (peso de ingreso: 235, ganancia de peso: 1,5 kg/d, promedio de días en terminación hasta la muerte: 30, conversión alimenticia: 5,6 y kg de ración: \$ 1,05) (Bertelli, 2000); total/cabeza⁴: costo por muerte en adaptación y en terminación; Mortalidad⁵: costo de 97 muertes en adaptación y de 32 en terminación (no incluye honorarios veterinarios); Costo total⁶: costo de todas las muertes.

de sanidad en el feedlot con el objetivo de disminuir estas pérdidas.

Se recomienda implementar un programa de sanidad en el feedlot que incluya la necropsia de todos los animales muertos debido a que es una herramienta de diagnóstico muy efectiva para conocer los problemas que generan estas pérdidas (el porcentaje de muertes sin diagnóstico es muy bajo, <5%). Además, se aconseja focalizar el programa en la sanidad de los animales en adaptación puesto que son los que poseen el riesgo más alto de muerte (OR: 3.03). Por otra parte, es alentador el hecho de que las causas de muerte son relativamente pocas (n: 17), y de que la mayoría (92% de las muertes) se puedan prevenir mediante vacunación, corrección de manejo y/o de instalaciones.

Agradecimientos:

Los autores están agradecidos al propietario y al personal del establecimiento "El Rocío" por la colaboración en el trabajo y a la Dra. M. Fabia-

na Landoni PhD por la revisión crítica del manuscrito.

Bibliografía:

1. Iriarte I. Situación ganadera. En: Clarín Rural (Argentina). Sábado 7 de agosto de 1999.
2. Giuliodori MJ, Lasta G, Costa EF, Corva SG, Baldo A. Prevalencia de abscesos hepáticos en animales de feedlot en Argentina. *Analecta Veterinaria* 2000; 20(1):20-22.
3. Smith RA. Impact of disease on Feedlot performance: A review. *J Anim Sci* 1998; 76: 272-274.
4. Vogel GJ, Parrot C. Mortality survey in feed yards: The incidence of death from digestive, respiratory, and other causes in feed yards on the great plains. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1994; 16: 227-234.
5. Radostits OM. Animal health and production in the commercial beef herd and feedlot. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1983; 5(1):3-14.
6. Epi Info, Version 6.03 Manual. Public domain microcomputer programs for handling public health data. The Division of Surveillance and Epidemiology. Epide-

miology Program Office Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Atlanta, Georgia 30333. 1995 <<http://www.cdc.gov/epo/epi/intro/manual/mantoc.htm>> [14/03/2000].

7. Bertelli P. Sistema de terminación a corral. En: XIII jornadas ganaderas de Pergamino. 13 de julio de 2000, Pergamino, Argentina; p.41-50.

8. Martin SW. Factors influencing morbidity and mortality in feedlot calves in Ontario. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1983; 5(1):75-86.

9. Church TL. Preventive medicine in the feedlot. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1983; 5(1):29-40.

10. Church TL, Radostitis OM. A retrospective survey of diseases of feedlot cattle in Alberta. *Can Vet J* 1981; 22(2):27-30.

11. Griffin D. Feedlot diseases. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1998; 14(2):199-231.

12. Lechtenberg KF, Smith RA, Stokka GL. Feedlot health and management. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1998; 14(2):177-197.

13. Loerch SC, Fluharty FL. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. *J Anim Sci* 1999; 77:1113-1119.

ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE LA LIEBRE EUROPEA (*LEPUS EUROPAEUS* PALLAS, 1778) EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA Parte I

MA Risso^{1,4}, HS Martínez²; AI Porras³, AM Vilches²,
EB Bonzo⁴, NA Menéndez⁵

¹Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. ²Ministerio de Asuntos Agrarios y Producción. Departamento de Flora y Fauna Silvestre. ³Ministerio de Educación, Provincia de Buenos Aires. ⁴Cátedra de Bioestadística, ⁵Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

RESUMEN: Se estudió la reproducción de la Liebre europea (*Lepus europaeus*) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina, durante un ciclo anual completo (1986-1987), sobre un total de 559 animales. Se determinó el inicio de la estación reproductiva 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 de cuerpos lúteos en las 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, durante una estación reproductiva de 7 meses, con un índice de pariciones de 2.75, un promedio de 2.02 crías por parición y un valor final de 5.7 jóvenes por hembra adulta por año. Asimismo, se encontró 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 (1:1.09), no arrojó diferencias significativas. Se determinó la edad a partir del peso seco de los cristalinos y de la observación de los puntos de osificación del cúbito y del radio.

Palabras claves: Liebre europea, Lagomorpha, *Lepus europaeus*, Reproducción, Argentina.

ESTIMATION OF REPRODUCTIVE PARAMETERS OF THE EUROPEAN HARE (*LEPUS EUROPAEUS* PALLAS, 1778) IN THE PROVINCE OF BUENOS AIRES, ARGENTINA Part I

ABSTRACT: The reproduction of the European hare (*Lepus europaeus*) was studied in the Province of Buenos Aires, Argentina, over a complete annual cycle (1986 - 1987), for a total of 559 animals. The beginning of the breeding season at early winter period (May - June) could be determined, as well as the end of it at the beginning of the autumn (February - March), followed by a recess in the reproductive activity from March to May. Gonad weight and volume, as well as presence or absence of sperm and corpora lutea for males and females respectively, were taken into account as active reproduction indicators. Over a gestation period of 42 days, the pregnancy percentage was 54.9% for adult females in a seven-month reproductive period. The index of births was 2.75, with an average of 2.07 embryos per litter, and the final ratio of young per adult female was 5.7 a year. No statistically significant differences were found in the ratio of males to females in an annual cycle (1: 1.09). Eyes lens weight and ossification of the epiphyseal cartilage of the ulna and radius were used in order to determine the age.

Key words: European hare, Lagomorph, *Lepus europaeus*, Reproduction. Argentina

Fecha de recepción: 02/06/03

Fecha de aprobación: 16/10/03

Dirección para correspondencia: Miguel Atilio Risso Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. 296 (B1900AVW). La Plata, ARGENTINA, Tel: +54 (0221) 4257980

E-mail: marisso@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La liebre europea (*Lepus europaeus*) pertenece al orden *Lagomorpha*, familia *Leporidae* (1-4). Este mamífero, nativo de Europa, fue introducido en la Provincia de Buenos Aires, Argentina, hace más de cien años (5). Sin embargo, la información sobre su biología reproductiva, es escasa en nuestra provincia (6-9) y en el resto del país (10-15). En los países de Europa y de América del Norte, la literatura sobre la liebre europea (LE) es muy amplia (16-23) y está basada, principalmente, en datos obtenidos en el campo. Así se conocieron el comienzo y la duración de la estación reproductiva (ER), la producción anual de jóvenes por liebre adulta, la incidencia y duración de la preñez y la mortalidad embrionaria. En la Provincia de Buenos Aires, la temporada de caza desprotege a la LE durante el período de bajas temperaturas invernales y cortos periodos de luz (e.g.: desde el 1 de mayo al 31 de julio).

El propósito de este trabajo fue estudiar la reproducción de la liebre europea durante un ciclo anual completo, aspecto que esta íntimamente relacionado al manejo biológico de la temporada de caza de la liebre europea en la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este trabajo se capturaron 559 liebres en un año (1986-1987). Las capturas se realizaron en el Partido de Azul, Provincia de Buenos Aires (36° 47' S, 59° 52' O). 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. El muestreo fue realizado al azar en frigorífico (EFASA, Empresa de Frigoríficos Azul, Sociedad Anónima), durante la temporada de caza. Al finalizar la mencionada temporada, desde el mes de agosto y hasta el mes de mayo del año siguiente, se capturaron ejemplares a campo, mensualmente, en la misma zona y con idéntica metodología de caza. Esta tarea fue realizada con la colaboración de cazadores autorizados, utilizando disparo de arma de fuego.

Muestras

En los ejemplares machos y hembras, se tomaron muestras de acuerdo a la técnica descrita por Risso en 1996 (24).

El ciclo anual de actividad sexual

Tanto el peso de los testículos como el del epidídimo están sujetos a considerables variaciones durante el ciclo anual. Por ello, se los consi-

deró, de acuerdo a la literatura, como indicadores de la condición de funcionalidad sexual en los machos (17, 20, 21), tomándose el peso de dichos órganos ($\pm 0,01$ mg), después de ser lavados con agua corriente y secados (20, 21).

Las variaciones en el peso de los testículos coinciden con las variaciones en el volumen de los mismos y se considera a esta relación, un buen estimador de la actividad sexual (6, 17, 20, 21, 23, 25). Por ello, se tomaron las medidas del largo, ancho, y espesor de los testículos, por medio de un calibre y se las expresó en milímetros, como una relación matemática que multiplica estos tres valores (21).

La presencia-ausencia de líquido espermático se consideró también un estimador de la actividad sexual y, por lo tanto, del principio y fin de la actividad reproductiva en los machos (7, 17, 21, 23, 26). Hay que tener en cuenta que la ovulación en la LE es inducida por el coito (17) 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 (24).

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 (7, 17, 20, 21, 27).

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 (6, 17, 20, 21, 23, 24, 26, 28-31).

Embriones

Para poder conocer el grado de maduración embrionaria, se estimaron dos parámetros: las medias del peso y el largo de los embriones (16, 17, 20, 24, 32). Para ello, se midió el largo, con calibre de precisión y se expresó esta medida en milímetros; seguidamente, se pesaron los embriones en balanza de precisión, expresando su peso en gramos.

Edad

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 (24, 33-36). Los lentes se trataron de acuerdo a las recomendaciones de Andersen and Jensen (37).

Tratamiento de los datos

Los datos muestrales, expresados generalmente como media \pm error estándar, así como porcentajes, se consideraron estimadores de los verdaderos parámetros poblacionales y fueron tratados del siguiente modo:

a) Los datos cuantitativos continuos, resultado de mediciones (*e.g.*: peso corporal, peso de las gónadas, etc.), se compararon usando análisis de la varianza, prueba de Fisher.

b) Los datos enumerativos discretos, resultado de conteos numéricos (*e.g.*: número de embriones, número de cuerpos lúteos, etc.), se compararon usando la prueba de Chi cuadrado (X^2). Cuando la homogeneidad de las varianzas así lo requirió se procedió a la transformación de los datos.

c) Análisis de correlación entre: peso y volumen de ovarios y testículos, número de hembras adultas lactantes y número de cuerpos lúteos y embriones, fueron realizados usando el coeficiente de correlación de Pearson.

d) Se consideró un nivel de significación (α) del 5% como significativo ($p < 0,05$) (38-41).

RESULTADOS

Sobre las 559 liebres capturadas durante el ciclo anual -291 hembras (52 %) y 268 machos (48 %)- no hallamos diferencias significativas en la razón de sexos de machos a hembras (1: 1,09, $n = 559$, $X^2 = 6,61$ grados de libertad (g.l.) = 12, $P > 0,05$, Tabla 1). En los 268 machos, encontramos 181 activos (67,5%) y 87 inactivos (32,5%) ($X^2 = 112,2$, grados de libertad (g.l.) = 12, $P < 0,00001$, Tabla 1). En las 291 hembras, encontramos 150 preñadas (51,5%) y 141 no preñadas (48,5%, $X^2 = 133,3$ g.l. = 12, $P < 0,00001$; Tabla 1).

En el estudio de peso y volumen de testículos, el máximo valor esta dado en agosto y el mínimo en marzo. El análisis de correlación entre el peso y volumen de los testículos alcanza un alto y significativo valor (Activos, $r = 0,96$, $F = 265,3$, g.l. = 1/12, $P < 0,00001$; Inactivos, $r = 0,92$, $F = 136,6$, g.l. = 1/12, $P < 0,00001$, Tabla 2).

La actividad de las hembras comienza en Junio y finaliza en mayo del siguiente año. Una positiva y significativa correlación se observó entre el peso de los ovarios y el volumen. (Preñadas, $r = 0,97$, $F = 454,5$, g.l. = 1/12, $P < 0,00001$; no preñadas, $r = 0,97$, $F = 436,6$, g.l. = 1/12, $P < 0,00001$, Tabla 3).

De las 186 hembras adultas (HA) halladas en el ciclo anual (Tabla 4), en mayo encontramos

Tabla 1 Actividad sexual de machos y hembras

Table 1 Males and female's sexual activity

Mes	Machos					Hembras					Total
	A	I	%A	%I	Tp	P	NP	%P	%NP	Tp	
Mayo	5	14	26,3	73,7	19		21	0,0	100	21	40
Junio	16	4	80,0	20,0	20	2	28	6,7	93	30	50
Julio	36	1	97,3	2,7	37	25	11	69,4	31	36	73
Agosto	22		100,0	0,0	22	18		100,0	0	18	40
Septiembre	16		100,0	0,0	16	23	1	95,8	4	24	40
Octubre	16	2	88,9	11,1	18	19	3	86,4	14	22	40
Noviembre	11	2	84,6	15,4	13	6	3	66,7	33	9	22
Diciembre	15	7	68,2	31,8	22	20	11	64,5	35	31	53
Enero	15	3	83,3	16,7	18	10	5	66,7	33	15	33
Febrero	14	10	58,3	41,7	24	15	8	65,2	35	23	47
Marzo	3	15	16,7	83,3	18	5	17	22,7	77	22	40
Abril	2	17	10,5	89,5	19	6	11	35,3	65	17	36
Mayo	10	12	45,5	54,5	22	1	22	4,3	96	23	45
Total	181	87	67,5	32,5	268	150	141	51,5	48,5	291	559

Tp: Total parcial-Total partially. A: Machos activos-Active males. I: Machos inactivos-inactive males. P: Hembras preñadas-Pregnant females. NP: Hembras No preñadas-non-pregnant females

solo 13 hembras adultas sexualmente inactivas (sin cuerpo lúteo y sin embriones) (HASI). En junio encontramos 1 /22 (4,5 %) hembras adultas con embriones (HACE o hembras adultas preñadas HAP), 1/22 (4,5 %) hembras adultas con cuerpo lúteo (HACL), 2/22 (9,1%) hembras adultas sexualmente activas (HASA) (la suma de HACE + HACL); y 20/22 (90,9%) hembras adultas sexualmente inactivas (sin cuerpo lúteo y sin embriones) (HASI). En agosto, encontramos: 10/16 (62,5%) HACE, 6/16 (37,5%) HACL y 0/16 (0%) HASI. El porcentaje de HACE llega al máximo en febrero (84,6%, 11/13) y, subsecuentemente, declina

hasta llegar a 0% en mayo (0/11). Finalmente, sobre las 186 hembras adultas encontramos: 62 (33,3%) HACE, 66 (35,5%) HACL. Lo que hace un total de 128 (62+66), (68,8%) HASA y el resto, 58 (31,2%) HASI (Tabla 4).

En la Tabla 5, observamos la actividad sexual de hembras adultas en el ciclo anual expresada como nivel de ovulación (NO), nivel de implantación (NI) y mortalidad embrionaria (ME). El promedio de NO se definió como la cantidad de cuerpos lúteos visibles encontrados al corte del ovario, agrupados mensualmente y dividido por el

Tabla 2: Actividad sexual en machos, expresada como peso y volumen promedios de testículos.
Table 2: Sexual activity in males expressed as the average weight and volume of testes.

Meses	Medidas	Activos			Inactivos			Total
		n	m	es	n	m	es	
Mayo	P	5	4,24	± 0,41	14	2,22	± 0,34	19
	V		5,60	± 0,48		3,12	± 0,44	
Junio	P	16	8,63	± 0,32	4	3,85	± 0,64	20
	V		11,58	± 0,61		4,02	± 0,95	
Julio	P	36	10,11	± 0,49	1	3,48		37
	V		13,10	± 0,73		5,31		
Agosto	P	22	13,07	± 0,37				22
	V		16,49	± 0,68				
Septiembre	P	16	8,76	± 0,61				16
	V		10,60	± 0,75				
Octubre	P	16	7,57	± 0,49	2	0,35	± 0,10	18
	V		8,35	± 0,68		0,28	± 0,08	
Noviembre	P	11	7,55	± 1,02	2	1,95	± 1,03	13
	V		8,09	± 1,09		1,78	± 0,95	
Diciembre	P	15	7,69	± 0,81	7	1,12	± 0,56	22
	V		10,67	± 1,45		1,26	± 0,63	
Enero	P	15	6,75	± 0,52	3	1,02	± 0,27	18
	V		9,30	± 0,70		1,09	± 0,16	
Febrero	P	14	6,03	± 0,49	10	1,62	± 0,36	24
	V		8,24	± 0,83		1,83	± 0,46	
Marzo	P	3	1,71	± 0,70	15	1,09	± 0,15	18
	V		1,97	± 0,81		1,40	± 0,17	
Abril	P	2	3,50	± 0,32	17	1,07	± 0,17	19
	V		4,89	± 0,32		1,56	± 0,28	
Mayo	P	10	6,67	± 0,73	12	2,89	± 0,50	22
	V		8,37	± 0,96		3,11	± 0,45	
Total		181			87			268

P = peso-weight. V = volumen-volume. m = media-mean. es = error estándar-standard error. Machos activos-Active males. Machos inactivos-inactive males. Meses=months. Medidas=measurements

número de hembras adultas preñadas (PNO = 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 (21). El promedio de NI se consideró como el número de embriones visibles macroscópicamente, agrupados mensualmente y dividido por el número de hembras adultas preñadas (PNI = NI/ NHAP); o sea, todos los estados de implantación capaces de ser establecidos macroscópicamente, en el momento de abrir el útero (6, 20, 21, 23). La ME se consi-

deró como la diferencia entre el PNO y PNI hallados (20, 21).

En los meses de mayo y junio, los PNO y PNI son mínimos. Es, a partir del mes de julio, que encontramos un PNO de 1.33 (4 cuerpos lúteos / 3 hembras adultas preñadas (HAP), un PNI también de 1.33 (4 embriones / 3 HAP) y una ME de 0, (1.33 - 1.33 = 0). En el mes de octubre, el PNO y el PNI comienzan a crecer y en los meses de diciembre y enero alcanzan los valores más altos (3.38, 2.38 y 3.57, 2.29, respectivamente). Luego,

Tabla 3: Actividad sexual en hembras, expresada como peso y volumen promedios de ovarios.

Table 3: Sexual activity in females expressed as the average weight and volume of ovaries.

Meses	Medidas	Preñadas			No Preñadas			Total
		<i>n</i>	<i>m</i>	<i>es</i>	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>es</i>	
Mayo	P				21	0,93 ± 0,12		21
	V					1,45 ± 0,19		
Junio	P	2	2,40 ± 0,75		28	1,13 ± 0,12		30
	V		3,33 ± 1,16			1,55 ± 0,17		
Julio	P	25	2,52 ± 0,17		11	1,57 ± 0,13		36
	V		3,37 ± 0,23			2,12 ± 0,19		
Agosto	P	18	3,37 ± 0,22					18
	V		4,02 ± 0,37					
Septiembre	P	23	2,12 ± 0,12		1	0,04		24
	V		2,66 ± 0,16			1,91		
Octubre	P	19	2,36 ± 0,14		3	0,72 ± 0,66		22
	V		3,11 ± 0,32			1,01 ± 0,91		
Noviembre	P	6	1,89 ± 0,36		3	0,47 ± 0,37		9
	V		2,61 ± 0,52			0,56 ± 0,48		
Diciembre	P	20	1,99 ± 0,24		11	0,52 ± 0,18		31
	V		2,91 ± 0,38			0,75 ± 0,26		
Enero	P	10	2,07 ± 0,25		5	0,25 ± 0,07		15
	V		2,78 ± 0,40			0,34 ± 0,08		
Febrero	P	15	2,27 ± 0,16		8	0,18 ± 0,06		23
	V		3,04 ± 0,22			0,22 ± 0,07		
Marzo	P	5	1,28 ± 0,23		17	0,54 ± 0,11		22
	V		1,97 ± 0,42			0,90 ± 0,18		
Abril	P	6	1,02 ± 0,16		11	0,31 ± 0,07		17
	V		1,83 ± 0,38			0,51 ± 0,13		
Mayo	P	1	1,73		22	0,74 ± 0,07		23
	V		2,28			0,93 ± 0,10		
Total		150			141			291

P = peso-weight. V = volumen-volume. m = media-mean. es = error estándar-standard error. Hembras preñadas-Pregnant females. Hembras No preñadas-non-pregnant females. Meses = months. Medidas = measurements

Tabla 4: Actividad sexual de hembras adultas en el ciclo anual.
Table 4: Sexual activity of adult females in the annual cycle.

Muestra	HACE	HACL	HASA	HASI	adultas	%HACE	%HACL	%HASA	%HASI
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

HACE Hembras adultas con embriones-Adult females with embryos

HACL Hembras adultas con cuerpo lúteo (sin embriones)-Adult females with corpora lutea (without embryos)

HASA Hembras adultas sexualmente activas (HACE + HACL)-Sexually active adult females

HASI Hembras adultas sexualmente inactivas (sin cuerpo lúteo y sin embriones)-Sexually inactive adult females (without corpora lutea and without embryos)

Tabla 5: Nivel de ovulación, nivel de implantación y mortalidad embrionaria en hembras adultas.

Table 5: Ovulation level, implantation level and embryonic mortality in adult females.

Mes	Distribución de Embriones en HACE										
	PNO	PNI	PME	NO	NI	HACE	1	2	3	4	Total
Mayo	0,00	0,00	0,00	0	0	0	0	0	0	0	0
Junio	1,00	1,00	0,00	1	1	1	1	0	0	0	1
Julio	1,33	1,33	0,00	4	4	3	2	1	0	0	3
Agosto	1,40	1,20	0,20	14	12	10	8	2	0	0	10
Setiembre	2,33	2,33	0,00	14	14	6	0	4	2	0	6
Octubre	2,83	2,17	0,67	34	26	12	3	4	5	0	12
Noviembre	2,50	2,50	0,00	5	5	2	0	1	1	0	2
Diciembre	3,38	2,38	1,00	27	19	8	1	3	4	0	8
Enero	3,57	2,29	1,29	25	16	7	1	4	1	1	7
Febrero	3,09	2,18	0,91	34	24	11	2	5	4	0	11
Marzo	2,00	2,00	0,00	2	2	1	0	1	0	0	1
Abril	2,00	2,00	0,00	2	2	1	0	1	0	0	1
Mayo	0,00	0,00	0,00	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	2,61	2,02	0,60	162	125	62	18	26	17	1	62

PNO media de nivel de ovulación-Average ovulation level. PNI media de nivel de implantación-Average implantation level. PME media de mortalidad embrionaria-Average embryonic mortality. NO nivel de ovulación (n)-Ovulation level. NI nivel de implantación (n)-Implantation level. HACE hembras adultas con embriones-Adult females with embryos. Distribución de embriones en HACE-Distribution of embryos in HACE. 1-4: número de embriones-Numbers of embryos

el PNO y el PNI descienden hasta llegar, nuevamente, a valor cero, en mayo.

Sobre 62 HAP obtuvimos nosotros, los siguientes valores promedio anuales: PNO = 2.61, PNI = 2.02 y ME = 0.60. La distribución de embriones sobre las 62 hembras adultas preñadas fue significativamente diferente, con los siguientes valores: 18 HAP con 1 embrión, 26 HAP con 2 embriones, 17 HAP con 3 embriones y 1 HAP con 4 embriones (Tabla 5).

Como puede observarse en la Tabla 4, tomando nosotros, de acuerdo a Raczynski (21), 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 o índice de pariciones.

Finalmente, y siguiendo al mismo autor (21), el número de ciclos observado (2.75) por el nivel de implantación promedio hallado (2.07) (116

embriones en normal desarrollo, deduciendo la reabsorción embrionaria / 56 HACE, Tabla 5) da como resultado 5.7, que representa el número promedio calculado de embriones producidos por una hembra en el ciclo anual, o sea, la producción de jóvenes por año.

Embriones

En la Tabla 6, se analiza la varianza del peso y del largo de los 125 embriones visibles macroscópicamente, resultantes de las 62 HAP. 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, e.g.: 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, e.g.: 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 las 17 (Tabla 7) 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 7).

Lactación

Sobre un total de 75 hembras lactantes se encontraron 201 cuerpos lúteos y 81 embriones. Se pudo hallar un coeficiente de correlación muy alto y significativo, entre la distribución del número de HAP lactantes y el número de cuerpos lúteos (r = 0,99, F = 4189,7, g.l. = 1/4, P <0,00001). También, entre el número de HAP lactantes y el número de embriones (r = 0,96, F = 90.4, g.l.. = 1/4, P <0,00001).

DISCUSIÓN

El material estudiado no dio como resultado diferencias significativas en lo que hace a la distribución de sexos, este hallazgo concuerda con resultados de otros autores: Raczynski, encontró una relación de sexos de 380:349 (1:0,92) (21); Flux, una de 446:556 (1:1,24) (20), Bonino y Montenegro, una de 1:1.2 (10) y nuestros datos estiman un valor similar (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 (20), la diferencias sig-

Tabla 6: Peso y longitud de los embriones, analizados por los cuernos ováricos izquierdo y derecho respectivamente, de las 62 hembras adultas preñadas.

Table 6: Embryos' weight and length analyzed from left and right horns respectively, over 62 adult pregnant females.

Embriones	Peso		Largo			
	Cuerno Izquierdo					
	n	m	es	n	m	es
1	7	46,6 ± 17,8	7	7,7 ± 1,7		
2	26	49,3 ± 8,2	26	9,2 ± 0,6		
3	30	53,6 ± 7,5	30	9,0 ± 0,2		
4	3	38,4 ± 5,2	3	8,9 ± 0,5		
Total	66	50,4 ± 5,1	66	8,9 ± 0,4		
	Cuerno Derecho					
1	11	30,4 ± 9,6	11	7,0 ± 1,2		
2	26	33,1 ± 7,6	26	8,0 ± 0,7		
3	21	84,7 ± 8,8	21	10,6 ± 0,5		
4	1	27,1 ±	1	8,6 ±		
Total	59	50,9 ± 5,87	59	8,7 ± 0,4		

m = media-mean. es = error estándar-standard error. Cuerno Izquierdo-left horn. Cuerno derecho-right horn. Peso: weight. Largo-Length.

Tabla 7: Peso y longitud en 62 hembras adultas preñadas y 125 embriones.

Table 7: Weight and length in 62 adult pregnant females and 125 embryos.

Embriones	HACE	Peso			Largo		
		n	m	es	n	m	es
1	18	18	36,7 ±	9,0	18	7,3 ±	1,0
2	26	52	41,2 ±	5,6	50	8,6 ±	0,5
3	17	51	66,4 ±	6,1	49	9,6 ±	0,5
4	1	4	35,6 ±	4,7	4	8,8 ±	0,4
Total	62	125	50,6 ±	3,8	121	8,8 ±	0,3

m = media-mean. es = error estándar-standard error. HACE Hembras adultas con embriones-Adult females with embryos. Peso: weight. Largo: Length

nificativas 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 2 y 3). Alcanzan las dos un pico en julio y finalizan ambas en febrero - marzo. Esta observación coincide con lo expresado por Raczynski (21), que señala que, los primeros machos activos aparecen en diciembre (junio, en hemisferio sur), mientras que las primeras hembras preñadas aparecen en enero (julio, en hemisferio sur). 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 2 y 3), podemos señalar que comienzan 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 trazada 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 en el mes de marzo, estos datos coinciden por lo expresado en otros trabajos (6, 17, 20, 21, 23). En cuanto al porcentaje de hembras activas con embriones, HACE (Tabla 4), observamos que en mayo tiende a cero y el de hembras adultas sexualmente inactivas (HASI, 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 activi-

dad, que al llegar al mes de agosto se acerca al 100%. Estas observaciones coinciden con los datos de Raczynski (21) que señala que las primeras hembras preñadas aparecen en enero (julio en hemisferio sur) y finalizan en octubre (abril en hemisferio sur). Flux (20), 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) que es el que representa 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 (NI = 2.02, Tabla 5) son muy similares a los encontrados por otros investigadores (Raczynski (21) = 2.76; Flux (20) = 2.55; Amaya y col., (6) = 2.27; Pielowski (42) = 2.3). La relación de hembras activas con embriones, sobre el total de adultas expuesto en la Tabla 4, arroja un porcentaje de preñez cercano al 55%. Sobre los 7 meses de preñez calculados, estimamos un índice de pariciones de 2.75 y un valor final de 5.7 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 (25); Amaya en 1979, 4.65 (6); Pielowski en 1971, 6.5 - 9 (42); Raczynski en 1964, 7.8 (21); Flux en 1967, 9.8 (20); Broekhuizen en 1981, 11.02 (17). Por último Frylestam en 1980 (23), calcula un índice de parición de 2.9 y un valor de JPA de 6.8 - 8.9; afirmando que índice de pariciones está probablemente relacionado a las condiciones climáticas favorables de la ER.

Los datos biométricos de los embriones coinciden con lo aportado por Broekhuizen y col., en 1979 y 1982 (16, 17, 43) y otros (32), hallando nosotros, pesos promedio cercanos a los 50 gramos para gestaciones de 2 embriones y 70 gramos para gestaciones de 3 embriones. En lo referente a hembras lactantes, podemos comparar nuestros datos en forma parcial con los obtenidos por Raczynski en 1964 (21) y Broekhuizen y col., en 1981(17) y concluir que estiman valores similares en correlación entre lactación y gestación.

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

AGRADECIMIENTOS

A los Directivos y Personal de EFASA (Empresa de Frigoríficos Azul S.A., Partido de Azul, Provincia de Buenos Aires), y al Personal de SENASA, Regional Azul, Provincia de Buenos Aires, a ambos por la inestimable colaboración en este trabajo. A la Prof. Alicia R. Izquierdo Brown por la asistencia en la elaboración y corrección del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sych L. Unworn teeth of *Hypolagus brachygnathus* Kormos (*Leporidae*, *Mammalia*). Acta zool cracov 1967; XII (2):1-27.
2. Sych L. Fossil *Leporidae* from the Pliocene and Pleistocene of Poland. Acta zool cracov 1965; X (1):1-88.
3. Sych L. Fossil Endocranial Cast of *Hypolagus brachygnathus* Kormos (*Leporidae*, *Mammalia*). Acta zool cracov 1967; XII (3): 27-30.
4. Sych L. Lagomorpha (Mammalia) from the Pliocene and Early Pleistocene of Poland. Folia Quaternaria 1980; (51): 57-60.
5. Ringuelet RA, Aramburu RH. Enumeración Sistemática de los Vertebrados de la Provincia de Buenos Aires. 1957; 119: 1-93.
6. Amaya JN, Alsina MG, Brandani AA. Ecología de la Liebre europea (*Lepus europaeus* P.) 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 E E R A Bariloche 1979; 9 1-36.
7. Brandani AA, Amaya JN, Alsina MG. Ecología de la Liebre europea (*Lepus europaeus* P.) 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 E E R A Bariloche 1978;(1):1-28.

8. Risso MA, Porras AI, Martínez HS, Menéndez NA. Determinación de la edad en la liebre (*Lepus europaeus*, Pallas). Primer Encuentro de Investigadores y Docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias La Plata, 13 de marzo. Resúmenes 1992;
9. Iriart NR. Estudio Bioecológico-Económico de la Liebre Europea (*Lepus europaeus* Pallas,1778) Informe interno. Ministerio de Asuntos Agrarios de la Prov. BA, editor. 1975;
10. Bonino N, Montenegro A. Reproduction of the European hare in Patagonia, Argentina. Acta Theriol 1997; 42 (1):47-54.
11. Bonino N. Prenatal development of the European hare (*Lepus europaeus*) in Patagonia, Argentina. Journal Of Wildlife Research 1997; 2 (1):43-46.
12. Bonino N, Montenegro A. Peso y dimensiones de las gónadas de *Lepus europaeus* (Lagomorpha, Leporidae) durante la estación reproductiva en la Patagonia, Argentina. Iheringia, Sér Zool , Porto Alegre 1997; 82 3-8.
13. Bonino N, Bustos JC. Kidney Mass and Kidney Fat Index in the European Hare Inhabiting Northwestern Patagonia. Mastozoología Neotropical 1998; 5 (2):81-85.
14. de la Cruz JP, Dauría PG, Vivas AB, Castagnino RA, Ibañez N. Variaciones estacionales del aparato reproductor hembra de *Lepus europaeus* (p) en una población del área rural de Río Cuarto (Córdoba - Argentina). Rev Fac Cienc Méd Córdoba 1997; 55 (1-2):9-13.
15. Dauría PG, de la Cruz JP, Vivas AB, de Nícora OT, Ibañez N. Características del ciclo reproductivo anual de machos de *Lepus europaeus* p en una población de la zona sur de Río Cuarto (Córdoba). Rev U N R C 1992; 12 (1-2):67-72.
16. Broekhuizen S, Martinet L. Growth of embryos of the European hare (*Lepus europaeus* Pallas). Sonderdruck aus Z f Säugertierkunde 1979; 44 (3):175-179.
17. Broekhuizen S, Maaskamp F. Annual production of young in European hares (*Lepus europaeus*) in the Netherlands. J Zool , Lond 1981;(193):499-516.
18. Keith LB, Meslow EC, Rongstad OJ. Techniques for Snowshoe Hare Populations Studies. J Wildl Magmt 1968; 32 (4):801-812.
19. Pepin D. Étude de la Reproduction du Lièvre (*Lepus europaeus*) dans le Bassin Parisien. 1981; 3-26.
20. Flux JEC. Reproduction and body weights of the hare *Lepus europaeus* Pallas, in New Zealand. New Zealand Journal of Science 1967; 10 (2):357-401.
21. Raczynski J. Studies on The European hare (*Lepus europaeus* Pallas). Reproduction. Acta Theriol 1964; IX (19):305-353.
22. Keith LB, Windberg LA. A Demographic Analysis of the Snowshoe Hare Cycle. J Wildl Magmt 1978; 58 (1):3-70.

23. Frylestam B. Reproduction in the European hare in southern Sweden. *Holarctic Ecology* 1980;(3):74-80.
24. Risso MA. Estudio del ciclo reproductivo y edades de la Liebre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Argentina. 1996; 1-50.
25. Kolosov AM. Reproductive biology in the common hare (*Lepus europaeus* Pallas). In Russian Transl. 113 Bureau Animal Popul. Oxford Univ. Zoologicheskyy Zhurnal 1941; 20 154-171.
26. Vandermerwe M, Racey PA. Body Composition and Reproduction in Mountain Hares (*Lepus timidus* Scoticus) in North-East Scotland. *Journal of Zoology* 1991; 225 676-682.
27. Flux JEC. Timing Of The Breeding Season In The Hare, *Lepus Europaeus Pallas*, and Rabbit, *Oryctolagus Cuniculus* (L.). *Mammalia* 1965; (29): 557-562.
28. Caillol M, Martinet L. Comportement D'oestrus, croissance folliculaire et évolution de la progestérone circulant pendant la gestation et la pseudogestation chez la hase (*Lepus europaeus Pallas*) élevé en captivité étroite. *Bull mens Off Nation Chasse* 1979; 12 (1):181-192.
29. Martinet L, Moret B. Observations préliminaires sur la reproduction du lièvre européen (*Lepus europaeus Pallas*) en captivité; influence du photopériodisme. 1971; 555-561.
30. Martinet L, Legouis JJ, Moret B. Quelques observations sur la reproduction du lièvre européen (*Lepus europaeus Pallas*) en captivité. *Annls Biol anim Bioch Biophys* 1970; 10 (2):195-202.
31. Nikodemusz E, Kovács G, Vetesi F. On the pathology of the reproductive tract in the European Hare. 1985; 773-775.
32. Stérba O. Prenatal Development and Growth of *Lepus europaeus*. *Folia Zoologica* 1996; 30 (2):147-154.
33. Broekhuizen S. Age determination and age composition of hare populations. 1971; 477-489.
34. Broekhuizen S, Maaskamp F. Age determination in the European hare (*Lepus europaeus Pallas*) in The Netherlands. *Sonderdruck aus Z f Säugertierkunde* 1979; 44 (3):162-175.
35. Suchentrunk F, Willing R, Hartl GB. On Eye Lens Weights and Other Age Criteria of the Brown Hare (*Lepus-Europaeus Pallas*, 1778). *Zeitschrift Für Säugetierkunde - International Journal of Mammalian Biology* 1991; 56 365-374.
36. Risso MA, Porrás AI, Martínez HS, Menéndez NA. Determinación de la Edad en la Liebre (*Lepus europaeus*, Pallas). Primer Congreso Veterinario de la Ciudad de Buenos Aires. Centro Cultural General San Martín, 25 al 29 de septiembre. Resúmenes 1989.
37. Andersen J, Jensen B. The weight of the Eye Lens in the European Hares of Known Age. *Acta Theriol* 1972; XVII (8):87-92.
38. Lison L. Estadística Aplicada a la Biología Experimental. 1° Ed. Editorial Universitaria de Buenos Aires, editor. 1976; p. 49-87
39. Norman GR, Streiner DL. Bioestadística. 1° Ed. Mosby/Doyma Libros SA, editor. 1996; p. 57-73
40. Sokal RR, Rohlf FJ. Introducción a la Bioestadística. 1° Ed. Editorial Reverte, editor. 1984; p. 90-129
41. Steel GD, Torrie JH. Bioestadística principios y procedimientos. 2° ed. Mcgraw-hill latinoamericana SA, editor. 1985; p. 483-507
42. Pielowski Z. Length of Life of the Hare. *Acta Theriol* 1971; XVI (6):89-94.
43. Broekhuizen S. Hazen in Nederland. 1 Klomp H, Research Institute For Nature Management, editors. 1982; (1) p. 2-26

BIOTECHNOLOGY IN CANINE REPRODUCTION: AN UPDATE

C Gobello, Y Corrada

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Abstract : *Canine biotechnology studies are far less developed than in other species. Canine reproduction and gametes have unique characteristics compared to other mammals which makes adaptation of knowledge from other species difficult. Culture media for oocytes with or without serum, hormonal or protein supplementation, and oviductal cells have been used for in vitro maturation. Age and phase of the estrous cycle of the donor, oocyte size and nuclear and cumulus morphology influence in vitro maturation rates. Canid oocytes can be fertilized and developed in vitro, but at a reduced rate and to a limited stage of embryo development. Embryo transfer has shown to be possible but with low success in both dogs and foxes. Additional refinement of freezing regimens, improvement of donor recipient synchronization, handling of embryos and transfer techniques are still necessary. Canine spermatozoa can be capacitated and undergo acrosome reaction in vitro. Various procedures to cryopreserve canine spermatozoa have been described and differences in cooling and freezing sensitivity have been observed among Canidae. Intravaginal or uterine artificial inseminations can be successfully performed in both dogs and foxes achieving high whelping rates. During the last five years research on canine biotechnology has substantially increased and most of the reproductive mysteries of these species will probably be unveiled in the near future.*

Key words: Canidae- biotechnology- reproduction- dog

BIOTECNOLOGÍA EN LA REPRODUCCIÓN CANINA: UNA ACTUALIZACIÓN

Resumen: *Los estudios en biotecnología canina están menos desarrollados que en otras especies. Las gametas y la reproducción canina en general tienen características únicas comparadas con las de otros mamíferos lo que hace que la extrapolación de otras especies sea dificultosa. Para la maduración in vitro de oocitos se han utilizado medios de cultivo con o sin suero, suplementación hormonal o proteica, y células oviductales. La edad y la fase del ciclo estral de la donante, el tamaño del oocito y la morfología del cúmulus y núcleo influyen la tasa de maduración in vitro. Los oocitos de Cánidos pueden ser fertilizados y desarrollados in vitro, pero en una tasa reducida y a una etapa limitada del desarrollo embrionario. La transferencia embrionaria ha sido posible pero con bajo éxito en perras y zorras. Es necesaria todavía, la puesta a punto de regímenes de congelación, el mejoramiento de la sincronización de celos entre donantes y receptoras, el manejo de embriones y de las técnicas de transferencia. Los espermatozoides caninos pueden ser capacitados y experimentar reacción acrosómica in vitro. Se han descrito varios procedimientos de congelación de espermatozoides caninos y se ha observado diferencias en la sensibilidad al enfriado y congelado entre cánidos. La inseminación artificial intravaginal o uterina se puede realizar con éxito en perras y los zorras alcanzando altas tasas de preñez. Durante los últimos cinco años la investigación sobre biotecnología canina ha aumentado sustancialmente y la mayoría de los misterios reproductivos de estas especies serán revelados probablemente en un futuro cercano.*

Palabras clave: cánidos- biotecnología- reproducción- perro

Fecha de recepción: 28/05/03

Fecha de aprobación: 21/08/03

Dirección para correspondencia: C. Gobello, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. C.C. 296, (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.

E-mail: cgobello@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCTION

In general all techniques to manipulate gametes outside the body i.e. *in vitro* are called reproductive biotechnology. Assisted reproductive technology takes on many forms, from simple assisting a natural mating under controlled settings to cloning of adult animals (1). Reproductive biotechnologies such as artificial insemination (AI), *in vitro* maturation (IVM) and fertilization (IVF), *in vitro* embryo production (IVP), embryo transfer (ET) and gamete cryopreservation are essential to improve reproductive performance, to preserve biodiversity and to develop basic research. Research in this area will permit the use of assisted reproductive methods in commercially or affectively valuable animals. *In vitro* fertilization, IVP and ET are powerful tools to study fertilization and to preserve genetic material.

Canine biotechnology is much less developed than in other animal species, this may be due to a number of reasons being the lack of commercial interest probably the most important. Furthermore, canine female gametes have unique characteristics compared to oocytes of many other domestic mammals. The main differences are represented both by the follicular environment and the oocyte meiotic stage at ovulation. These characteristics have complicated the adaptation of biochemical knowledge gained from other species. In practice, assisted reproductive techniques have been mainly limited to AI and semen cryopreservation in these species and the more advanced technologies have been limited to research laboratories.

Presently, the domestic dog is not only considered a pet but a useful experimental model for the study of other canine species. Interestingly, foxes have also been useful models for canine gamete and embryologic research. Nine wild canids, including the Mexican wolf (*C. lupus baileyi*), South America Sabannah Dog (*Speothos venaticus*) and the maned wolf (*Chrysacon brachyurus*) are considered endangered by the Convention of the International Trade in Endangered Species (2). Therefore, the need for strategies enhancing conservation of these species is increasing. The aim of this article was to review the present situation of assisted reproductive technologies in canids with special emphasis on the domestic dog.

Canine reproductive physiology

Canine reproductive physiology has unique characteristics. Canids are monoestrous, with a seasonality nearly lost through domestication in

the dog but present in wild species i.e. wolves and foxes (3, 5). Canine estrous cycle is characterized by the slow motion of its phases (6) and a long obligate anestrus, which can be normally as long as 11 months in certain breeds (5).

Although neither canine ovary nor pituitary is quiescent during anestrus, it has been less described than the other phases of the estrous cycle. Anestrus is characterized by a slow decline of plasma progesterone concentrations to basal values (7). Gonadotrophin secretion during the transition from early to late anestrus is also controversial in this species (7, 8, 9). Recently, it has been shown that progression from early to late anestrus is associated with an increase in plasma follicle stimulating hormone (FSH) without a concomitant rise in luteinizing hormone (LH) (10, 11). Finally, prolactin concentrations slowly decrease throughout anestrus to reach basal values around the beginning of the new estrous cycle (12).

Preovulatory luteinization of follicles occurs in bitches and vixens, exposing oocytes to high concentrations of progesterone, as opposed to the situation in many mammals, where estrogens dominate the periovulatory follicular environment. Ovulation occurs 1-2 days after LH surge in both dogs and foxes (13).

Oocytes are ovulated spontaneously as primary oocytes, at the beginning of the first meiotic division and the germinal vesicle is broken shortly after ovulation. Subsequent stages of meiotic maturation are resumed in the oviduct and take 2 or 3 days to be completed (14).

Fox and dog oocytes appear morphologically similar (14, 15, 16). The ooplasm is very dark and uniform due to the high lipid content and the cumulus cell mass around the oocyte is tight and multilayered and remains attached to the gamete after fertilization (3, 17). Cumulus expansion is observed as oocytes mature but the innermost layer remains attached to the ovum until the morula stage in dogs (17), while complete cumulus expansion including the corona radiata, is observed at the completion of oocyte nuclear maturation *in vivo* 2-3 days after LH peak in foxes (16).

The presence of primary oocytes in the oviducts increases the chance of the oocyte meeting spermatozoa before or during maturation, so that primary oocytes can be fertilized and a male pronucleus can be formed despite of the stage of oocyte maturation (18). Canine embryos require a long time passaging of the oviduct and enter the

uterus approximately 7-9 days after ovulation as an embryo of 16 cells or more (14). In the oviducts oocytes complete maturation, undergo fertilization and develop up to the morula – blastocyst stage.

Oocyte maturation

A prerequisite for fertilization and embryo development is full nuclear (metaphase II stage) and cytoplasmic maturation of the oocyte. *In vitro* oocyte maturation is a complex process in which it is attempted to mimic the dynamic changes occurring in the preovulatory ovarian follicle and in the oviduct.

It has been shown that canine oocytes resume meiosis *in vitro*, although at a much lower rate than oocytes of other species. Full nuclear maturation is achieved in about 20 % of cultured oocytes. The low maturation rate could be due to either the low meiotic competence of the oocytes or the suboptimal culture conditions for this species.

Age of the donor, oocyte size and nuclear and cumulus morphology do influence success of IVM rates (19, 20, 21). A difference in maturation rates has been found for oocytes with diameters < 100 μ m (22). Similarly, it has been shown that oocytes < 100 μ m are meiotically incompetent in foxes (23). Furthermore, oocytes are smaller and have less complete cumulus layers and therefore mature less frequently in prepubertal bitches (19).

In the bitch, the stage of estrous cycle influences the functional status of communications between cumulus cells and oocyte (24). Cumulus oocytes complexes isolated from the ovary during anestrus are unable to complete meiosis and communications and gap junctions are absent (24). Conversely, communications between cumulus cells and oocyte were present in complexes isolated during late proestrus and these cumulus oocytes complexes were able to resume meiosis at a higher rate (24).

Culture requirements for canine oocytes have not been fully elucidated. Tissue Culture Medium (TCM) 199, modified Krebs Ringer Bicarbonate or Ham F-10 with or without serum, hormonal or protein supplementation, and oviductal cells have been used for IVM (25, 26).

Hormone supplementation (LH and FSH) of the culture medium had an effect on the proportion of oocyte maturing (27). Some research groups have not been able to find beneficial effects of add-

ing hormones (19, 28). The maturation rates of oocytes cultured in recombinant FSH treatments was statistically different from control treatment in a recent study (29). Relative amounts of different hormones, their source and interaction may be important.

It was shown that the use of an environment similar to that of the composition to the oviductal fluid with high concentrations of proteins and the presence of oviductal cells improved maturation rates after a prolonged maturation time (96 h) (30). Higher meiotic resumption rate was found in canine oocytes cultured with cells from either the infundibulum or the ampulla of the estrous bitch oviduct compared with culture without oviduct cells (59 % and 60 % vs. 40 %, respectively), and more oocytes progressed to metaphase II in the co-culture systems (28). A synthetic oviduct fluid medium could support nuclear maturation of a small proportion of bitch's oocytes *in vitro* in one study (31). It was recently found that oocyte culture in isolated ligated oviduct was better (31.9% metaphase I/II) and with fewer degenerate oocytes than culture in open oviduct or drop culture after 30 h (32). It has also been reported that canine oocytes may complete nuclear maturation in protein free media at a very low rate (33).

In foxes, the IVM of ovarian oocytes have resulted in maturation rates similar to those of the bitch (34).

In vitro fertilization and embryo production

Canine embryos have been produced after fertilization *in vitro* or *in vivo* (17, 18). *In vitro*, oocytes matured up to the stage of eight cells (35). IVF was reported to have a cleavage rate of 5- 20 % and pronuclear formation in 20-37 % of oocytes in dogs and foxes (18, 28).

It has been reported the development of one ? embryo of two cell obtained during a study of canine oocyte penetration (35). One blastocyst out of 217 inseminated oocytes was obtained in another study (36). Furthermore, it was reported a 22 day pregnancy by IVF (37), and another one from nuclear transfer/ ET, although no pregnancy went to term (38).

Finally, it was recently obtained a small portion of early canine embryos after culture of *in vitro* produced zygotes in a protein-free medium (33). Fertilized *in vivo* matured fox oocytes, cleaved from the 2 to the 16 cells stages in foxes (39). No pro-

duction of puppies after IVF of neither *in vitro* nor *in vivo* matured oocytes exists in the literature for dogs and foxes.

Sperm testing, capacitation and cryopreservation

Functional tests for dog sperm include techniques for sperm binding assay and sperm penetration assays using entire, hemi-zonae or intact either fresh or cooled oocytes (4). Semen may be collected from fresh or cooled epididymis up to 8 days (41) and be able to bind to homologous zonae in a time dependent manner.

Fresh semen is commonly used for *in vitro* insemination, with the use of special media for capacitation. It has been demonstrated that ejaculated sperm capacitation occurs *in vitro* after 7 hours and that Ca^{++} is essential for this process (42). *In vitro* capacitation may be achieved in Canine Capacitation Medium (CCM) (42) or in a modified Tyrode's (43). When CCM was used, removal of proteins was detrimental to sperm motility and glucose withdrawal reduced the percentage of acrosome reacted sperm (42). Calcium ionophore A23187 can promote capacitation and acrosome reaction in a similar manner as Ca^{++} acts *in vitro* (22). Bitch follicular fluid may also induce capacitation of dog sperm (28).

During cryopreservation the spermatozoa have to survive changes in temperature to which they are exposed during the freezing (down to temperature of liquid nitrogen $-197\text{ }^{\circ}\text{C}$) and thawing process. The spermatozoa damage due to these processes depends on the species, the cooling rate and temperature intervals and changes (44). The spermatozoa can be damaged both when they are frozen too slowly or too rapidly. Thawing methods should also depend on the freezing protocol (45, 46). To minimize injuries from the freezing-thawing process, spermatozoa must be diluted in special extenders and cryoprotectants like glycerol (47). Various procedures to cryopreserve canine spermatozoa have been described (13, 15, 47, 48). The most common diluent to cryopreserve canine spermatozoa is Tris fructose- citric supplemented with egg yolk and glycerol (15, 50, 51, 52). Detergents such as Orvus ES paste and sodium dodecyl sulfate added to freezing media have been found beneficial (53, 54). Modifications of the commonly used TRIS-egg yolk extender by the addition of 0.5 % Equex STM paste produced overall pregnancy rate of 84 % after vaginal or intrauterine AI (55).

Procedures used to cryopreserve spermatozoa from non- domestic canids have been modified from those of the domestic dogs (56, 57). Differences in spermatozoa cooling and freezing sensitivity have been observed among *Canidae* (13).

Artificial insemination

Intrauterine AI with frozen semen has mostly proven to yield higher whelping rates than intravaginal. Results from frozen-thawed semen AI have been reported to be up to 80-85 % whelping rate (58, 59). Success rate depends on the quality of the semen, insemination timing and extending, freezing, storing and thawing techniques. Recent studies on dogs have also shown that, results by intrauterine AI are significantly better than those obtained by vaginal AI (58, 59) either for fresh or chilled semen (60, 61, 62).

Intrauterine AI in the bitch can be carried out with a specially designed metal intrauterine catheter (Scandinavian catheter) (62) which is passed through the cervical canal during abdominal fixation of the cervix (63), or by a flexible plastic tube entering with endoscopic visualization (64, 65). Intrauterine AI can also be carried out by laparoscopy, or abdominal surgery, although ethically objected.

AI is performed with the intrauterine metal catheter mentioned above in foxes (3). Frozen silver fox semen has resulted in 80 % pregnancy rates, while blue fox spermatozoa seem more sensitive to cooling and freezing/thawing. Thus lower pregnancy rates have been reported in this species (3). Differences have been found in the fatty acid composition of the plasma membrane sperm between these two species (66).

Embryo transfer

Embryo transfer from one female that has produced embryos through *in vivo* fertilization to a recipient has shown to be success but with low success rates in both dogs and foxes (67, 69). In one study in the dog, 8 morulae were transferred to a recipient bitch which gave birth to 2 puppies (70). In another study, 28 embryos were collected on days 14 and 15 from 5 donors and transferred into another five recipients (67). Although embryo transfer has been carried out in foxes, birth of live young from canine embryos has not been reported (68).

Embryo transfer to the lower part of the oviduct, but not to the upper, was carried out with greater success than uterine transfer, since 50 %

of recipient dams became pregnant (71). Transfer to only one side seemed enough, since transuterine migrations occurred in dogs (72). Recently, the transfer of *in vitro* fertilized dog oocytes was also reported (73).

Furthermore, the use of ET in canids may increase when *in vitro* produced embryos become available for transfer, or when cryopreserved canid embryos can be stored and transferred to naturally synchronized females. An exception is the report of the successful ET in the silver fox (74).

Embryo transfer requires synchronization of cycles between donor and recipient females, so that the recipient's uterus provide an endocrinological environment similar to the donor's (71). In farm foxes, due to the seasonality of their oestrus cycle, natural synchronization made embryo transfer possible (74).

Estrous synchronization is a major problem in non seasonal monoestrus species (11). Estrus induction in the bitch has not gained a widespread use because the lack of reliability of most of the protocols proposed (11). In this species estrus induction protocols have been difficult to devise because of the lack of understanding of the hormonal events necessary for folliculogenesis. Moreover, the natural ending cause of the long obligatory anestrus and onset of a new cycle is not clearly understood in this species (18).

The stage of the estrus cycle influences the effectiveness of estrus induction protocols. To provide the best results, protocols should begin during anestrus, estrus induction during diestrus has poor or no results. Even the stage of anestrus has an influence on the response to treatment. As a general rule, treatments instituted in early anestrus are less effective than those initiated in late anestrus (11, 74, 75).

Estrus induction has been traditionally achieved by the administration of gonadotrophic hormones (FSH, equine chorionic gonadotropin [eCG], LH (76); human chorionic gonadotropin [hCG] and human menopausal gonadotropin [hMG]) (77). Efficacy and safety of hormonal protocols may be diminished by ovarian hyperstimulation, ovulation failure, premature luteolysis and antibody formation. Moreover, there may be problems in availability, quality, and consistency of hormone preparations. Dopaminergic agonists are considered reliable compounds for this purpose (75,78). They have been recently used during 12 to 15 days to synchronize oestrus in bitches for

ET (49).

Intracytoplasmic sperm injection and cloning

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) involves injecting a spermatozoon into the cytoplasm of a mature ovum. Fertilization can be successful as long as the sperm DNA is intact and in its stable condensed form. This procedure can be useful not only in cases of immotile sperm, but also for epididymal sperm of species threatened by extinction.

Only one experiment of ICSI has been published in the dog with chilled semen achieving the formation of male pronucleus in 7.8 % of oocytes, although no offspring was produced (79).

CONCLUSIONS

The development of assisted reproductive technologies in canids has been very slow. Dissimilarities of reproductive physiology of the dog compared to other species and the lack of information on the oviduct environment make *in vitro* systems applied for other species, unsuitable for canine oocytes (25).

The immature stage of ovulation and the persistence of cumulus cells during the transport and maturation could explain the low efficiency of IVM in these species. Maturation rates have shown limited success, ranging from 0 to 58 % and usually around 20 % in different culture systems and media (3, 13).

Although, much information has been gained during the last 5 years on the factors influencing canine oocyte maturation (3, 49, 80), it still seems to be the limiting step for success with *in vitro* production of embryos, as well as, ICSI or cloning by nuclear transfer.

Reliable systems for *in vitro* production of embryos, embryo cryopreservation and ET are yet to be developed in dogs. Canid oocytes can be fertilized and developed *in vitro*, but at a reduced rate and to a limited stage of embryo development. Embryo transfer would be viable in cases of female gestational infertility but, from what has been described above about the difficulties in canine IVM, it is deduced that the results of IVF and embryo development are still limited in this species.

Some control over the estrous cycle is necessary when any assisted reproductive technologies must be used. Although ET requires synchro-

nization of donors and recipient females, canine estrus induction still represents a challenge for researchers. Currently, procedures to induce estrus or superovulate bitches are relative ineffective.

Additional refinement of freezing regimens, improvement of donor recipient synchronization, *in vitro* handling of embryos and transfer techniques may also render both a cryobanking of embryos and ET feasible in foxes.

Canine semen can be successfully cryopreserved and intravaginal or uterine AIs can be performed in both dogs and foxes. It is today possible to achieve high whelping rates using AI in the dog. Differences in cooling and freezing sensitivity of their spermatozoa have been observed among *Canidae*¹³ and more basic research on membrane function during exposure to cooling and freezing regimens and media is still necessary. Canine semen can be capacitated and undergoes acrosome reaction *in vitro* and spermatozoa are able to fertilize homologous oocytes in *in vitro* culture conditions.

Although canine biotechnologies are being developed at a much lower rate than in other species, research in the last five years has substantially increased and most of the reproductive mysteries of this species will probably be unveiled in the near future.

References

- Long CR, Walter SC, Tang RT, Westhusin ME. New commercial opportunities for advanced reproductive technologies for horses, wildlife and companion animals. *Theriogenology*. 2003; 59: 139-149.
- CITES. Convention on international trade in endangered species of wild flora and fauna (PL 93-205 93rd Congress) and in 50 appendices, 1973.
- Farstad W. Assisted reproductive technology in canid species. *Theriogenology*. 2000a; 53: 175-186.
- Gobello C. Questions concerning estrus induction in the bitch and queen. Proc 3rd EVSSAR Congress, Liège, Belgium. 2002; 43-44.
- Feldman EC, Nelson RW. Ovarian Cycle and vaginal Cytology. Canine and feline endocrinology and reproduction. W.B. Saunders, Philadelphia. 1996; 526- 446.
- Jochle W. The sexual cycle in the bitch: recent insights and impact on therapy and reproduction control. *Tierarzt -Prax*. 1987; 15: 295-300.
- Olson PN, Bowen MD, Behrendt MD, Olson JD, Nett TM. Concentration of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus. *Biol. Reprod*. 1982; 27: 1196 -1206.
- Concannon PW. Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepuberal female dogs. *J Reprod Fertil*. 1993; 47: 3-27.
- Kooistra HS, Okkens AC, Bevers MM, Popp-Snijders C, Van Haaften B, Dieleman SJ, Schoemaker J. Concurrent pulsatile secretion of LH and FSH during different stages of the estrus cycle and anestrus in beagle bitches. *Biol. Reprod*. 1998; 60: 65-71.
- Onclin K, Lauweres F, Verstegen J. FSH secretion patterns during pregnant and non pregnant luteal periods and nyctemeral in male and female dog. Proc Annual Meeting, Society for Theriogenology, USA. 2000; 137.
- Romagnoli S. Clinical consideration on estrus induction in the bitch. Proc EVSSAR Annual Symposium, Milan. Italy. 2001; 31-39.
- Jeffcoate IA. Endocrinology of anestrus bitches. *J. Reprod. Fertil*. 1993; 47: 69-76.
- Farstad W. Current state in biotechnology in canine and feline reproduction. *An Repr Sci*. 2000b; 375-387.
- Holst PA, Phemister RD. The prenatal development of the dog: Preimplantation events. *Biol Reprod*. 1971 ; 5: 194-206.
- Farstad W, Berg KA. Factors influencing the success rate of artificial insemination with frozen semen in the dog. *J Reprod Fertil*. 1989; 39: 289-292.
- Hyttel P, Farstad W, Mondain-Monval M, Bakke Lajord K, Smith AJ. Structural aspects of oocyte maturation in the blue fox (*Alopex lagopus*). *Anat Embryol*. 1990; 181: 325-331.
- Renton JP, Boyd JS, Eckersall PD, Ferguson JM, Harvey MJA, Mullaney J, Perry B. Ovulation, fertilization and early embryonic development in the bitch (*Canis familiaris*) *J Reprod Fertil*. 1991; 93: 221-231.
- Farstad W Hyttel P Grondahl C Mondain- Monval M Smith AJ Fertilization and early embryonic development in the blue fox (*Alopex lagopus*) *Mol Reprod Dev*. 1993; 36: 331-337.
- Nickson DA, Boyd JS, Eckersall PD, Ferguson JM, Harvey MJA, Renton JP. Molecular biological Methods for monitoring oocyte maturation and *in vitro* fertilization in bitches. *J Reprod Fertil*. 1993; 47: 231-240.
- Hewitt DA, England GCW. The effect of periovulatory endocrine events upon maturation of oocytes in the domestic bitch. *J Reprod Fertil*. 1997; 51: 83-91.
- Theiss T. Investigation on the collection, *in vitro* maturation and fertilization of dog oocytes. Thesis Munich University. 1997; 97.
- Hewitt DA, England GCW. The effect of oocyte size and bitch age upon oocyte nuclear maturation *in vitro*. *Theriogenology*. 1998c; 49: 957-966.
- Srsen V, Kalous J, Nagyova E, Sutovsky P, King WA, Motlik J. Effects of follicle stimulating hormone,

C. Gobello y col.

bovine somatotrophin and okadaic acid on cumulus expansion and nuclear maturation of blue fox (*Alopex lagopus*) oocytes *in vitro*. *Zygote*. 1998; 6: 299-309.

24. Luvoni GC, Luciano AM, Modina S, Gandolfi F. Influence of different stages of the oestrus cycle on cumulus-oocyte communications in canine oocytes: effects on the efficiency of *in vitro* maturation. *J Reprod Fertil*. 2001; 57: 141-146.

25. Luvoni, GC. Current progress on assisted reproduction in dogs and cats: *in vitro* embryo production. *Reprod Nutr Dev*. 2000; 40: 505-512.

26. Bogliolo L, Zedda MT, Ledda S, Leoni G, Naitana S, Pau S. Influence of co-culture with oviduct epithelial cells on *in vitro* maturation of canine oocytes. *Reprod Nutr Dev*. 2002; 42: 265-273.

27. Hewitt DA, England GCW. Influence of gonadotrophic supplementation on the *in vitro* maturation bitch oocytes. *Vet Rec*. 1999b; 144: 22-23.

28. Metcalfe SS. Assisted reproduction in the bitch . Thesis for Ms Sc Monash University, Victoria, Australia. 1999.

29. Fayer- Hosken R. Review of assisted reproduction technologies in small animal. *Theriogenology Proceeding Annual meeting, Society for Theriogenology, USA*. 2002; 279-290.

30. Hewitt DA, England GCW. Synthetic oviductal fluid cell coculture for canine oocyte maturation *in vitro*. *Anim Reprod Sci*. 1999a; 55: 63-75.

31. Bolamba D, Russ KD, Olson MA, Sandler JL, Durrant BS. *In vitro* maturation of bitch oocytes from advanced preantral follicles in synthetic oviduct fluid medium: serum is not essential. *Theriogenology*. 2002; 58: 1689-1703.

32. Luvoni GC, Chigoni S, Allievi E, Macis D. *In vitro* maturation of canine oocytes in isolated oviduct. *Proc 3rd EVSSAR Congress, Liège, Belgium*. 2002; 139-40.

33. Songsasen N, Yu I, Leibo SP. Nuclear maturation of canine oocytes cultured in protein-free media. *Mol Reprod Dev*. 2002; 62: 407-415.

34. Krogenaes A, Nagyova E, Fastard W, Hafne AL. *In vitro* maturation of the blue fox oocytes and cAMP production in oocytes cumulus cell complexes. *Theriogenology*. Abstract. 1993; 39: 250.

35. Yamada S, Shimazu Y, Kawao Y, Nakazawa M, Naito K , Toyoda Y. *In vitro* maturation and fertilization of preovulatory dog oocytes. *J Reprod Fertil*. 1993; 47 227-229.

36. Otoi T, Murakami M, Fujii M, Tanaka M, Ooka A, Une S, Suzuki T. 2000 Development of canine oocytes matured and fertilized *in vitro*. *Vet Rec* 146: 52- 53.

37. England GCW, Verstegen JP, Hewitt DA. Pregnancy following *in vitro* fertilization of canine oocytes. *Vet Rec*. 2001; 148: 20-22.

38. Westhusin ME, Burghardt RC, Rugila JN, Willingham LA, Liu L, Shin T, Howe LM, Kraemer DC.

Potential for cloning dogs. *J Reprod Fertil*. 2001; 57: 287-293.

39. Farstad W, Hyttel P, Grondahl C, Krogenaes A, Mondain- Monval H, Hafne AL. Fertilization *in vitro* of oocytes matured *in vitro* in blue fox (*Alopex lagopus*) *J Reprod Fertil* 1993; 47: 219-226.

40. Hewitt DA, England GCW. The canine oocyte penetration assay: its use as an indicator of dog spermatozoal performance *in vitro*. *Anim Reprod Sci*. 1998a; 50: 123-139.

41. Yu I, Leibo S. Recovery of motile, membrane intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4 °C. *Theriogenology*. 2002. 57: 1179-1190.

42. Mahi CA, Yanagimachi R Maturation and sperm penetration of canine ovarian oocytes *in vitro*. *J Exp Zool*. 1976; 196: 189-196.

43. Hewitt DA, England GCW, Verstegen J. Pregnancy following *in vitro* fertilization of canine oocytes. *Vet Record*. 2001; 20-21.

44. Watson PF. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci*. 2000; 60-61: 481-492.

45. Griffiths JB, Cox CS, Beadle DJ, Hunt CJ, Reid DS. Changes in cell size during the cooling, warming and post-thawing periods of the freeze-thaw cycle. *Cryobiology*. 1979; 16: 141-151.

46. Mazur P Basic concepts in freezing cells. *Proc 1st Int. Conf on Deep Freezing of Boar Semen*. Uppsala, Sweden, 1985; 91-111.

47. Concannon PW, Battista M. Canine semen freezing and artificial inseminations. In Kirk RW (ed). *Current Veterinary Therapy X: Small Animal Practice*. Philadelphia, WB Saunders. 1989; 1247-1259.

48. England GCW. Cryopreservation of dog semen: a review. *J Reprod Fertil*. 1989; 39: 289-292.

49. Hewitt DA, England GCW, Beekman SPA. Cryopreservation of gametes and embryos of *Canidae* and *Felidae*. In: Watson PF Holt WV (eds) *cryobanking of Genetic Recourse*. Taylor & Francis. London. 2001; 361- 390.

50. Dobrinski Ilulai C, Barth AD, Post K Effects of four different extenders and three different freezing rates on post viability of dog semen. *J Reprod Fertil*. 1993; 47: 291- 296.

51. Ferguson JM, Renton JP, Farstad W, Douglas TA Insemination of beagle bitches with frozen semen *J Reprod Fertil*. 1989; 39: 293-298.

52. Rota A, Iguer-Ouada M, Verstegen J, Linde-Forsberg. C. Fertility after vaginal and intrauterine deposition of dog semen frozen in a Tris extender with or without Equex STM paste. *Theriogenology*. 1999; 51: 1045-1058.

53. Rota A, Peña AI, Linde-Forsberg C, Rodríguez Martínez H. *In vitro* capacitation of fresh chilled and frozen thawed dog spermatozoa assessed by chlortet-

- racycline assay and changes in motility patterns. *Anim Reprod Sci.* 1999; 51: 1045-1058.
54. Tsutsui T, Hase M, Hori T, Ito T, Kawakami E. Effects of Orvus ES paste on canine spermatozoal longevity after freezing and thawing. *J Vet Med Sci.* 2000; 62: 533-535.
55. Rota A. Studies on preservation, capacitation and fertility of dog spermatozoa. Thesis. Swedish Agricultural University, Uppsala, Sweden, 1998.
56. Farstad W, Fougner JA, Torres CG. The optimum time for single artificial insemination of blue fox vixens (*Alopex lagopus*) with frozen thawed semen from silver foxes (*Vulpes vulpes*). *Theriogenology.* 1992; 38: 853-865.
57. Goodrowe KL, Hay MA, Platz CC, Behrn SK, Jones MH, Waddell WT. Characteristics of fresh and frozen thawed red wolf (*Canis rufus*) spermatozoa. 1998; 53: 299-308.
58. Thomassen R, Farstad W, Krogenæs A, Fougner JA, Andersen Berg K. Artificial insemination with frozen semen in dogs: a retrospective study. *J Reprod Fertil.* 2001; 57: 341-346.
59. Linde-Forsberg C Hints on dog semen freezing, cryoextenders, and frozen semen artificial insemination. Proc. STF Colorado Springs. 2002; 303-320.
60. Linde-Forsberg C, Ström Holst B, Govette G. Comparison of fertility data from vaginal vs uterine insemination of frozen-thawed dog semen: a retrospective study. *Theriogenology.* 1999; 52: 11-23.
61. Linde-Forsberg C Fertility data from 2041 controlled artificial inseminations in dogs. *Advances in dog, Cat and Exotic Carnivore Reproduction Abstract.* Oslo, Norway. 2000; 120.
62. Linde-Forsberg C. Intra-uterine insemination in the dog using the Scandinavian trans-cervical catheter and a comparison with other methods. In: *Recent Advances in Small Animal. Reproduction, A1207.0201.* Eds. P.W. Concannon, G.C.W. England, J. Verstegen and C. Linde-Forsberg. International Veterinary Information Service, Ithaca www.ivis.org. 2001.
63. Andersen K Insemination of frozen dog semen based on a new insemination technique. *Zuchthygiene.* 1975; 10: 1-4.
64. Wilson MS. Non surgical intra-uterine insemination in bitches using frozen semen. *J Reprod Fertil.* 1993; 47: 307-311.
65. Wilson MS. Transcervical insemination in the bitch. Proc. SFT /ACT Annual Conference and Canine Symposium, Vancouver. 2001; 295-301.
66. Waterhouse KE, Miller JR, Cornett CL, Haugan T, Fougner JA, Farstad W. Comparison of membrane fatty acid composition of sperm from silver fox and blue fox. 9th-International Symposium on Spermatology, Cape Town, South Africa. 2002; 72.
67. Kinney GM Pennycook JW Schriver MD Templeton JW Kraemer DC Surgical collection and transfer of canine embryos. *Biol Reprod.* 1979; abstract 20: 96 A.
68. Lindeberg H, Jalkanen L, Savolainen R. Experiences of *in vitro* culture of silver fox embryos. The Nordic A.I. Virtanen Inst. Symp On *In Vitro* Culture of Domestic Animal Embryos, University of Kuopio. 1992; 42-43.
69. Kraemer DC, Kinney GM, Schriver MD Embryo transfer in dogs and cats. Embryo transfer and *in vitro* fertilization. Second World Conference. 1989; 223-233.
70. Tsutsui T, Shimada K, Nishi M, Kubo N, Murao I, Shimizu T, Ogasa A. An experimental trial on embryo transferrin the dog. *Jap J Vet Sci.* 1989; 51: 797-800.
71. Tsutsui T, Hori T, Kawakami E. Intratubal transplantation of early canine embryos. *J Reprod Fertil.* 2001; 57: 309-314.
72. Tsutsui T, Shimizu T, Hori T, Kawakami E. Transuterine migration of canine embryos. Proc 3rd EVSSAR Congress, Liège, Belgium. 2002; 183-184.
73. Hewitt DA, England GCW. An investigation of capacitation and the acrosome reaction in dog spermatozoa using a dual fluorescent staining technique *Anim Reprod Sci.* 1998b; 51: 321-332.
74. Jalkanen L, Lindeberg H. Successful embryo transfer in the silver fox (*Vulpes vulpes*). *Anim Reprod Sci.* 1998; 54:139-147.
75. Gobello C, Castex G, de la Sota L, Corrada Y. Shortening of the interestrus intervals with cabergoline in bitches: a clinical trial. *J Am Anim Hosp Ass (in press).*
76. Verstegen J, Onclin K, Silva L, Concannon P. Termination of obligate anestrus and induction of fertile ovarian cycles by administration of purified pig LH. *J. Reprod. Fertil.* 1997; 111: 35-40.
77. Wanke M, Farina J, Loza M, Rebuelto M, Concannon P. Induction of oestrus in bitches with normal and persistent anestrus using human menopausal gonadotropin (hMG). *Theriogenology.* 1997. 47: 935-942.
78. Verstegen J, Onclin K, Silva L, Concannon P. Effect of stage of anestrus on the induction of estrus by the dopamine agonist cabergoline in dogs. *Theriogenology.* 1999; 51: 597-611.
79. Fulton RM; Keskinetepe L; Durrant BS, Fayerer-Hosken RA. Intracytoplasmic sperm injection for the treatment of canine infertility. *Theriogenology.* 1998; 48:366.
80. Otoi T, Fujii M, Tanaka M, Ooka A, Suzuki T. Effects of serum on the *in vitro* maturation of canine oocytes. *Reprod Fertil Dev.* 1999; 11: 387-390.

PENILE HYPOPLASIA IN A ROTTWEILER: A CASE REPORT

C Gobello, ¹, JC De Luca ², Y Corrada³, M García⁴,
P Peral García²

¹Clínica de Pequeños Animales. ²Centro de Investigación en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA). ³Servicio de Diagnóstico por Imágenes. ⁴Profesión libre Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

Abstract: *Penile hypoplasia is a rare congenital disorder that has been described in a few breeds of dogs. The aim of this article was to report a case of penile hypoplasia in an inbred Rottweiler dog. An otherwise healthy, 3 years old Rottweiler male dog, was referred to our Faculty because of inability to copulate. The male had a history of normal libido. Testis appeared normal either in size and consistency, while the penis and prepuce were small in relation to the size of the dog. Manual semen collection was impossible due to the small size of external genitalia and the aggressiveness of the dog. Serum testosterone concentrations were 1.63 and 3.35 ng/ml before and after hCG stimulation test. Cytogenetic analysis showed a normal male karyotype. The modal chromosome number was 78 and the sex chromosome constitution was XY. Pedigree analysis showed that the dog was full sib. F Wright inbreeding coefficient was 0.25. This coefficient showed that there is a 25 % probability that this dog shares their genes with a common ancestor. As a preventive measure, consanguineous mating should always be discouraged. Moreover, knowing that congenital malformation is heritable, the importance to eliminate affected dogs from natural or assisted reproductive programs should also be emphasized by practitioners.*

Key words: dog - penile hypoplasia - intersex -inbreeding

HIPOPLASIA DE PENE EN UN ROTTWEILER: INFORME DE UN CASO

Resumen: *La hipoplasia de pene es un raro desorden congénito que ha sido descrito en pocas razas de perros. El objetivo de este artículo es reportar un caso de hipoplasia de pene en un perro macho consanguíneo de raza Rottweiler. Un perro de raza Rottweiler, macho, saludable, de 3 años de edad, fue referido a nuestra Facultad por la incapacidad para copular. El macho tenía una historia de libido normal. El examen físico reveló que ambos testículos eran normales en tamaño y consistencia, mientras que el pene y el prepucio eran pequeños en relación al tamaño del perro. La colección manual de semen fue imposible debido al pequeño tamaño de los genitales externos y a la agresividad del perro. La concentración sérica de testosterona fue de 1.63 y 3.35 ng/ml antes y después de la prueba de estimulación con hCG 1000 UI IM. El análisis citogenético mostró un cariotipo macho normal. El número cromosómico fue de 78 y la constitución cromosómica sexual resultó XY. El análisis del pedigrí evidenció que el perro era hijo de hermanos enteros. El coeficiente de consanguinidad F Wright fue de 0,25. Este coeficiente demostró que hay un 25 % de probabilidad de que este perro compartiera sus genes con un antecesor común. Como una medida preventiva los "servicios" entre animales consanguíneos, deben ser siempre desalentados. Más aún, conociendo la base hereditaria de las malformaciones congénitas, los veterinarios deben enfatizar la importancia de eliminar los perros afectados de los programas reproductivos naturales o asistidos.*

Palabras claves: perro- hipoplasia de pene- intersexo- consanguíneo

Fecha de recepción: 18/06/03

Fecha de aprobación: 21/08/03

Dirección para correspondencia: C.Gobello, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. C.C. 296, (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.

E-mail: cgobello@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCTION

Congenital anomalies of the reproductive track of the male dog are an unusual finding in canine clinical practice. Persistent penile frenulum, hypospadias, deformity of the os penis and penile hypoplasia have been described as the most frequent congenital anomalies of the penis in this species (1, 2, 3). Penile hypoplasia is a rare disorder that has been described in the Cocker Spaniel, Collie, Doberman pinscher and Great Dane (3, 4, 5). This congenital anomaly is asymptomatic in the dog and often appears as a finding on the breeding soundness exam.

Penile hypoplasia is an usual component of some intersex states related to the phenotypic sex such as male pseudohermaphroditism (6). An abnormal karyotype has been identified in some animals with penile hypoplasia, so karyotyping should be always indicated in these cases (3). Androgen deficiency may be associated with genetic abnormalities of the sexual development (3). Therefore, the function of hypothalamus- pituitary-Leydig axis should also be evaluated in these patients. No treatment is usually indicated, unless an hypoplastic preputial opening is also present and urine pooling and infections are present (3).

Dog karyotype was standardized during the 11th European Colloquium on Cytogenetic of Domestic Animals by an International Committee (7). The normal diploid chromosome number for this species is 78, being the autosomes acrocentric; while X and Y are the large and small submetacentric chromosomes, respectively (8, 9, 10).

Inbreeding results from mating of closely related individuals and it can be estimated through the F Wright coefficient. This coefficient expresses the probability of an individual to carry identical genes from a common ancestor and ranges from 0 - 1. Inbreeding is known to reduce reproduction efficiency in many species, including dogs (11, 12, 13, 14). Breeding programs including dogs with a coefficient ranging from 0.12 to 0.56 can experience reduced reproductive performance (14). The aim of this article was to report a case of penile hypoplasia in an inbred Rottweiler dog.

CASE REPORT

Animal, history and physical exam

An otherwise healthy, 3 years old Rottweiler male dog, was referred to our Faculty because of inability to copulate. The male had a history of normal libido and failure to achieve penetration during attempts to mate. No data about the sib-

lings were available. At physical examination, testes and prostate appeared normal either in size and consistency while the penis (6 cm) and prepuce were small in relation to the size of the dog (Figure 1). Although, the preputial opening was normal, complete manual exteriorization of the penis was difficult.



Figure 1. Penile hypoplasia in the Rottweiler dog.
Figura 1. Hipoplasia peniana en un perro Rottweiler

Ancillary tests

Manual semen collection was impossible due to the small size of external genitalia and the aggressiveness of the dog. Unfortunately, the owner did not permit electroejaculation. Ultrasonography was indicated to evaluate the testes and the prostate.

Blood samples were collected for testosterone determinations before and 4 hours after the administration of hCG (Endocorion®, Elea) 1000 UI IM. Serum testosterone concentrations were measured by a commercial a solid phase radioimmunoassay kit (Coat-A Count, DPC®, Los Angeles USA). Cytogenetic analysis was carried out on blood lymphocyte cultures. Heparinized blood samples were cultured during 72 hours at 37 C° in Ham F 12 culture medium (Gibco BRL, Gaithersburg, USA), supplemented with Pokeweed (Gibco BRL, Gaithersburg, USA). Slides were stained with Giemsa 5%. Wright coefficient was calculated from the pedigree provided by the Argentine Kennel Club according to the equation previously described (11).

RESULTS

Ultrasonography (Hitachi EUB 415, Band B/M modes, 7.5 MHz transducer) revealed no abnormalities neither in the testes nor in the pros-

tate. Serum testosterone concentrations were 1.63 and 3.35 ng/ml before and after hCG administration. Cytogenetic analysis showed a normal male karyotype. (Figure 2). The modal chromosome number was 78 and the sex chromosome constitution was XY. Pedigree analysis showed that the dog was full sib and F Wright inbreeding coefficient was 0.25.



Figure 2. Dog karyotype showing a 78, XY chromosome complement.

Figura 2. Cariotipo del perro mostrando un complemento cromosómico de 78, XY

DISCUSSION

This is, to our knowledge, the first report of penile hypoplasia in a Rottweiler. A complete history and physical examination constitute the initial diagnostic approach to this reproductive complaint. Penis length in normal dogs ranges from 6.5 to 24 cm (3), being the length in this dog below the lower limit.

Post stimulation testosterone serum concentration was within the normal range (15). Moreover androgen deficiency was unlikely in this case as the dog presented normal testes and libido. Unfortunately, fertility could not be evaluated. Reproductive traits, in particular total sperm count and percentage of motility, measured in inbred beagle colonies with an average Wright coefficient of 0.304 ± 0.15 were depressed in a study (14). Wright's inbreeding coefficient of this dog showed that there was a 25 % probability that this dog shared its genes with a common ancestor. Inbreeding can increase the expression of recessive genes at homozygous state. The expression of these genes can induce congenital malformations (16).

Although an overall decline in reproductive performance is expected, consanguineous mating is a frequent practice among breeders looking for certain phenotypic characteristics. As a preventive measure, this kind of mating (excessive inbreeding) should always be discouraged. Moreover, knowing congenital malformations are heritable, the importance to eliminate affected dogs from natural or assisted reproductive programs should be emphasized by veterinary practitioners.

REFERENCES

1. Bloom F. The genitourinary system. Pathology of the dog and cat. Evanston IL Am Vet Publications. 1954; p: 334-354.
2. Feldman EC, Nelson RW. Clinical and Diagnostic Evaluation of the male reproductive tract. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction 2nd. ed. W.B. Saunders, Philadelphia. (USA). 1996; p: 673-690.
3. Feldman EC, Nelson RW. Disorders of the penis and prepuce. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction 2nd. ed. W.B. Saunders, Philadelphia. (USA). 1996; p: 691-696
4. Gustavsson I. The chromosome of the dog. Hereditas. 1964; 51: 187-189.
5. Hare WCD, Weber WT, McFeely RA, Yang T. Cytogenetics in the dog and cat. J Small Anim Prac. 1996; 7 : 575-592.
6. Johansson I. Rendel J Genetic and Animal J Genetic and Animals Breeding. Oliver and Boyd, Edinburg and London. 1968; 257: 378-387.
7. Johnston SD. Disorders of the External genitalia of the male. Ettinger, S.J, Textbook Veterinary Internal Medicine, 3rd ed. Philadelphia. W.B. Saunders. 1989; p: 2140-2160.
8. Mathey R. Chromosomes et systématique des canidés. Mammalia. 1954; 18: 225-230
9. Meyers-Wallen VN. Inherited disorders in sexual development. The American Genetic Association. 1999; 90: 93-95.
10. Meyers-Wallen VN. CVT Update: Inherited disorders of the reproductive tract in Dogs and Cats. Kirk, R. (ed). Current Veterinary Therapy. Small Animal Practice XIII, Philadelphia, W. B. Saunders Co.2000; p: 904-909.
11. Proescholdt T, De Young D. Infantile Penis in the canine. Iowa Vet. 1977; 59.
12. Rehfeld CE. Definition of relationships in relations in a closed Beagle colony. J Am Vet Med Assoc. 1970; 31: 732-732.
13. Rice VA, Andrews EJ, Warwick E J, Legates JE. Breeding improvement of Farm Animals, 6th ed McGraw- Hill book Co, New York. 1967; 188, 190

14. Shille VM, Olson PN. Dynamic testing in reproductive Endocrinology. Kirk, R. (ed). Current Veterinary Therapy. Small Animal Practice X, Philadelphia, W. B. Saunders Co. 1989; p 1282-1288.
15. Switonski M, Fisher P, Reimann N, Bartnizke S, Bullerdiek J, Ronne M, Pienkowska A, Ladon D, Graphodatsky A, Beklemisheva V, Long S, Bosma A, Moreno-Millán M, De Luca JC. International efforts for establishing standard karyotype of the dog (*Canis familiaris*). Committee for the standardized karyotype of the dog (*Canis familiaris*). Proc 11th. Europ. Colloq on Cytogenet of Domest Anim. 1994; p:150-152.
16. Wildt DE, Baas PK, Chakraborty PK, Wolfle TL, Stewart AP. Influence of inbreeding in reproductive performance ejaculate quality and testicular volume in the dog. Theriogenology. 1982; 17: 4445-4452.

SARNA SARCÓPTICA (ESCABIOSIS) EN CANINOS: ACTUALIDAD DE UNA ANTIGUA ENFERMEDAD

AL Giordano, AN Aprea

Clínica de Pequeños Animales
Facultad de Ciencia Veterinarias – Universidad Nacional de La Plata

RESUMEN: *Mediante un estudio descriptivo se realizó un relevamiento de 1160 historias clínicas del año 2000 en nuestro Servicio, con el objetivo de conocer la frecuencia de esta enfermedad en la población canina que es llevada para su atención al Consultorio de Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. Se seleccionaron todas aquellas historias con diagnóstico de certeza y/o terapéutico de Sarna Sarcóptica. Se obtuvo una frecuencia de presentación de 4,8% y los siguientes resultados: machos 65,5%, una tendencia bimodal en cuanto a la edad (2 meses y 1 año), un 18,2% de casos en el mes de octubre y un 27,3% de diagnósticos de certeza. Se comparan los datos con la casuística de otros países y se analiza su importancia para la Salud Pública.*

Palabras Claves: sarna sarcóptica, caninos

CANINE SARCOPTIC SCABIES: CURRENT SITUATION OF AN OLD DISEASE

ABSTRACT: *A survey was performed on the basis of 1160 clinical histories in our Service in the year 2000 by means of a descriptive study. The aim of this survey was to know the frequency of Sarcoptic Scabies in the canine population that is taken for their attention to our Service. The stories chosen were those with a certain and/or therapeutic diagnosis of Sarcoptic Scabies. The results were as follows: frequency 4, 8%, male dogs 65, 5%, which shows a bimodal age tendency (2 months and 1 year), 18, 2% of cases in October and 27, 3% showed positive scrapping. The data are compared with the casuistry of other countries and their importance is analyzed on behalf of Public Health.*

Key Words: sarcoptic scabies – canine

Fecha de recepción: 12/03/03

Fecha de aprobación: 21/08/03

Dirección para correspondencia: AL Giordano, C.C. 296, (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.
E-mail: giordano@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La sarna sarcóptica del perro es una enfermedad de la piel causada por el *Sarcoptes scabiei var canis* (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). El *Sarcoptes scabiei* fue el primer agente causal reconocido como productor de enfermedad en la medicina, a partir del año 1687 (5), mientras que la variedad *canis* fue identificada en el perro también desde el siglo XVII (9, 10, 11, 12). El sarcoptes del perro puede infestar humanos y otros animales de manera transitoria (3, 12, 13, 8, 10, 11, 14, 15).

No hay conocimientos certeros acerca de los mecanismos de patogenicidad, pero se cree que el prurito intenso es debido a diversos factores como: hipersensibilidad (demostrada en humanos y animales), irritación producida por la excavación de las hembras y los estadios juveniles, sustancias pruriginosas producidas por el propio ácaro, sustancias producidas por el foco inflamatorio, etc. (10, 21, 5, 8).

El signo clínico dominante es el prurito, que puede persistir por semanas o años. Las primeras lesiones observadas son eritema y pápulas costrosas, seguidas de excoりaciones, alopecia y costrosas, pudiéndose también observar hiperpigmentación y liquenificación. Las áreas afectadas primariamente son: pabellón auricular, codo y tarsos. Luego axilas y abdomen hasta generalizarse (16, 10, 8, 7, 5, 3, 19, 20).

El diagnóstico es realmente un desafío. La mayoría de las veces se realiza por la historia, hallazgos semiológicos, la contagiosidad y la respuesta al tratamiento escabificada. Para obtener un diagnóstico de certeza, deberían identificarse los ácaros en el raspado de piel. Lamentablemente sólo en el 40 o 50 % de los casos este es positivo (realizando 25 raspados por animal). También son útiles: el reflejo oto pruriginoso (movimiento involuntario de rascado con el miembro posterior ipsilateral cuando el pabellón auricular es frotado) y el Signo de la Arenilla (hiperqueratosis del borde del pabellón auricular) (2, 11, 3, 7, 23).

En los países desarrollados la Escabiosis se ha convertido en los últimos años en un problema serio debido al incremento de su prevalencia. Esta enfermedad es corrientemente confundida con otras enfermedades pruriginosas y por lo tanto los perros no reciben el tratamiento adecuado (5, 20, 13). Debido a su alta contagiosidad, la presencia de un perro enfermo y sin tratamiento determina un foco de infestación tanto para otros perros como para los humanos, lo que la hace también tener importancia en la Salud Pública (15, 5).

La contagiosidad al hombre es un tema excluyente a tratar, ya que entre un 25 a 30 % de los propietarios, en los países desarrollados, sufre de lesiones producidas por el *S. scabiei var canis*. (10, 11, 5). El aspecto clínico de estas lesiones y su concomitancia con la dermatitis en el perro conduce a sospechar el contagio sin que esto haya podido ser afirmado con certeza en la totalidad de los casos (10, 11, 5, 8, 22, 3).

En nuestro país, las condiciones higiénicas sanitarias de alguna parte de nuestra población (hacinamiento, promiscuidad) y, por consiguiente de nuestros perros, distan mucho de aquellas de los países centrales. Por eso es que pensamos en el riesgo sanitario que representa para los niños de escasos recursos, el contacto estrecho y prolongado con un perro parasitado sin tratamiento. A pesar de que el parásito no puede vivir más de 20 días sobre la piel humana, las potenciales reinfestaciones sucesivas agravarían el cuadro (24, 22). No hablaríamos sólo entonces de prurigo, sino de lesiones de difícil curación, debido a la persistencia del contagio. En niños mal nutridos la complicación con impétigo podría ser una fuente para una infección más grave y generalizada. Por último, tampoco podemos dejar de lado que las condiciones de hacinamiento podrían llevar a la infestación del perro por la variedad *hominis* (8).

Debido a estas características, creemos que es importante realizar estudios para medir la frecuencia de esta enfermedad en la actualidad y en nuestro medio, para poder arribar a un diagnóstico apropiado de la situación.

La evaluación del estado de salud, a través de la medición de la frecuencia de la enfermedad, es el primer paso en la planificación sanitaria (25, 26). A partir de allí se podrán implementar planes para el control de la misma. No tenemos hasta la fecha datos estadísticos acerca de esta enfermedad en la Argentina. Muy pocos estudios han sido publicados en los últimos tiempos sobre el tema. Considerándola de significación no sólo para la especie canina, sino también para la Salud Pública. El objetivo de este trabajo es realizar un estudio descriptivo para conocer la frecuencia de esta enfermedad en la población canina que es llevada para su atención al Consultorio de Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda de datos en 1166 historias clínicas del año 2000 del Consultorio Externo de la Cátedra de Clínica de Pequeños

Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, correspondientes a caninos. Se incluyeron en el estudio todas las historias con diagnóstico certero de Sarna Sarcóptica (raspado positivo) y aquellas con diagnóstico terapéutico (respuesta al tratamiento). Se recolectaron en planillas elaboradas para tal fin los siguientes datos: edad, sexo, raspado positivo o negativo y fecha de presentación. Los datos fueron ingresados y procesados en el programa estadístico SPSS*.

RESULTADOS

Sobre un total de 1166 historias clínicas se registraron 55 con diagnóstico certero y/o terapéutico de sarna. Se presenta la frecuencia por edad (Tabla 1) donde, por ser una muestra asimétrica, se obtuvo como medida de resumen la moda siendo ésta una muestra bi modal (2 y 9 meses); distribución por sexo (Figura I); frecuencia por meses del año (Figura II), resultando ser mayor en primavera y fines del verano.

Tabla 1- Frecuencia de casos clínicos de Sarna Sarcóptica por edad -Año 2000-. Consultorio de Clínica de Pequeños Animales Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata
 Table 1- Case frequency of Sarcoptic Scabies for each age. Year 2000. Small Animal Clinic Veterinary School. La Plata National University

Edad	Frecuencia	Porcentaje
0- 5 meses	27	49,09
6 -12 meses	15	27,27
2 - 4 años	6	11
5 - 7 años	5	9,09
> 8 años	2	3,06

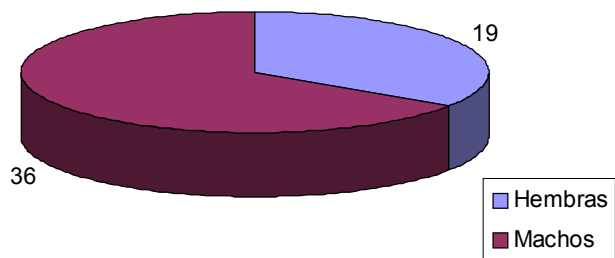


Figura I. Frecuencia de casos clínicos de Sarna Sarcóptica por sexo año 2000. Consultorio de Clínica de Pequeños Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata
 Figure I. Case frequency of Sarcoptic Scabies according to sex. Year 2000. Small Animal Clinic. Veterinary School. La Plata National University

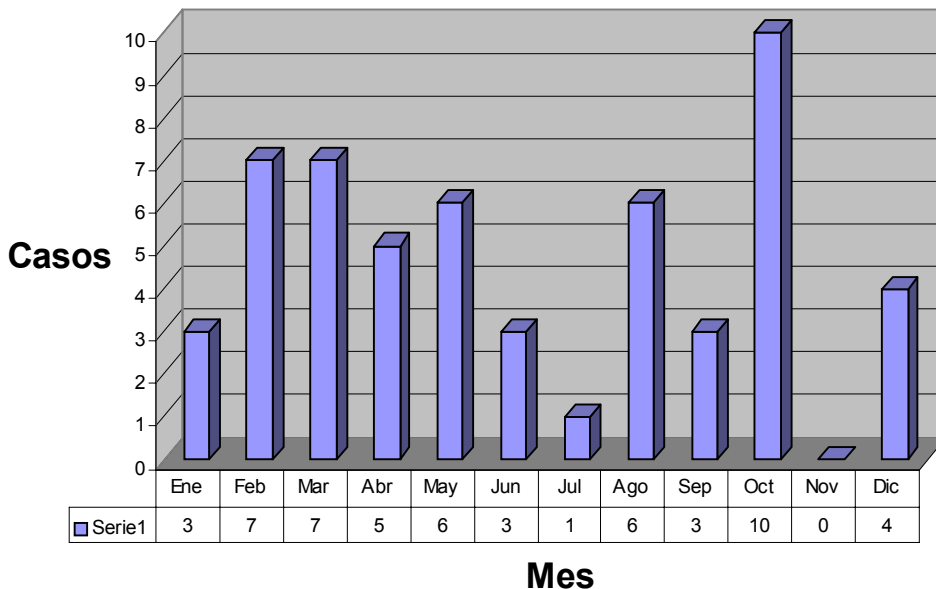


Figura II. Distribución de casos de sarna sarcóptica por mes (año 2000). Consultorio de Clínica de Pequeños Animales. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
 Figure II -Monthly Distribution of Sarcoptic Scabies Cases. Year 2000. Small Animal Clinic. Veterinary School. La Plata National University.

* (SPSS +®, 1999) para Windows Versión 10.0

DISCUSIÓN

La incidencia real de la sarna sarcóptica en la especie canina no es bien conocida ni en nuestro país ni en el resto del mundo. En Europa ha sido considerada rara y en Francia subdiagnosticada (10, 11). Es frecuente en Suecia, donde la ausencia de infestaciones con pulgas, limita la utilización de antiparasitarios externos (10). En América del Norte sería la séptima causa de dermatitis en el perro. Según Carloti (10), los casos referidos de su población representan el 4% hablando de los diagnósticos de certeza, o sea con el raspado cutáneo positivo. Teniendo en cuenta los casos tratados y curados sin raspados positivos (diagnóstico terapéutico) resultaría ser una enfermedad frecuente. En este trabajo, realizado con datos obtenidos de fuentes secundarias, obtuvimos una frecuencia total de 4,8 % (diagnóstico de certeza más terapéutico). Si consideramos que la población canina que ingresa a nuestro consultorio proviene de un estrato social aún con recursos para la atención de sus animales (ya que disponen de medios para la movilidad y atención sanitaria mínima de los mismos), este valor no sería representativo de la población general, pero sí de la población que concurre a nuestro servicio.

En este estudio la distribución por edad es bi-modal, 2 meses y 1 año. Estos son períodos de stress para los perros ya que el primero coincide con el momento del destete y el segundo con la pubertad e inicio de la actividad sexual. La frecuencia por sexos, más alta en machos, puede ser explicada por las características de la tenencia de animales en nuestro país, las hembras permanecen más tiempo dentro de los domicilios, para evitar preñeces no deseadas, mientras que los machos tienen hábitos más ambulatorios fuera de su domicilio lo que posibilita un mayor contacto con otros animales. La presentación de más casos en el mes de octubre, coincide con la época del año donde las consultas se incrementan habitualmente.

Considerando a la sarna sarcóptica una enfermedad potencialmente riesgosa para el hombre en determinadas situaciones socioeconómicas, es que creemos necesario realizar más estudios poblacionales para llegar al diagnóstico de la verdadera situación sanitaria. En base a estos, se podrán ejecutar los planes de control correspondientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boch J, Supperer R. Parasitología en Medicina Veterinaria. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, 1982, p. 468-470.
2. Boero JJ. Parasitosis Animales. EUDEBA. Buenos Aires, 1976, p. 409-425.
3. Crestian J. En: Moraillon R y otros (ed). Dictionnaire Pratique de Thérapeutique Canine et Féline. Editorial Masson. Paris, 1988, p. 197-198
4. Georgi JR, Georgi ME. Garrapatas y otros Ácaros. En Parasitología en Clínica Canina. Nueva Editorial Interamericana, S.A. México, DF. 1994, p 49-51.
5. Macdonald JM. Ectoparasites (canine scabies). En: Kirk RW (Ed) Current Veterinary Therapy VIII Ed. WB Saunders. Philadelphia, 1983, p. 491-492.
6. Nuñez JL. Fundamentos de Parasitología Veterinaria. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, 1987, p 141-142.
7. Paradis M, de Jaham C, Pagé N. Topical (pour on) ivermectin in the treatment of canine scabies. Can Vet J. 1997, 38: 379-382.
8. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Small animal Dermatology. Ed. WB Saunders. Philadelphia, 1995, p 437-441.
9. Arlian LG, Wyszynski Roher DL. Life cycle of *Sarcoptes scabiei* var *canis*. J of Parasitol 1998, 74: 427-430.
10. Carloti DN, Bensignor E. La sarna sarcóptica del perro. Recuperable de <http://www.redveterinaria.com/cyber/cyberbiblioteca.php#D>
11. Carloti DN, Bensignor E. La gale sarcoptique du chien: étude rétrospective de 38 cas. Prat Med Chir Anim Comp. 1997, 32: 117.
12. Christophersen J. Epidemiology of scabies. Parasitol Today, 1986; 2:247-248.
13. Greene CE. Zoonosis Caninas. En: Kirk RW y Bonagura JD (ed) Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales. Ed Interamericana Mc Graw-Hill, Madrid, 1994; p.308-316.
14. Charlesworth EN, Johnson JL. An epidemic of canine scabies in man. Arch Dermatol. 1974; 110: 574.
15. Fain A. Epidemiological problem of scabies. Int J Dermatol. 1978; 17:20.
16. Folz SD. Canine Scabies (*Sarcoptes Scabiei* infestation). Comp Cont Educ. 1984; 6 :176.
17. Vignau ML, Venturini LM, Romero JR. Parasitología Práctica. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata 2001, p. 125.
18. Perez Tort G, Welch EL. Enfoque clínico de las Enfermedades Parasitarias de los perros y gatos. Ed. Agro Vet Buenos Aires, 1998, p.211-229.
19. Ihrke P J. Pruritus. En: Ettinger SJ, Feldman EC (Ed) Veterinary Internal Medicine. Ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1995, p. 214-219.
20. Moriello KA. Tratamiento de las infestaciones por *Sarcoptes* y *Cheyletiella*. En Kirk RW y Bonagura JD (ed). Ed. Interamericana Mc Graw-Hill, Madrid 1994; p. 617-619.

A.N. Giordano y col.

21. Schmeitzel LP. Cheyletiellosis y escabiosis. En: White, SD (ed) .Clínicas Veterinarias de Norteamérica. Prurito. Ed. Intermédica. Buenos Aires, 1996.
22. Maldonado RR. Norwegian scabies due to *Sarcoptes Scabiei* var. *Canis*. Arch. Dermatol. 1977; 113:1733.
23. Nelson RW, Couto GC. Medicina Interna de Animales Pequeños. Ed. Inter-Médica S.A.I.C.I Buenos Aires. 2000; p. 1329.
24. Norins AL. Canine Scabies in children. Am J Dis Child. 1969; 117:239.
25. Bonita R, Beaglehole R, Kjellström T. Epidemiología básica. Segunda Ed. O.P.S, Washington, D.C. 1996; p 139-150.
26. Jenicek M. Epidemiología, la lógica de la medicina moderna. Primera ed. Ed. Masson, S.A. Barcelona, 1996.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

La revista ANALECTA VETERINARIA es una publicación semestral de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos en el campo de las Ciencias Veterinarias, generados en esta Unidad Académica y en otras instituciones. Asimismo, reflejará las actividades académicas de postgrado, de extensión y de educación a distancia que se desarrollan en esta Casa de Estudio. El idioma oficial es el español aunque se aceptarán trabajos en inglés que seguirán el mismo esquema detallado más abajo.

ANALECTA VETERINARIA seguirá los "Requerimientos uniformes" para la presentación de manuscritos en revistas biomédicas según la quinta edición de 1997 (*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirement for manuscript submitted to biomedical journals*. N Engl J Med 1997; 336:309-15). Una traducción de estos requerimientos pueden ser recuperada en INTERNET en la dirección electrónica:

<http://www.fcv.unlp.edu.ar>

ANALECTA VETERINARIA puede ser recuperada gratuitamente en INTERNET en formato pdf (Adobe Acrobat Reader®) que permite su impresión tal como aparece en la copia final incluyendo gráficos y tablas. La misma se encuentra en la dirección electrónica <http://www.fcv.unlp.edu.ar>. La revista consta de las siguientes secciones:

I.-Trabajos de investigación, II.-Artículos de revisión, III.-Comunicaciones breves IV-Información institucional y V. Cartas al editor.

Normas generales de redacción

Los manuscritos deberán ser enviados para su publicación al Comité editorial en idioma español o inglés. Deberán enviarse por triplicado en hoja tamaño A4 (210 x 297 mm), numeradas correlativamente y escritas a doble espacio, simple faz, con un margen de 4 cm a la izquierda y no menor de 2 cm en el derecho. Deberá enviarse además una copia en disquete (MS-Word 2000® o Word Perfect 8.0®); dos de las copias no deberán contener el nombre de los autores ni su filiación científica. Los autores deben retener una copia de todo el material enviado inclusive fotografías ya que no se aceptará responsabilidad por daño o pérdida de trabajos.

Las fotografías en blanco y negro podrán ser incluidas en número no mayor a 3 por artículo. Otras inclusiones de fotografías en blanco y negro o en color tendrán un cargo extra y estarán a cargo de los autores. Las versiones electrónica y en CD-ROM de la revista podrán contener fotografías color sin costo para los autores. La inclusión de fotografías color en el material impreso deberá ser expresamente solicitado al editor. El material enviado estará listo para su repro-

ducción, podrán enviarse fotografías o gráficos en formato TIF, CRD, JPG, GIF o BMP. El costo de cada artículo será de \$ 50 hasta 7 hojas (publicadas) y \$ 10 por cada hoja adicional que deberá ser abonado por los autores indefectiblemente antes de su publicación.

Las unidades de medida se expresarán siguiendo las normas del Sistema Internacional de Unidades. El material enviado será analizado para su publicación por el Comité Editorial, el que lo someterá a consideraciones del referato externo. El Comité Editorial informará al autor del trabajo de las correcciones y/o recomendaciones sugeridas por el evaluador y determinará en función de ello la aceptación o rechazo del mismo. Si hubiere correcciones, las mismas deberán ser efectuadas por los autores en un plazo máximo de 6 meses, caso contrario se considerará el trabajo como "rechazado". Se deja constancia que el hecho de recibir un trabajo no conlleva la obligación de su publicación por parte de ANALECTA VETERINARIA. Una vez aceptado el trabajo se enviará a los autores la "prueba de galera" para su corrección, la que deberá ser devuelta en un plazo no mayor de 15 días. La falta de respuesta luego del plazo estipulado se entenderá como una aceptación de la misma. El envío de un trabajo a ANALECTA VETERINARIA deberá realizarse con el consentimiento de todos los autores. En todos los casos se tomará como fecha de remisión la del timbre postal correspondiente.

La falta de cumplimiento de cualquiera de las normas implica la devolución del trabajo para su adecuación. La Facultad no se hace solidaria con las opiniones vertidas en los trabajos, siendo los autores los únicos responsables. Tampoco se hace responsable ni respalda la publicidad incluida en la revista.

Normas particulares de redacción:

1. Trabajos de investigación:

No deberán exceder de 30 páginas, incluyendo 25 citas bibliográficas. Deberán ser inéditos y estarán organizados de la siguiente manera.

a) Título: será breve, preciso y reflejará el contenido del trabajo. A renglón seguido se indicará el nombre y apellido (s) del autor, acompañados de sus grados académicos más importantes, separando los autores por una coma. A renglón seguido se señalará el nombre de la institución, cátedra o laboratorio a la que pertenece, así como su dirección postal, número de fax, y dirección electrónica si la posee. Cuando haya más de un autor que pertenezca a diferentes instituciones, cátedras o laboratorios, las mismas serán identificadas con un número arábigo superíndice, después del apellido. Agregar un título resumido de un máximo de 40 caracteres (considerar espacios y símbolos como caracteres).

b) Resumen: será redactado en castellano y en inglés (abstract) incluyendo además en este último caso el título en idioma inglés. El resumen deberá sintetizar los objetivos principales del trabajo, la metodología empleada, los resultados más sobresa-

lientes y las conclusiones que se hayan obtenido. No superará tanto en español como en inglés las 200 palabras.

c)Palabras clave: al finalizar el resumen y el "abstract" en renglón aparte, deberán consignarse palabras clave, cinco como máximo, colocándolas bajo el título Palabras clave o "Key Words" según corresponda.

d)Introducción: se señalarán los antecedentes sobre el tema, citando la bibliografía más relevante y especificando claramente los objetivos y el fundamento del trabajo.

e)Materiales y Métodos: toda técnica nueva deberá detallarse para facilitar su comprensión. Se evitará pormenorizar sobre métodos ya experimentados, citándose los materiales utilizados en la realización del trabajo. En los casos en que el diseño experimental requiera una evaluación estadística, se indicará el método empleado.

f)Resultados: se presentarán en forma clara, ordenada y breve.

g)Discusión: incluirá la evaluación y la comparación de los resultados obtenidos con los de otros autores, indicando las referencias bibliográficas correspondientes. Las conclusiones deberán sustentarse en los resultados hallados, evitando todo concepto vago o condicional.

h)Agradecimientos: colaboraciones, ayuda técnica, apoyo financiero, etc. deberán especificarse en agradecimientos. Estas personas deberán conceder su permiso para ser nombradas.

i)Bibliografía: deberá escribirse en hoja aparte ordenada según aparece en el texto y numerada correlativamente con números arábigos, contendrá todas las citas mencionadas en el texto teniendo en cuenta el siguiente formato:

Autores: Apellido, seguido por las iniciales del/los autor/res separados del siguiente autor por coma. Título: completo del trabajo en el idioma en que fue publicado. Nombre de la revista o publicación donde aparece el artículo abreviada de acuerdo al "US National Library of Medicine (NLM)" que usa el *Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov>). En forma seguida el año de publicación; en forma continuada el número de volumen de la revista, seguido de coma y el número de la revista (si lo posee), dos puntos, seguido del número de páginas de inicio y terminación del trabajo. Ej.

1.Rodríguez-Vivas RI, Domínguez-Alpizar JL. Grupos entomológicos de importancia veterinaria en Yucatán, México. *Rev Biomed* 1998; 9 (1):26-37

En el texto del trabajo hacer referencia mediante números arábigos entre paréntesis.

Si se tratase de trabajos publicados en libros:

Apellido y nombres en forma similar al indicado para revistas periódicas. A continuación el nombre del libro, edición, editorial, ciudad, país entre paréntesis, seguidas del año de publicación y páginas consultadas. Ej.

1.Plonat H. Elementos de Análisis Clínico Veterinario, Ed. Acribia. Zaragoza (España), 1984; p.45-75

Las tablas se presentarán en hojas separadas y con títulos completos ubicados sobre el margen superior y numerados con números arábigos, deberá incluirse además el título en inglés. Los gráficos se presentarán también en hojas separadas pero con títulos explicativos ubicados al pie de los mismos y numerados consecutivamente con números romanos debiéndose incluir además el título en inglés. Las tablas, gráfi-

cos o fotos se adjuntarán al final del manuscrito debiéndose indicar en el texto la posición correspondiente "insertar" tabla N° o gráfico N° o foto N°. Las fotografías deberán remitirse con la numeración en el reverso escrito con lápiz (o pegar una etiqueta de papel) de acuerdo a su secuencia en el texto, así como también indicarse el título y el autor del trabajo y cuál es la parte superior de la misma. El tamaño deberá ser de 10 por 15 cm, pudiendo reducirse en la publicación por lo que se sugiere la buena calidad del detalle que se quiera resaltar. Cada foto deberá ser acompañada de una breve reseña explicativa de la misma en español y en inglés.

II. Artículos de revisión

Versarán sobre temas relevantes incluyendo una revisión bibliográfica adecuada y sus autores deberán tener idoneidad en los mismos. Estos artículos incluirán las siguientes secciones: título, título en inglés, resumen, "abstract", texto, agradecimientos y bibliografía. La extensión de estos trabajos no excederán las cincuenta páginas y sesenta citas bibliográficas.

El autor no deberá solamente realizar una recopilación bibliográfica exhaustiva, sino que además deberá hacer una discusión crítica sobre el tema considerado, destacando la trascendencia actual y futura y los puntos sobre los que existan diferencias de opinión.

III. Comunicaciones breves

Esta sección estará destinada a la comunicación de hallazgos preliminares en trabajos de investigación en marcha y a la descripción de nuevas técnicas (de laboratorio, quirúrgicas, de producción), hallazgos clínicos exóticos o poco frecuentes, etc. Su organización deberá seguir el lineamiento general indicado en el Ítem I. No deberán exceder las dos páginas incluyendo no más de 10 citas bibliográficas.

IV. Información institucional

Esta sección será destinada a difundir todas aquellas actividades o informaciones de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata que tengan una relación directa con los objetivos dispuestos para la presente publicación.

V. Cartas al editor

En esta sección se incluirán actualizaciones breves y comentarios sobre artículos ya publicados. Las cartas (hasta 1000 palabras de texto) deberán ser en formato carta y no se dividirán en secciones. Las cartas comenzarán con una introducción breve sobre la relación del tema. Incluir desarrollo de métodos; referencias, en no más de cinco; y figuras o ilustraciones, en no más de dos.

Correspondencia

Toda correspondencia dirigida a esta revista deberá realizarse a la siguiente dirección:

Sr. Director ANALECTA VETERINARIA
CC 296 (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA
TEL/FAX: 0221-4257980
Desde el exterior: +54-221-4257980
E-mail: analecta@fcv.unlp.edu.ar
Web: www.fcv.unlp.edu.ar



EDUCACION A DISTANCIA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS / UNLP

Características

*La Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, ofrece capacitación de posgrado a través de Educación a Distancia, que tiene como propósito la formación continua del graduado veterinario.

*La permanente generación de información con la creciente necesidad en el uso de la misma en un mercado laboral hiper competitivo y exigente, obliga en forma creciente a la actualización.

*A través de los cursos procuramos el desarrollo y la renovación tecnológica y temática de los profesionales. Es por esto que hemos conformado un equipo de trabajo dedicado a revelar el interés de los diversos temas del veterinario y a conformar una oferta que los satisfaga, avalados por el prestigio y el nivel de excelencia de nuestra universidad.

*Las dificultades existentes para las especializaciones bajo la modalidad presencial por aquellas personas radicadas lejos de los centros de enseñanza y por quienes están insertos en un mercado laboral exigente, proyectan a esta modalidad educativa hacia el futuro.

*Los cursos y seminarios virtuales, los foros electrónicos, la edición de CD y la impresión en papel son presentaciones en distintos soportes tecnológicos que se utilizan en función de las exigencias del proceso educativo.

*La Educación a Distancia evita los gastos de traslado y estadía, permite que el docente intervenga y aporte cuando la ocasión lo requiera y a su vez tenga una dedicación más personalizada al alumno y al estudiante administrar su propio tiempo de estudio.

¿Cómo son nuestros cursos?

*Son tutoriales (asistidos por un especialista en el tema) y por lo tanto de atención personalizada y dedicada.

¿De qué materiales dispone el estudiante?

* El estudiante recibe, dependiendo del curso, material escrito, o en un CD multimedia de modo que no tenga que bajar de la web imágenes o archivos pesados, podrá visualizar en la web el desarrollo del curso y sus temas, así como recibirá vía e-mail archivos, comentarios e información de sus profesores. Por vía de correo electrónico, teléfono o fax, realizará preguntas y evacuará dudas así como presentará sus pruebas de evaluación.

¿Qué recibe el estudiante que cursa?

*El alumno recibirá nuevos conocimientos que le abrirán nuevos horizontes y aquellos que cursen y aprueben las evaluaciones planteadas recibirán un certificado, con las horas cursadas y las pruebas realizadas y aprobadas.

Informes e Inscripción:

Dirección de Educación a Distancia
 CC 296 (B1900AVW) La Plata, Argentina
 Tel/Fax: 0221-4257980 de 12 a 16 h
 desde el exterior: + 54 221 4257980
ead@fcv.unlp.edu.ar
stanchi@alternativagratis.com
<http://www.fcv.unlp.edu.ar>
 Auspiciados por el
Colegio de Veterinarios de la
Provincia de Buenos Aires

ELECTROCARDIOGRAFÍA EN PEQUEÑOS ANIMALES

Director: Daniel O. Arias

Temario: Fundamentos básicos de la electrocardiografía. Técnica de registro electrocardiográfico. Interpretación y diagnóstico electrocardiográfico. **Objetivos:** Entrenar al profesional en el conocimiento de la electrocardiografía como método complementario de diagnóstico de las enfermedades cardiovasculares de los pequeños animales.

HEMATOLOGÍA CLÍNICA Y SU INTERPRETACIÓN EN CANINOS Y FELINOS

Director: Bact. Sandra Arauz

Temario: El hemograma en la clínica. Materiales y equipos de laboratorio. Interpretación. Presentación de casos clínicos y su análisis. **Objetivos:** Capacitar a los profesionales para la obtención de un diagnóstico hematológico en diferentes cuadros clínicos en pequeños animales.

TEMAS DE REPRODUCCIÓN EN PEQUEÑOS ANIMALES Evaluación de semen. Citología vaginal

Director: María Alejandra Stornelli

Temario: Fisiología reproductiva. Análisis macroscópico, bioquímico y bacteriológico del semen. Evaluación e interpretación de los resultados obtenidos en el estudio de semen. Citología vaginal. Aplicaciones de la citología vaginal en la clínica. **Objetivos:** Analizar la fisiología del macho. Conocer y aplicar las técnicas para obtener y procesar la muestra de semen para realizar un espermograma. Conocer las aplicaciones y las limitaciones del espermograma.

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO PRÁCTICO PARA EL MÉDICO VETERINARIO (bacterias aerobias)

Director: Prof. Dr. Nestor Oscar Stanchi

Temario: Urocultivo, Otocultivo, Coprocultivo, Hisopados de heridas y piel. **Objetivos:** Capacitar a los profesionales para el diagnóstico bacteriológico rápido con especial referencia a las muestras clínicas más comunes que involucran a la práctica frecuente en veterinaria.

2º JORNADAS PLATENSES DE MEDICINA EN PEQUEÑOS ANIMALES

Videos de las Conferencias realizadas en septiembre 2001

Disertantes: Dr. Isidro Castro Mendoza (México), Dr. Rafael Bökenhans (UBA), Dra. Beatriz Di Tollio (UBA)

Temario: Neurología. Examen clínico de la columna. Patofisiología del Trauma Medular. Patologías Degenerativas. Fracturas y Luxaciones de la Columna. Cirugía de la Columna. Discusión de casos clínicos. Endocardiosis Mitral. Fibrilación auricular. Cardiopatías congénitas

Objetivos: Brindar al Médico Veterinario práctico la posibilidad de información concreta y

Signos Clínicos del Perro: aproximación diagnóstica

Director: Dra. Cristina Gobello

Docentes:

M García, A Aprea, Y Corrada, M Piella, B Nuozi, G Zapata, A Dragonetti, A del Amo, GC Broglia, HA Baschar, A Giordano, E Durante, J Mouly, M Luna, M Diez, D Arias, M Tórtora, A Cruz, R Rodríguez, L Klima

Objetivo: El objetivo de este Curso es el de entrenar al Profesional Veterinario en la resolución de casos clínicos a través del estudio sistemático de algunos de los signos clínicos más frecuentes del perro.