

VETERINARIA



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LXV Vol. 40 N° 159 - 160 Julio-Diciembre de 2005

Cerro Largo 1895 - Montevideo - Uruguay - Tel-Fax (598-2) 408 6174 - 409 9458 - E-mail: smvet@adinet.com.uy

Página Web: www.smvu.com.uy

Contenido

Homenaje

Recordando al Dr. Ernesto Giamb Bruno	5
Dr. Ernesto Giamb Bruno Engelbrecht. El Profesional, el Ser Humano, el Amigo	7

Diagnóstico

Enfermedad hemorrágica del conejo: Primer diagnóstico en el Uruguay <i>Capano, F.; Paullier, C.; Easton, M.C.; Guarino, M.H.; Pereyra, E.; Fernández, A.; Aguirre, O.; Días, L.E.; Seoane, L.</i>	9
Biopsia hepática en ovinos. Modificación a la técnica de aspiración por aguja <i>Cruz, J.C.; Cal Pereyra, L.; Abreu, M.N.; Benech, A.; Borteiro, C.; Rodas, E.</i>	15
Identificación en Uruguay de metacercarias de <i>Ascocotyle (Phagicola) longa</i> DIGENEA: HETEROPHYIDAE parasitando lisas, <i>Mugil platanus</i> PISCES: MUGILIDAE y evaluación del riesgo de zoonosis y afecciones en mascotas <i>Carnevia, D.; Castro, O.; Perretta, A.; Venzal, J.M.</i>	19

Premio Academia Nacional de Veterinaria-2003

Perfiles metabólicos y endócrinos, parámetros productivos y reproductivos en vacas de leche en condiciones pastoriles <i>Meikle, A; Cavestany, D.; Blanc, J.; Krall, E.; Uriarte, G.; Rodríguez-Irazoqui, M.; Rupprechter, G.; Ferraris, A.; Chilibroste, P.</i>	24
---	----

Esta edición consta de 1600 ejemplares y se distribuye sin costo a todos los socios de la SMVU.

Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente.

Por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16-12-1988), el Dpto. de Documentación y Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.

Simposio Iberoamericano «Conservación de los recursos zootécnicos»

Caracterización zootécnica del cerdo pelón mexicano explotado en un centro de conservación genética <i>Cetz, F.; Irigoyen, J.; Sierra, A.; Medrano, A.</i>	40
Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes de CSN3 y Lactoglobulina B en un rodeo de bovinos Criollos en Argentina <i>Poli, M.A. ; Holgado, F.D. ; Rabasa, A.E.</i>	44
Estudio morfoestructural del ovino Pelibuey en Yucatán <i>Romualdo, J.; Sierra, A.; Ortiz, J.; Hernández, J.</i>	49
Evaluación andrológica de reproductores bovinos de razas naturalizadas brasileñas <i>Dode, M.A.N.; Silva. T. A.S. N.; Melo, N. S.S.; Martins, C.F.</i>	53
Caracterización del caprino Criollo del Noroeste Argentino <i>Roldán, D.L.; Fernández, J.L.; Saldaño, S.A.; Rabasa, A.E.; Holgado, F.D.; Poli, M.A.</i>	61
Comparación de tres diferentes pruebas para medir el grado de infestación de <i>Varroa destructor</i> en colmenas de abejas melíferas <i>Utrera Q. F.; Flores R. E.; Hernández Z. J. S.; Vargas L.S.</i>	66

VETERINARIA

ISSN 0376 - 4362 - Indizada en: Vet-CD/BEASTCD

REDACTOR RESPONSABLE:

Jorge Slavica, DMV

CONSEJO EDITOR "Profesor Walter García Vidal":

Pedro Arotce DMV

Pedro Bañales, DMV

Jacqueline Maisonnave, DMV, PhD

María A. Solari, DV

Asesor Bibliotecológico:

Elba Domínguez

ARBITROS de los TRABAJOS CIENTÍFICOS (1997 - 2005)

Berthelot, X.	(DMV)	FRANCIA	Lazaneo, E.	(DMV)	URUGUAY
Camarotte, D.	(DMV)	URUGUAY	Leites, O.	(DMV)	URUGUAY
Cajarville, C.	(DMV)	URUGUAY	Martin, E.	(DMV)	URUGUAY
Cardelino, R.	(Ing. Agr.)	URUGUAY	Pérez Clariget, R.	(DMV)	URUGUAY
Cardozo, E.	(DMV)	URUGUAY	Pimentel, C.	(DMV)	BRASIL
Cardozo, H.	(DMV)	URUGUAY	Riet Correa, F.	(DMV)	BRASIL
Castells, D.	(DMV)	URUGUAY	Rodríguez, H.	(DMV)	SUECIA
Cattaneo, G.	(DMV)	CHILE	Theis, J.H.	(DVM)	USA
Cuore, U.	(DMV)	URUGUAY	Traldi, A.	(DMV)	BRASIL
Eddi, C.	(DMV)	ARGENTINA	Trejo González, A.	(DC)	MÉXICO
Feinstein, R.	(DMV)	SUECIA	Trica, G.	(DMV)	URUGUAY
Fernández, G.	(DMV)	URUGUAY	Tortora, J.	(DMV)	MÉXICO
Flores, E.	(DMV)	CHILE	Uriarte, G.	(DMV)	URUGUAY
Gil, A.	(DMV)	URUGUAY	Vargas, L.	(DMV)	BRASIL
			Weiblen, R.	(DMV)	BRASIL

CONSEJO DIRECTIVO (Período 2004 - 2006)

Presidente:	Dr. Jorge Slavica
Titulares:	
Vicepresidente:	Dr. Ignacio Pereyra
Secretario:	Dr. Jorge Marra
Tesorero:	Dr. Carlos Morón
Vocales:	Dr. Eduardo Paradiso Dr. Carlos Esteves Dr. Jorge Batthyany
Colaborador:	Dr. Winston Rodríguez Soto

COMISIÓN FISCAL (Período 2004 - 2006)

Titulares:	Dr. Rodolfo Azaletto Dra. Ma. Angélica Solari Dr. Gastón Cossia
-------------------	---

CENTROS VETERINARIOS DE LA SMVU

CANELONES

Julio César Paternostro
vrussi@adinet.com.uy

CERRO LARGO

Daniel Aroztegui Brum
elrefugio@adinet.com.uy

COLONIA

Pablo Armand Ugon
padugon@adinet.com.uy

CHUY

Carlos Aristimuño
carlosar@adinet.com.uy

DURAZNO

Luis Callero
jcallero@internet.com.uy

FLORES

Mónica Oholeguy
gld@adinet.com.uy

FLORIDA

Rodolfo Azaretto
azaretto@montevideo.com.uy

LA LÍNEA

Diego Rega
dicla@adinet.com.uy

LAVALLEJA

Susana Camaño
sandraru202@hotmail.com

MALDONADO

Diego San Martín
diesan@movinet.com.uy

PASO DE LOS TOROS

Carlos Casadei
rucacasadei@hotmail.com

PAYSANDÚ

Miguel Dubra
cmvpdu@adinet.com.uy

PANDO

Javier Pereyra
segubar@adinet.com.uy

RÍO BRANCO

Pedro Fleitas
elceibovet@hotmail.com

RÍO NEGRO

Gustavo Fischer
pminoli@adinet.com.uy

RIVERA

Rafael Carriquiry
carri@adinet.com.uy

ROCHA

Eduardo Corradi
educorr@adinet.com.uy

ruta 7

Clever Cardozo
Tel: 0464 5304

SALTO

Pedro Herrmann
vetdondo@adinet.com.uy

SAN JOSÉ

Jorge Marra
cvets@adinet.com.uy

SORIANO

Laura Vallejo
lauravallejo678@hotmail.com

TACUAREMBÓ

Guzmán López
guzmanlopez@hotmail.com

TREINTA Y TRES

Carla Faliveni
rolima@adinet.com.uy

ASOCIACIONES ESPECIALIZADAS QUE INTEGRAN LA SMVU

Comisión de Reproducción e Inseminación Artificial (CRIA)

Sociedad de Buiatría del Uruguay

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en
Pequeños Animales (SUVEPA)

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en
Animales Silvestres (SUVEAS)

Soc. Veterinaria Especialistas en Cerdos (SVEC)

Asoc. Uruguaya de Veterinarios Laboratoristas (AUVELA)

Asoc. Vet. Esp. Protección Alimentos (ANEPA)

INTEGRACIÓN de COMISIONES

SEDE SOCIAL

Rafael Varela
Jorge Butthyany

MERCOSUR

Hugo Fontañá
Julio García Lagos
Ignacio Pereira
Eugenio Perdomo
Angela Rista
Luis Barros
Jorge Baraibar
Orgelio Cabrera

FESTEJOS

Elbio Sosa
Rafael Varela
Cecilia Corso

FINANZAS

Hugo Fontañá
Juan Dogliotti

BOLETÍN Y R.R.P.P.

Daniel Alza
Alvaro Fernández

CULTURA Y DEPORTE

Walter Faliveni
Raquel Pérez

REVISTA

María Solari
Jacqueline Maisonnave
Pedro Bañales
Gonzalo Leaniz
Pedro Arotce
Elba Domínguez

ESTATUTOS Y REGLAMENTO

Margarita de Miquelerena
Adriana Rodríguez
Marcelo Rodríguez

ASUNTOS

UNIVERSITARIOS

Eduardo Martín
Carlos Estévez

DECRETO 160/97

Griselda de Gregorio
Luis Delucchi
Alvaro Trinidad

REPRODUCCIÓN

Luis Cuenca
Guillermo de Nava
Sergio Kmaid

RABIA

Cristina Filippini
Daniel Rossi
Alvaro Fernández
Ernesto Giambruno

PODALES

Roberto Acuña
Daniel Alza

BRUCELOSIS

Virginia Diana
Analía Cobo Leturia
Ricardo Segundo
Darío Hirigoyen
Ignacio Pereyra

BIOTECNOLOGÍA

Carlos Azambuja
Eduardo Terranova
Lucía Kelly
Silvia Llambí
Analía Cobo Leturia

PÁGINA WEB Y MULTIMEDIA

Humberto Tomassino
Oscar Caponi
Juan Dogliotti
Dreiner Farías

TRIBUNAL ARBITRAL DE HONOR Y DISCIPLINA

Adolfo Bortagaray
Julio García Lagos
Juan José Mari
Cecilia Martín
Adriana Rodríguez

DR. ERNESTO GIAMBRUNO

Días pasados, en forma tan sorpresiva como inesperada, falleció el distinguido colega Dr. Ernesto Giambruno; en su domicilio, mientras conversaba con su esposa, el corazón – sin previo aviso – interrumpió el diálogo poniendo abrupto final a su vida.

Los cuatro puntos cardinales mas importantes de su existencia habían sido: su nacimiento en Montevideo el 24.6.1929, el día que se consagró veterinario: 29.12. 1954, su boda con Marta Romaña el 23.3.1960 y ese fatal 23 de agosto.

No es fácil trazar su currículum donde deban armonizarse fechas, títulos, logros, disertaciones, conferencias, publicaciones, asistencias a Congresos, Seminarios, Becas, Distinciones, etc, que en su caso resultan especialmente difíciles dada la honda huella de su dilatada y exitosa actividad profesional.

Aún a conciencia de que nos será imposible trazar ese currículum en la forma que Ernesto se merece, intentaremos resumir su extensa actividad profesional.

Su paso por la Facultad registra un B.MB en escolaridad general y MB. MB. MB. en escolaridad específica.

En 1955 ingresa al M.G.A., en 1956 ocupa un cargo en el Servicio de Aftosa y Enfermedades Infecciosas en el Lab. Miguel C. Rubino.

En 1966 es encargado del sector Cultivo Celulares del Servicio de Aftosa – DILFA - que dirige el Dr. J. De Freitas y en 1972 Giambruno será Director del mismo.

Anteriormente – 1960 - había ingresado al Instituto de Higiene donde es docente, prepara sueros y vacunas de uso veterinario y humano, antígenos para investigación de Brucelosis y Pullorosis y con el Dr. Porzencansky realizan el primer diagnóstico de Rabia humana en el país; en 1969 renuncia para dedicarse full time a DILFA en donde permanece hasta 1975

Actuación fuera del país.

En 1955-1956 **es becado en Nueva Orleans para hacer estudios sobre Brucelosis y su tesis le permite lograr el título de Master en Salud Pública.**

En 1975 es contratado durante un año como asesor de los Laboratorios Veterinarios en Ecuador para control de Fiebre Aftosa.; a su regreso actúa brevemente como asesor de la Dirección General de los Servicios Veterinarios.

Entre 1976 y 1978, la OPS le contrata para una asesoría en Perú en relación con Aftosa y Enfermedades Vesiculares.

En 1980 y 1981 retoma en Uruguay el cargo de Director de la Lucha contra la Aftosa.

En 1982 - previo concurso de méritos es - contratado por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización mundial: OPS/OMS con sede en Perú, abarcando así mismo Ecuador y Bolivia; su actuación en esos países es muy vasta, debiendo cubrir todo lo referente a Aftosa y Enfermedades Vesiculares, Rabia y otras Zoonosis y la formulación de bases para el Programa Nacional de protección de alimentos.

Dentro de ese período Giambruno asiste en representación del país, como oyente o disertante, a más de 30 Congresos, Simposios y/o Seminarios realizados en Uruguay, Argentina, Brasil, Colombia, Perú, Bolivia, EEUU y Francia y es Becario o realiza post grados en Argentina, EEUU., Colombia y Perú.

Un intento de señalar aquí los títulos de sus disertaciones y publicaciones transformaría este resumen en una tarea demasiado engorrosa que escapa a la finalidad de esta descripción; señalaremos en todo caso la temática de las mismas:

Aftosa: Múltiples investigaciones sobre Vacunas, Evaluación de vacunas, Inmunidad, Dermatitis alérgica post vacunas, Estudios sobre sub tipos de Virus etc.

Encefalitis Equina, Virus A. e Influenza Equina: identificación de virus.

Rabia: Vacunación en Perú, Vacunación antihumana, Rabia canina en Uruguay.

Botulismo: Primera constatación en Perú.

Alimentos: Creación del programa de salud pública animal en Perú.

Distinciones: Miembro Comisión estudios Encefalomiелitis y repercusión en humanos.

Miembro Comisión estudio Virosis Respiratoria en equinos.

Miembro Comisión MGA para estudio Peste Porcina

Miembro Sociedad Uruguaya Microbiología para estudio de Rabia

Miembro Comisión del MSP para estudio del bioterio del INS

En 1989 – con 34 años de actividad profesional - Giambruno renuncia a su cargo para acogerse a la jubilación.

Por supuesto, para Ernesto, jubilación no es sinónimo de descanso y así le vemos actuar en la Sociedad de Medicina Veterinaria, representándola en la Comisión Nacional de Salud Animal – Conhasa y otras sub. Comisiones.

Integra la Comisión Nacional de lucha contra la Rabia, es nominado para integrar

la Academia Nacional de Veterinaria donde es miembro y Directivo.

Integra Tribunales de Concurso en la Facultad de Veterinaria.

Esta desordenada recopilación de sus méritos no representa la verdadera magnitud de los trabajos de investigación y extensión realizados por Giambruno.

En lo personal, **mas allá de haber sido un excelente Técnico, Giambruno fue un profesional profundamente orgulloso de su profesión, a la que dedicó toda su vida; sumamente dinámico, puso su capacidad e inteligencia al servicio de los Organismos o Comisiones que integrara, destacándose siempre por la correcta presentación de sus intervenciones.**

De trato cordial con amigos o compañeros de trabajo, no dudaba sin embargo con energía pero con respeto, defender sus ideas y convicciones toda vez que las mismas dieran origen a discusión.

Falleció repentinamente a los 77 años dejando entre quienes lo conocieron, el recuerdo de su capacidad, sentido de la amistad y su señorío.

Aníbal Durán del Campo

DR. ERNESTO GIAMBRUNO ENGELBRECHT.
EL PROFESIONAL, EL SER HUMANO, EL AMIGO

El Dr. Ernesto Giambruno Engelbrecht nació en Montevideo el 24 de Junio de 1928, en un hogar de alto nivel cultural.

En 1966 contrajo matrimonio con Raquel Marta Romana, su compañera inseparable y fundamental apoyo para toda la vida.

Escolaridad

Luego de cursar estudios primarios y secundarios, y siempre viviendo en su querido barrio de Punta Carretas, su vocación lo llevó a estudiar Veterinaria.

Durante los años de Facultad colaboró con la misma, desempeñando cargos, (siempre obtenidos por concurso de méritos) en los Institutos de Clínicas e Industria Animal, sin desatender sus cursos y exámenes.

Obtuvo el título de Médico Veterinario el 29 de diciembre de 1954, con un excelente promedio de calificaciones.

Mediante una beca de la Organización mundial de la Salud, realizó los cursos de Salud Pública y Zoonosis en la Universidad de Tulane, Nueva Orleans, E.E.U.U.

Obtuvo allí el título de Master in Public Health.

Su labor profesional se realizó en diversas áreas :

Instituto de Higiene Prof. A Berta, de la Facultad de Medicina de Montevideo

En el año 1960 fue designado Asistente y en el año 1966 Jefe de la Sección Anatomía Comparada de ese Instituto, donde trabajó por espacio de 10 años

Siempre dentro del carácter docente del Instituto, le correspondió realizar trabajos de producción de sueros y vacunas de uso humano y animal y también desde ese cargo le correspondió entrenar a varios colegas en técnicas bacteriológicas.

Participó activamente en la investigación sobre Influenza equina, y realizó

junto con el Dr. Bernardo Porzencansky el primer diagnóstico de rabia humana que se produjo durante la epidemia de 1964.

Labor docente

Fue Profesor titular de la cátedra de Higiene y Salud Pública Veterinaria en la Facultad de Medicina Veterinaria de Montevideo.

Su labor docente fue prácticamente continua tanto en el Instituto de Higiene, como en el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca y en las

diversas consultorías internacionales donde la docencia forma parte del servicio.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.

Durante casi toda su vida profesional fue funcionario del Ministerio de Ganadería , Agricultura y Pesca , con varios intervalos en los cuales desempeñó servicios internacionales.

Su principal campo de acción fue sobre el tema Fiebre Aftosa:

Diagnóstico y tipificación de virus, técnicas de laboratorio para aislamiento, replicación y mantenimiento de virus. Formación de una viracoteca de cepas uruguayas, etc,

Durante 2 períodos ocupó la dirección de DILFA, correspondiéndole desde el Contralor de las vacunas hasta las campañas sanitarias contra la enfermedad , la vigilancia epidemiológica y de fronteras, etc.

Cumplió su labor con inteligencia, seriedad y amplia comprensión del problema en su conjunto, siguiendo los lineamientos trazados por el maestro que lo precedió , el Dr. Nelson Magallanes.

Así Uruguay llegó a la situación de privilegio continental en que se encontraba en el año 1994.

La actividad profesional del Dr. Ernesto Giambruno no se limitó al tema Aftosa, sino que trabajó dentro y fuera de fronteras en temas de prevención de Rabia humana y animal, Peste Porcina, Encefalomieltis equina, Influenza equina , y otros, publicando muchos trabajos científicos al respecto. (Un listado de 38 trabajos científicos e informes técnicos producidos por el Dr. Ernesto Giambruno obra en poder de la Academia Nacional de Veterinaria junto con su Currículum Vitae.)

Entidades científicas y profesionales a las que perteneció

Miembro fundador de la Sociedad Uruguaya de Microbiología...

Integrante del Claustro de la Facultad de Veterinaria.

Miembro e integrante de la Comisión Directiva de la Comisión de Profesionales del Instituto de Higiene.

Miembro e integrante de la Comisión Directiva de la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay.

Miembro integrante de varios tribunales de Concurso en las Facultades de Veterinaria, Medicina, y Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa..

Miembro de número de la Academia Nacional de Veterinaria desde su fundación en 1992.

Actuación internacional

En múltiples oportunidades concurre a Congresos, Seminarios y Simposios en América y Europa como delegado y representante de Uruguay.

Durante mas de 10 años desempeñó cargos internacionales financiados por O.P.S./O.M.S.y el Banco Interamericano de Desarrollo, en Venezuela, Ecuador y sobre todo en Perú , con jurisdicción también sobre Bolivia y eventualmente Colombia.

Fue un excelente asesor en Salud Pública Veterinaria y excelente asesor en tareas de laboratorio.

Actuó en áreas de Fiebre Aftosa, Rabia, Botulismo, Leptospirosis, Peste Porcina y Protección de Alimentos, así como en asesoramiento en Bioterios y en la Estación de cría de Primates en Iquitos, Perú.

Tanto en su actuación dentro de fronteras como internacional siempre primó su inteligencia y carácter comprensivo de la problemática general y particular en cada caso. Siempre fue generoso en sus conocimientos y en su esfuerzo personal, en su capacidad de dar.

Manteniendo siempre su perfil amable y modesto, pero sólido, su presencia era constante y todos sus compañeros sabíamos que en cualquier momento podíamos recurrir a él y obtener una respuesta positiva cualquiera fuera la tarea que le pidiéramos.

Caballero por excelencia, siempre tenía a flor de labios un pedido de disculpas, ante cualquier duda de haber cometido un error.

Su amplia cultura general y musical le atrajo amigos selectos y le granjeó gran consideración en los medios en que actuó.

Fue un digno representante y dejó la mejor imagen de Uruguay, además de innumerables amigos en todos los destinos en que le tocó actuar.

Luego de su jubilación, en el año 1992 ingresó, como miembro fundador, a la Academia Nacional de Veterinaria y desempeñó siempre el mas activo

papel, Siempre continuó bien informado y estuvo al tanto de los nuevos problemas sanitarios que se presentaban.

En dos períodos sucesivos integró la Comisión directiva de la Academia y siempre aportó iniciativas y valiosa información.

En la primera reunión de la Academia luego de su desaparición física

imperaba un indisimulable sentimiento de tristeza y consternación que se leía en el rostro de todos los académicos.

El Presidente propuso que como homenaje, cada uno de los académicos hiciera una breve referencia a la figura del querido compañero que se había ido. Surgieron los mas emotivos recuerdos que se pueda imaginar, desde el compañero estudiante y buen jugador de fútbol de la Liga Universitaria hasta el destacado profesional y compañero entrañable.

Muy elocuente el hecho de que tres de los académicos solamente pudieran esbozar sus sentimientos de cariño y respeto, ya que la emoción y tristeza le impidió continuar sus palabras a pesar de que todos los académicos somos personas maduras con largo recorrido por la vida.

ACADEMIA NACIONAL DE VETERINARIA

Enfermedad hemorrágica del conejo: Primer diagnóstico en el Uruguay

Capano, F.¹; Paullier, C.¹; Easton, M.C.¹; Guarino, M.H.²; Pereyra, E.³; Fernández, A.³; Aguirre, O.³; Días, L.E.³; Seoane, L.³

RESUMEN

Se estudia la aparición de una epidemia en conejos de criaderos familiares, hasta ahora desconocida en el país. Los casos clínicos presentan un período de incubación muy corto y una evolución rápida con muerte entre 24 y 48 horas. Se procesan animales enviados a la DILAVE para su diagnóstico provenientes de dos departamentos (Montevideo y Canelones), así también especímenes inoculados experimentalmente. Los síntomas y lesiones macro y microscópicas observados son compatibles con EHC, la cual es confirmada por estudios virológicos (DILAVE y Centro de Referencia para EHC en Brescia, Italia).

El presente trabajo tiene por finalidad comunicar la presencia de la Enfermedad Hemorrágica del Conejo (EHC) por primera vez en Uruguay.

Palabras Clave: *Lepóridos, Enfermedades causadas por Calicivirus, EHC.*

SUMMARY

An epidemic disease in rabbits unknown in the country is studied. Clinical cases shows very short incubation period and sudden death between 24 - 48 hrs. Rabbits from two regions (Montevideo, Canelones) sent to DILAVE for diagnosis, and animals from experimental inoculation was carried out. Based on clinical and pathological findings RHD was suspected. The disease was confirmed by laboratory studies at DILAVE and RHD/OIE Reference Laboratory, Brescia, Italy.

The objective of this paper is to notify the presence of RHD for the first time in Uruguay.

Key Words: *Leporids, Calicivirus diseases, RHD.*

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Hemorrágica del Conejo (EHC) es causada por un calicivirus específico (Familia *Caliciviridae*, Género *Lagovirus*). Si bien al principio se aislan varias cepas de un mismo serotipo, es a partir de 1998 en Italia (4,5,10) y en 1999 en Alemania (10,11) que se diagnostican cepas antigénicamente consideradas como variantes (RHDVa).

Es una enfermedad altamente contagiosa, aguda y de alta mortalidad del conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) cuando se introduce por primera vez en una población susceptible (10).

Se diagnostica por primera vez en la República Popular China en 1984 (8), expandiéndose luego a Corea y otros países de Asia, reconociéndose posteriormente en Italia y otros planteles cunícolas del continente europeo (1988-1998). Del mismo modo, se detecta en diversos países africanos y Oceanía. Cabe señalar que es introducida por el hombre en

Australia y Nueva Zelanda con la finalidad de controlar los daños ocasionados por conejos silvestres (6,10).

Con respecto al continente americano, se evidencia en Cuba en varias oportunidades (la última en 2004), México (1988, 1990) y EUA en el año 2000 (5). En América del Sur hasta la presente comunicación es considerada una enfermedad exótica, no habiendo sido reportada por ningún país.

El presente trabajo tiene por finalidad comunicar la presencia de la EHC por primera vez en Uruguay (7).

MATERIALES Y MÉTODOS

Datos epidemiológicos

El caso índice se presentó en el Laboratorio de Diagnóstico el día 16/11/04 en horas de la mañana. En el mismo día se presentan otros tres casos clínicos similares de una zona aledaña a la primer consulta. Los casos llegados al laboratorio

provenían de criaderos familiares y en ninguna oportunidad procedían de establecimientos industriales.

El motivo de consulta fue la súbita mortandad de animales y la forma clínica sobreaguda o aguda que presentaban.

En la anamnesis no se encontró datos comunes a saber: alimentación, suplementación, tipos y formas de tratamiento médicos efectuados. Los casos clínicos provenían de dos zonas del Departamento de Montevideo (Paso de la Arena, Lezica) y posteriormente se extendieron a otros barrios del Departamento y al Departamento vecino (Canelones).

Síntomas/Signos

Los animales recibidos en el laboratorio, presentaban la forma clínica sobreaguda o aguda que se caracterizaba por anorexia, depresión del sensorio, astenia y conjuntivitis sero-mucosa (discreto corrimiento). Con respecto a los signos neurológicos se destacaban las convul-

¹ Departamento de Patobiología, DILAVE "M.C. Rubino" (MGAP), Ruta 8, km 17.500, 12100 - Montevideo, Uruguay. E-mail:meta@adinet.com.uy

² Unidad de Biotecnología Molecular; DILAVE "M.C. Rubino" (MGAP).

³ División de Sanidad Animal.(MGAP).

Recibido: 02/05/05

Aprobado: 08/06/05

siones repentinas, opistótonos, ataxia, ataxia, paresia y parálisis locomotriz. Relativo a los signos respiratorios se pudo observar disnea, epistaxis, conjuntamente con una cianosis de mucosas aparentes y en ocasiones, rectorragia al final del curso evolutivo de la enfermedad.

Asimismo, en casi todos los casos clínicos vistos, la muerte ocurría emitiendo los animales afectados un fuerte "chillido" terminal.

El período de incubación (P.I.) variaba entre 24 y 72 horas y la mayoría de los conejos adultos morían en 24-48 horas después del comienzo de los síntomas (período de presntencia).

En los focos iniciales no se afectaban gazapos ni ejemplares de menos de 2 meses de edad (se verificaron pocas excepciones a este comportamiento epidemiológico).

Anatomía patológica

Se efectuaron necropsias de conejos enviados al Departamento de Patobiología y los animales inoculados según técnicas clásicas.

Estudios histopatológicos

Para realizar los estudios histopatológicos se fijaron en formol bufferado al 10% muestras representativas de hígado, pulmón, timo, corazón, bazo y riñón. Luego las piezas fueron incluidas en parafina y cortadas a 3 micras de espesor. Todos los cortes fueron teñidos con la técnica de rutina de Hematoxilina y Eosina (H-E).

Por este método se estudiaron muestras provenientes de 10 animales de casos de campo y 2 animales en los que se había realizado la inoculación experimental.

Diagnóstico diferencial

En primera instancia se realizaron pruebas bacteriológicas para descartar Pasteurellosis, Enterotoxemia y Salmonelosis de forma clínica aguda (Departamento de Bacteriología).

Del mismo modo, se descartó Mixomatosis en su forma clásica clínicamente, teniendo en cuenta la presentación de los casos reportados en nuestro medio (1974-2004)(1) (Casuística de la DILAVE "M.C.Rubino").

Así también se realizaron estudios toxicológicos para descartar muertes súbitas debidas a Micotoxicosis (Sección Toxicología).

Reproducción experimental de la enfermedad

Animales: Se inocularon 2 conejos (macho y hembra) pertenecientes al plantel de la DILAVE con una edad de 8 meses y un peso superior a los 4 kg. Dichos animales fueron inspeccionados y manejados de acuerdo con los protocolos sanitarios de la Institución. Como testigos o controles sanos, se dejó una camada de 8 conejos de la misma edad y peso aproximados, mantenidos en las mismas condiciones ambientales.

Inóculo: Se efectuó un triturado al 10% de hígado y bazo de los animales con síntomas y recientemente muertos remitidos al laboratorio (No 4164 y 4172). Para la realización del inóculo se empleó un diluyente universal (PBS) más el agregado de antibióticos (Pen./Est.), dejándolos actuar por una hora a 4-8° C. Posteriormente la muestra fue centrifugada y procesada según técnica de referencia (10).

Vías y dosis: La dosis empleada fue de 1.0 ml dividida en 3 vías a saber: subcutánea (0.5 ml), instilación nasal (0.25 ml) y oral (agua de bebida, 0.25 ml).

Estudios virológicos - (DILAVE)

Técnica de Hemoaglutinación: Para identificación del agente se utilizó la técnica de hemoaglutinación (HA) de acuerdo a las recomendaciones de la OIE (Manual of Standards)(10).

Se utilizó sangre tipo O extraída con solución de Alsevers y lavada con 0.85% de PBS a pH 6.5. Los eritrocitos lavados fueron suspendidos al 0.8% en PBS para ser utilizados en la técnica. Diluciones crecientes de un homogeneizado al 10% de hígado de animales que presentaron la sintomatología descrita, fueron realizadas en microplacas de fondo en U, en duplicado en base 10. Las diluciones fueron enfrentadas con igual volumen de la suspensión de eritrocitos, y cada placa fue incubada a diferente temperatura, una a 4° C y otra a 25° C. El tiempo de incubación quedó determinado cuando la sedimentación de eritrocitos fue completa en el pocillo control.

Estudios virológicos - (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna Brescia- Italia)

Muestras: Se enviaron 4 muestras de hígado y bazo y 6 sueros para diagnóstico, pertenecientes a 2 criaderos afectados por la presunta EHC.

a) Detección de antígeno viral - Con los materiales sólidos se emplearon la técnica de ELISA sandwich (estándar) específica para el virus de EHC en primera instancia, y un posterior ELISA sandwich con un panel de 14 Anticuerpos monoclonales (Acm). (5,10).

b) Detección de anticuepos - Con los 6 sueros enviados, se realizaron la técnica de ELISA de competición (estándar) para la detección de Ig antiviral de la EHC (10) y un ELISA indirecto para poner de manifiesto la presencia de cada clase de Ig -IgG, IgM e IgA (5).

RESULTADOS

Macroscopía

En el estudio macroscópico se destacaron las lesiones a nivel hepático (hepatomegalia, coloración ocre y/o pálida del órgano y un aspecto reticulado en nuez moscada) (Fig. 1). Se observaron petequias y equimosis en el timo, tráquea, miocardio, riñón y pulmón (Fig 2). El timo además presentaba severa hipertrofia. Se observó una esplenomegalia marcada y coloración oscura del órgano.

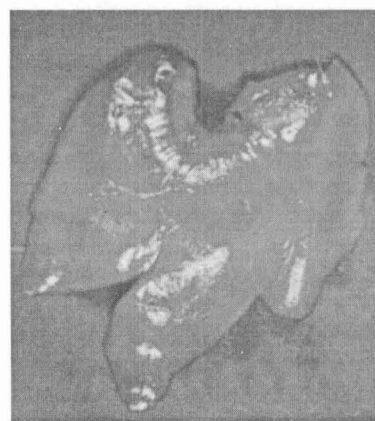


Figura 1. Hígado: se observa una hepatomegalia y cambio de coloración (ocre) con aspecto reticulado.

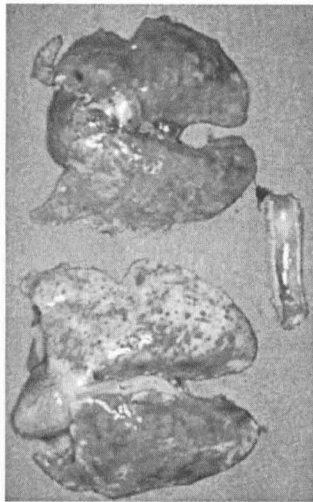


Figura 2. Pulmón y tráquea: En ambos pulmones y en la tráquea se observan petequias y hemorragias difusas.

Histopatología

Al estudio histopatológico se observó en pulmón edema y congestión alveolar, proliferación del epitelio bronquial e hiperplasia de la capa media de arteriolas. A nivel hepático se destacó severa necrosis hepatocítica con distribución difusa (Fig 3), proliferación canalicular y moderada infiltración centroacinar. En las muestras de bazo se observaron necrosis focal y depleción linfocitaria. El riñón presentó en algunos animales necrosis y degeneración hialina de glomérulos y túbulos.

En el Cuadro 1 se esquematiza la frecuencia de las citadas lesiones en los casos de estudiados.

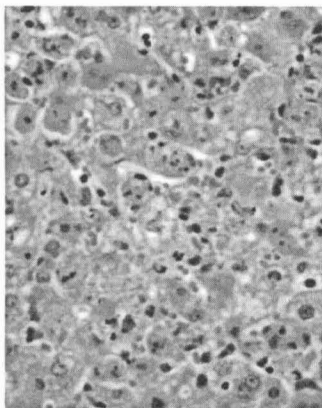


Figura 3. Histopatología de Hígado: Hepatitis caracterizada por necrosis hepatocítica difusa.

Cuadro 1. Frecuencia de lesiones observadas por órgano estudiados según n° de ficha.

Ficha	Hígado	Pulmón	Riñón	Bazo	Timo
4164- A	X	X	X		X
4164- B	X	X	X	X	X
4172 -A	X	X		X	
4172- B	X	X			
4184	X	X		X	
4185	X	X		X	
4310- A	X	X		X	
4310- B	X	X			
4310- C	X	X			
4584	X				
4430 Exp A	X	X	X		
4430 Exp B	X	X	X	X	

*Exp = Inoculación experimental.

En base a los estudios efectuados en el Departamento de Bacteriología de la DILAVE se descartaron patologías causadas por bacterias de género *Pasterurella* y *Salmonella*.

El estudio Toxicológico de las raciones fue negativo a la presencia de Micotoxinas.

Reproducción experimental de la enfermedad

Los conejos inoculados murieron en un lapso de 18-20 horas PI presentando epistaxis, astasia, ataxia y convulsiones repentinas.

Con respecto a la anatomía patológica macroscópica e histopatología, se evidenciaron las mismas lesiones que en los animales de campo ya descritas.

Estudios virológicos – DILAVE

Técnica de Hemoaglutinación : En la placa incubada a 4° C se observó el punto final (dilución mayor en la que se observa la HA) en 10⁻⁴, mientras que en la incubada a temperatura ambiente fue de 10⁻³. De acuerdo a estándares internacionales (10) se consideran positivos aquellos títulos mayores a 1/160. Los resultados positivos deberían ser confirmados por otras técnicas como ELISA o microscopía electrónica.

Estudios virológicos - (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna Brescia- Italia). (Figura 4).

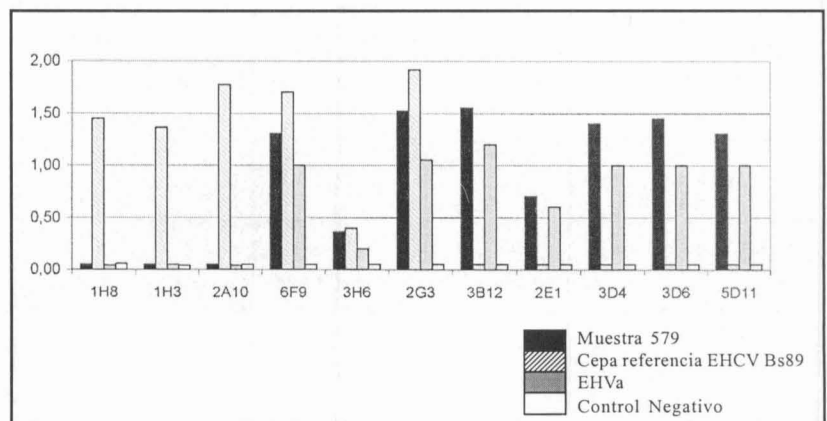


Figura 4. Resultados de la prueba de ELISA sandwich con el panel de anticuerpos monoclonales (Mabs) producidos contra el virus de EHC (RHDV Bs89) y virus variante (RHDVa).

Los sueros son considerados positivos para el ELISA estándar cuando poseen un título $\geq 1/10$.

Para los otros ELISAs, son considerados positivos cuando el título es $\geq 1/40$. (Cuadro 2).

DISCUSIÓN

En Uruguay dentro de las enfermedades de notificación obligatoria a la OIE, solamente hasta el 2004, se reportaba la Mixomatosis con aparición muy esporádica (1), si bien ya en 1992, se manifestaba el alerta sanitario de dos afecciones en lepóridos en otras latitudes, incluida la EHC (2).

Los resultados obtenidos a partir de los animales estudiados confirman la presencia del virus de la Enfermedad Hemorrágica del Conejo. Las muestras de hígado estudiadas por la prueba de ELISA y enfrentadas a un panel de anticuerpos confirman la presencia de la variante denominada RHDVa, siendo diferente a la cepa clásica de RHDV (RHDVBs89). La cepa variante RHDVa fue aislada por primera vez en Europa en 1997 (4,5,11) y ha remplazado a la cepa original en algunas regiones de Italia. Este subtipo fue aislado también en Estados Unidos en el año 2000 (5).

Los resultados obtenidos por el análisis serológico confirman la presencia de anticuerpos específicos en todas las muestras enviadas al Laboratorio de referencia. Los títulos de anticuerpos IgM y IgA deben ser considerados indicativos, porque también dependen por razones técnicas de la concentración total de IgM y IgA en cada suero que es desconocida. La presencia de IgM indica que los cone-

Cuadro 2. Resultados de los sueros procesados según técnica de ELISA utilizada.

	Nº1	Nº2	Nº3	Nº4	Nº 11	Nº 22
Standard ELISA	1/160	1/160	1/160	1/320	1/80	1/640
IgG ELISA	>1/40960	>1/40960	>1/40960	>1/40960	>1/40960	>1/40960
IgM ELISA*	1/640	1/40	1/2560	1/2560	1/640	1/2560
IgA ELISA*	1/640	1/160	1/640	1/640	1/640	1/640

jos estuvieron en contacto con el virus no más de uno a dos meses antes de la toma de muestras. La presencia de IgA en los sueros sugiere que la respuesta inmunológica específica se origina por una infección y no por una vacunación (5).

Hasta la fecha, no se ha podido determinar cual fue el origen de esta enfermedad. En base a lo acontecido en otros países, a la bibliografía consultada y las características de nuestro territorio nacional, existirían varias hipótesis para considerar: introducción de ejemplares vivos o embriones en forma ilícita provenientes de países que han sido afectados por la EHC, ingreso en la cadena alimentaria de los establecimientos cunícolas, a través de alimentos contaminados provenientes del exterior, visita a los criaderos de personas que estuvieron en contacto con animales infectados o fomites contaminados, importación de productos o subproductos de zonas endémicas (cueros, pelo, carne), exaltación de la virulencia de cepas "hipovirulentas" en la región.(9).

CONCLUSIÓN

Se confirma la presencia de la EHC en Uruguay en base a datos epidemiológicos, clínicos, patológicos, diagnóstico de laboratorio y reproducción experimental con la cepa aislada.

De los análisis virológicos efectuados se concluye además, que la cepa actuante pertenece a un subtipo variante (RHDVa)(5).

Se ha demostrado la capacidad de la DILAVE "M.C. Rubino" para realizar un diagnóstico primario de EHC tanto desde el punto de vista clínico, histopatológico y virológico.

Agradecimientos

Al Dr. Lorenzo Capucci del Centro de Referencia de la OIE para la EHC (IZSLER - Brescia, Italia) por los estudios virológicos y serológicos efectuados, sin los cuales no se hubiera llegado a un diagnóstico etiológico.

Al Director de la DILAVE, Dr. Victor Lyford-Pike por su apoyo y colaboración para el envío de los materiales al exterior.

A la Sra. Daisy Piñeiro por el procesamiento de los cortes histopatológicos.

Referencias Bibliográficas

1. Capano, F.; Repiso, M.V. (1992). La mixomatosis en el Uruguay: su diagnóstico predial y de laboratorio. 5º Congreso Nacional de Veterinaria. Montevideo, 11-13/11/92 (Uruguay).
2. Capano, F.; Repiso, M.V. (1992). Exportación de lepóridos: Alerta sanitaria y posibles dificultades en el diagnóstico ante la presencia de nuevas enfermedades. 5º Congreso

Nacional de Veterinaria. Montevideo, 11-13/11/92 (Uruguay).

3. Capucci, L.; Nardin, A.; Lavazza, A. (1997). Seroconversion in an industrial unit of rabbits infected with a non-pathogenic rabbit Haemorrhagic disease-like virus. Vet. Rec. June 21, 140 (25): 647-650.
4. Capucci, L.; Fallacara, F.; Grazioli, S.; Lavazza, A.; Pacciarini,

M.L.; Brocchi, E. (1998). A further step in the evolution of rabbit hemorrhagic disease virus: the appearance of the first consistent antigenic variant. Virus Res., Nov., 58 (1-2): 115-126. Vet. Rec. June 21, 140 (25): 647-650.

5. Capucci, L. Informes del Centro de Referencia para la EHC (RHD OIE Reference Laboratory. Comunicación personal

-
6. **Cooke, B.D.; Robinson, A.J.; Merchant, J.C.; Nardin, A.; Capucci, L.** (2000). Use of ELISA in field studies of rabbit haemorrhagic disease (RHD) in Australia. *Epidemiol. Infect.* June, 124 (3) : 563-576.
 7. **Enfermedad Hemorrágica Viral del Conejo.** (2004). Cartilla de Divulgación. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.- DGSD – DSA.
 8. **Liu, S.J.; Xue, H.P.; Pu, B.Q. & Quian, N.H.** (1984). A new viral disease in rabbits. *Anim. Hub. Vet. Med.* 16: 253-255.
 9. **Lucidi, Pia.** (1990-91). La malattia emorragica virale dei leporidi. Tesi di laurea. Università degli Studi di Bologna.
 10. **OIE Manual** (2000). Chapter 2.8.3. Rabbit Haemorrhagic Disease. Paris, Office International des Epizooties, pp. 762-776.
 11. **Schirmaier, H.; Reimann, I.; Kollner, B. & Granzow, H.** (1999). Pathogenic, antigenic and molecular properties of Rabbit Hemorrhage Disease Virus (RHDV) isolated from vaccinated rabbits: detection and characterization of antigenic variants. *Arch. Virol.* 144 (4) : 719-735.



Biopsia hepática en ovinos. Modificación a la técnica de aspiración por aguja

Cruz, J.C.¹; Cal Pereyra, L.²; Abreu, M.N.²; Benech, A.³; Borteiro, C.³; Rodas, E.³

RESUMEN

La biopsia hepática constituye una valiosa herramienta en la búsqueda del diagnóstico al aportar información sobre la estructura y la composición bromatológica del órgano.

En este trabajo se presenta una modificación a la técnica de punción por aguja en ovejas. Las muestras fueron obtenidas de 20 ovejas adultas, a las que se les practicaron biopsias hepáticas los días 70, 100, 130 y 140 de gestación y 60 días posparto. Piel y planos musculares fueron abordados con una aguja de punción ruminal para ovinos de 74 mm de largo por 3 mm de diámetro. Para extraer las muestras de tejido hepático se utilizó una cánula de 160 mm de largo por 1.8 mm de diámetro, insertada a través de la primera. El tamaño y peso de las muestras, y el número de acinos observados por biopsia estuvieron dentro de los estándares óptimos para un buen diagnóstico en hepatología. La técnica descrita en este trabajo demostró ser económica, segura, eficaz, sencilla, rápida y apta para ser usada en condiciones de campo.

Palabras clave: biopsia, hígado, ovejas.

SUMMARY

Liver biopsy is a valuable tool in clinical diagnosis as it can give information about structure and composition of liver tissue. In this work a modification of the liver puncture biopsy is presented. Samples were obtained from adult sheep (n=20) at days 70, 100, 130 y 140 of gestation and 60 days after parturition. A 74 mm needle of 3 mm diameter used for sheep ruminal puncture was inserted in the skin and over the abdominal wall. Tissue samples were taken with another needle of 160 mm length and 1,8 mm diameter passing through the first one. Size, weight, and number of acinus observed on each sample ranged between required standards for hepatologic diagnosis. The described technique proved to be a safe, precise, practical and a low costing method to be used under field conditions.

Key words: biopsy, liver, ewes.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han verificado avances significativos en hepatología, considerando a la biopsia hepática, una valiosa herramienta en la búsqueda del diagnóstico (12).

El hígado juega un rol principal como indicador del estado nutricional y metabólico de los animales; su estudio adquiere jerarquía además por ser este órgano el asiento de numerosas patologías.

La biopsia hepática tiene una importante aplicación clínica, al aportar información sobre la estructura microscópica y sobre la composición bromatológica del órgano (1). A partir de muestras de biopsia hepática puede obtenerse información sobre la composición química de la dieta, la concentración de minerales en el hígado y la actividad de enzimas. Por otra parte, alteraciones tales como la esteatosis hepática, que reflejan un desbalance entre la síntesis y la exportación de

lípidos desde este órgano, pueden ser estudiadas mediante esta técnica (4).

Las biopsias hepáticas seriadas permiten realizar seguimientos en las intoxicaciones experimentales, obteniéndose información adicional acerca de la hepatopatía (7).

Se han usado diferentes tipos de agujas de biopsia para la obtención de muestras de tejido hepático, utilizando para ello la vía percutánea transtorácica (2,8). Las más empleadas por su practicidad y por ofrecer menor riesgo, son la aguja tipo Tru-Cut[®], de naturaleza cortante, y la tipo Menghini[®], de aspiración (12). La primera ha sido más usada en medicina veterinaria, mientras que la última se ha empleado ampliamente en pacientes humanos (8).

El examen citológico de tejido hepático obtenido mediante biopsia por aspiración con aguja está siendo usado con creciente frecuencia en animales de compañía (11).

En Uruguay no se han descrito procedimientos de técnicas de biopsia hepática en animales de producción. Es necesario desarrollar técnicas precisas, aplicables en condiciones de campo en nuestro país.

El presente trabajo se lleva a cabo para describir y evaluar una modificación de la técnica de biopsia hepática por aspiración con aguja en ovejas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El protocolo de investigación se llevó a cabo en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria (Libertad, Departamento de San José) durante los años 2003 y 2004.

Animales

Se utilizaron 20 ovejas adultas gestantes, de entre 4 y 6 años, de raza Corriedale, a las que se les practicó biopsias hepáticas los días 70, 100, 130 y 140 de gestación y 60 días posparto.

¹ Dpto. de Patología, Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo, Uruguay. A. Las Placas 1550, C.P. 11600, E-mail: jucacru@hotmail.com.uy

² Dpto. de Patología, Facultad de Veterinaria, UdelAR, Montevideo, Uruguay.

³ Dpto. de Fisiología, Facultad de Veterinaria, UdelAR, Montevideo, Uruguay.

Recibido: 25/07/05

Aprobado: 08/08/05

Materiales de biopsia

Para extraer las muestras de tejido hepático, se utilizó una cánula de 160 mm de largo por 1.8 mm de diámetro, con un extremo en bisel de 45°; presentando en el otro extremo una abocadura para jeringa.

Para realizar la aspiración se empleó una jeringa plástica de 30 cc con émbolo de goma.

La piel y planos musculares fueron abordados con una aguja de punción ruminal para ovinos de 74 mm de largo por 3 mm de diámetro (Figura 1).

La anestesia local fue realizada mediante la aplicación de 5 cc de lidocaína al 2% (Lab. Ion).

La antisepsia de piel fue realizada con una solución de Yodo-povidona al 10% (Lab. Biogénesis).

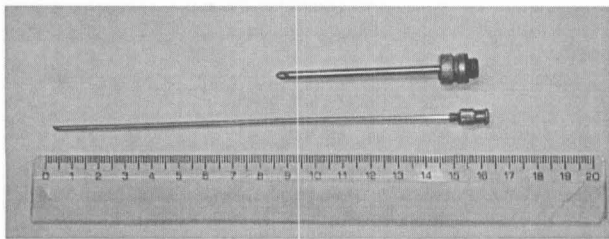


Figura 1. Cánula de extracción de tejido hepático y aguja de punción ruminal para ovinos.

Técnica de biopsia

Con el animal en estación e inmovilizado físicamente, se esquiló una zona de 15 x 15 cm, en el flanco derecho, delimitada dorsalmente por las apófisis espinosas vertebrales y caudalmente por la última costilla.

De acuerdo a Ferreira *et al.*, 1996, se delimitó el punto de penetración entre la décima y undécima costilla (décimo espacio intercostal), a nueve centímetros de las apófisis espinosas vertebrales.

Previo a la punción se desinfectó y anestesió la zona, obteniendo de este modo la insensibilidad y relajación de los músculos intercostales.

Aguja y cánulas fueron sumergidas antes de su uso en solución yodada. En el punto de penetración descrito, con la

aguja de punción ruminal en posición vertical y de un golpe se atravesó piel, músculos, cavidad torácica y diafragma, llegando a la cavidad abdominal sobre la superficie diafragmática del lóbulo derecho hepático. A través de la aguja de punción ruminal se deslizó la cánula acoplada a una jeringa conteniendo 5 cc de solución salina fisiológica. Una vez contactada la superficie hepática y desplazando el émbolo para realizar succión, se puncionó el hígado y luego se deslizó hacia atrás el conjunto de cánula y jeringa conteniendo la muestra. Todo el procedimiento se realizó con dos operadores, insumiendo aproximadamente 15 minutos por animal.

Por último se retiró la aguja de punción ruminal. Las muestras se conservaron en una solución de formalina al 10%, luego se midieron con calibre y fueron pesadas en una balanza electrónica (Precisa[®] 120 A) con una precisión de 0,1 mg. Luego del

procesamiento de rutina se colorearon con hematoxilina-cosina, y se observaron a 10 y 400 aumentos en microscopio óptico (Olimpus[®] BH2).

Los datos presentados en la forma $A \pm B$ corresponden a media \pm DS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sobre un total de 200 procedimientos de biopsia hepática realizados a 20 ovejas en diferentes etapas de la gestación en el lapso de 2 años, no se registró ninguna muerte, ni alteraciones en la gestación, retomando la alimentación inmediatamente después de liberadas. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Ferreira *et al.* (3), aunque éstos realizaron el trabajo con aguja Tru-Cut[®] y en ovejas vacías. En cam-

bio Donald *et al.* (2) reportaron un 2% de muertes atribuidas al procedimiento de biopsia.

Si bien el punto de penetración coincidió con el descrito por otros investigadores (2, 3, 7,10) quienes esquilieron, rasuraron, e incidieron la piel con bisturí, la modificación técnica descrita en este trabajo permitió no rasurar ni incidir la piel de los animales, ya que se utilizó la combinación de una aguja exterior, una cánula cortante y el sistema de aspiración con jeringa. La cánula se dirigió directamente al hígado sin contactar otros tejidos, minimizando las posibilidades de obstrucción y contaminación. Este procedimiento resultó ser más rápido, sin riesgo de infecciones y/o miasis, y no requirió tratamientos posteriores del punto de punción, a diferencia de lo reportado por Donald *et al.* (2) quienes debieron realizar antibioticoterapia.

El examen histológico del material extraído mediante esta técnica de punción reveló únicamente la presencia de tejido hepático en la totalidad de las muestras. Las muestras obtenidas fueron cilindros que midieron $22,2 \pm 13,2$ mm de largo (Figura 2). Estas medidas fueron superiores a las obtenidas por Tostes y Bandarra (12), quienes extrajeron muestras de 9,1 mm de promedio con aguja tipo Menghini[®], y de 11,6 mm con la tipo Tru-Cut[®].

En cuanto al peso, los especímenes por nosotros obtenidos mediante una única punción por animal, pesaron $14,9 \pm 10,5$ mg. Ferreira *et al.* (3), obtuvieron muestras de tejido hepático de 22 mg con agu-

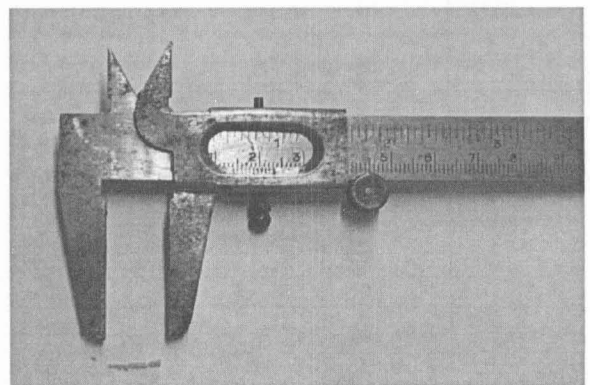


Figura 2. Muestra del tejido hepático extraído por punción biopsica.

ja tipo Tru-Cut[®] aunque con tres punciones consecutivas en un mismo animal. El número de acinos hepáticos por biopsia fue de $6,8 \pm 2,2$ unidades. Tostes y Bandarra (12) reportaron un promedio de 10,9 unidades de acinos por biopsia con aguja tipo Menghini[®] y de 11,5 unidades con aguja tipo Tru-Cut[®].

Se ha demostrado que los aspectos cuantitativos de las muestras determinan la exactitud del diagnóstico histológico (6,12). Gayotto y Alves (5) propusieron que la muestra ideal extraída con aguja debe medir entre 10 y 40 mm y debe contener un mínimo de 4 acinos por biop-

sia. Sherlock (9) describió la muestra satisfactoria como de 10 a 40 mm de longitud y 10 a 50 mg de peso.

CONCLUSIONES

La técnica descrita en este trabajo demostró ser segura, eficaz, sencilla, rápida y apta para ser usada en condiciones de campo. Es además económica, ya que los materiales tienen bajo costo, son reutilizables y fáciles de obtener en el mercado nacional.

El tamaño y peso de las muestras, y el número de acinos observados por biopsia, obtenidos mediante esta técnica es-

tán dentro de los estándares óptimos para un buen diagnóstico en hepatología.

Agradecimientos

Este trabajo fue posible gracias a la invaluable colaboración del Dr. Bruno López, Director del Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria, así como del Sr. Gustavo Cazard, funcionario del establecimiento. Agradecemos asimismo a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), UDELAR, por su apoyo en la financiación del trabajo.

Referencias Bibliográficas

- 1) Amorim, R.M.; Secorum, A.; Graf, M.; Kiomi, R.; Alemcar, N. (2003). Bioquímica sérica e hemograma de bovinos antes e após a técnica de biópsia hepática. *Ciência rural* 33, 3:519-523.
- 2) Donald, G. E.; Paull, D. R.; Langlands, J. (1984). Liver biopsy as a technique for assesing cooper status of sheep. *Australian Veterinary Journal*, 61:121-123.
- 3) Ferreira, A.V.; Van der Merwe, H.; Slipper, S. (1996). A technique for obtaining liver biopsies from mature sheep. *Small Ruminant Research*, 22:89-92.
- 4) Goodman, Z. D. (2002). Introduction to hepatic histopathology. *Hepatology* 2002. The Interpretation of Liver Biopsies. 23^o Annual Course. Bethesda, Maryland, USA. pp:1-12.
- 5) Gayotto, L.; Alves, V. (1995). Marcadores histopatológicos de doenças hepáticas. *In: MATTOS, A., Compêndio de hepatologia*, São Paulo: Fundo Editorial BYK:57-76.
- 6) Gayotto, L.; Gowdak, L.; Torezan, L. (1989). Needle liver biopsy: relationship between sampling and degree of conclusiveness of the histopathological diagnoses. *Gastroenterol. Endosc. Dig.* 8:83-85.
- 7) Harvey, R.; Lovering, S.; Murl, E.; Norman, J. (1984). The influence of multiple liver biopsies on hematologic and serum biochemical values of sheep. *Cornell Vet.* 74:321-330.
- 8) Jones, B. D.; Hitt, M.; Hurst, T. (1985). Hepatic biopsy. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Clin.* 15:39-66.
- 9) Sherlock, S. (1989). Needle biopsy of the liver. *In: Diseases of the liver and biliary system*, Oxford: Blackwell Scientific:26-34.
- 10) Scherer, P.; Pile, E.; Da Serra, N.; Schaffer, G. (2000). Modificação da técnica de punção-biopsia hepática para pequenos ruminantes. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 7:1, 55-57.
- 11) Stockhaus, C.; Van Der Ing, T.; Rothuizen, J.; Teske, E. (2004). A multistep approach in the cytologic evaluation of liver biopsy samples of dogs with hepatic diseases. *Veterinary Pathology*, 41: 461-470.
- 12) Tostes, R.A.; Bandarra, E. P. (2002). Biopsia hepática em cães: relação entre qualidade da amostra e grau de conclusão do diagnóstico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54 (5): 1-8.

Identificación en Uruguay de metacercarias de *Ascocotyle (Phagicola) longa* DIGENEA: HETEROPHYIDAE parasitando lisas, *Mugil platanus* PISCES: MUGILIDAE y evaluación del riesgo de zoonosis y afecciones en mascotas

Carnevia, D¹., Castro, O²., Perretta¹, A., y Venzal, J.M².

RESUMEN

La lisa (*Mugil platanus*) es un pez comercializado en Uruguay para consumo humano y está siendo estudiado también para su cultivo. En trabajos anteriores se detectaron metacercarias de trematodos de la familia Heterophyidae afectando estos peces. El objetivo del presente trabajo es identificar la especie de trematode y estudiar el porcentaje de peces infectados. Los alevinos y juveniles de lisa se capturaron en costas del Río de la Plata, mientras que los adultos fueron adquiridos en puestos de venta de pescado. Se examinaron órganos internos (corazón, bazo, hígado e intestino) y músculo, observándose las metacercarias en fresco al microscopio. La identificación del parásito se realizó por infestación experimental de ratones de laboratorio y posterior estudio del trematode adulto. Fue identificada la especie de parásito como *Ascocotyle (Phagicola) longa* Ransom, 1920. El porcentaje de infestación de alevinos fue de 10,3 %, el de juveniles de 100 % y el de adultos de 94,7 %. Los autores quieren alertar que: a) el trematode adulto puede producir gastroenteritis en perros; y b) se ha encontrado a estos parásitos provocando gastroenteritis en seres humanos que consumieron pescado crudo en Brasil.

Palabras clave: Lisa - *Ascocotyle longa* - Parasitosis- zoonosis.

SUMMARY

The mullet (*Mugil platanus*) is a fish commercialized in Uruguay for human consumption and is being also studied for aquaculture. In previous works metacercariae of the family Heterophyidae were detected in a great number of fishes. The objective of the present work is to identify the species of trematode and the occurrence of infection in mullet for Uruguay. The alevins and young fishes were captured in coast of the Rio de la Plata, whereas the adults were acquired in fish market. Internal organs (heart, spleen, liver and intestine) and muscle were examined, being observed the metacercariae in fresh with the microscope. The identification of the parasite was made for experimental infection of mice and later study of trematode adult. The parasite is *Ascocotyle (Phagicola) longa* Ransom, 1920. The percentage of infection of alevins was 10,27 %, the one of young fishes was 100 % and the one of adults was 94,73 %. The authors wants alert that: a) this parasite affects dogs producing gastrointestinal helminthiasis; and, b) cases in human beings, that have consumed crude fish, have been diagnosed in Brazil.

Key words: Mullet, *Ascocotyle longa*, Parasites, Zoonosis.

INTRODUCCIÓN

La pesca y la acuicultura (de desarrollo incipiente en Uruguay) son dos fuentes de pescado para consumo humano. Una de las especies de peces capturadas y comercializadas en nuestro país, que además está siendo objeto de investigaciones tendientes a su cultivo, es la lisa (*Mugil platanus* Günther, 1880). La distribución de la especie en Uruguay abarca toda la costa del Océano Atlántico y del Río de la Plata, penetrando asimismo en la mayoría de los ambientes estuarinos. Es capturada tanto por la pesca industrial costera, como por los pescadores artesanales y los pescadores deportivos. Como parte de un proyecto

de evaluación de la lisa como especie para cultivo en Uruguay, se realizaron estudios para conocer la parasitofauna de los juveniles de lisa capturados en las costas, a partir de los cuales se publicaron varios trabajos sobre identificación de diversos parásitos (1, 2) y su variación estacional (3). En estos trabajos se cita la presencia de metacercarias de heterófitos, incluyendo la sospecha de que pertenezcan al género *Ascocotyle (Phagicola)*.

Los digeneos de la familia Heterophyidae presentan un ciclo biológico indirecto en el que oficia como primer hospedador intermediario un molusco, el segundo hospedador intermediario por lo ge-

neral es un pez, y como hospedador definitivo actúa un mamífero o un ave, principalmente piscívoros. En Uruguay fue identificada la especie *Ascocotyle (Phagicola) longa* (Ransom, 1920) como adultos en intestino de lobos marinos de las especies *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens* (4). Existen además trabajos que identifican como el primer huésped intermediario en nuestro país a un pequeño molusco de la familia Cochliopidae: *Heleobia australis*, habitante natural de las costas estuarinas del Río de la Plata (5). *Ascocotyle (Phagicola) longa* tiene amplia distribución mundial, abarcando costas del Mediterráneo, Atlántico norte, Atlántico sur y Pacífico

¹ Dpto. Acuicultura y Patología de Organismos Acuáticos, Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria, Tomás Basañez 1160, Montevideo, 11300 Uruguay. E-mail: carnevia@pes.fvet.edu.uy

² Dpto. Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Veterinaria, Uruguay.

Recibido: 25/07/05

Aprobado: 08/08/05

sur. En América del Sur fue hallado parasitando mugílidos de Venezuela, Perú y Brasil, afectando a las especies *M. cephalus*, *M. liza*, *M. trichodon* y *M. platanus* (6, 7). Desde el punto de vista veterinario *A. (P.) longa* fue diagnosticada parasitando perros en Estados Unidos y en Chile (8, 9), así como en Brasil (10, 11) y en Perú (12) solo que en estos dos últimos países está citada como *Phagicola arnaldoi*, posible sinónimo de *A. (P.) longa*. A su vez desde el punto de vista de salud pública, en Brasil se ha identificado esta especie parasitando personas en el estado de Sao Paulo (7, 13).

El objetivo del presente trabajo es identificar las metacercarias de heterófitos presentes en lisas (*M. platanus*) procedentes de Uruguay, así como también realizar un estudio primario sobre la prevalencia de la infección en las distintas categorías de este pez. A su vez se alerta a los profesionales relacionados y a la población en general sobre la posible ocurrencia de infecciones en carnívoros domésticos y el riesgo de zoonosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Primeramente se identificó la especie de heterófito que se encontraba en forma de metacercaria en las lisas de Uruguay, para luego determinar la prevalencia de la infección en ejemplares juveniles (objeto de semilla para acuicultura) y en ejemplares adultos (comercializados para consumo).

Los alevinos y juveniles fueron capturados en costas del Río de la Plata (correspondientes a los departamentos de Maldonado, Canelones y Montevideo), mediante redes de arrastre o calderines y transportados inmediatamente al laboratorio. Algunos peces se examinaron enseguida de su arribo, mientras que otros fueron mantenidos en acuarios durante 2 a 7 días antes de ser examinados.

Los peces adultos fueron obtenidos de puestos de venta al público en los departamentos de Maldonado y Montevideo, examinándose siempre a la llegada al laboratorio. El período transcurrido entre la captura de los ejemplares adultos y el momento de la adquisición, se estimó de entre 2 a 5 días; tiempo durante el cual se mantuvieron refrigerados en los locales comerciales.

En ambos casos se procedió a realizar una necropsia de los peces, y observación de aplastados de órganos en fresco al microscopio (Figura 1). Los órganos observados fueron: corazón, bazo, hígado, intestino y músculo. Se contabilizaron las metacercarias totales encontradas en los órganos de juveniles y en muestras de 2 a 5 g de cada órgano en el caso de los peces adultos.

Para identificar la especie de heterófito se realizó la infestación experimental de ratones de laboratorio según lo recomendado por Armas de Conroy (6). Se administró mediante sonda gástrica a cuatro ratones, trozos de vísceras de lisas parasitadas (bazo, hígado y corazón) conteniendo entre 10 y 20 metacercarias. Los ratones fueron sacrificados entre 4 a 7 días post infestación y la totalidad de su contenido gastrointestinal fue cuidadosamente examinada bajo lupa binocular. Para la identificación de los tremátodos adultos se utilizaron los trabajos de Armas de Conroy (6), Manfredi y Oneto (9) y Scholz (14).

RESULTADOS

Se colectaron 252 ejemplares correspondientes a las categorías de alevinos y juveniles, entre los años 2003 y 2005. Estos ejemplares variaron en tamaño entre 23 a 360 mm de largo total. Para el presente trabajo se separaron arbitrariamente los 185 ejemplares de hasta 40 mm de largo (considerados alevinos) y los 67 ejemplares de 41 a 360 mm (considerados juveniles).

Los ejemplares adultos adquiridos en locales comerciales (entre los años 2004 y 2005) sumaron un total de 19 y presentaron un tamaño promedio de 493 mm., variando de 430 a 580 mm.

En dos de los ratones infestados experimentalmente se recuperaron a los 4 y 5 días p.i. dos tremátodos adultos ovígeros pertenecientes a la familia Heterophyidae (uno en cada caso). Las dimensiones y características morfológicas (es-

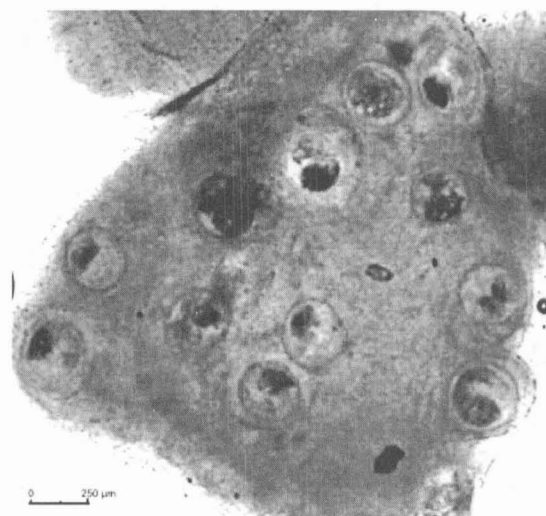


Figura 1. Importante infestación con metacercarias de *Ascocotyle (Phagicola) longa* en corazón de juvenil de lisa (*Mugil platanus*) observado al microscopio óptico mediante aplastamiento del órgano fresco (40x).

pecialmente la presentación de una corona de 16 ganchos y un gonotilo bipartito) fueron características de *Ascocotyle (Phagicola) longa* Ransom, 1920 y coincidieron con los ejemplares previamente recuperados de pinnípedos (4).

La prevalencia de infección por metacercarias de *Ascocotyle (P.) longa* encontrada en alevinos fue de 10,3 % de lisas parasitadas, mientras que en juveniles fue de 100%. La forma de los quistes metacercariales es esferoide midiendo 250 x 230 μm . en promedio (Figura 2).

La prevalencia de infección de ejemplares adultos fue de 94,7 % de lisas parasitadas. En todos los ejemplares examinados las metacercarias estaban vivas (presentaron movimientos a la observación en fresco bajo microscopio), aún cuando muchos órganos internos que las contenían (hígado, intestino) estaban en avanzado estado de autólisis.

DISCUSIÓN

Según Sadowski y Ruy de Almeidas (15) las lisas luego del período larvario que ocurre en alta mar, alcanzan las costas como alevinos de un tamaño de unos 20 mm y recorren la línea de costa buscando ecosistemas estuarinos donde alimentarse y crecer hasta juveniles y preadultos. Algunos caracoles que actúan



Figura 2. Metacercaria de *Ascocotyle (Phagicola) longa* observada al microscopio óptico mediante aplastado de órgano en fresco, obsérvese la típica corona de 16 ganchos (100x).

como primer huésped intermediario en el ciclo biológico de digeneos parásitos de peces viven en estos ecosistemas estuarinos. Luego de una permanencia en aguas estuarinas las lisas serían infestadas con cercarias procedentes de dichos caracoles, siendo la posibilidad y nivel de infestación mayores cuanto más edad tengan los peces. Estos autores aconsejan por tanto utilizar para acuicultura alevinos de menos de 40 mm ya que luego de este tamaño, la permanencia en ecosistemas estuarinos favorece la infección con metacercarias de *A. (P.) longa*. Estas observaciones coinciden con las de Colla (16), quien estudiando la infestación con *A. (P.) longa* en lisas de Venezuela (*M. curema*) halló metacercarias en ejemplares a partir de los 50 mm de largo.

El presente hallazgo de 10,3 % de prevalencia en alevinos, 100 % de prevalencia en juveniles y 94,7 % de prevalencia en adultos, para las costas uruguayas se encuentra por tanto, de acuerdo con lo encontrado en otras partes del mundo.

Conroy *et al.* (17) encontraron en lisas de 23 a 40 mm capturadas en las costas de Sao Paulo (Brasil), una prevalencia de 15,0 %. Por su parte Ruy de Almeida y Woiciechowski (7) analizando una muestra de 102 juveniles de lisas de 24 a 40 mm. en Cananeia (Sao Paulo, Brasil) encontraron una prevalencia de 0,0 %;

mientras que al examinar 23 peces de 100 a 130 mm en las misma costa encontraron una prevalencia de 65,0 % de ejemplares parasitados. Armas de Conroy (6) encontró prevalencias de 72,0 % en las lisas de Perú y 100 % de las lisas de Venezuela y Brasil estudiadas, las que incluyeron alevinos, juveniles y adultos.

Al examinar peces subadultos y adultos (de más de 200 mm.) se encuentran prevalencias de 100 % en Sao Paulo (7). Por su parte da Conceição *et al.* (18) estudiando filetes de lisas a la venta en el mercado

de Belem (Pará, Brasil) los que correspondían a ejemplares adultos, encontraron una prevalencia de infestación de 86,6 %. Hutton & Sogandares (19) encontraron un alto nivel de infestación en lisas (*M. cephalus* y *M. curema*) de costas de Florida (U. S. A.) que alcanzó al 92,5 %. Saraiva (20) examinando lisas entre 150 y 300 mm. en las costas de Venezuela encontró un 100 % de infestación por *A. (P.) longa*.

Al parecer estos trematodos tienen pocos moluscos que puedan actuar como primer hospedero intermediario y pocos peces que puedan actuar como segundo hospedero intermediario, pero sin em-

bargo el espectro de posibles hospederos definitivos es alto.

En nuestro país se identificó al caracol *Heleobia australis* (Mollusca, Cochliopidae), habitante de los ecosistemas estuarinos del Atlántico Sur (Brasil, Uruguay y Argentina) como primer hospedero intermediario (5). Si bien en Uruguay solamente se identificó a la lisa *Mugil platanus* como segundo hospedero intermediario, trabajos de otros investigadores citan como posibles intermediarios a otros mugílidos (*M. cephalus*, *M. curema*, *M. liza* y *M. trichodon*) así como otros peces (*Tilapia zilli*, *Oreochromis aureus* y *Sarotherodon galilaeus*) (6, 16, 20, 21). En cuanto a los huéspedes definitivos en que se ha encontrado el parásito, si bien en nuestro país solamente se lo ha identificado en lobos marinos (*Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens*) (4); otros autores señalan como posibles huéspedes naturales a pelícanos (*Pelecanus occidentalis*) y garzas (*Ardea cocoi*) (22, 23). (Figura 3).

Experimentalmente se han infestado con metacercarias varios mamíferos y aves, en todos los cuales se desarrolló la forma adulta: ratones, hamster, gatos, perros, monos y patos (6, 20, 24, 25).

En medicina veterinaria aparecen infestaciones de animales domésticos en forma natural, encontrándose casos bien documentados de parasitosis gastrointestinal en perros alimentados con lisas crudas tanto en Estados Unidos como en

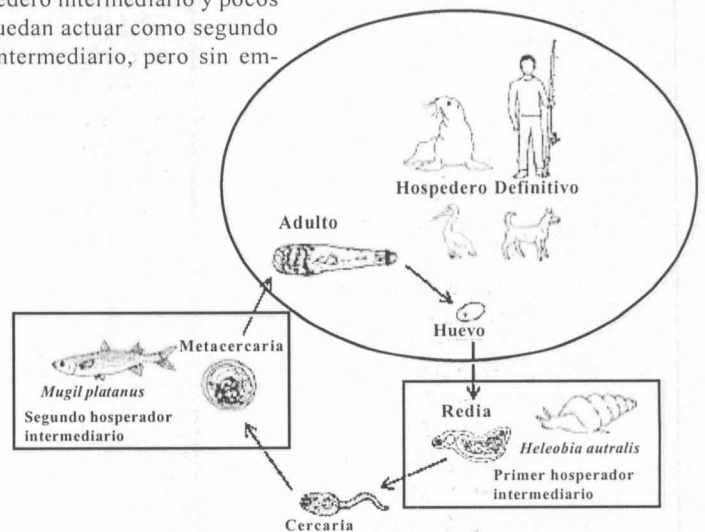


Figura 3. Esquema del ciclo biológico de *Ascocotyle (Phagicola) longa*.

Chile, Brasil y Perú (8, 9, 10, 11, 12). En cuanto a la gravedad de la parasitosis, trabajos de Barros y Amato (26) estudiando infestaciones experimentales en perros de 7 semanas, demuestran una predilección de los parásitos por la zona del yeyuno, con lesiones correspondientes a una enteritis subaguda y aguda. Si bien no existen casos documentados en gatos; si sumamos el hecho de su predisposición a comer pescado con la susceptibilidad demostrada por infestación experimental, suponemos que deben existir numerosos casos no diagnosticados.

En cuanto al riesgo de zoonosis, existen casos diagnosticados de gastroenteritis parasitaria por *A. (P.) longa* en humanos, en el estado de Sao Paulo (Brasil) (7, 13). Si bien primeramente se diagnosticó esta parasitosis solamente en una persona con gastroenteritis grave; luego se realizaron 102 exámenes coproparasitarios en una comunidad de ascendencia oriental con hábitos de consumo de pescado crudo (en forma de sushi y sashimi elaborado con lisa entre otras especies); los que dieron 10 casos positivos (incidencia de casi el 10,0 %). En estas personas coproparasitariamente positivas no existieron síntomas clínicos graves (solamente cólicos débiles y diarrea intermitente). La infestación en huma-

nos es posible no solamente al alimentarse con pescado crudo sino también mal cocido. Paperna y Overstreet (21) citan 142 casos en mujeres judías entre 1934 y 1947, debido al hábito de probar los filetes de pescado crudo durante la preparación de tortas de pescado. A partir de 1948, la carpa reemplazó a la lisa en la elaboración de estas preparaciones y no se registraron más casos.

Estudios de Araujo y Ruy de Almeida (27) muestran que la sobrevivencia de metacercarias de *A. (P.) longa* en músculo de lisa refrigerada se mantiene por 3 días. El trabajo de Saraiva (20) demuestra que las metacercarias de *A. (P.) longa* en músculo de lisa refrigerado, se mantienen viables y con capacidad de infestar ratones por 6 días, si bien permanecen móviles por 9 días. Estudiando músculo de lisa congelado, la misma autora encontró que permanecían viables con capacidad de infestación durante unas 6 a 10 horas. Por su parte, Hamed y Elias (28) encontraron que metacercarias de otro heterófito zoonótico (*Heterophyes heterophyes*) sobreviven 9 días en músculo de lisa refrigerado a 4-6° C; 13 días refrigerado a 2-4° C y hasta 30 horas congelado a -20° C. En cuanto a la resistencia al calor, los estudios demostraron que las metacercarias permanecían con capa-

cidad infestante luego de tratados los peces con 100° C durante 30 minutos (la temperatura interna del producto alcanzó los 50° C). Solamente con tratamientos de 200° C por 15 minutos o más (donde la temperatura interna del producto alcanzó más de 60° C) las metacercarias no presentaron movilidad ni capacidad infestante (20).

Debido a estos datos expuestos, los autores desean alertar a la profesión veterinaria sobre dos aspectos importantes:

- 1) en cuanto a la clínica de pequeños animales, es importante impedir el consumo crudo de lisa (vísceras o músculo) por parte de perros o gatos debido al riesgo de infección parasitaria por *A. (P.) longa*. Los veterinarios en su práctica clínica corriente deberán considerar para el diagnóstico diferencial de gastroenteritis parasitarias en carnívoros domésticos esta parasitosis.
- 2) en cuanto a la posibilidad de zoonosis, es importante para los colegas que trabajan en tecnología de productos pesqueros y población en general tomar las medidas apropiadas para impedir el consumo de carne de lisa cruda (sushi, sashimi, seviche) o insuficientemente cocida.

Referencias Bibliográficas

1. Carnevia, D.; Mazzoni, R. (1986). A preliminary note on the parasitofauna of the lebranche mullet (*Mugil liza*, Val 1836) in Uruguay. Riv. It. Piscic. Ittiop. XXI(3): 109-111.
2. Carnevia, D. (2002). Parásitos y parasitosis diagnosticadas en peces cultivados en Uruguay. I Jorn. Paras. Veterinaria, Montevideo, Septiembre 2002: 43-45 (resumen).
3. Carnevia, D.; Speranza, G. (2003). Seasonal variations in parasites found in mullet (*Mugil platanus* Günther, 1880) juveniles captured on the Uruguayan coast of the River Plate. *Bulletin EAFP* 23 (5): 245-249.
4. Morgades, A.; O. Castro; D. Capellino; J. Venzal; L. Casas; H. Katz; Moraña, A. (2002). Avances en el estudio de la fauna parasitaria del lobo fino (*Arctocephalus australis*) y del león marino (*Otaria flavescens*) (Mammalia: Pinnipedia) en Uruguay. *Actas Jorn. Paras. Veterinaria*, Montevideo, 19-20 Nov. 2002: 63-64.
5. Carnevia, D.; Perretta, A.; Venzal, J.; Castro, O. (2004). *Heleobia australis* (Mollusca, Hydrobiidae) y *Mugil platanus* (Pisces, Mugilidae), primer y segundo hospedador intermediario de *Ascocotyle (Phagicola) longa* (Digenea, Heterophyidae) en Uruguay. *Rev. Bras. Parasit. Veter.* 13 (1), p: 283 (resumen).
6. Armas de Conroy, G. (1986). Investigaciones sobre la fagicolosis en lisas (Mugilidae) de aguas americanas. I. Estudios taxonómicos de *Phagicola* sp. (Trematoda: Heterophyidae) en mugílicos sudamericanos. *Rev. Ibér. Parasitol.* 46 (1): 39-46.
7. Ruy de Almeida, E.; Woiciechowski, E. (1994) Ocorrência da *Phagicola longa* (Trematoda: Heterophyidae) em multiídeos e no homem, en Registro e Cananea, SP. *Higiene Alimentar* 8 (31): 43-46.
8. Jordan, H.; Maples, W. (1966) Third record of *Phagicola longa* (Ransom, 1920) (Trematoda: Heterophyidae) in dogs from the United States. *Jour. Parasit.* 52 : 362-363.
9. Manfredi, M.; Oneto, M. (1997) *Phagicola longa* (Heterophyidae) in dogs in Chile: morfological findings and taxonomical problems. *Parasitología* 39 (1): 9-11.
10. Costa, H.; Lima, W.; Costa J. (1984) *Phagicola arnaldoi* (Travassos, 1928) Travassos, 1929 (Trematoda, Heterophyidae) em *Canis familiaris*.

- Arq. Brasil. Med. Vet. Zootec. 36 (5):591-595.
11. **Costa, J.; Lima, W; Guimaraes, M.; Lima, E.** (1990). Frecuencia de endo e ectoparasitos de caes capturados nas ruas de Vitoria, ES, Brasil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 42 (5): 451-452.
 12. **Teixeira de Freitas, J.; Ibáñez, N.; Córdova, E.** (1972). Ocurrencia de *Phagicola arnaldoi* en perros de Arequipa, Perú. Rev. Per. Med. Trop. 1: 55-57.
 13. **Chieffi, P.; Leite, O.; Dias, R.; Torres, D.; Magini, A.** (1990). Human parasitism by *Phagicola* sp. (Trematoda: Heterophyidae) in Cananeia, SP State, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 32 (4): 285-288.
 14. **Scholz, T.** (1999). Taxonomic study of *Ascocotyle (Phagicola) longa* Ransom, 1920 (Digenea: Heterophyidae) and related taxa. Systematic Parasitology 43 (2):147-158.
 15. **Sadowski, V.; Ruy de Almeida, E.** (1986). Migração de tainha (*Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 *sensu lato*) na costa sul do Brasil. Bol. Inst. Pesca 13 (1): 31-50.
 16. **Colla, C.** (1990). Estudios sobre la parasitofauna de la lisa criolla (*Mugil curema* Val., 1536) en la costa central de Venezuela. Tesis de Postgrado. Universidad Central de Venezuela, Maracay.
 17. **Conroy, D.; Cecarelli, P.; Ruy de Almeida, E.** (1986). Diseases and parasites detected in grey mullet (Mugilidae) from coastal waters of Sao Paulo State, Brazil. 3 Juvenile silver mullet (*Mugil curema* Val., 1836) and lebranche mullet (*Mugil liza* Val., 1836). Riv. It. Piscic. Ittiopat. 21 (4): 153-156.
 18. **da Conceição, J. ; Sao Clemente, S.; Matos, E.** (2000). Occurrence of *Phagicola longa* (Ransom, 1920) price 1932 mullet (*Mugil* sp.) marketed in Belem, State of Parà, Brasil. Rev. Ciencias Agrarias 33 : 97-101.
 19. **Hutton, R.; Sogandares, F.** (1959). Further notes on Trematodes encysted in Florida mullets. Quart. J. Fla. Acad. Sci. 21 : 329-334.
 20. **Saraiva, M.** (1990). Estudio de diferentes métodos de conservación sobre la sobrevivencia de metacercáreas de *Phagicola longa* (Ransom, 1920) Price, 1932 en los tejidos de la lisa criolla (*Mugil curema* Val.). Tesis de grado, Licenciatura en Biología, Universidad Central de Venezuela. 98p.
 21. **Paperna, I.; Overstreet, M.** (1981). Parasites and diseases of mullets (Mugilidae) in Oren, O. (ed) Acuaculture of Grey Mulletts. Cambridge, Cambr. Univ. Press.: 411-493.
 22. **Greve, J.; Albers, T.; Suto, B.; Gaines, J.** (1986). Pathology of gastrointestinal helminthiasis in the brown pelican (*Pelecanus occidentalis*) Avian Dis. 30 (3): 482-487.
 23. **Barros, L.; de Arruda, V.; Gomes, D.; Pinto, R.** (2002). First infection by *Ascocotyle (Phagicola) longa* Ransom (Digenea: Heterophyidae) in avian hoast, *Ardea cocoi* Linnaeus (Aves: Ciconiiformes, Ardeidae) in Brazil. Rev. Bras. Zool. 19 (1): 151-155.
 24. **Barros, L.; Amato, S.** (1996) Experimental infection of dogs with metacercariae of *Phagicola longa* (Ransom, 1920) Price, 1932. Rev. Bras. Paras. Veter. 5 (2): 61-64.
 25. **Conroy, D.; Perez, K.** (1985). A report on the experimental infection of a smooth-eared capuchin monkey (*Cebus apella*) with metacercariae of *Phagicola longa* obtained from silver mullet (*Mugil curema*) viscera. Riv. It. Piscic. Ittiop 20 (4): 154-155.
 26. **Barros, L.; Amato, S.** (1995). Pathological aspects observed in hamster (*Mesocricetus auratus*) experimentally infected with metacercariae of *Phagicola longus* (Ransom, 1920) Price, 1932 (Digenea: Heterophyidae). Rev. Bras. Par. Vet. 4 (1): 43-48.
 27. **Araujo, S.; Ruy de Almeida, E.** (1994). *Phagicola longa* (Trematoda: Heterophyidae) em mugilídeos estocados resfriados e seu consumo cru em Sao Paulo, SP. Higiene Alimentar 8 (31): 41-42.
 28. **Hamed, M.; Elias, A.** (1970). Effect of food-processing methods upon survival of the trematode *Heterophyes* sp. In the flesh of mullet caught in brackish Egyptian waters. J. Food Sci. 35 (4): 386-388.

Perfiles metabólicos y endócrinos, parámetros productivos y reproductivos en vacas de leche en condiciones pastoriles

Meikle, A.¹; Cavestany, D.^{1,3}; Blanc, J.¹; Krall, E.¹; Uriarte, G.⁴; Rodríguez-Iraozqui, M.; Rupprechter, G.¹; Ferraris, A.¹; Chilibroste, P.²

RESUMEN

En este estudio se investigó el efecto del número de lactancia y la condición corporal al parto sobre la condición corporal (BCS) y peso vivo, los perfiles metabólicos y endócrinos y los parámetros reproductivos y productivos en 42 vacas Holando (21 primíparas y 21 multíparas) entre los 2 meses previos hasta los 3 meses posteriores al parto. La condición corporal y el peso vivo se determinaron cada 15 días. Se tomaron muestras de sangre 2 veces por semana durante el preparto y 3 veces por semana luego del parto. Se determinaron los niveles plasmáticos de proteínas totales, albúmina, urea, ácidos grasos no esterificados (NEFA), β -hydroxybutyrato (BHB), colesterol, aspartato amino transferasa, calcio, fósforo y magnesio cada 10 días durante el período experimental. Las hormonas insulina, factor de crecimiento tipo insulínico I (IGF-I), leptina, tiroxina y 3,3',5 triiodotiroinina se determinaron cada 10 días desde un mes antes hasta dos meses luego del parto. La progesterona se determinó tres veces por semana luego del parto. Los animales fueron clasificados de acuerdo a la categoría (primíparas vs multíparas) y condición corporal al parto (<3 ó ≥ 3 , escala 1-5). Las vacas primíparas produjeron menos leche. Esta categoría también tuvo menores niveles de proteínas totales, albúmina, calcio y magnesio. Las vacas primíparas presentaron mayores aumentos de NEFA y muestras con valores de BHB indicativos de cetosis subclínica durante este período. Esto fue consistente con una menor condición corporal reflejando un balance energético negativo más severo. Las vacas multíparas presentaron mayores niveles de hormonas tiroideas e IGF-I, mientras vacas

con ≥ 3 BCS al parto presentaron mayores concentraciones de leptina y de IGF-I. Los niveles hormonales se encontraron disminuidos durante la primera semana posparto. Los patrones de IGF-I y leptina durante el posparto difirieron de acuerdo a la categoría y a la condición corporal: las vacas primíparas y las vacas con mayor condición corporal al parto presentaron una caída más abrupta de ambas hormonas. Mientras que las hormonas tiroideas y el IGF-I mostraron un aumento desde aproximadamente el Día 30, la leptina se mantuvo baja durante el período experimental. El reinicio a la ciclicidad ovárica se retrasó en vacas primíparas y esto fue consistente con intervalos parto primer servicio y parto concepción más largos. Las vacas multíparas que reiniciaron la ciclicidad ovárica antes comenzaron a recuperar los niveles de IGF-I antes, pero lo mismo no ocurrió con la leptina. Estos hallazgos sugieren que la leptina tiene un rol permisivo sobre el reinicio de la ciclicidad ovárica mientras que el IGF-I podría ser el mediador del efecto del balance energético negativo sobre la eficiencia reproductiva.

Los resultados de este estudio demuestran que los perfiles metabólicos son una buena herramienta para determinar el balance energético que está evidenciado además por la evolución del estado corporal. Los animales en peor estado corporal presentaron un peor desempeño reproductivo demostrando que la eficiencia reproductiva en la vaca lechera está íntimamente asociada al metabolismo del animal. Se discuten las señales bioquímicas y endócrinas que pueden influenciar el eje reproductivo respecto al balance energético en la vaca lechera bajo condiciones de pastoreo.

INTRODUCCIÓN

La selección genética por producción de leche durante las últimas décadas ha sido asociada con una disminución en la eficiencia reproductiva a nivel mundial (Lucy, 2001). El reinicio de la ciclicidad ovárica luego del parto está íntimamente asociada con el balance energético durante este período; el tiempo del comienzo del balance energético positivo se correlaciona de forma positiva con el tiempo de la primera ovulación (Butler y col. 1981). El balance energético no sólo es

el factor más crítico que afecta la eficiencia reproductiva sino que además afecta la salud animal y la producción de leche.

La transición del estado preñada no lactante al no preñado lactante es un cambio dramático para la vaca, la cual debe adaptar su metabolismo durante las primeras semanas posparto a las fuertes exigencias que le demanda la producción y al cambio de régimen alimenticio acorde con su nuevo nivel de requerimientos (Drackley, 1999). Durante este período la vaca está en balance energético negati-

vo, ya que la cantidad de energía requerida para mantener la producción de leche supera la de la ingesta y la vaca debe movilizar nutrientes de las reservas corporales (Chilliard, 1999), y esto es visible en la pérdida de condición corporal (Bauman y Currie, 1980). La severidad del balance energético negativo para cada vaca dependerá del potencial genético de producción, de las reservas corporales, y de la ingesta de materia seca (Ingvarsen y Andersen, 2000). De estos factores se sugirió que el más importante en

¹Facultad de Veterinary ²Facultad de Agronomía, Universidad del Uruguay.

³Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, ⁴DILAVE Miguel C. Rubino, Ministerio de Agricultura, Uruguay.

determinar la magnitud del balance energético negativo es la ingesta (Ingvartsen y Andersen, 2000). Las variaciones en la ingesta, biotransformación y excreción durante este período pueden ser monitoreados por la concentración de algunos metabolitos en sangre. Al presente no hay un solo metabolito que pueda medirse que refleje directamente los cambios en el metabolismo o requerimientos nutricionales, por lo tanto se debe utilizar una combinación de éstos.

La gran movilización grasa que ocurre en el pre y posparto temprano se acompaña de una pronunciada elevación de ácidos grasos no esterificados (NEFA). Este aumento de NEFA puede ser seguido de una producción aumentada de β -hidroxi-butilato (BHB) el cual refleja la importante lipólisis y déficit energético. Simultáneamente hay un acumulo de triacilglicéridos en el hígado, lo que provoca diferentes disfunciones que se reflejan en la bioquímica sanguínea (hipocolesterolemia, hipoalbuminemia, aumento de enzimas hepáticas). Los valores de albúmina y urea son buenos indicadores del nivel proteico de la alimentación (Mans-ton y col. 1975). Vacas con dietas pobres en proteína compensan en parte el déficit a través de la movilización de sus reservas corporales y la disminución de la eliminación renal de urea, lo que se refleja en pérdidas de peso, condición corporal y disminución de la producción láctea (Wittwer y col. 1983). Por otro lado, el consumo diario de proteína está correlacionado positivamente con el consumo de materia seca que gradualmente se incrementa durante el posparto. El exceso de proteína en la dieta produce elevadas concentraciones de urea en sangre y se ha propuesto que esto afecta la eficiencia reproductiva, debido al costo energético adicional de la desintoxicación de amonio (Elrod y Butler, 1993). Sin embargo, Barton y col. (1996) reportaron que no hay efecto de un exceso de proteínas sobre el porcentaje de preñez. Además de grasas, carbohidratos y proteínas, la vaca lechera tiene altos requerimientos de minerales durante el posparto. Debido a la importancia de estos en las enfermedades metabólicas en el periparto, es que sus niveles séricos se determinan frecuentemente con los metabolitos anteriormente descritos. Los

antecedentes expuestos anteriormente se basan en sistemas de explotación de estabulación o semi-estabulación, muy diferentes de las condiciones de los sistemas productivos basados en pastura.

Los mecanismos fisiológicos de señales que informan al eje hipotálamo-hipófisis-ovárico del estado de balance energético del animal son complejos y confusos. Muchos estudios han propuesto señales metabólicas tales como metabolitos sanguíneos (NEFA, glucosa) y hormonas metabólicas (insulina, leptina y el eje somatotrófico: hormona del crecimiento y la familia de factores de crecimiento tipo insulínico) que se ven afectados por alteraciones en el metabolismo energético (Chilliard y col., 1998, Huszenicza y col. 2001). Las vacas en balance energético negativo tienen niveles de hormonas tiroideas más bajos que facilitan que los tejidos periféricos adapten su metabolismo energético local a esta nueva condición catabólica (Pethes y col. 1985; Capuco y col. 2001). Se ha reportado un rol de estas hormonas en la regulación de la esteroidogénesis (Spicer 2001), pero los datos concernientes a la función ovárica *in vivo* son limitados y controvertidos (Huszenicza y col. 2002). Beam y Butler (1999) han reportado que la relación insulina/hormona del crecimiento (y su mediador el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I, IGF-I) y el día del nadir de balance energético influyen en el crecimiento folicular. Vacas con folículos dominantes ovulatorios y secretores activos de estradiol presentan mayores niveles circulantes de IGF-I en las primeras dos semanas posparto (Beam y Butler, 1997, 1998). Otros estudios apoyan la hipótesis de que los niveles circulantes de IGF-I en el periparto son buenos indicadores de la capacidad del retorno a la ciclicidad ovárica (Spicer y col. 1990, 1991; Roberts y col. 1997).

Recientemente, la investigación sobre la regulación del consumo y metabolismo energético se ha centrado en el rol de la leptina. Esta hormona proteica identificada a fines de los '90 en varias especies mamíferas, es secretada principalmente por el tejido adiposo y es uno de los principales agentes comunicando información sobre el nivel de almacenamiento de energía periférica a regiones cerebrales que controlan el comportamiento de

alimentación, metabolismo y función endócrina para mantener la homeostasis (Chilliard y col. 1998). En rumiantes, como en otras especies, las concentraciones de leptina varían con cambios en el peso corporal y el porcentaje de depósitos grasos (Delavalud y col. 2002). Las vacas lecheras frecuentemente pierden más del 60 % de su grasa corporal durante la lactación temprana (Tamminga y col. 1997; Chilliard 1999), y se ha demostrado que la concentración de leptina disminuye un poco antes del parto (Kadokawa y col. 2000, Block y col. 2001, Liefers y col. 2003). Hay menos acuerdo en los perfiles de leptina luego del parto: aumentan (Kadokawa y col. 2000), no varían (Huszenicza y col. 2001), disminuyen (Block y col. 2001, Holtenius y col. 2003) o aumentan transitoriamente (Liefers y col. 2003). La reducción posparto de leptina fue debida al balance energético negativo ya que los niveles se mantuvieron altos en vacas que no fueron ordeñadas luego del parto (Block y col. 2001). Hay escasos datos reportados sobre la interrelación entre los niveles circulantes de leptina y el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto en vaca lechera (Kadokawa y col. 2000, Huszenicza y col. 2001). El intervalo parto primera ovulación se correlacionó con el nadir de leptina pero no se correlacionó con los niveles de leptina preparto o con los valores pre y postovulatorios (Kadokawa y col. 2000). Liefers y col. (2003) encontraron que a pesar de que no existió una relación entre leptina y la primer actividad luteal posparto, las concentraciones de leptina más altas se asociaron con intervalos más cortos al primer estro observado. Todos estos estudios además de haber sido realizados en sistemas de estabulación, presentan panoramas parciales de la fisiología de la lactancia de la vaca lechera.

A pesar de que los mecanismos fisiológicos que sufre la vaca lechera para poder adaptarse a los requerimientos de lactación deberían ser básicamente similares en los diferentes sistemas productivos, las demandas energéticas debidas al pastoreo pueden modificar las grandes transformaciones que ocurren en este período. Más aún, la ingesta de materia seca en estos sistemas productivos es usualmente más baja que los sistemas confi-

nados y puede ser insuficiente para sostener la alta producción de leche que puede obtenerse con el potencial genético existente. La finalidad de este trabajo fue contribuir al conocimiento de la fisiología metabólica y endócrina de la vaca lechera en transición y de la interacción nutrición-producción-reproducción bajo condiciones de pastoreo controlado. Específicamente los objetivos planteados fueron 1) caracterizar los perfiles metabólicos y endócrinos de la vaca en transición bajo condiciones pastoriles y sus interacciones con índices reproductivos y productivos. 2) estudiar el efecto de la categoría (primíparas vs múltiparas) y condición corporal al parto (<3 ó ≥ 3) sobre los perfiles metabólicos y endócrinos y parámetros productivos y reproductivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

El diseño experimental se realizó en la estación experimental Mario A. Cassinoni de la Facultad de Agronomía, Ruta 3, km 368, Paysandú de febrero a junio de 2001. Se seleccionaron 43 vacas Holando: 22 múltiparas de 2 a 5 lactaciones y 21 primíparas, período de parición marzo-mayo. Sólo animales con partos y pospartos normales fueron considerados para el estudio, por lo que una vaca múltipara que presentó mastitis aproximadamente a los 20 días posparto fue excluida de análisis posteriores. La alimentación preparto consistió en pastoreo sobre praderas de leguminosas y gramíneas. Tres semanas antes del parto se les ofreció una dieta que consistió en una mezcla de 12 kg de silo de maíz y 4 kg de concentrado comercial (14 % proteína cruda (CP), 1.7 energía neta de lactación (ENL) que eran dados una vez al día y fardos de moha ad libitum. Luego del parto las vacas tuvieron acceso a pastoreo en franja de praderas de leguminosas y gramíneas, 15 kg (base fresca) de silo de maíz (33 % materia seca (DM), 6.8 % CP) y 6 kg DM de un concentrado comercial (17 % CP, 1.7 ENL). La disponibilidad de la pastura (1650 ± 230 kg DM) fue estimada con un método comparativo de producción adaptado de Haydock y Shaw (1975), y se calculó una disponibilidad de 15 a 18 kg de DM por vaca por día en ajustes semanales del tamaño

de las franjas de pastoreo diarias. Las vacas tuvieron acceso al pastoreo entre el ordeño de la mañana y el de la tarde, el silo de maíz fue suministrado luego del ordeño de la tarde y el concentrado distribuido entre ambos ordeños equitativamente. Los animales se ordeñaron 2 veces por día y se realizaron controles de producción cada 15 días. La medición de la condición corporal (BCS) se realizó cada 15 días por el mismo observador desde 2 meses antes del parto hasta el tercer mes de lactancia, utilizando una escala de 5 puntos (1=emaciada, 5=obesa, Edmonson y col. 1989). El manejo reproductivo fue el convencional, los celos fueron detectados por observación visual dos veces al día, inseminando los animales a las 12 horas posteriores a la detección de celo (período de espera voluntario = 50 días). El diagnóstico de gestación se realizó por palpación rectal a partir de los 45 días de la inseminación. Para las determinaciones de hormonas y metabolitos se tomaron muestras de sangre por venopunción de la yugular en tubos heparinizados dos veces por semana a partir de los dos meses antes del parto al parto y tres veces por semana desde el parto hasta el tercer mes de lactancia. Las muestras se centrifugaron y el plasma se almacenó a -20° C. La eficiencia reproductiva se estudió a través de los siguientes parámetros: días a la primera ovulación, intervalo parto primer servicio y intervalo parto-concepción.

Determinación de los metabolitos

Todas las determinaciones de los metabolitos en las muestras de plasma cada 10 días se realizaron utilizando un equipo automático (Vitalab Spectra 2). Se determinaron proteínas séricas, albúmina, urea, colesterol, calcio, magnesio, fósforo y aspartato amino transferasa utilizando kits comerciales Weiner Lab (Rosario, Argentina). La bioquímica sanguínea fue analizada de acuerdo a las siguientes metodologías: proteínas totales: reacción de Biuret; albúmina: verde Bromocresol; urea: ureasa UV, colesterol: CHOD-PAP, calcio: o-cresolphtaleina; magnesio: azul xylydyl -EGTA, fósforo: fosfomolibdato UV, gamma-glutamyl-transferasa (GGT): Szasz (37° C), y aspartato amino transferasa (ASAT): IFCC optimizado (37° C). Las globulinas fue-

ron estimadas como la diferencia entre las proteínas totales menos la albúmina, asumiendo que esto incluye las proteínas de la coagulación y que estas son constantes. Todas las muestras se analizaron en dos ensayos. Los controles de calidad utilizados fueron Lyotrol N y P y controles internos del Laboratorio Miguel C. Rubino (DILAVE, Uruguay). Los coeficientes de variación intraensayo (CV) fueron ≤ 3.7 % para todos los parámetros y el CV interensayo fue ≤ 9.6 %. Estos CV son más bajos que el error máximo tolerable de acuerdo con los criterios de Tonks (Tonks, 1963) y el de Aspen (Cotlove *et al.*, 1970).

Las determinaciones de β hidroxibutirato (BHB) y ácidos grasos no esterificados (NEFA) fueron determinados utilizando kits comerciales (D-3-Hydroxybutyrate kit, Kat. #RB 1007 y NEFA kit, Kat. #FA 115, Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK). Los CV intraensayo para BHB y NEFA fueron ≤ 5.5 % y ≤ 4.5 % y los CV interensayos fueron ≤ 7.3 % y ≤ 9.7 %, respectivamente.

Determinación de las hormonas

La progesterona fue determinada 3 veces por semana en todas las muestras de plasma desde el parto (Día 0) hasta los tres meses postparto. Las concentraciones de todas las otras hormonas fueron determinadas cada 10 días desde un mes antes hasta 2 meses después del parto.

La progesterona fue determinada por un kit commercial (Coat-a-count, DPC Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA). Los CV intra e interensayo fueron 6 % y 11 %. La sensibilidad fue de 0.1 nmol/L.

La determinación de Tiroxina (T4) y 3,3',5-tri-iodotironina (T3) fue realizada por un kit de tubos recubiertos 125 I-Spec RIA (Instituto de Isótopos Co., Ltd. Budapest, Hungría). La sensibilidad fue de 0.5 nmol/L (T4) y 0.19 nmol/L (T3). Los CV intra ensayos fueron 6.4 - 8.1 % para T4 y 6.0 - 8.3 % para T3. Los CV interensayos fueron ≤ 5.8 % y ≤ 6.5 % respectivamente.

La insulina fue determinada por un kit en fase sólida (CIS Bio International Ltd, Gif-Sur-Yvette, France). La sensibilidad del ensayo fue de 1.08 μ IU/ml. Los CV intraensayo estuvieron entre 5.5 - 8.4 %, mientras que el interensayo fue de 8.8 %.

El factor de crecimiento tipo insulínico I se determinó como fue descrito previamente (Nikolic y col. 1996). Se utilizó IGF-I humano (ICN Biomedicals Inc., Aurora, USA) marcado con ^{125}I como trazador y anticuerpos policlonales de conejo contra IGF-I (Biogenesis, Poole, UK). Como standard se utilizó IGF-I humano recombinante (0.063 - 6.25 ng/tubo). Los CV de variación intraensayo e interensayo fueron menores al 6% y el 12% respectivamente.

Las concentraciones de leptina fueron modificadas a partir del ^{125}I -RIA específico ovino, homólogo, y de doble anticuerpo descrita por Delavaud y col. (2000) que fue validado para la especie bovina (Delavaud y col. 2002). La sensibilidad del ensayo fue de 0.49 ng/ml. Los CV intra e interensayo fueron 12% y 10%, respectivamente.

Análisis estadístico

La producción de leche, peso vivo, estado corporal, concentraciones de hormonas y metabolitos se estudiaron como medidas repetidas sobre la unidad experimental mediante el procedimiento Proc Mixed de SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA 2000). El modelo estadístico incluyó los efectos de número lactancia (primíparas=L1 o múltiparas=L2), condición corporal al parto (ECP escala 1-5: <3 ó ≥ 3), días posparto (funciones lineales y cuadráticas) e interacciones entre éstos. Se definió una estructura de covarianza auto regresiva de primer orden y vaca dentro de categoría y condición corporal al parto como efecto fijo (aleatorio ζ). Funciones cuadráticas fueron calculadas para cada variable y las diferencias entre los parámetros fueron analizadas con la opción estimate. Los días posparto fueron categorizados en intervalos de 10 días durante el periodo experimental (día 0=día del parto). Para estudiar los parámetros reproductivos se utilizó un modelo de regresión lineal y efectos fijos como categoría y condición corporal al parto. La diferencia entre grupos fue analizada por los test de Tukey-Kramer ($p<0.05$). El reinicio de la ciclicidad ovárica se definió como el día en el cual la concentración de progesterona en dos muestras consecutivas fue mayor a > 0.5 ng/ml o cuando la muestra fue mayor de >1 ng/ml.

Si no se detectó una concentración luteal de P4 durante el período estudiado, se tomó arbitrariamente el ultimo día de muestreo como el día de reinicio a la ciclicidad ovárica para ese animal. Se calcularon los coeficientes de correlación para estudiar relaciones entre variables (Proc Corr, SAS). Para estudiar que variables determinan el reinicio de la ciclicidad ovárica se utilizó un análisis de regresión utilizando la opción Backward (SAS) donde se incluyen todas las variables independientes y se eliminan secuencialmente las variables con $P > 0.10$ para determinar aquellas con valores de $P < 0.10$ (Proc Reg, SAS). Las variables independientes seleccionadas por el procedimiento fueron categoría, condición corporal al parto, peso vivo, condición corporal, producción de leche, proteínas totales, albúmina, urea, NEFA, BHB, colesterol, aspartato aminotransferasa, calcio, fósforo, magnesio, insulina, T3, T4, IGF-I y leptina. La última observación antes del reinicio de la ciclicidad ovárica para cada vaca fue incluida en el estudio. Las relaciones entre leptina y condición corporal pre y posparto en vacas <3 ó ≥ 3 fueron estudiadas mediante análisis de regresión simple.

RESULTADOS

Producción de leche

Las vacas primíparas produjeron menos leche que las múltiparas durante el período experimental (Tukey-Kramer,

$P<0.001$, Figura 1). La producción de leche fue afectada por los días posparto pero no hubo un efecto de la condición corporal al parto o categoría o una interacción entre ellas (Cuadro 1). La producción de leche se correlacionó negativamente con la condición corporal ($r=-.35$, $P<0.05$) y con los niveles de NEFA ($r=-.24$, $P<0.05$) y estuvo correlacionada positivamente con las proteínas y la albúmina ($r=.26$, $P<0.01$ y $r=.35$, $P<0.001$, respectivamente).

Peso corporal y condición corporal

La categoría y la condición corporal al parto afectaron la evolución del peso corporal; se encontraron diferencias en la caída de pesos (primíparas: -1.7 kg/día vs múltiparas: -1.3 kg/día) pero no con la recuperación (Cuadro 2). Se demostró una fuerte correlación entre el peso vivo y la condición corporal ($r=0.75$, $P < 0.001$). La evolución de la condición corporal se muestra en la Figura 2. Las vacas con condición corporal al parto de <3 tuvieron menor condición corporal durante el período experimental, mientras que las vaquillonas con ≥ 3 al parto tendieron a perder más condición corporal.

Las primíparas presentaron una caída más abrupta en la caída de BCS que las múltiparas pero también lo recuperaron más rápido (Cuadro 2). La BCS estuvo correlacionada negativamente con los NEFA ($r=-.35$, $P<0.001$) y el colesterol ($r=-.46$, $P<0.001$).

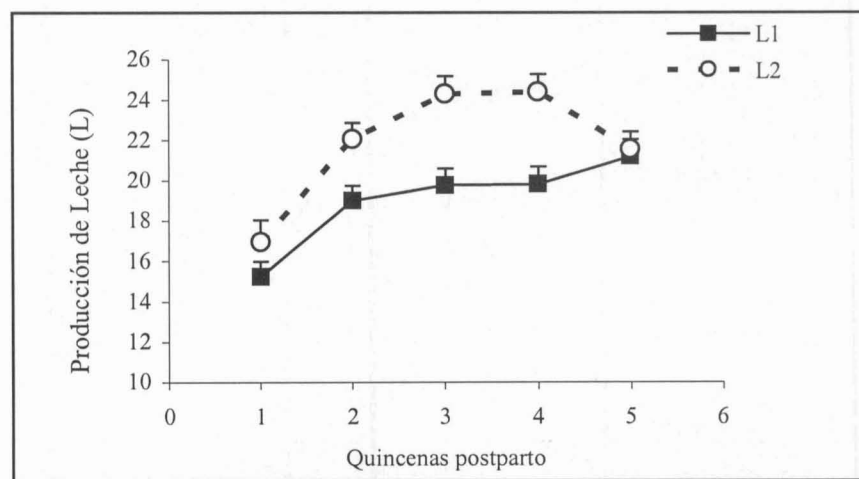


Figura 1. Producción de leche (promedio \pm SEM) de vacas primíparas (L1) y múltiparas (L2).

Cuadro 1. Significancia de los efectos fijos para cada variable. Los efectos fijos fueron categoría (C), condición corporal al parto (P), días posparto (funciones lineal, (DPP) y cuadrática DPP2) e interacciones. Se presentan sólo variables con diferencias significativas.

Variable	C	P	DPP ^a	DPP ²	P*C	DPP*C	DPP*P	DPP ² *C	DPP ² *P
BCS	0.07	***	***	***	0.11	***	0.11		0.08
Peso vivo	***	*	***	***		*	0.10		
Leche			***	***					
NEFA	0.11		***	***		***		**	
BHB			*	*		0.07		0.08	
Colesterol			***	***		***			
Proteínas	**		***	***		0.10			
Albumina	***	0.15	***	***		***		*	
Globulinas	*		***	***		***			
Urea		0.14	***	***		*			0.10
ASAT ^b			***	***					
Calcio	***		***	NS		***			
Fósforo			***	**	0.10			0.15	
Magnesio	0.09		***	***		*			
Insulina			*	***				0.09	
T4	0.10		***	***					
T3	*		***	***					
IGF-I	***	*	***	***		**	**	***	0.09
Leptina	0.13	**	***	***		0.07	0.07		

BCS= condición corporal; NEFA= ácidos grasos no esterificados; BHB= -hidroxibutirato; ASAT = aspartato aminotransferasa; T4= Tiroxina; T3=3,3',5-tri-iodotironina; IGF-I= factor de crecimiento tipo insulínico I * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

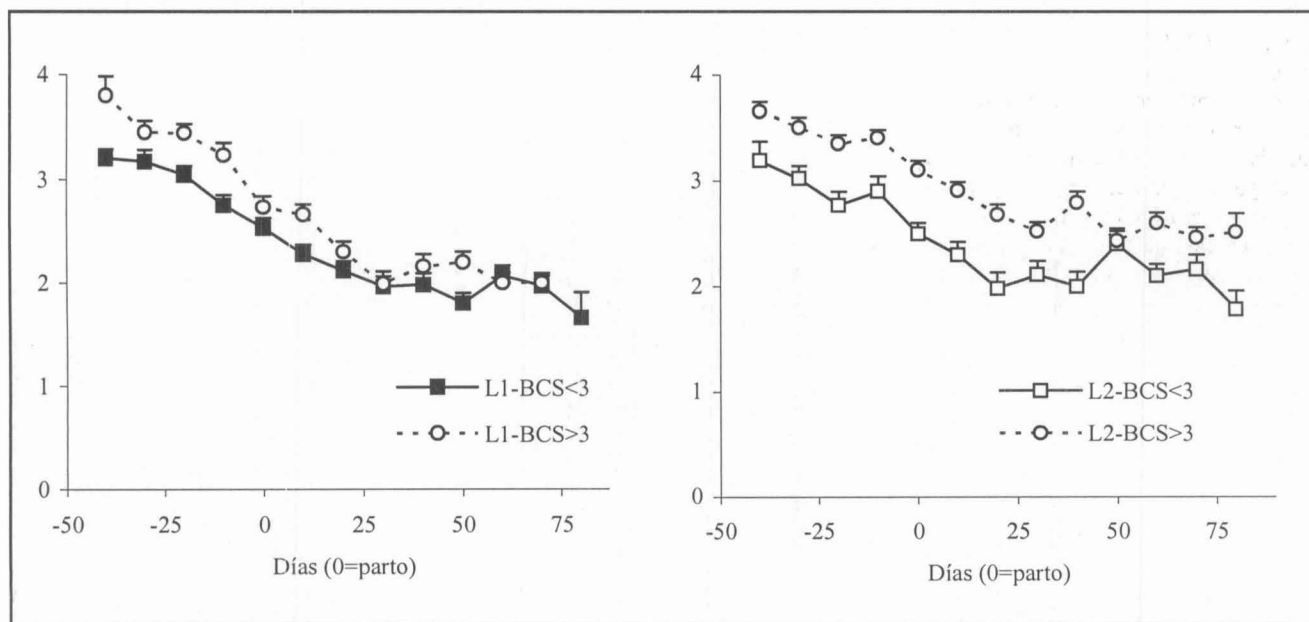


Figura 2. Evolución de la condición corporal (promedio±SEM, escala 1-5) en vacas primíparas (L1) o múltiparas (L2) con condición corporal (BCS) al parto de <3 ó ≥3.

Ácidos grasos no esterificados, β -hidroxibutirato y colesterol

Las concentraciones de NEFA comenzaron a aumentar antes del parto; las vacas primíparas presentaron su pico máximo el día 20 posparto, y las vacas multíparas el día 14 posparto, para luego disminuir. Las curvas de NEFA difirieron de acuerdo a la categoría durante el período posparto; el aumento fue mayor en pri-

míparas y se mantuvo por un período más largo (Cuadro II). Las concentraciones de BHB fueron bajas al parto, aumentaron rápidamente en la semana posparto para disminuir luego (Figura 3 panel izquierdo).

Cuando valores de BHB >1 mM fueron considerados (vacas con niveles subnormales de acuerdo con Whitaker y col., 1999) las vacas primíparas presentaron

mayor número de muestras con estos valores. Los niveles de NEFA y BHB estuvieron altamente correlacionados ($r=0.53$, $P<0.001$). La concentración de colesterol aumentó durante el período posparto en ambas categorías, a pesar de que las vacas multíparas presentaron mayores niveles de colesterol alrededor del día 60 (Figura 3 panel derecho, Cuadros 1 y 2).

Cuadro 2. Estimadores de las funciones en vacas primíparas y multíparas. Se presentan sólo variables con diferencias significativas de acuerdo a la categoría.

Variable	Vacas primíparas			Vacas multíparas		
	Intercepto	DPP	DPP ²	Intercepto	DPP	DPP ²
BCS	2.61 ^a	-0.01861 ^a	0.00013 ^a	2.75 ^b	-0.01284 ^b	0.00008 ^b
Peso vivo	521 ^a	-1.6933 ^a	0.009153	583 ^b	-1.3286 ^b	0.005954
NEFA	0.4197	0.003901 ^a	-0.00010 ^a	0.3863	0.001728 ^b	-0.00006 ^b
Colesterol	2.6350	0.01362 ^a	0.000235	2.6486	0.02325 ^b	0.000285
Albumina	32.5	0.04770 ^a	-0.00043 ^a	34.3	0.08794 ^b	-0.00085 ^b
Urea	3.7884	-0.00142 ^a	0.000313	4.1414	-0.01241 ^b	0.000201
Calcio	1.9638	0.001662 ^a	0.000011	2.0638	0.003744 ^b	-0.00001
Magnesio	0.8632	0.000856 ^a	-0.00004	0.9101	0.003180 ^b	-0.00006
IGF-I	29.3 ^a	-0.30 ^a	0.0068 ^a	34.8 ^b	-0.19 ^b	0.0043 ^b
Leptina	6.4 ^a	-0.05 ^x	0.000766	6.9 ^b	-0.04 ^y	0.000637

Los valores con diferentes superscriptos dentro de los mismos estimadores (intercepto, DPP y DPP²) difieren $P<0.05$; x vs y difieren $P=0.066$.

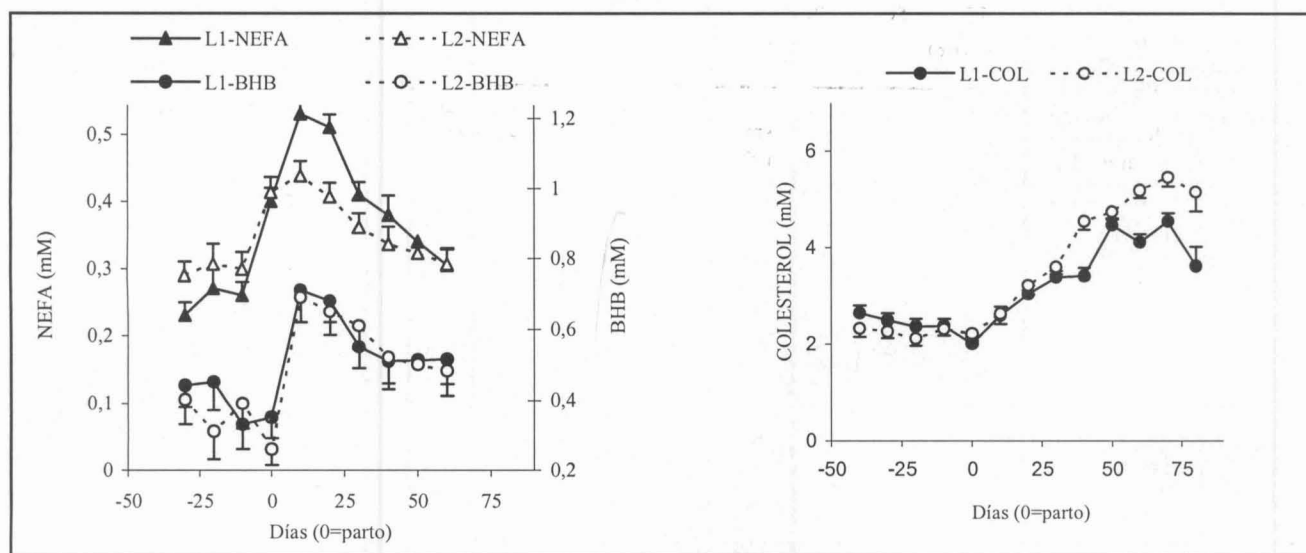


Figura 3. Niveles (promedio \pm SEM) de ácidos grasos no esterificados (NEFA), β -hidroxibutirato (BHB) y colesterol (Col) en vacas primíparas (L1) y multíparas (L2).

Proteínas totales, albúmina, globulinas y urea

Las vacas múltiparas presentaron mayores niveles de proteínas totales, albúmina y globulinas (Figura 4 panel izquierdo) que las vacas primíparas, pero no hubo un efecto de la BCS al parto. La disminución de las concentraciones de globulinas alrededor del parto se reflejó en el patrón de proteínas y fue coincidente con un aumento en la concentración de albúmina. Los niveles séricos de urea disminuyeron el último mes de gestación y aumentaron luego del parto.

Aspartato amino transferasa

Las concentraciones de aspartato aminotransferasa (ASAT) estuvieron en valores normales, excepto en algunas muestras aisladas que también tuvieron altos niveles de gamma-glutamilttransferasa (datos no mostrados). Los patrones de ASAT mostraron un aumento del Día -10 al Día 25 para mantenerse estables hasta el día 60 (Figura 5). Las concentraciones de ASAT se correlacionaron negativamente con la condición corporal ($r=-.29, P<0.01$) y presentaron una correlación positiva con el colesterol ($r=.39, P<0.001$).

Calcio, Fósforo y Magnesio

Las vacas primíparas tuvieron menores niveles de calcio y magnesio (Figura 6). Menores niveles de calcio se encontraron 20 días antes del parto pero aumentaron hacia el parto y se mantuvieron estables durante el período posparto. Alrededor del Día 60 posparto, se observó una concentración disminuida de magnesio en vacas primíparas. Los niveles de fósforo durante el posparto duplicaron los niveles encontrados durante el preparto (Figura 6).

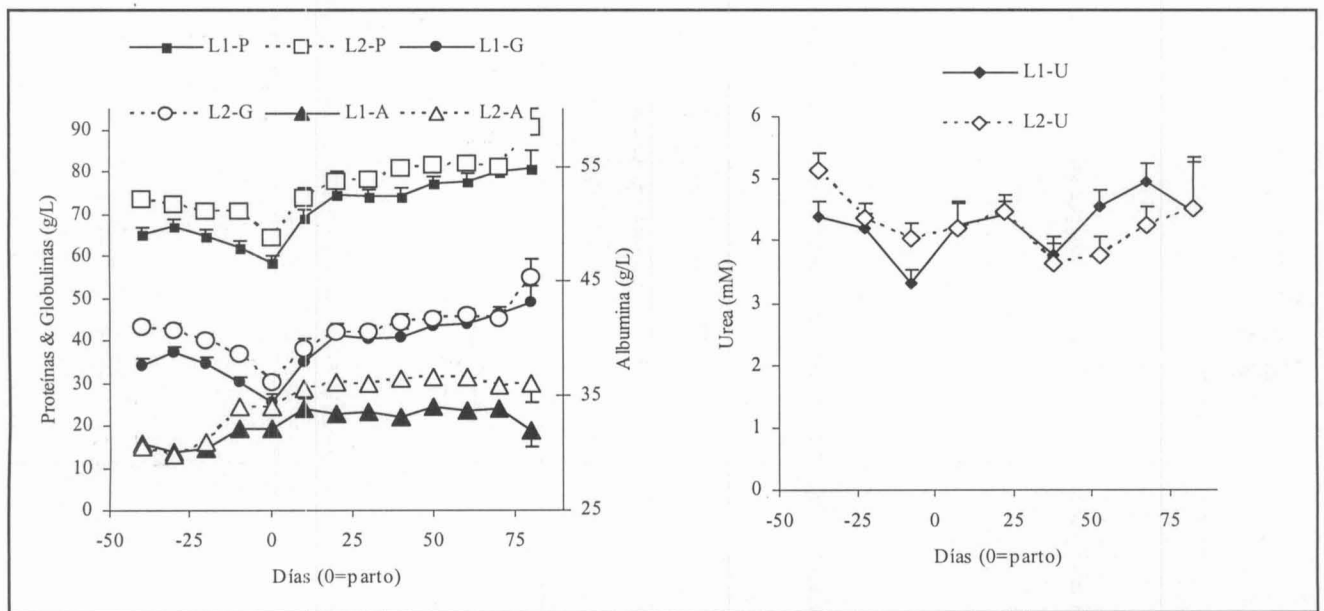


Figura 4. Niveles (promedio±SEM) de Proteínas plasmáticas totales (P), Globulinas (G) y Albúmina (A) y Urea (U) en vacas primíparas (L1, n=21) y múltiparas (L2, n=21).

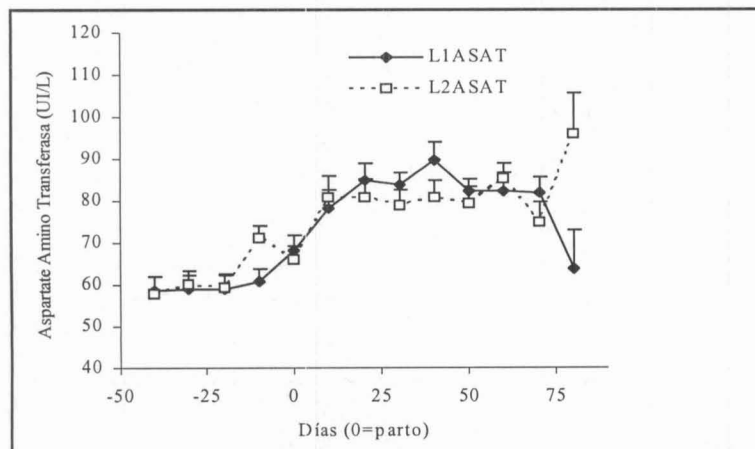


Figura 5. Niveles (promedio±SEM) de aspartato amino transferasa (ASAT) en vacas primíparas (L1) y múltiparas (L2).

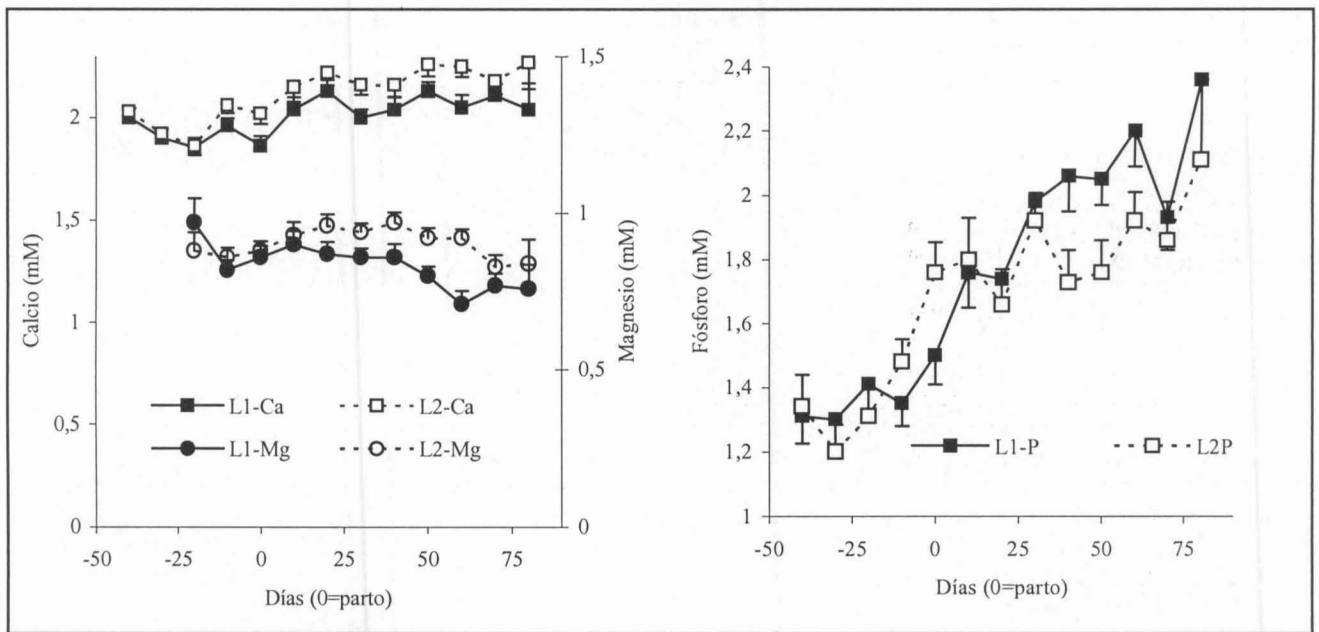


Figura 6. Niveles (promedio±SEM) de calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo (P) en vacas primíparas (L1) y múltiparas (L2).

Insulina

Las concentraciones de insulina de un mes antes hasta dos meses después del parto se muestran en la Figura 7. Las concentraciones difirieron respecto a los días posparto, se encontraron concentraciones disminuidas alrededor del parto que se recuperaron pronto. No hubo efecto de la categoría ni la condición corporal al parto sobre las concentraciones de insulina (Cuadro 1).

Hormonas tiroideas

Las vacas múltiparas presentaron mayores concentraciones de T3 (nM) que las vacas primíparas (1.36 ± 0.03 vs. 1.23 ± 0.03 , $P < 0.001$), y las concentraciones de T4 (nM) tendieron a ser diferentes (43 ± 1.8 vs 39.4 ± 1.7 , $P < 0.1$). Ambas hormonas fueron afectadas por días posparto (Tabla I) pero no hubo otro efecto y se observaron curvas paralelas en ambas categorías (Figura 7). Las hor-

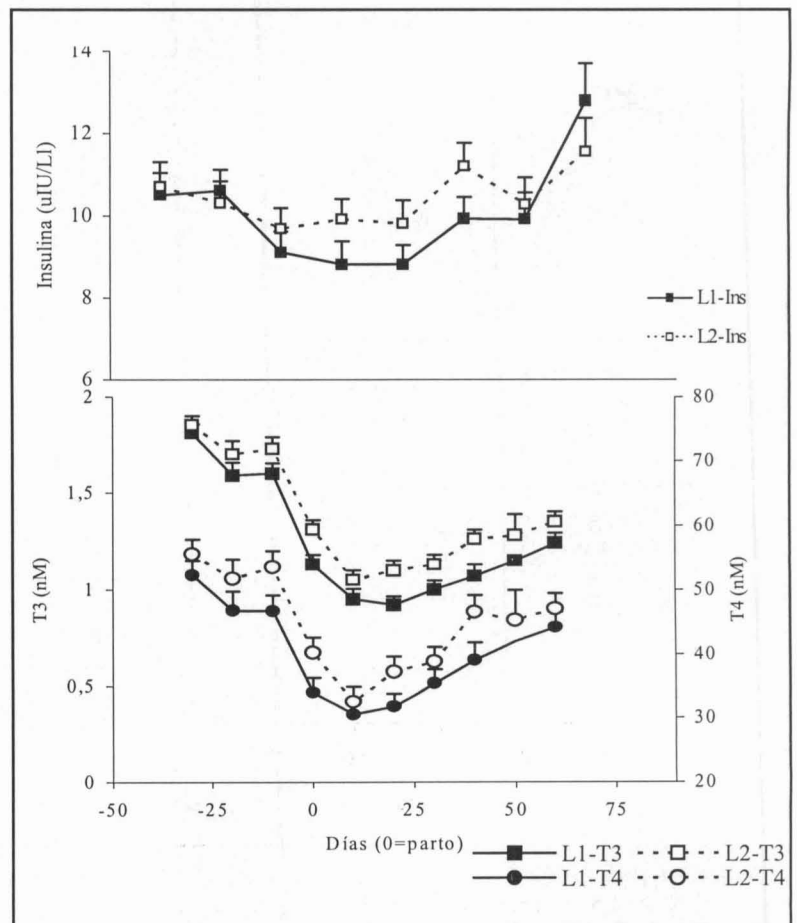


Figura 7. Niveles (promedio±SEM) de Insulina (Ins) y tiroxina (T4) y 3,3',5 triiodothyronina (T3) en vacas primíparas (L1, n=21) y múltiparas (L2, n=21).

monas tiroideas no recuperaron sus niveles preparto, a los dos meses posparto llegaron al 70 % de sus concentraciones del Día -30.

Factor de crecimiento tipo insulínico -I

Las concentraciones de IGF-I fueron afectadas por la categoría y la condición corporal al parto; las vacas primíparas y vacas con una BCS <3 tuvieron menores niveles de IGF-I (Figura 8). Las curvas de IGF-I difirieron de acuerdo con la categoría (Cuadro 2); las vacas primíparas tuvieron una caída más abrupta que las multíparas, se mantuvieron bajas por más días y tendieron a recuperarse más rápido (Figura 8).

Las concentraciones más bajas fueron encontradas alrededor del día 22 postparto (concentración primíparas manecieron mayor tiempo disminuidos en vacas pri-

míparas (Figura 8). Hubo una interacción entre condición corporal al parto y días posparto (Tabla I): en las vacas con BCS al parto de ≥ 3 IGF-I cayó más abruptamente y se recuperó más rápido que las vacas < 3 BCS.

Leptina

La BCS al parto afectó los niveles de leptina (Cuadro 1) las concentraciones fueron más altas en vacas con alta condición corporal. Las concentraciones de leptina de las vacas primíparas tendieron a presentar una caída más abrupta que las vacas multíparas, $P=0.066$ (Figura 8, Cuadro 2). Un patrón similar se observó en vacas con BCS al parto de ≥ 3 frente a las de < 3 BCS ($P=0.073$). Las concentraciones de leptina en vacas primíparas y multíparas permanecieron bajas durante todo el período.

Los análisis de regresión entre la leptina y la BCS antes y luego del parto en las vacas con baja y alta condición corporal se muestran en la Figura 9. Mientras que la secreción de leptina estuvo consistentemente relacionada a la BCS durante todo el período experimental en vacas con BCS al parto de ≥ 3 , en vacas con < 3 BCS la leptina se relacionó con la BCS sólo antes del parto.

Correlaciones entre hormonas y metabolitos

Las hormonas tiroideas, IGF-I y leptina estuvieron correlacionadas con la condición corporal, la leptina presentó en nivel de correlación más alto ($r=0.8$, $P<0.001$). La producción de leche se asoció con T3 ($r=0.22$, $P<0.05$) y con una más alta significación con IGF-I ($r=0.26$, $P<0.01$). Todas las hormonas se correlacionaron negativamente con los NEFA y

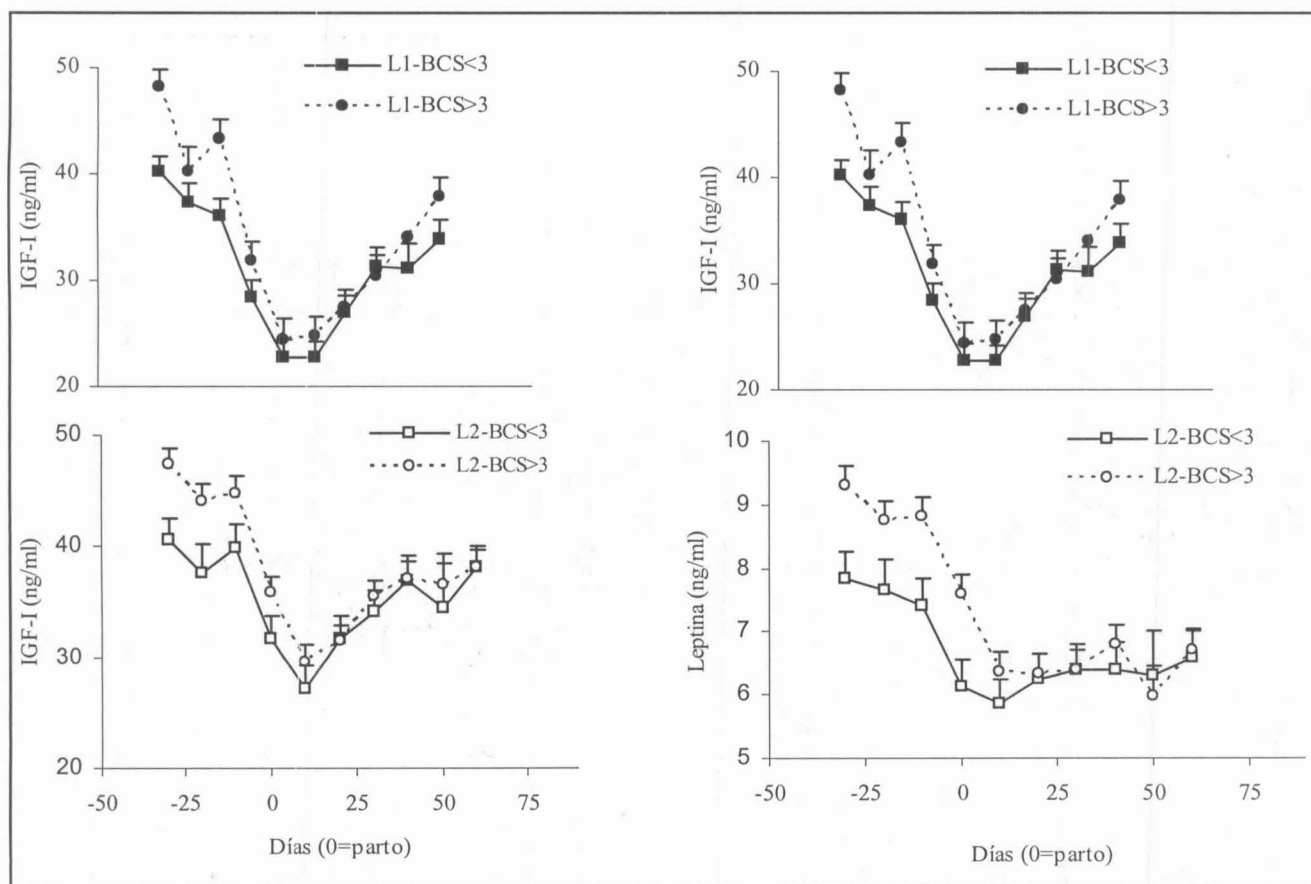


Figura 8. Niveles (promedio \pm SEM) de factor de crecimiento tipo insulínico I (IGF-I, panel izquierdo) y leptina (panel derecho) en vacas primíparas (L1) y multíparas (L2) vacas con condición corporal (BCS) al parto de < 3 ó ≥ 3 .

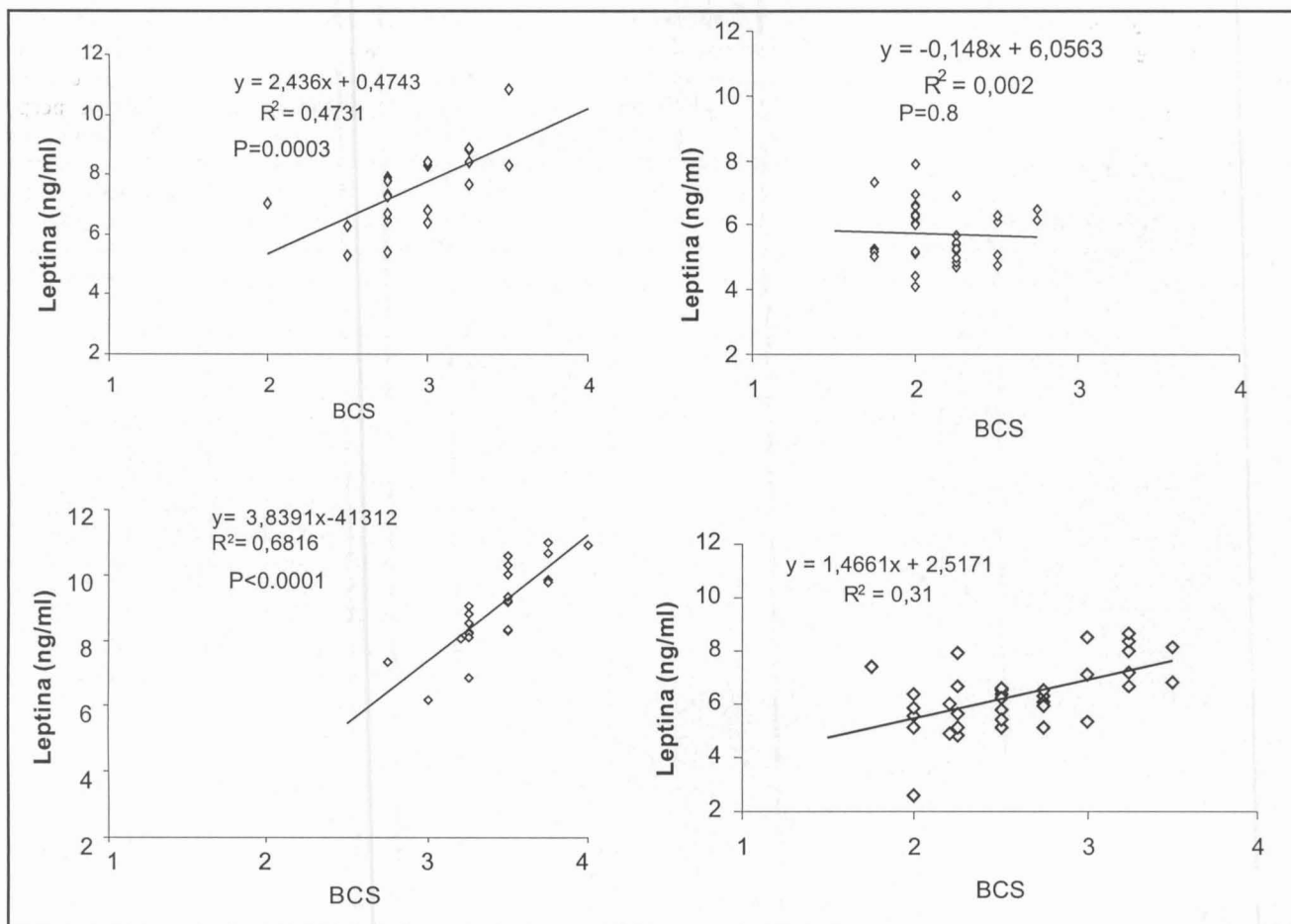


Figura 9. Relaciones entre los niveles plasmáticos de leptina y la condición corporal (BCS) en vacas lecheras con BCS al parto de <3 (paneles superiores) o BCS=3 (paneles inferiores) antes (paneles izquierdos) o después (paneles derechos) del parto.

BHB, siendo la IGF-I quien presentó el coeficiente de correlación más alto ($r = -0.7$ $P < 0.001$ y $r = -0.38$ $P < 0.001$ respectivamente). Todas las hormonas se correlacionaron entre sí; las que presentaron un coeficiente de correlación más alto fueron: T3 vs T4 ($r = 0.83$, $P < 0.001$) e IGF-I vs. leptina ($r = 0.7$ $P < 0.001$).

Parámetros reproductivos

Hubo un efecto de la categoría sobre el reinicio de la actividad ovárica y los intervalos parto-primer servicio y parto-concepción. La interacción entre BCS al parto y categoría fue significativa sólo para el reinicio de la ciclicidad ovárica

(Cuadro 3). El anestro posparto fue más largo en vacas primíparas que múltiparas 45 vs 21 días ($P < 0.0001$). Las vacas primíparas con BCS baja al parto presentaron intervalos parto-primer ovulación más largo que las primíparas con mejor BCS, pero esto no se observó para las vacas múltiparas.

Cuadro 3. Días (promedio \pm SEM) a la primera ovulación, intervalos parto primer servicio y parto concepción en vacas primíparas (L1) o múltiparas (L2) con condición corporal (BCS) al parto de <3 ó ≥ 3 .

Categoría/BCS al parto	Primera ovulación	Parto -1 ^{er} servicio	Parto -concepción
L 1 / BCS < 3 (n=12)	52.8 ^a \pm 4.8	139.0 ^d \pm 11.8	143.0 ^{gh} \pm 13.0
L 1 / BCS ≥ 3 (n= 9)	37.4 ^b \pm 5.6	122.2 ^{de} \pm 12.8	149.4 ^g \pm 12.2
L 2 / BCS < 3 (n= 8)	19.0 ^c \pm 6.3	99.9 ^{ef} \pm 13.7	114.1 ^{hi} \pm 13.0
L 2 / BCS ≥ 3 (n=13)	23.0 ^e \pm 4.5	93.4 ^f \pm 10.0	104.0 ⁱ \pm 10.0

Valores con diferentes letras dentro de la misma columna difieren $P < 0.05$ excepto e vs f $P = 0.085$ y g vs h $P = 0.058$.

Globalmente, el intervalo parto a primer servicio fue de 131 y 97 días para vacas primíparas y múltíparas respectivamente ($P < 0.01$). Los intervalos parto-concepción fueron de 146 y 109 días para primíparas y múltíparas respectivamente ($P < 0.01$). Un hallazgo interesante fue que vacas múltíparas con baja condición al parto reiniciaron su ciclicidad ovárica antes que las vacas primíparas con mejor condición al parto (Cuadro 3). Esto se reflejó en el intervalo parto-concepción. La tasa de preñez al final de la estación reproductiva fue diferente en vacas primíparas y múltíparas (39% vs 85%, $P < 0.01$).

La condición corporal al parto, la condición durante el período experimental, insulina, leptina, BHB y las proteínas totales (todas con $P < 0.05$) y urea y T3 (con $P < 0.08$) fueron asociadas con el reinicio de la ciclicidad ovárica (análisis de regresión, $R^2 = 0.78$, $P = 0.0001$).

DISCUSIÓN

Las vacas lecheras se encuentran normalmente en balance energético negativo durante el período posparto temprano, ya que la cantidad de energía consumida es menor a la necesitada para la producción de leche (Chilliard, 1999). Esta es la situación de las vacas de este estudio, donde a pesar de que no medimos el balance energético, la condición corporal disminuyó desde los 30 días antes del parto y esta tendencia fue más abrupta durante las primeras 4 semanas luego del parto. Resultados similares fueron reportados en vacas lecheras sobre pastoreo controlado (Cavestany y col., 2001). Las vacas primíparas tuvieron menor BCS que las múltíparas, y esto es consistente con un mayor desequilibrio en los perfiles metabólicos en la categoría primíparas (ver abajo). Esto puede deberse a las necesidades aumentadas para el crecimiento en animales jóvenes simultáneamente con las demandas de la lactación y una menor capacidad de ingesta como fue descrito previamente (Remond y col., 1991). Las vacas con mejor condición corporal al parto (≥ 3) perdieron más condición en el primer mes de lactación, y los valores de BCS no se recuperaron a los niveles iniciales preparto durante el período experimental.

El aumento de NEFA antes del parto es el resultado de la disminución de la ingesta de material seca en este período y de los cambios hormonales que estimulan la movilización de NEFA del tejido adiposo para proveer energía para el parto y la lactogénesis (Vazquez-Añon y col., 1994; Grum y col. 1996). Los altos niveles de NEFA en primíparas indican que esta categoría movilizó más ácidos grasos de cadena larga del tejido adiposo que las múltíparas (Belyea y col. 1975). Esto es consistente con la pérdida más abrupta en la condición corporal en primíparas. Los niveles de NEFA durante el posparto se mantuvieron más altos por más tiempo que el reportado por otros (Holtenius y col. 2003), probablemente debido a un período de balance energético negativo más largo. Los niveles de BHB también reflejan la necesidad energética de los animales al comienzo de la lactancia como fue descrito previamente (Invgarten y Andersen, 2000; Moorby y col. 2000; Vazquez-Añon, 1994). No hubo un efecto de la categoría sobre las concentraciones de BHB, sin embargo las vacas primíparas presentaron mayor número de muestras por encima de 1 mM sugiriendo que esta categoría sufrió cetosis subclínica (Whitaker, 1999). Los bajos niveles de colesterol alrededor del parto pueden relacionarse con movilización grasa debido a la deficiencia de energía (Ghergariu y col., 1984). Por otro lado, un aumento de colesterol refleja un aumento en la ingesta lipídica (Belyea y col. 1975). Ambas posibilidades pueden estar presentes en este estudio.

Aunque las concentraciones de proteínas totales y la albúmina se mantuvieron dentro de los rangos normales para la especie (Kaneko, 1989), las vacas primíparas presentaron menores niveles lo que refleja un peor balance energético en esta categoría. La disminución simultánea en proteínas, globulinas y urea en los días antes del parto se asocia con una disminución en la ingesta descrita durante este período (Bauchart, 1993) y puede estar asociada al secuestro de globulinas por la ubre como mencionado por Kehrlí y col. (1989), al aumentar la producción de calostro. El aumento de los compuestos nitrogenados durante el período posparto puede relacionarse a la ingesta de material seca que aumenta luego

de este período (Manston y col. 1975). Se ha descrito que las concentraciones de albúmina son más altas durante el período preparto que durante el posparto (Whitaker y col. 1999) y que hay una disminución fisiológica de este metabolito antes del parto (Huzenzica y col. 2001). En nuestro estudio se registró un aumento en las concentraciones de albúmina aprox. 20 días antes del parto y no conocemos reportes similares a este hallazgo. El aumento de albúmina podría amortiguar la disminución de las globulinas y así mantener la presión oncótica plasmática. Los patrones de urea fueron diferentes para ambas categorías y no tenemos una explicación obvia para este hecho. Ruegg y col. (1992), Kappel y col. (1984) y Shaffer y col. (1981) obtuvieron las mismas diferencias no explicables entre primíparas y múltíparas. Por otro lado, Cisse y col. (1991) no encontraron diferencias de acuerdo a la categoría en las semanas 14 y 20 posparto, pero su experimento no se diseñó para observar diferencias durante el período posparto. La mayoría de los valores se encontraron dentro del rango de referencia, incluso teniendo en cuenta que las muestras fueron colectadas luego de la ingesta y por lo tanto podrían resultar en niveles más altos de este metabolito (Gustafsson y Palmquist, 1993). Los niveles de urea varían en relación con la nutrición: varían de acuerdo con el contenido proteico, la degradabilidad de la proteína, el nitrógeno no proteico y la energía de la dieta (Park y col., 2002). Como las muestras fueron tomadas luego de la ingesta de concentrados, se pueden esperar mayores variaciones individuales.

Se ha reportado que la patología hígado graso cursa con un aumento de la actividad de la enzima aspartato amino transferasa, conjuntamente con niveles aumentados de colesterol (Ropstad y col. 1989; Cornelius 1989). Hemos encontrado una correlación positiva entre esta enzima y el colesterol que apoyaría esta hipótesis. Además el aumento encontrado durante el posparto, posterior al aumento de los NEFA, sugiere un leve grado de disfunción hepática. Por otro lado, los niveles de esta enzima no fueron suficientemente altos como para confirmar la presencia de esta patología.

Las concentraciones de calcio, fósforo y magnesio mostraron mayores variaciones en vacas primíparas que en multíparas sugiriendo un mayor desequilibrio mineral en esta categoría. Se encontraron niveles más bajos de Mg la semana anterior al parto y a los 60 días posparto. Se han reportado que estos niveles más bajos alrededor del parto son frecuentes y se acompañan con niveles disminuidos de Ca (Capen y Rosol, 1989). En nuestro estudio los niveles de Ca aumentaron 10 días previos al parto, y este aumento se asoció con niveles aumentados de albúmina, ambos fuertemente correlacionados. Esto puede deberse al hecho de que una fracción del pool total de Ca esta unida a esta proteína por lo tanto depende parcialmente de su concentración (Goff 2000). No encontramos una explicación obvia para la disminución de Mg encontrada aproximadamente a los 60 días posparto. El aumento en las concentraciones de fósforo observado durante el posparto podría reflejar la resorción de calcio y fósforo del hueso para alcanzar las demandas de la producción láctea; el control hormonal estricto en las concentraciones sanguíneas del calcio resulta en el mantenimiento del mismo en rangos muy ajustados que se observan en este trabajo.

Los estudios que han investigado las señales metabólicas potenciales para el eje reproductivo se han concentrado principalmente en los metabolitos sanguíneos y las hormonas metabólicas que se saben fluctúan durante estados alterados del metabolismo energético. Se encontraron concentraciones de insulina disminuidas alrededor del parto de acuerdo con reportes previos (Holtenius y col. 2003). La insulina juega un rol central en el control homeostático y su concentración está relacionada positivamente con la ingesta de energía (Chilliard y col. 1998). La disminución es consistente con la reducción de la ingesta que caracteriza este período (Bertics y col. 1992). Tanto insulina como IGF-I estimulan el crecimiento folicular (Spicer y col. 1993), sin embargo en este estudio la insulina no parecería estar relacionada al reinicio de la ciclicidad ovárica, las concentraciones de insulina se recuperaron totalmente al día 30 posparto en ambas categorías y mientras que las vacas multíparas ovularon

antes de este período, las primíparas lo hicieron después.

Se encontraron niveles de hormonas tiroideas bajas alrededor del parto como descrito previamente (Heyden y col. 1993, Pethes y col. 1985). Eppinga y col. (1999) encontraron bajas concentraciones de hormonas tiroideas incluso luego de que los niveles de BHB y NEFA retornaron a las concentraciones normales; en este estudio la disminución de BHB y NEFA fue simultánea con los aumentos de T3 y T4. Las hormonas tiroideas - T3 siendo la más activa y potente- participan no solo en la termorregulación y homeostasis energética y proteica, sino que se han asociado con una eficiencia reproductiva baja en la vaca posparto (Huszenicza y col. 2002). En este estudio se encontraron concentraciones de T3 más bajas en primíparas en desacuerdo con Cisse y col. (1991) quienes sugirieron que las altas concentraciones de T3 en la primera lactancia podrían deberse a la menor producción de leche en esta categoría ya que las hormonas tiroideas son excretadas por la glándula mamaria. Por otro lado, un nivel menor T3 se asoció a un peor balance energético (Blum y col. 1983), que parecería ser el caso del presente estudio ya que las vacas primíparas presentaron comparativamente una mayor pérdida de condición corporal y una condición metabólica general más desbalanceada. Esto podría explicar la discrepancia aparente con el estudio de Cissé y col. (1991), en donde vaquillonas y vacas tuvieron balances energéticos similares.

Las concentraciones de IGF-I fueron afectadas por la categoría ya que las primíparas presentaron menores concentraciones. Esto contrasta con los hallazgos de Wathes y col. (2003) en los cuales las concentraciones de IGF-I fueron más altas en animales jóvenes. Como se sugirió que los bajos niveles de insulina e IGF-I son las señales metabólicas que retrasan la ovulación (Beam and Butler, 1999) y que las concentraciones de IGF-I fueron más altas en vacas primíparas, Taylor y col. (2003) sugirieron que en esta categoría -que todavía esta creciendo- las concentraciones de insulina serían las limitantes para la eficiencia reproductiva (en la vacas adulta IGF-I determinaría los parámetros reproductivos). Nuestros

resultados no apoyan esta hipótesis ya que las vacas primíparas presentaron concentraciones de IGF-I más bajas, valores similares de insulina y presentaron la ovulación más tarde respecto a las multíparas. Las vacas con mejor BCS al parto tuvieron concentraciones de IGF-I más altas y mejor eficiencia reproductiva de acuerdo con Roberts y col. (1997) que encontró que las concentraciones de IGF-I en el periparto eran buenos indicadores de la capacidad de comenzar la ciclicidad posparto en vacas con dietas con poca energía

Como se reportó previamente en rumiantes adultos no preñados y no lactantes (Chilliard y col. 1998, Delavaud y col. 2000, 2002) el contenido de leptina en este estudio fue un buen indicador de grasa corporal en vacas lecheras durante el periparto. De forma contraria, Holtenius y col. (2003) no encontraron relación entre las concentraciones de leptina y la condición corporal luego del parto y sugirieron que la leptina no está relacionada a la condición corporal en vacas posparto durante el postparto. En este estudio sólo vacas con baja condición corporal no mantuvieron una relación entre BCS y leptina, por lo que puede ser que se requiera de un mínimo de condición corporal para que la síntesis de leptina se correlacione con la condición. Por otro lado, las diferencias encontradas en vacas con alta condición corporal al parto y lo descrito por Holtenius y col. (2003) pueden deberse a los diferentes sistemas productivos y/o genética; por otro lado en nuestro estudio la determinación de leptina fue más frecuente y utilizando más animales. Las concentraciones de leptina comenzaron a disminuir 20 días previos al parto en concordancia con otros estudios (Kadokawa y col. 2000, Block y col. 2001, Liefers y col. 2003). Por otro lado, en el presente estudio, las concentraciones de leptina permanecieron bajas hasta los dos meses luego del parto y esto no esta de acuerdo con los reportes de aumento alrededor del día 10 posparto (Kadokawa y col. 2000), concentraciones estables hasta la semana 5 posparto (Huszenicza y col. 2001), o con el aumento transitorio a la semana 2 (Liefers y col. 2003), pero si son consistentes con las bajas concentraciones encontradas por Block

y col. (2001) y Holtenius y col. (2003). Estos reportes contradictorios podrían deberse a los diferentes sistemas de producción; se necesitan más estudios que clarifiquen el patrón de leptina durante el posparto.

El reinicio de la ciclicidad ovárica se retrasó en vacas primíparas y en primíparas con baja BCS al parto respecto a primíparas con alta BCS al parto, lo que se reflejó en intervalos parto-primer servicio y parto-concepción más largos. La duración del anestro se asoció con la pérdida de condición -que indica balances energéticos negativos severos- y fue mayor en in primíparas que en multíparas como ha sido reportado previamente (Butler y Smith 1989). Estos autores demostraron que cuanto antes las vacas recuperen su balance energético, antes van a comenzar a ciclar y a preñarse. Es interesante resaltar que las vacas multíparas con baja BCS al parto (< 3) reiniciaron su actividad cíclica antes que las vacas primíparas con alta BCS al parto (≥ 3) y esto puede deberse a los patrones de las señales endócrinas (ver abajo) o al balance energético negativo debido a la baja ingesta, a la curva de lactación ascendente y/o a los requerimientos energéticos para continuar el desarrollo en las vaquillonas. Todos estos parámetros se relacionan con una alta movilización de grasa (Verité y Chilliard, 1992), pérdida de condición (Rémond y col. 1991) y altos niveles de NEFA plasmáticos (Cissé y col. 1991) que fueron observados en las primíparas vs multíparas a pesar de que produjeron menos leche. En este estudio la categoría fue un efecto más importante sobre la eficiencia reproductiva que la condición corporal al parto; y debe tomarse en cuenta que estos animales se encontraban en condiciones pastoriles donde el efecto de dominancia por la disponibilidad de comida está presente (Grant y Albright, 2001).

La mayoría de los reportes - en sistemas de estabulación- coinciden en destacar la incidencia del factor tipo insulínico I (IGF-I) y la leptina como las señales endócrinas que informan al eje reproductivo respecto del balance energético y/o del nivel de reservas corporales (Roberts y col. 1997; Spicer 2001). En este estudio, las vacas primíparas presentaron

menores concentraciones de IGF-I y las vacas con BCS < 3 a parto tuvieron menos IGF-I y leptina, y estos animales también presentaron peores índices reproductivos. De forma similar, se encontró una relación negativa entre IGF-I durante el posparto y el intervalo de reinicio de la ciclicidad ovárica (Butler 2000). Los datos respecto leptina y eficiencia reproductiva son confusos. Las vacas con concentraciones de leptina más bajas presentaron un reinicio a la ciclicidad ovárica más tardío (Kadokawa y col. 2000, Huszenicza y col. 2001). Los datos presentados en este estudio no apoyan la teoría de que las concentraciones de leptina activan el eje hipotálamo-hipófisis-ovárico, ya que a diferencia de las otras hormonas, la leptina permaneció baja hasta el día 60 posparto. Por otro lado, no solo la concentración de la hormona y la sensibilidad del tejido a la misma (receptores) son importantes para el eje reproductivo, sino también la dinámica endócrina (por ejemplo, la caída de leptina -como la de IGF-I- fue más abrupta en vacas primíparas) puede ser leída por el sistema endócrino como una señal diferente.

Como ha sido reportado previamente (Bocquier y col. 1998; Clarke y Henry y col. 1999), nuestros resultados sugieren que la leptina tiene un rol permisivo sobre el eje reproductivo y consecuente reinicio a la actividad cíclica cuando aumenta por arriba de un nivel crítico en la vaca lechera posparto. Esto permitiría que vacas que están en mejor condición al parto tener niveles de leptina más altos en la lactación temprana y reiniciar su actividad reproductiva antes. Nuestros resultados sugieren que los niveles de IGF-I están más relacionados a la actividad ovárica. Las vacas multíparas comenzaron a recuperar los niveles de IGF-I antes que las primíparas y también reiniciaron su actividad reproductiva antes.

CONCLUSIONES

En este estudio se demostró que las vacas primíparas presentaron un perfil metabólico y endócrino más desbalanceado que las multíparas, reflejando que se están recuperando del balance energético negativo con mayor dificultad. Las

curvas de los metabolitos y las hormonas se asociaron con la evolución de la condición corporal, confirmando que la medida frecuente de la condición corporal es una buena herramienta para identificar vacas con riesgo a desórdenes metabólicos. Los cambios endócrinos y metabólicos en la vaca lechera posparto en condiciones pastoriles comparten en general características similares con los estudios en sistemas de estabulación, pero las diferencias descritas en este estudio podrían deberse al diferente tipo de sistema productivo.

IMPLICANCIAS Y PERSPECTIVAS

Este estudio mostró como variables productivas, metabólicas, endócrinas y reproductivas se encuentran relacionadas y como factores tales como la categoría y condición corporal al parto determinan el comportamiento de las mismas. El avance en conocimientos que integren aspectos productivos, reproductivos con los perfiles metabólicos y endócrinos podrá contribuir a una mejor comprensión del metabolismo animal en nuestras condiciones para identificar las limitantes de estos sistemas y poder desarrollar mejores estrategias de alimentación y manejo.

Si bien el potencial genético existente en la lechería en el sur de la región sudamericana es alto, la exigencia energética debida al pastoreo y la interacción pastura-animal podrían modificar de forma diferencial las grandes transformaciones que sufre la vaca lechera durante este período. La ingesta es el factor más importante en determinar la magnitud del balance energético negativo (Ingvartsen y Andersen, 2000). Las vacas que consumen menos, producen menos leche y tienen peor desempeño reproductivo (Staples y col. 1990). Estudios de esta índole son esenciales si se tiene en cuenta que en términos generales los consumos de materia seca logrados en pastoreo son menores a los logrados en estabulación e insuficientes para sostener altas producciones de leche factibles de ser alcanzados con el potencial genético actualmente disponible en los sistemas lecheros de esta región.

La pérdida de condición corporal registrada previa al parto, resalta la importancia de un adecuado manejo de la vaca en transición (3 semanas antes a 3 semanas después del parto) y la necesidad de una adecuada alimentación preparto para preparar al animal a las necesidades de producción de leche luego del parto y para reducir la incidencia de patologías del periparto.

Este estudio ha demostrado la importancia de la categoría: las vacas primíparas se recuperan con menor éxito del balance energético negativo. La dominancia de las vacas adultas sobre las vaquillonas en la competencia por la oferta de alimentación generalmente no excesiva, tiene como consecuencia una alimentación insuficiente en cantidad y en calidad para esta

categoría. En la medida de las posibilidades de manejo de cada productor, un manejo diferencial de estas categorías (lotes) resultaría en un sistema más eficiente. Se destaca la necesidad de estudios sobre la importancia de este factor en la rentabilidad de la empresa agropecuaria.

Debido a que la industria láctea continúa seleccionando a aquellos animales con mayor potencial de producción de leche y proteínas, las vacas obtenidas a partir de esta presión de selección tendrán un mayor riesgo de padecer cetosis u otras enfermedades metabólicas asociadas a este período de transición y una menor eficiencia reproductiva (Duffield 2000, Butler y Smith 1989). Durante el período de transición de la vaca lechera las deficiencias y/o desequilibrios nutricio-

nales pueden originar desórdenes metabólicos y alteraciones clínicas y/o subclínicas. El uso de los perfiles metabólicos ha sido desarrollado para ayudar a los productores lecheros; en conjunto con el examen del animal, análisis de la composición de la leche, alimentación, medio ambiente y personal a cargo constituye una herramienta importante para una completa metodología de trabajo para el diagnóstico de los errores nutricionales. Contribuye en la información para la toma de decisión sobre la nutrición de una manera más precisa, detallada y rápida que otras metodologías más convencionales. El perfil metabólico utilizado adecuadamente puede identificar que hay o no un problema y que es, esto permitirá al técnico en la búsqueda de la mejor solución económica del mismo.

Referencias Bibliográficas

Barton, B.A.; Rosario, H.A.; Anderson, G.W.; Grindle, B.P.; Carroll, D.J.

(1996). Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cows. *J Dairy Sci.* Dec;79(12):2225-36.

Bauchart, D. (1993). Lipid absorption and transport in ruminants. *J Dairy Sci.*, 76: 3864-3881.

Bauman, D.E.; Currie, W.B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci.*, 63:1514-1529.

Beam, S. W.; Butler, W. R. (1997) Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three concentrations of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56, 133-142.

Beam, S. W.; Butler, W. R. (1998) Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81, 121-131.

Beam, S. W.; Butler, W. R. (1999) Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cow. *J. Reprod Fert. Suppl.* 54, 411-424.

Bertics, S.J.; Grummer, R.R., Cadoringa-Valino, Stoddard, E.E. (1992). Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J Dairy Sci* 75:1914.

Belyea, R.L.; Coppock, C.E.; Lake, G.B. (1975). Effects of silage diets on health, reproduction, and blood metabolites of dairy cattle. *J Dairy Sci.*, 58:1336-1346.

Block, S. S.; Butler, W. R.; Ehrhardt, R. A.; Bell, A. W.; Van Amburg, M. E.; Boisclair, Y. R. (2001) Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinology*, 171, 341-50.

Blum, J.W.; Kunz, P.; Leunberger, H.; Gautschi, K.; Keller, M. (1983). Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. *Anim Prod* 36:93-101.

Bocquier, F.; Bonnet, M.; Faulconnier, Y.; Guerre-Millo, M.; Martin, P.; Chilliard, Y. (1998). Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. *Reprod Nut Dev* 38: 489-498.

Butler, W. R. (2000) Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60, 449-457.

Butler, W. R.; Smith, R. D. (1989) Interrelationship between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72, 767-783.

Butler, W. R.; Everett, R. W.; Coppock, C. E. (1981) The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53, 742-748.

Capen, C.C.; Rosol, T.J. (1989). Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press, 1989: 678.

Capuco, A.V.; Wood, D.L.; Elsasser, T.H.; Kahl, S.; Erdmann, R.A.; Van Tassell, C.P.; Lefcourt, A.; Piperova, L.S. (2001). Effect of somatotropin on thyroid hormones and cytokines in lactating dairy cows during ad libitum and restricted feed intake. *J Dairy Sci* 84: 2430-2439.

- Cavestany, D.M.; Galina, C.S.; Viñoles, C.** (2001). Efecto de las características del reinicio de la actividad ovárica posparto en la eficiencia reproductiva de vacas Holstein en pastoreo. *Arch Med Vet (Chile)*. XXXIII:217-226.
- Chilliard, Y.** (1999). Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal. *In: Biology of Lactation*. Martinet J, Houdebine LM, Head HH (Eds). Inserm/INRA, Paris. 20: 503-552.
- Chilliard, Y.; Bocquier, F.; Doreau, M.** (1998). Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev* 38, 131-152.
- Cissé, M.; Chilliard, Y.; Coxam, V.; Davicco, M.J.; Remond, B.** (1991). Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two concentrations of energy concentrate. 2. Plasma Hormones and Metabolites. *J Dairy Sci* 74: 1382-1394.
- Clarke I.J.; Henry, B.A.** (1999). Leptin and reproduction. *Reviews of Reproduction* 4:48-55.
- Cervantes, A.; Smith, T.R.; Young, J.W.** (1996). Effects of nicotinamides on milk composition and production in dairy cows fed supplemental fat. *J Dairy Sci*. 79:105-113.
- Cornelius, C.C.** (1989). Liver Function. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press. 364.
- Cotlove, E.; Harris, E.K.; Williams, G.Z.** (1970). Biological and analytical components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. 3: Physiological and Medical implications. *Clin. Chem.* 16: 1028-1032.
- Delavaud, C.; Ferlay, A.; Faulconnier, Y.; Bocquier, F.; Kann, G.; Chilliard, Y.** (2002). Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level and meal intake. *J. Anim. Sci.*, 80. 1317-1328.
- Delavaud, C.; Bocquier, F.; Chilliard, Y.; Keisler, D. H.; Gertler, A.; Kann, G.** (2000). Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentrations assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinology*, 165, 519-526.
- Drackley, J.K.** (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci*. 82: 2259-2273.
- Duffield, T.** (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. Jul;16 (2):231-253.
- Edmonson, A.J.; Lean, I.J.** (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*. 72:68-78.
- Elrod, C.C.; Butler, W.R.** (1993). Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J Anim Sci*. Mar;71(3):694-701.
- Ghegariu, S.; Rowlands, G.J.; Pop, A.; Danielescu, N.; Moldovan, N.A.** (1984). A comparative study of metabolic profiles obtained in dairy herds in Romania. *Br Vet J* 140:600-608.
- Goff, J.P.** (2000). Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 16:319-337.
- Grant, R.J.; Albright, J.L.** (2001). Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle. Joint ADSA-ASAS Annual Meeting. *J Dairy Sci* 84: Elect. Supplement, E156-E163.
- Gustafsson, A.H.; Palmquist, D.L.** (1993). Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. *J Dairy Sci* 1993, 76: 475-484.
- Grum, D.E.; Drackley, J.K.; Younker, R.S.; LaCount, D.W.; Veenhuizen, J.J.** (1996). Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of peripartum dairy cows. *J Dairy Sci* 1996; 79:1850-1864.
- Haydock, K.P.; Shaw, N.H.** (1975). The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 15:663-670.
- Heyden, J. M.; Williams, J. E.; Collier, J. J.** (1993) Plasma growth hormone, insulin-like growth factor, insulin, and thyroid hormone association with body protein and fat accretion in steers undergoing compensatory gain after dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* 71, 3327-3338.
- Holtenius, K.; Agenas, S.; Delavaud, C.; Chilliard, Y.** (2003). Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci*. 86:883-891.
- Huszenicza, G.; Kulcsar, M.; Rudas, P.** (2002). Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Vet Med-Czech* 47, 7:199-210.
- Huszenicza, G.; Kulcsar, M.; Nikolic, J. A.; Schmidt, J.; Korodi, P.; Katai, L.; Dieleman, S.; Ribiczei-Szabo, P.; Rudas, P.** (2001) Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with Monensin or inert fat in feed. *In: Diskin, M.G. (ed.): Fertility in the high-producing dairy cow*. British Society of Animal Science, Edinburgh, Occasional publications, No. 26 Vol. 2., pp. 405-409.
- Ingvarstsen, K.L.; Andersen, J.B.** (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J Dairy Sci*. 83:1573-1597.
- Kadokawa, H.; Blache, D.; Yamada, Y.; Martin, G. B.** (2000) Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reprod. Fertil. Dev.*, 12, 405-411.
- Kaneko J.** (1989). Carbohydrate Metabolism and Its Diseases. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press. 44-85.
- Kaneko J.** (1989). Serum Proteins and Disproteinemias. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press. 142.

- Kappel, L.C.; Ingraham, R.H.; Morgan, E.B.; Zeringue, L.; Wilson, D.; Babcock, D.K.** (1984). Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. *Am J Vet Res.* 45: 2607-2612.
- Liefers, S.C.; Veerkamp, R.F.; te Pas M.F.W.; Delavaud, C.; Chilliard, Y.; van der Lende, T.** (2003) Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *J Dairy Sci* 86:799-807.
- Lucy, M.C.** (2001) Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci* 84: 1277-1293.
- Manston, R.; Russell, A.M.; Dew, S.M.; Payne, J.M.** (1975). The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Vet Rec.* 96: 497-502.
- Moorby, J.M.; Dewhurst, R.J.; Tweed, J.K.S.; Dhanoa, M.S.; Beck, N.F.G.** (2000). Effects of altering the energy and protein supply on dairy cows during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci.* 83:1795-1805.
- Nikolic, J.A.; Ratkovic, M.; Nedic, O.** (1996). Determination of insulin-like growth factor-I by radioimmunoassay. *J Serb Chem Soc* 61(12) 1149-1157.
- Park, A.F.; Shirley, J.E.; Titgemeyer, E.C.; Meyer, M.J.; VanBaale, M.J.; VandeHaar, M.J.** (2002). Effect of protein level in prepartum diets on metabolism and performance of dairy cows. *J Dairy Sci.* 85:1815-1828.
- Pethes, G.; Bokori, J.; Rudas, P.; Frenyo, V. L.; Fekete, S.** (1985) Thyroxine, triiodothyronine, reverse-triiodothyronine, and other physiological characteristics of periparturient cows fed restricted energy. *J. Dairy Sci.* 68,1148-1154.
- Rémond, B.; Cisse, M.; Ollie, r A.; Chilliard, Y.** (1991). Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two levels of energy concentrate. *J Dairy Sci* 74:1370-1381.
- Roberts, A. J.; Nugent, R. A.; Klindt, J.; Jenkins, T. G.** (1997) Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* 75, 1909-1917.
- Ropstad, E.; Halse, K.; Refsdal, A.O.** (1989). Variations in parameters of liver function and plasma progesterone related to underfeeding and ketosis in a dairy herd. *Acta Vet Scand.* 30:185-197.
- Ruegg, P.L.; Goodger, W.J.; Holmberg, C.A.; Weaver, L.D.; Huffman, E.M.** (1992). Relation among body condition score, milk production, and serum urea nitrogen and cholesterol concentrations in high-producing Holstein dairy cows in early lactation. *Am J Vet Res.* 53,1: 5-9.
- Shaffer, L.; Roussel, J.D.; Koonce, K.L.** (1981). Effects of age, temperature, season, and breed on blood characteristics of dairy cattle. *J Dairy Sci.* 64:62-70.
- Spicer, L. J.** (2001) Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Dom. Anim. Endocr.* 21, 251-270.
- Spicer, L. J.; Alpizar, E.; Echterkamp, S. E.** (1993) Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. *J. Anim. Sci.* 71, 1232-1241.
- Spicer, L. J.; Enright, W. J.; Murphy, M. G.; Roche, J. F.** (1991) Effects of dietary intake on concentrations of insulin-like growth factor-I in plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers. *Dom. Anim. Endocr.* 8, 431-437.
- Spicer, L. J.; Tucker, W. B.; Adams, G. D.** (1990) Insulin-like growth factors in dairy cows: relationship among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behavior. *J. Dairy Sci.* 73, 929-937.
- Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. *J Dairy Sci.* 1990 Apr;73(4):938-947.
- Tamminga, S.; Luteijn, P.A.; Meijer, R.G.M.** (1997). Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livest. Prod. Sci* 52, 31-39.
- Taylor, V.J.; Beever, D.E.; Bryant, M.J.; Wathes, D.C.** (2003). Metabolic profiles and progesterone cycles in first lactation dairy cows. *Theriogenology* 59: 1661-1677.
- Tonks ,D.B.** (1963). A study of the accuracy and precision of clinical chemistry determinations in 170 Canadian Laboratories. *Clin. Chem.* 9: 217-233
- Vazquez-Añon, M.; Bertic, S.; Luck, M.; Grummer, R.R.** (1994). Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J Dairy Sci.* 77:1521-10528.
- Verité, R.; Chilliard, Y.** (1992) Effect of age of dairy cows on body composition changes throughout the lactation cycle as measured with deuteriated water. (1992). *Ann Zootech* 41:118.
- Wathes, D.C.; Taylor,V.J.; Cheng, Z.; Mann, G.E.** (2003). Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reproduction Supplement* 61: 1-19.
- Whitaker, D.A.; Goodger, W.J.; Garcia, M.; Perera, B.M.A.O.; Wittwer, F.** (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Prev Vet Med.* 38:119-131.
- Wittwer, F.; Bohmwald, H.; Contreras, P.; Phil, M.; Filoza, J.** Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile. *Arch Med Vet (Chile)* 19; 35-45.

Caracterización zootécnica del cerdo pelón mexicano explotado en un centro de conservación genética

Cetz, F.¹; Irigoyen, J.¹; Sierra, A.²; Medrano, A.³

RESUMEN

El fin del presente trabajo es evaluar los parámetros productivos y reproductivos del cerdo Pelón Mexicano que se explota en el estado mexicano de Yucatán, para contribuir en el estudio de su caracterización y apoyar el programa de rescate y conservación genética que se realiza a su favor. La piara consta de 20 hembras y 5 sementales y se utilizó la información de 92 lechones. La alimentación es a base de concentrados complementado con frutas, hortalizas y restos de cocina. El estro se detecta a través de un programa de control de celos y no se apoya a la hembra durante el parto. Los lechones se identifican y se pesan en las primeras 24 horas postparto y después se continúan pesando hasta los 120 días de edad. Los resultados se analizan mediante estadística descriptiva y se construye una curva de crecimiento. El peso vivo promedio al nacimiento va de 860 g a 9.6 kg a 120 días de edad, mientras que el crecimiento diario promedio va de 66 a 83 g en función de la edad. La fecundidad global (94.8%), días abiertos (68), e intervalo entre partos (175.4 días) son óptimos, mientras que el tamaño de camada (5.7) y peso de camada al nacimiento (4.9 kg) son inferiores a los valores reportados para el cerdo Pelón en otras regiones de México. El cerdo Pelón en Yucatán presenta un crecimiento lineal aunque lento en los primeros cuatro meses de vida. El destete brusco sin alimentación previa controlada provoca una caída del crecimiento en los primeros 15 días postdestete. Las hembras presentan poca aptitud productiva pero con cualidades reproductivas rescatables.

Palabras clave: Raza local, Conservación genética, Caracterización.

SUMMARY

The objective of this work is to assess both productive and reproductive parameters from Mexican hairless pig raised in Yucatan (Mexico), to contribute to the study of the physical characterization and to support the programme of rescue and genetic preservation of this breed. Twenty females, 5 boars and 92 piglets were considered for this study; feeding is based on commercial concentrate supplemented with fruits, some vegetables and human food rests. An oestrus control programme is carried out to detect it; sows do not receive any human assistance during farrowing. Piglets are identified and weighted within the first 24 hours post delivery and periodically until 120 days old. Results are analyzed by descriptive statistics and a growth curve was built. The mean live weight at birth is 0.86 kg and 9.6 kg at 120 days of age; the mean daily gain is in the range from 66 to 83 g depending on their age. Some parameters showed optimal values: fertility (94.8%), open days (68), interval between births (175.4 days); in contrast, litter size (5.7) and litter weight (4.9 kg) are smaller than those values reported for hairless pig in other areas of Mexico. Mexican hairless pig from Yucatan shows a linear, although slow, growing during the first 4 months of age. A sudden weaning, without previous control of feeding, causes a drop on growing during the first 15 post weaning days. Sows show poor productive performance but they have reproductive qualities that may be rescued.

Key words: Local breed, Genetic conservation, Characterization.

INTRODUCCIÓN

La carne de cerdo se ha posicionado en la primera preferencia de la población mundial, y es considerada junto con la de pollo la de mayor consumo global, representando ambas el 44% (García, 2002). La carne de cerdo representa una fracción importante en la dieta del mexicano, especialmente en las poblaciones de la Península de Yucatán (López *et al.*, 1999). En México en la década de los ochentas la población porcina explotada corres-

pondió al sistema familiar o de traspatio en más de un 50 a 60%, actualmente, dicho porcentaje ha disminuido, entre las principales causas sobresale la presión económica y la acelerada presión demográfica que ha acontecido en los últimos años (FAO, 1997). Este fenómeno, a su vez, ha orientado a la producción porcina hacia la obtención de carne magra y al empleo de animales de razas y líneas genéticas mejoradas genéticamente, lo cual le ha restado importancia a la pro-

ducción tradicional de traspatio (García, 2002). La población porcina de traspatio juega un papel fundamental en todo el mundo, los cambios climáticos y la contaminación, han orillado a los investigadores de todas las naciones a tomar medidas drásticas sobre el tema y hacer conciencia sobre este fenómeno. Para ello, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), hace un fuerte llamado a los países para que se unan a los progra-

¹Estudiante de licenciatura en agronomía Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2. Km 16.3 carretera Mérida-Motul. Conkal, Yucatán, México.
E-mail fmes0377@hotmail.com

²Unidad de Postgrado Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2.

³Facultad de Estudios Superiores – Cuautitlán, UNAM.

mas de Rescate y Conservación de los Recursos Zoogenéticos, especies domésticas que día con día se van extinguiendo (FAO, 1997; CONABIO, 1998; Tornero *et al.*, 2003). En este sentido, en la Península de Yucatán se cuenta con el Cerdo Pelón Mexicano, genotipo domesticado caracterizado por su gran rusticidad que aprovecha una gran variedad de alimentos locales, además presenta alta resistencia al medio y a las enfermedades. Sin embargo, ante el crecimiento de la industria porcina con razas selectas acontecidas en los últimos 30 años en Yucatán, este genotipo ha venido disminuyendo su población hasta reportarse en peligro de extinción (Sierra, 2003), aunado a esto, es clara la falta de trabajos de investigación en este genotipo que permitan su caracterización, y por ende fomenten su importancia. Ante ello se cuenta con un programa de rescate y conservación genética, que consta de cuatro etapas íntimamente relacionadas, la segunda de ellas contempla la caracterización zootécnica de la población de cerdos Pelón en el estado mexicano de Yucatán. Se evalúa el comportamiento del crecimiento en los lechones durante el periodo de lactancia y postdestete, así como los parámetros reproductivos más importantes de las hembras que conforman el núcleo principal del centro de rescate.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la Unidad de Producción e Investigación Agrícola y Pecuaria del Instituto Tecnológico Agropecuario No 2, de Conkal, Yucatán, México. Ubicada en el km 3 de la carretera Conkal-Chablekal, la cual se encuentra a 20° 06' N y 89° 29' O, con una altitud de 7 msnm. El clima predominante es el cálido subhúmedo, con lluvias en verano (Awo) (X')(f)(gi), con una temperatura media anual de 26.5°C y una precipitación media de 900 mm, de las cuales aproximadamente el 80% se presenta entre los meses de mayo y septiembre (García, 1981). Para este experimento se registraron un total de 18 camadas en hembras de genotipo cerdo Pelón Mexicano (*Sus scrofa*), que integran el núcleo base del centro de rescate. Se utilizó la información de 92 lechones que nacieron en el periodo comprendido del 9 de octubre del 2003 al 02 de julio del 2004.

De los cuales 50 fueron machos y 42 hembras. El destete ocurrió en los primeros 45 días de edad. La piara estuvo compuesta de 20 hembras y 5 sementales. El régimen alimenticio del pie de cría consistió en el suministro de un concentrado con 13 % de PC y 2.0 Mcal. de EM, más frutas, hortalizas y restos de cocina como complemento. El estro se detectó a través de un programa de control de celos, el diagnóstico de gestación se realizó a los 21 días postservicio, las hembras gestantes se separaron en corrales individuales y se vigilaron estrictamente. Los partos ocurrieron sin ayuda y solamente al finalizar este se realizó un pequeño manejo. En las primeras 3 horas de nacidos los lechones recibieron su primer pesaje, inmediatamente, se recortó el cordón umbilical (dejando un trozo de una pulgada) sin atarlos. Posteriormente fueron tratados con tinctura de yodo (solución al 2%). El siguiente manejo consistió en cortar los dientes aciculares o lupinos, localizados a los lados de los maxilares superior e inferior, con dos de ellos arriba y dos abajo en cada lado de la cabeza. Enseguida, se identificaron mediante el sistema de muescas en ambas orejas (Buitrago, 1977; Richard, 1989). A los tres días se les aplicó una inyección intramuscular de hierro de 200 mg y, posteriormente se pesaron a los 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 y 135 días; con previo ayuno de 12 horas.

Para determinar el peso vivo de los lechones se utilizó una balanza tipo romana (capacidad de 20 kg). Para el registro de la información se utilizó una cédula de campo y formatos de registros para los lechones y para las hembras. Se utilizaron dos tipos de alimento comercial para los lechones predestete (20% PC) y para los cerdos después del destete (16%). La alimentación en los lechones fue a libre acceso hasta los 45 días de edad, posteriormente se proporcionó alimento restringido hasta los 135 días de edad más verduras, hortalizas y restos de comida. Las variables de estudio para los cerdos antes y después del destete fueron: Peso al nacimiento (PN), 15 (P15), 30 (P30), 45 (P45), 60 (P60), 90 (P90) y 120 (P120) días de edad. También se determinó la ganancia media diaria del nacimiento a 15 días (GMD PN-

15), de 15 a 30 (GMD15-30), de 30 a 45 (GMD30-45), de 45 a 60 (GMD45-60), de 60 a 75 (GMD60-75), de 75 a 90 (GMD75-90), de 90 a 105 (GMD90-105) y de 105 a 120 (GMD105-120) días de edad. En el caso de las hembras se estimó el peso de camada al nacimiento, tamaño de camada, peso de camada al destete, porcentaje de fecundidad global, intervalo entre partos, días abiertos y porcentaje de mortalidad predestete.

La ganancia media diaria se estimó considerando los pesos así como el tiempo transcurrido según periodo de estudio, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$GMD = (PF - PI) / n$$

Donde:

GMD = Ganancia Media Diaria

PF = Peso final

PI = Peso inicial

n = Número de días transcurridos en el período.

Los días abiertos se calcularon tomando en cuenta la fecha de parto en las hembras y la fecha en que fueron preñadas nuevamente. El porcentaje de fecundidad se calculó tomando en cuenta el número de hembras gestantes y el número de hembras cubiertas, según la expresión propuesta por Buxadé y Pérez (1995):

$$\% \text{ de Fecundidad} = \frac{\text{No. Hembras Gestantes}}{\text{No. Hembras Vacías}} \times 100$$

El período interparto se determinó considerando el número de días transcurridos entre parto y parto, la mortalidad predestete se calculó en base al número de lechones nacidos vivos respecto al número de lechones destetados. Se calcularon los estadísticos descriptivos más importantes (media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación) utilizando el programa de Estadística Parawindows en su versión 5.0.

RESULTADOS

El Cuadro 1 muestra los estadísticos descriptivos para los pesos obtenidos en cerdos Pelón en crecimiento de manera general y diferenciado por sexo. El peso promedio osciló desde 860 g al nacimiento hasta 9.6 kg a los cuatro meses de edad, obteniéndose 900 g de más a los 60 días de edad con respecto al período anterior (45 días), sin embargo resultó ser la ga-

Cuadro 1. Evolución del peso vivo en cerdos Pelón Mexicano.

Variable	$\bar{X} \pm \text{d.e.}$	\bar{X} MA	\bar{X} HE
PN (g)	0.86 ± 0.12	0.906	0.807
P15 (kg)	1.86 ± 0.21	1.921	1.797
P30 (kg)	2.9 ± 0.26	2.925	2.866
P45 (kg)	4.0 ± 0.27	4.025	3.983
P60 (kg)	4.9 ± 0.22	4.921	4.875
P90 (kg)	7.2 ± 0.33	7.186	7.140
P120 (kg)	9.6 ± 0.22	9.676	9.607

\bar{X} = media aritmética, d.e. = desviación estándar, MA = machos, HE = hembras

nancia de peso más baja conseguida frente a todos los periodos de estudio. Indudablemente existió una diferencia de peso a favor de los cerdos machos frente a las hembras, en todos los periodos evaluados, sin embargo, tal diferencia se redujo aproximadamente en un 50 % conforme crecieron los cerdos hasta los cuatro meses de edad.

La Figura 1 ilustra el comportamiento del crecimiento que mostraron los cerdos Pelón Mexicano desde el nacimiento hasta los cuatro meses de edad. Se aprecia en términos generales un crecimiento lineal desde el nacimiento con 66 g diarios, hasta 83 g a los 120 días de edad. Sin embargo, de los 45 a los 60 días hubo

un ligero descenso de 9 g diarios respecto al primer periodo de estudio (GMD PN-15).

El Cuadro 2 muestra algunas características productivas y reproductivas de las hembras pie de cría que conforman el núcleo de rescate y conservación genética. Los parámetros fecundidad, intervalo interparto, días abiertos y mortalidad predestete son óptimos, mientras que el peso de camada al nacimiento y destete y tamaño de camada son inferiores.

DISCUSIÓN

Lemus *et al.* (2003) en cerdo Pelón Mexicano encontraron pesos promedio al nacimiento de 1.01 kg y al destete de

Cuadro 2. Parámetros Productivos y Reproductivo en Hembras Pelón Mexicano.

Variable	\bar{X}
Peso camada nacimiento (kg)	4.9
Tamaño de camada	5.7
Peso camada destete (kg)	18
% de Fecundidad	94.8
Intervalo interparto (días)	175.4
Días abiertos	68
% Mortalidad predestete	22

\bar{X} = media aritmética

5.28 kg con destetes a 38.90 días, que son superiores a los reportados en el presente trabajo, tal diferencia se puede atribuir al manejo intensivo que utilizaron dichos autores. También Rico *et al.* (2000) en cerdo criollo cubano encontraron pesos al nacimiento de 1.39 kg y al destete de 6.8 kg (destete a 43 días). Barba *et al.* (2000) en cerdo Ibérico obtuvieron pesos al nacimiento de 1.37 a 30 días de 13.49 y a 60 días de 20.78 kg, estos cerdos fueron manejados intensivamente y además el pie de cría es seleccionado genéticamente.

Los valores para el tamaño de camada encontrados por Espinosa *et al.* (1998), Vásquez *et al.* (1972), Romano *et al.* (1980) y Castro *et al.* (1981), citados por López, Sierra *et al.* (2002) y Rico *et al.* (2000) fueron en promedio de 5.5, 8.2, 7.08 y 7.01, 5.7, y 7.4 lechones por camada respectivamente. El porcentaje de fecundidad encontrado es similar al

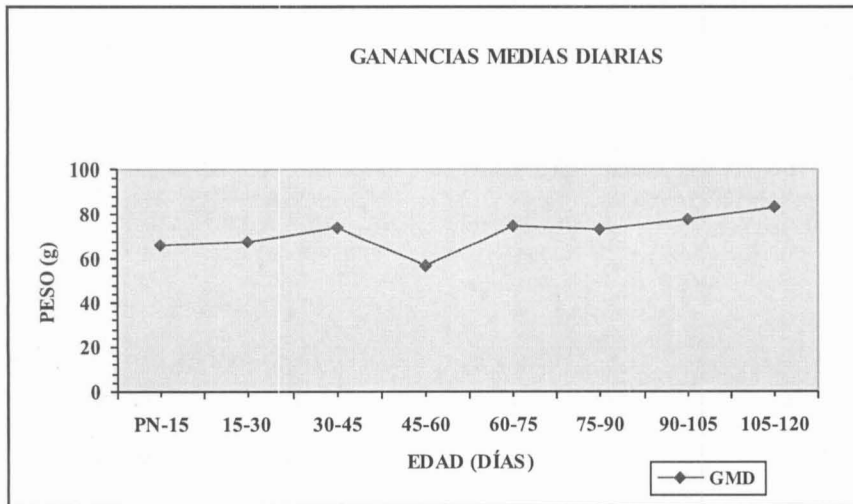


Figura 1. Curva de Crecimiento en Cerdos Pelón Mexicano del Nacimiento a los Cuatro Meses de Edad.

obtenido por Sierra *et al.* (2002) en cerdos Pelón Mexicano y superior al reportado para algunas razas selectas. El intervalo interparto es similar al obtenido por Sierra *et al.* (2002) en cerdos Pelón Mexicano pero mayor al reportado para las razas mejoradas. Los días abiertos obtenidos son inferiores a los que obtuvo Sierra *et al.* (2002) en cerdos pelón mexicano pero mayores a los periodos reportados para las razas mejoradas. La mortalidad predestete obtenida fue inferior a la obtenida por Sierra *et al.* (2002) en cerdos Pelón Mexicano.

CONCLUSIONES

La evolución del peso vivo en cerdos Pelón Mexicano del nacimiento a los cuatro meses es ascendente aunque lenta en

función de la edad, los machos presentan los valores más altos respecto a las hembras, aunque dicha diferencia disminuye después del destete (45 días de edad) por efecto del mismo y por cuestiones de manejo alimenticio.

El crecimiento de los cerdos desde el nacimiento a los cuatro meses de edad es lineal y ascendente, sin embargo, el efecto del destete (brusco) y la falta de un buen manejo alimenticio predestete provocan una disminución del crecimiento que se recupera lentamente conforme a la edad.

La ganancia diaria de peso promedio predestete es de 69.3 g mientras que la postdestete de 73.2 g.

Queda claro por un lado como el cerdo Pelón Mexicano presenta baja habilidad

productiva, sin embargo, sus cualidades reproductivas son incuestionables.

Agradecimientos

Al Fondo Sectorial CONACYT-SAGARPA por financiar el proyecto del presente trabajo.

Al Subprograma XII-H de la red Iberoamericana CYTED por darnos las facilidades para la participación de sus integrantes y para publicar estos resultados en sus eventos científicos.

Al Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica (COSNET) y a la Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria (DGETA), por participar en la financiación de este proyecto.

Referencias Bibliográficas

1. Barba, C.; Delgado, J.; Sereno, E.; Dieguez, E y Cañuelo, P.(2000). Caracterización Reproductiva de las variedades del cerdo Ibérico. II Estudios preliminares del peso al nacimiento y pesos a las primeras edades. Archivos de zootecnia. Universidad de Córdoba . 49:189-194.
2. Battaglia, A.; Vermon, R.; Magruse, B. (1989). Técnica de manejo para ganado y aves de corral (bovino, equino, ovino, porcino, caprino y aves) Ed Limusa Noriega. Segunda edición. México. Pag 235-282.
3. Lemus, F.C.; Alonso, M.; Alonso-Spilsbury; Ramirez, N. (2003) Reproductive performance in mexican natives pigs. Archivos de zootecnia. Universidad Autónoma de Nayarit (FMVZ). UNAM. Departamento de producción Agrícola y Animal. Universidad Metropolitana - Xochimilco. 52:109-112
4. Buitragua, J. A. (1977). Sistema de producción de cerdos lactantes y lechones. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Serie ES-26. Colombia.
5. Buxadé, C. (1995). Zootecnia. Bases de Producción Animal. Estructura, etnología, anatomía y fisiología. Tomo I. pp331.
6. Buxadé, C.; Pérez, T. 1995. Reproducción y alimentación. Tomo II. Ed. Mundi Prensa. España. 334 PP.
7. CONABIO (1998). La diversidad biológica de México, estudio del país. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. Pag. 62-114.
8. García, R.; García D.; Valdivia, A; Guzmán, S. (2002) el mercado de la carne de porcino en canal en México 1960-2000. Colegio de Postgraduados (CP). Instituto de Estadística e Informática Especialidad en Economía (I.S.E.I.). México. Pag 1-7 y 27-35.
9. García, E. (1981). Modificaciones al sistema de clasificación de Cöppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía. UNAM. 252 pp.
10. López M, J.R.; Martínez R. Y Salinas G. 1999. El cerdo pelón mexicano. Antecedentes y perspectivas. Ciencia y cultura Latinoamérica, S.A. de C.V. Méxic.p 78.
11. Rico, C.; Roque, R.; Mara, M. (2000). Comportamiento de la camada hasta el destete en un rebaño de cerdos criollos en cuba. Revista cubana ciencias agrícolas. La Habana Cuba. 34:193-199.
12. Santana, I.1999. Integración del cerdo criollo a los sistemas de explotación porcina. Instituto de investigaciones porcinas. Cuba.
13. Sierra, V.; Avila, C.H.; Ortíz, O. J.; Marrufo, A. D. (2002). El cerdo pelón Mexicano: avances del programa de conservación genética de una raza en peligro. XIV Congreso de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agropecuario Durango, Dgo. ITA No 2. Conkal. Yucatán.
14. Sierra, V. A.; Cen, A. F.; Rodríguez, C. R. ; Delgado, B. J., Martínez, M. A.; Canul, S.M. (2003). The mexican hair less pig: Programme of Genetic Conservation of an endangered breed. Archivo de zootecnia. 52:279-284.
15. Tornero, C.; López, O.; Aragón, G. (2003). Agricultura; ambiente y desarrollo sustentable. Benemérita Universidad de Puebla. Cuerpo Académico de Ciencias. Ambientales y Agricultor, Puebla, Puebla, México. Pag.3-17

Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes de *CSN3* y Lactoglobulina B en un rodeo de bovinos Criollos en Argentina

Poli, M.A. ; Holgado, F.D. ; Rabasa, A.E.

RESUMEN

Una de las características del bovino Criollo de Argentina es la gran adaptación a diferentes ambientes y su variabilidad genética, por lo que constituye un recurso valioso para llevar a cabo planes de mejoramiento hacia producciones especializadas. En bovinos, está suficientemente documentado los efectos de las variantes genéticas de las proteínas de la leche sobre las propiedades en la manufactura y rendimiento quesero. En este trabajo se describen las frecuencias genotípicas y alélicas para el gen de la caseína K (*CSN3*) y de la lactoglobulina B (β -Lg) en un rodeo de bovinos Criollos, y se analiza su evolución desde la década del 80 a la fecha.

Los genotipos se determinaron por la técnica de PCR-RFLP en 89 vacas Criollas. Las frecuencias alélicas para el gen *CSN3* fueron: alelo A (0,70) y alelo B (0,30) y para el gen β -Lg fueron: alelo A (0,36) y alelo B (0,64). Con el objeto de constituir un núcleo "elite" con altas frecuencias para el gen *CSN3*, se simula la evolución de las frecuencias alélicas, a través de apareamientos dirigidos. Luego de cinco años, con una reposición del 10% de las hembras y de la utilización de toros homocigotas B/B, las nuevas frecuencias serían: *CSN3* A=0,08 y B=0,92. Asumiendo que el alelo B del gen *CSN3* incrementa el rendimiento quesero en un 5%, el aumento neto en este rodeo, luego de cinco años, sería de 3,1 %.

Palabras clave: caseínas lactoglobulinas frecuencias genotípicas bovinos Criollos.

SUMMARY

The Creole cattle in Argentina is well adapted to different environments and its genetics variability become a valuable genetic resource to implement breeding programs. The effects of milk proteins allelic variants on rheological and yield cheese is well documented in cattle. In this paper we describe the genotype and allelic frequencies of K casein (*CSN3*) and B Lactoglobulin (β -Lg) and we simulate the allelic frequencies changes in five years after a assortative mating system. The DNA of 89 cows was extracted by conventional methods and the PCR-RFLP technique was used to genotype animals. The allelic frequencies for *CSN3* gen were: A (0,70), B (0,30) and for β -Lg gen A (0,36) and B (0,64). After five years by assortative mating with *CSN3* B/B bulls and 10 % of replacement with B/B heifers the *CSN3* allelic frequencies will be A=0,08 y B=0,92. Assuming that the *CSN3* B allele increase the yield cheese about 5% the net yield after five years with this scheme, the cheese yield could be increased to 3,1 %.

Key words: casein lactoglobulin genotypic frequencies Creole cattle.

INTRODUCCIÓN

La importancia de los recursos zoogenéticos comenzó a ser enfatizada por la FAO, a nivel mundial, desde principios de los '80. Los bovinos son una parte fundamental para la mayoría de los sistemas agropecuarios, en especial para pequeños productores para los cuales la vaca forma parte de su economía de subsistencia.

El tipo de material genético requerido en los diversos ambientes y sistemas difiere dentro del país y entre regiones. Sin embargo, el mejoramiento animal enfati-

zó el desarrollo de una o pocas razas a expensas de otras. Este desarrollo genético fue hecho en sistemas de producción con altos insumos para altas producciones. Peor aún, este material genético muy especializado fue introducido a menudo muy rápidamente a sistemas de producción con bajos insumos y alto impacto ambiental (i.e. temperaturas extremas, humedad, parasitosis, etc.), produciendo en la mayoría de los casos el deterioro de las razas locales bien adaptadas y en definitiva un beneficio neto menor.

El bovino Criollo de Argentina es el que descende de los primeros bovinos traídos por los españoles durante el período de colonización y que luego de más de 400 años de selección natural se adaptaron a todo el país, desde el norte con clima subtropical hasta el sur patagónico.

En Argentina, el ganado bovino Criollo principalmente de la región pampeana, fue cruzado con razas de origen británico hacia fines del siglo XIX y desplazado hacia regiones marginales donde los bovinos importados no podían sobrevivir.

¹Instituto de Genética, CICVyA-INTA, cc 25, 1712, Castelar, Argentina. Tel.: 54 11 44500805. E-mail: mpoli@cniia.inta.gov.ar.

²CER Leales-INTA. Argentina.

³CONICET-Fac. de Agr. y Zootecnia, UNT, Argentina.

Una de las principales características del ganado bovino Criollo de Argentina es su gran variabilidad (i.e. diferentes colores de capa, polimorfismos genéticos) (10,12), lo que permitiría conducir planes de mejoramiento adecuados a las necesidades locales y dentro de la raza hacia un tipo de producción especializada, como por ejemplo "leches de calidad diferenciada".

La concentración de las proteínas de la leche es una de las principales variables que determina el rendimiento quesero. Aunque son varios los factores que influyen en la misma, tales como: alimentación, estado de salud, lactancia, época del año, etc., hasta el momento, la mejor opción para mejorar el nivel de las proteínas de la leche de una manera estable es por medio de la genética.

Numerosas investigaciones han demostrado que cuando se incrementa la cantidad de litros de leche por vaca, disminuye el porcentaje de la grasa y de las proteínas. Los minerales y la lactosa casi no sufren modificaciones. Existe una tendencia mundial a revertir este proceso y en la obtención de leches de calidad ricas en proteínas y con menores tenores de grasa.

En este trabajo se describen las frecuencias genotípicas y alélicas para el gen de la caseína K (*CSN3*) y de la lactoglobuli-

na B (β -Lg) en el rodeo actual de bovinos Criollos del Campo Experimental Regional (CER) de INTA en Leales (Tucumán, Argentina). Dado que este estudio se había realizado con anterioridad en dos oportunidades, se analiza la evolución de las frecuencias génicas en los últimos veinte años. Teniendo en cuenta la influencia del alelo B del gen *CSN3* sobre el porcentaje de proteínas y el rendimiento quesero, se simula la evolución de las frecuencias alélicas de este gen con el objeto de constituir un rodeo "elite" con altas frecuencias del alelo B y se estima el incremento neto en el rendimiento quesero.

PROTEÍNAS DE LA LECHE: GENÉTICA, ANTECEDENTES

Las principales proteínas de la leche son las cuatro caseínas (α s1; α s2; β y κ) y las dos proteínas del suero (β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina).

Las caseínas, también llamadas proteínas del queso, constituyen el 80 % del total de las proteínas de la leche. Las caseínas se agrupan en pequeñas partículas esféricas conocidas como micelas. La *CSN3* es la responsable de la estabilidad micelar y su proporción determina el tamaño de las micelas, por lo tanto estos componentes tienen una incidencia importante en las propiedades que-

seras de la leche: micelas pequeñas aumentan la velocidad de coagulación y producen una cuajada mas firme.

Todas estas proteínas tienen variantes genéticas que son transmitidas por simple herencia mendeliana sin dominancia.

La posibilidad de usar las variantes de las proteínas de la leche como herramientas de la selección para predecir el valor de un individuo, ha conducido a nivel mundial a numerosos estudios.

La revisión bibliográfica demuestra que los resultados son heterogeneos relacionando las variantes proteínicas y producción total de litros de leche. Sin embargo, los efectos de las variantes genéticas sobre las propiedades en la manufactura de quesos fue siempre consistente y existen relaciones definitivamente positivas entre algunas de las variantes y rendimiento de queso. Las leches conteniendo las variantes B de *CSN3* y de β -lactoglobulina mejoran la cantidad de las proteínas y rinde del queso del 6-8 % respecto de las leches que contienen las variantes A.

En los Cuadros 1 y 2 resumen los resultados de las principales investigaciones relacionadas con las proteínas de la leche.

Como la mayoría de los resultados expuestos en los Cuadros 1 y 2 provienen

Cuadro 1. Porcentaje de proteínas.

Estudio	McLean, 1984 (3)	Ng-Kwai-Hang 1984 (8)	Ng-Kwai-Hang 1986 (9)	Aleandri, 1986 (1)	VanEenennaan 1991 (16)
<i>CSN3</i>	ns	** B>A	** B>A	** B>A	B>A
β -Lg	ns	** B>A	** B>A	ns	ns

B>A: B mayor que A

** P< .01, *P< .05,

ns: no significativo

Cuadro 2. Producción de queso.

Estudio	Schaar 1985 (14)	Marziali 1986 (5)	Morini 1979 (7)	Mariani 1976 (4)	Tong 1994 (15)
<i>CSN3</i>	-	** B>A	** B>A	** B>A	** B>A
β -Lg	** B>A	** B>A	-	-	** B>A

B>A: B mayor que A

** P< .05

de estudios comparativos entre leches de vacas con *CSN3* B/B y β -*Lg* B/B versus *CSN3* A/A y β -*Lg* A/A, y otros parámetros fueron medidos, de estos trabajos también se puede resumir que al procesar las leches de los animales con genotipo B/B para ambos genes, éstas presentan las siguientes características: 1.- mayor rendimiento quesero (aproximadamente 6-8 %), 2.- mayor proporción de caseínas (más 6 %), 3.- menor tiempo para la formación de la cuajada (30 %), 4.- mayor estabilidad al calentamiento y 5.- mayor firmeza de la cuajada.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se utilizaron 89 vacas que formaban el rodeo del CER Leales del INTA (Julio 2002). Una muestra de sangre total fue extraída con EDTA disódico como anticoagulante y el ADN fué extraído por técnicas convencionales.

Las variantes alélicas de los genes *CSN3* y β -*Lg* fueron determinadas con la técnica PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphisms) empleando los primers diseñados por Medrano & Aguilar-Cordova, (6). Las frecuencias genotípicas y

alélicas fueron determinadas por conteo directo y las diferencias con las frecuencias de los estudios previos fueron estimadas por un test de independencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias genotípicas y alélicas del presente trabajo (n=89) fueron comparadas con las de trabajos previos en el mismo rodeo que se realizaron a partir de la década del 80 (2, 12, 15). En los Cuadros 3 y 4 se muestran las frecuencias genotípicas y alélicas para los genes *CSN3* y β -*Lg*, respectivamente.

Las frecuencias alélicas no fueron significativamente diferentes entre los trabajos para el gen de la *CSN3* ($X^2 = 4,57$; $GL=6$, n.s.). Sin embargo, para el gen β -*Lg* se observa un decrecimiento de la frecuencia de alelo A causada por la disminución de los homocigotas A/A y Heterocigotas A/B ($X^2 = 71,01$; $GL=6$, $P<0.05$) (Cuadro 4). Probablemente como sucede en grupos de animales con apareamientos dirigidos y número reducido de machos, el efecto de algún padre homocigota B/B haya sido de alta influencia.

En base a la información de el Cuadro 3, se simuló la evolución en un rodeo

(n=100) para el gen de la *CSN3* dando comienzo en julio del año 2002 y con el objeto de constituir un núcleo "elite" con altas frecuencias del alelo B para el gen *CSN3* en una primera etapa. Los supuestos que se mencionan a continuación se ajustaron a las normas de manejo del CER Leales y disponibilidad de animales para un período de 5 años:

- 1.- se conoce el genotipo de todos los animales,
- 2.- reposición del 10 % de hembras con genotipo B/B,
- 3.- uso de toros B/B y
- 4.- anualmente genotipado de 100 animales.

El Cuadro 5 muestra la distribución y evolución de los tres genotipos en el rodeo y en la Figura 1 se muestran los cambios en las frecuencia alélicas a través de los años.

Con el estado actual del rodeo y una inversión tota de 800 genotipos, en 5 años se incrementaría la frecuencia del alelo B de *CSN3* en un 62 %.

Asumiendo que el alelo B incrementa el rendimiento quesero en un 5 %, el aumento neto en este rodeo sería del 3,1 %.

Cuadro 3. Frecuencias genotípicas y alélicas en el gen *CSN3*.

Raza	Genotipos			Alelos	
	AA	AB	BB	A	B
Criollo (actual)	0,483	0,427	0,090	0,70	0,30
Criollo (11)	0,559	0,385	0,056	0,75	0,25
Criollo (13)	0,500	0,441	0,059	0,72	0,28

Entre paréntesis se referencia el origen de los datos.

Cuadro 4. Frecuencias genotípicas y alélicas en el gen β -*Lg*.

Raza	Genotipos			Alelos	
	AA	AB	BB	A	B
Criollo (actual)	0,114	0,489	0,397	0,36	0,64
Criollo (11)	0,297	0,392	0,310	0,49	0,51
Criollo (2)	0,144	0,557	0,299	0,42	0,58

Entre paréntesis se referencia el origen de los datos.

Cuadro 5. Evolución de las frecuencias genotípicas para el gen *CSN3*.

Año/Rodeo Base (n=100)	Genotipos		
	AA	AB	BB
Julio2002	48	43	9
Nov/Dic02	43	39	18
2003	39	35	26
2004	35	32	33
2005	13	29	58
2006	0	16	84

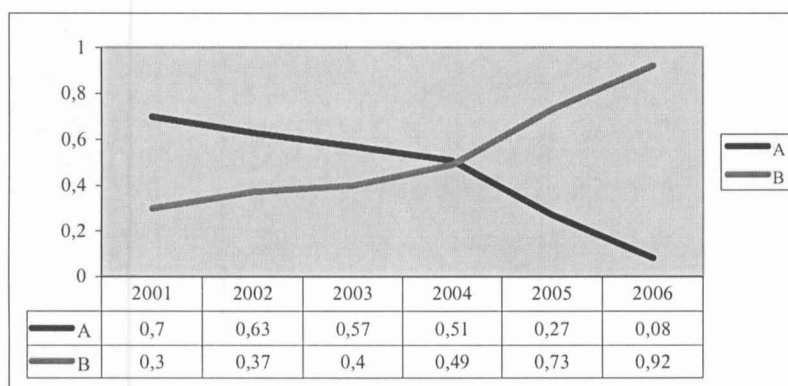


Figura 1. Evolución de las frecuencias alélicas para el gen *CSN3*.

Referencias Bibliográficas

1. Aleandri, R.; Buttazzoni, L.G.; Schneider, J.V.; Caroli, A.; Davoli, R. (1990). The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. *J. Dairy Sci.* 73:241.
2. Fernández, F.M.; Rabasa, A.E.; Sal Paz, F.P. (1986). Variantes genéticas de beta-lactoglobulinas en ganado bovino Criollo. *En: Ganado Bovino Criollo*, pp 159-163. Ed. Subcomité Asesor del Arido Subtropical Argentino de la Secretaría de Ciencia y Técnica y Oprientación Gráfica Editora S.R.L.
3. McLean, D.M.; Graham, E.R.B.; Ponzoni, R.W.; McKenzie, H.A. (1984). Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. *J. Dairy Res.* 51:531.
4. Mariani, P.; Losi, G.; Russo, V.; Castagnetti, G.B.; Grazia, L.; Morini, D.; Fossa, E. (1976). Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A o B della k-caseina nell produzione del formaggio Parmigiano-Reggiano. *Sci. Tecn. Latt. Cas.* 27:208.
5. Marziali, A.S.; Ng-Kwai-Hang, K.F. (1986). Relationship between milk protein polymorphisms and cheese yielding capacity. *J. Dairy Sci.* 69:1193.
6. Medrano, J. F; Aguilar-Cordova, E. (1990). Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *Bio/Technology.* 84:144.
7. Morini, D.; Losi, G.; Castagnetti, G. B.; Mariani, P. (1979). Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della k-caseina: rilievi sul formaggio stagionato. *Sci. Tecn. Latt. Cas.* 30:243.
8. Ng-Kwai-Hang, K.F.; Hayes, J.F.; Moxley, J.E.; Monardes, H.G. (1984). Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 67:835.
9. Ng-Kwai-Hang, K.F.; Hayes, J.F.; Moxley, J.E.; Monardes, H.G. (1986). Relationship between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Frisian cattle. *J. Dairy Sci.* 69:22.
10. Poli, M.A. (1991). Factores sanguíneos: aspectos comparativos en bovinos nativos de Brasil y Criollo de Argentina. Resultados preliminares. *En: Ganado Bovino Criollo. Tomo 2.* pp 77-85. Ed.: Asociación Argentina de Criadores de

Ganado Bovino Criollo y Orientación Gráfica Editora S.R.L.

11. **Poli, M.A.; Antonini, G.** (1991). Genetic structure of milk proteins in Argentinian Holstein and Argentinian Creole cattle. *Hereditas*. 115:177-182.
12. **Rabasa, C.R.; Sal Paz, A.E.; Sal Paz, F.P.; Bergmann, F.J.; Rabasa, S.L.** (1976). Genética de pelajes en bovinos Criollos. *Mendeliana* 1 (2): 81-90.
13. **Sal Paz, A.E.; Fanjul, A.N.; Fernández, F.M.** (1984). Polimorfismo genético de k-caseína y concentración de proteínas lácteas en ganado bovino Criollo. *RANA* 20 (1-4): 63-76.
14. **Schaar, J.; Hanson, B.; Pettersson, H.** (1985). Effects of genetic variants of k-casein and b-lactoglobulin on cheesemaking. *J.Dairy Res.* 52:429.
15. **Tong, P.S.; Vink, S.; Frankye, N.Y.; Medrano, J.F.** (1994). Effect of genetic variants of milk proteins on the yield of Cheddar cheese. *Proc. International Dairy Federation on Cheese Yield and Factors Affecting its Control*, pp 179-187; April 19-21, Cork, Ireland.
16. **Van Eenennaam, A.L.; Medrano, J.F.** (1991). Milk protein polymorphisms in the California dairy cattle population. *J.Dairy.Sci.* 74:1730-1742.

Estudio morfoestructural del ovino Pelibuey en Yucatán

Romualdo, J.¹; Sierra, A.¹; Ortiz, J.¹ y Hernández, J.²

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es estudiar morfoestructuralmente al ovino Pelibuey explotado en Yucatán, para esto, se consideraron la base de datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (estrato I), la Asociación Ganadera Local Especializada de Ovinocultores de Mérida (estrato II) y la Unión Ganadera Local de Tizimín (estrato III). Se midieron 369 ovinos Pelibuey (café, blanco y pinto) y mayores de un año de edad. Se midieron por animal 12 variables morfoestructurales y el peso vivo. Para el análisis de datos se utilizó el programa Statistical Analysis System (SAS). Al estudiar las variables morfoestructurales entre estratos, se observó como los ovinos Pelibuey pertenecientes a los estratos II y III presentaron valores superiores al I, en las variables peso vivo (PV), ancho de cabeza (ACF), longitud de cabeza (LCF), alzada a la grupa (AGR) y diametro longitudinal (DL). Cuando se estudiaron por ecotipos, se encontraron como todas las variables morfoestructurales estudiadas no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). Basándose en los resultados obtenidos se concluye como los ovinos Pelibuey pertenecientes a los estratos II y III mostraron mayor conformación cárnica, esto se debe al mejor manejo zootécnico que recibieron los animales y los productores se encuentran organizados para producir.

Palabras clave: Ovino Pelibuey, Ecotipos, Morfoestructura.

SUMMARY

The objective of this work is to study the morphostructure of Pelibuey sheep grown in Yucatan (Mexico); for this, we took into account the data basis from the Secretariat of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fishing and Feeding (stratum I), the Local Specialized Association of Sheep Breeders of Mérida (stratum II) and the Local Livestock Union of Tizimín (stratum III). Twelve morphostructural variables from 369 Pelibuey sheep (coffee, white and speckled) older than a year were measured on each animal. For the data analysis we utilized the program Statistical Analysis System (SAS). From the morphostructural variables studied among the stratum, we observed that Pelibuey sheep from stratum II and III showed higher values than those from the stratum I: live weight (PV), width of head (ACF), length of head (LCF), height to the rump (AGR) and longitudinal diameter (DL). When animals were separated by ecotypes, we found out that all the variables considered did not show significant differences ($P > 0.05$). Based on these results, we concluded that Pelibuey sheep belonging to the stratum II and III showed a great improvement in their body building. This was due to a better zootechnical management these animals received because the producers are organized to obtain profits from animal production.

Key words: Pelibuey sheep, Ecotypes, Morphostructure.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial existen aproximadamente 450 razas de ovinos, muchos de estas debido a una explotación irracional se encuentran en peligro de extinción, otras están en una etapa de preservación-mejoramiento como es el caso del ovino Pelibuey, donde su estudio morfoestructural es de importancia para conocer su aptitud zootécnica por medio de la toma de medidas corporales (2), y en mejora genética en un futuro será de importancia evaluar sus cruces con razas especializadas de carne con el fin de aumentar su variabilidad de estas últimas (12). En México el ovino Pelibuey es considerado un recurso genético local de las regiones tropicales, a pesar de que este

presenta baja eficiencia terminal en producción de carne ya que nunca se ha sometido a un programa de selección genética, representa una fuente importante de ingresos para algunos productores (5). En Yucatán con el fin de hacerlo más productivo, los productores miembros de asociaciones ganaderas han obtenido sementales mejorados de otras razas (de aptitud cárnica) para realizar cruzamientos con el ovino Pelibuey, aunque mal dirigidos, lo que ha ocasionado su erosión genética y ha modificado así sus características raciales que lo definen (11). Así mismo, la mayoría de los productores seleccionan sus animales tomando en cuenta el color de capa, pensando que existe alguna ventaja productiva-re-

productiva situación que no se ha comprobado. Sin embargo, esto tiene que ser respetado ya que son indicios de pureza racial (3,4,7,10). El objetivo del presente trabajo es estudiar morfoestructuralmente al ovino Pelibuey explotado en Yucatán.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en Yucatán México, para esto, se considero la base de datos de tres fuentes de información del estado: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (estrato I), la Asociación Ganadera Local Especializada de Ovinocultores de Mérida (estrato II) y la Unión Ganadera Local de Tizimín (estrato III). El tamaño

¹Unidad de Posgrado Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2, Conkal, Yucatán, México, Tel. (999) 9-29-79-13. E-mail: sivaac@avantel.net.

²Escuela de Veterinaria Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

de muestra (n) y los productores que proporcionaron los ovinos a medir se determinó con la metodología (Scheaffer et al.) (13). Se midieron 369 ovinos Pelibuey, mayores de un año de edad y que cumplieron para el color de capa con los estándares propuestos por la Asociación Mexicana de Criadores de Ovinos (AMCO) (1). Se midió por animal 12 variables morfoestructurales (cm) de acuerdo con las especificaciones (González) (6) (Hernández *et al.*) (8), siendo: ancho de cabeza (ACF), longitud de cabeza (LCF), alzada a la cruz (ACR), diámetro dorso-esternal (DD), perímetro torácico (PT), diámetro bicostal (DB), longitud de grupa (LG), ancho de grupa (AG), alzada a la grupa (AGR), distancia interesquiática (DI), diámetro longitudinal (DL), perímetro de caña (PC), y peso vivo (PV) (kg). El instrumento que se utilizó para medir diámetros y longitudes fue una cinta inextensible de 1 m de longitud, las anchuras se ocupó una replica de calibrador diseñado artesanalmente a partir de uno original de 72 cm de capacidad, las alzadas se utilizó un bastón zoométrico diseñado artesanalmente a partir de uno original de 1.1 m de altura y una bascula colgante para 100

kg para estimar el peso vivo. Para el análisis de datos se utilizó el siguiente modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + \epsilon_{ijkl}$$

Donde:

y_{ijkl} = Variables de estudio,

μ = Media general,

α_i = Efecto del estrato (I, II y III),

β_j = Efecto del ecotipo (café, blanco y pinto),

δ_k = Efecto del sexo (macho y hembra) y ϵ_{ijkl} = Error observado.

Obteniéndose los estadísticos descriptivos más importantes (media ajustada, desviación estándar y coeficiente de variación) y análisis de varianza. Las variables que presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se sometieron a una comparación de medias corregidas, utilizando la opción LS del programa Statistica Analysis System (SAS) versión 6.1.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se aprecia como en todas las variables morfoestructurales estudia-

das, a excepción de ACR se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$). Los estratos II y III en la comparación de medias se comportaron de la misma manera para PV, ACF, LCF, AGR y DL, siendo superiores y diferentes a los del estrato I. El PV fue la variable que presentó mayor coeficiente de variación (22.9, 27.3 y 19.0) para los estratos I, II y III respectivamente. En el Cuadro 2 se observó como todas las variables estudiadas no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). En el Cuadro 3 se encontró como la única variable que no fue significativa ($P > 0.05$) fue AG. Sin embargo, para el resto de las variables estudiadas se observó diferencias estadísticas ($P < 0.05$) a favor de los machos.

DISCUSIÓN

El máximo valor encontrado en el coeficiente de variación en el estudio por estrato, ecotipo y sexo en la variable PV se le atribuye a un efecto ambiental (2,4). Los ovinos Pelibuey pertenecientes al estrato II y III tuvieron una mejor condición corporal que el I, diferencias que se deben al manejo del rebaño, a la genética de los animales y la unión de los productores para producir ya que el sis-

Cuadro 1. Variables morfoestructurales estudiadas en el ovino Pelibuey por estrato.

Var.	Estrato 1 (n = 115)		Estrato 2 (n = 122)		Estrato 3 (n = 132)	
	X ± D.E.	C.V.	X ± D.E.	C.V.	X ± D.E.	C.V.
PV	38.895 ^b ± 8.930	22.9	42.809 ^a ± 11.71	27.3	42.878 ^a ± 8.14	19.0
ACF	9.171 ^b ± 0.886	9.6	9.583 ^a ± 1.044	10.8	9.547 ^a ± 0.80	8.3
LCF	23.457 ^b ± 2.168	9.2	24.094 ^a ± 2.690	11.1	24.256 ^a ± 1.71	7.0
ACR	63.181 ^a ± 4.867	7.70	64.448 ^a ± 5.032	7.8	63.930 ^a ± 4.28	6.6
DD	28.453 ^c ± 2.748	9.6	29.555 ^b ± 3.064	10.3	30.521 ^a ± 2.64	8.6
PT	78.826 ^c ± 7.653	9.7	81.274 ^b ± 8.206	10.0	84.693 ^a ± 6.68	7.8
LG	21.854 ^b ± 2.139	9.7	22.521 ^a ± 2.189	9.7	22.133 ^{ab} ± 2.19	9.9
AG	16.161 ^c ± 2.156	13.3	17.631 ^a ± 3.105	17.6	16.956 ^b ± 2.05	12.0
AGR	63.61 ^b ± 4.46	7.01	65.32 ^a ± 4.82	7.38	64.95 ^a ± 4.03	6.20
DL	70.436 ^b ± 6.470	9.1	72.575 ^a ± 6.153	8.4	72.446 ^a ± 5.91	8.1
PC	7.937 ^b ± 0.647	8.1	8.210 ^a ± 0.904	11.0	8.083 ^{ab} ± 0.717	8.8

Literales distintas en las filas indican diferencia estadística por corrección de medias al $P < 0.05$. Var. = Variables, n = Número de animales, D.E. = Desviación estándar, C.V. = Coeficiente de variación.

Cuadro 2. Variables morfoestructurales estudiados en el ovino Pelibuey por ecotipo.

Var.	Café (n = 204)			Blanco (n = 82)			Pinto (n = 83)		
	X	D.E.	C.V.	X	D.E.	C.V.	X	D.E.	C.V.
PV	41.011 ^a	8.513	20.7	41.764 ^a	11.24	26.9	41.808 ^a	11.2	27.0
ACF	9.529 ^a	0.947	9.9	9.499 ^a	0.861	9.0	9.273 ^a	0.93	10.1
LCF	24.090 ^a	2.289	9.5	23.906 ^a	2.262	9.4	23.810 ^a	2.08	8.7
ACR	63.717 ^a	4.476	7.0	64.189 ^a	5.001	7.7	63.653 ^a	5.12	8.0
DD	29.422 ^a	2.794	9.4	29.865 ^a	3.223	10.7	29.242 ^a	2.91	9.9
PT	81.350 ^a	7.240	8.9	82.192 ^a	8.314	10.1	81.252 ^a	11.7	14.5
LG	22.047 ^a	2.339	10.6	22.459 ^a	2.269	10.1	22.001 ^a	1.84	8.3
AG	16.769 ^a	2.411	14.3	17.326 ^a	2.906	16.7	16.652 ^a	2.44	14.6
AGR	64.55 ^a	4.27	6.61	64.82 ^a	4.67	7.21	64.51 ^a	4.84	7.50
DL	71.485 ^a	5.941	8.3	71.692 ^a	6.120	8.5	72.280 ^a	7.0	9.6
PC	8.024 ^a	0.693	8.6	8.159 ^a	0.888	10.8	8.046 ^a	0.82	10.2

Literales distintas en las filas indican diferencia estadística por corrección de medias al $P < 0.05$. Var. = Variables, n = Número de animales, D.E.= Desviación estandar, C.V.= Coeficiente de variación.

Cuadro 3. Variables morfoestructurales estudiados en el ovino Pelibuey por sexo.

Var.	Machos (n = 104)			Hembras (n = 265)		
	X	D.E.	C.V.	X	D.E.	C.V.
PV	46.534 ^a	12.966	27.863	36.521 ^b	6.383	17.478
ACF	9.774 ^a	0.921	9.423	9.093 ^b	0.867	9.535
LCF	24.844 ^a	2.520	10.143	23.028 ^b	1.900	8.251
ACR	65.384 ^a	5.690	8.702	62.321 ^b	3.999	6.417
DD	30.223 ^a	3.300	10.919	28.796 ^b	2.684	9.321
PT	83.523 ^a	8.404	10.062	79.664 ^b	7.383	9.268
LG	22.072 ^a	2.748	12.450	21.366 ^b	1.723	8.064
AG	17.152 ^a	2.829	16.494	16.679 ^a	2.412	14.461
AGR	65.883 ^a	5.147	7.812	63.378 ^b	3.989	6.294
DL	73.844 ^a	7.253	9.822	69.794 ^b	5.366	7.688
PC	8.590 ^a	0.896	10.431	7.564 ^b	0.463	6.121

Literales distintas en las filas indican diferencia estadística por corrección de medias al $P < 0.05$. Var. = Variables, n = Número de animales, D.E.= Desviación estandar, C.V.= Coeficiente de variación.

tema de producción fue extensivo en el estrato I, frente al II y III que fueron intensivos y semi-intensivos respectivamente. Estos resultados coinciden con lo que mencionan (Sierra *et al.*) (14), donde resalta que los productores que se encuentran organizados para producir, tendrán un mejor manejo de los animales, lo que se traduce en una mejor alimentación, genética, etc. tal y como sucede con los productores del estrato II y III que son los que pertenecen a alguna asociación. La homogeneidad estadística encontrada al estudiar las variables entre ecotipos se debe a que provienen de un mismo tronco racial que les dio su origen (2, 12). Los machos Pelibuey siempre fueron superiores a las hembras, esto eran lógicos de encontrarlos ya que se deben al dimorfismo sexual que se presenta en los machos (8,11).

Los resultados obtenidos por Ruz (12) en machos, fueron superiores a los encontrados en este estudio en el PV LCF, PT y PC, y la LCF, PT y ACR en hem-

bras. Estas diferencias podrían deberse a que fueron animales de un solo rebaño y al manejo intensivo de los mismos, así como al menor número de animales estudiados.

Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio fueron superiores a los reportados por Castillo *et al.* (3) en machos y hembras en el PV y PT. Dichas diferencias se deben a que fueron animales de menor edad. De la misma manera en hembras los resultados encontrados en el presente estudio fueron superiores a los de Martínez *et al.* (9) para el PV, AG, DL, PT, PA, PC, DE y AGR, a pesar que fueron animales de 5.5 años de edad. De igual forma, fueron superiores a los reportados por Ortiz *et al.* (10) en machos y en hembras para el PV, DL, DD, PT y PC siendo estos animales de un año de edad.

CONCLUSIONES

Los ovinos Pelibuey pertenecientes a los productores organizados (II y III) presentaron una mejor conformación corpo-

ral, respecto a los ovinos Pelibuey de los productores no organizados (I). La homogeneidad morfoestructural encontrada entre los diferentes ecotipos del ovino Pelibuey, nos sugieren que estos ovinos históricamente provienen del mismo tronco racial. Los valores más altos encontrados en las medidas morfoestructurales en machos con respecto a las hembras se debe al dimorfismo sexual que presentan los machos.

Agradecimientos

A los productores de ovinos Pelibuey del estado de Yucatán (México) por habernos brindado todas las facilidades para trabajar con sus animales.

Al Consejo Nacional de Educación Tecnológica (COSNET) por el financiamiento otorgado para la realización del trabajo.

Al Subprograma XII-H de la Red CYTED por las facilidades brindadas en cuanto a la disposición de asesoría por parte de sus investigadores.

Referencias Bibliográficas

1. **Asociación Mexicana de Criadores de Ovino.** (2000). Estándares raciales de ovinos de pelo: Pelibuey, Katahdin, Blackbelly y Santa Cruz. México. 10 pp.
2. **Berruecos, V.; Valencia, Z.; Castillo, R.** (1975). Genética del borrego Tabasco o Pelibuey. *Téc. Pec. Méx.* 29: 59-65.
3. **Castillo, R.; Roman, P.; Berruecos, J.** (1974). Característica de crecimiento del borrego Tabasco; Efecto de la edad y peso al destete y su influencia sobre la fertilidad de la madre. *Téc. Pec. Méx.* 21: 28-32.
4. **Castro, G.; Pliego, C.; Campos, M.** (2000). Determinación de efectos fijos que afectan el peso al nacimiento y peso y ganancia de peso al destete en ovinos Pelibuey blanco, canelo y pinto. Memoria sobre ovinos de pelo del Golfo y Noreste de México: Hacia un programa Nacional de Mejoramiento ovino. Tamaulipas. pp. 360-366.
5. **F.A.O.** (1992). Tecnología para la producción de ovejas tropicales. INIFAP-SARH. Editores; Mérida, México y Santiago, Rep. de Chile. pp. 17-35.
6. **González, E.** (1986). Exterior y calificación de caballos. U.N.A.M. Ed. Esfinge. pp. 271-369.
7. **González, G.; Torres, H.; Becerril, P.; Díaz, R.** (2001). Relación del color del pelaje y factores ambientales con características reproductivas en ovejas tropicales. *Agrociencia.* 35: 41-50.
8. **Hernández, J.** (2000). Caracterización etnológica de las cabras criollas del sur de puebla, (México), (Tesis doctoral). Universidad de Córdoba. Córdoba. España. 320 pp.
9. **Martínez, M.; Bores, R.; Castellanos, A.** (1987). Zoometría y predicción de la composición corporal de la borrega Pelibuey. *Téc. Pec. Méx.* 25(1):72-84.
10. **Ortiz, O.; Pacheco, A.; Ojeda, C.** (2000). Crecimiento corporal de machos y hembras Pelibuey a través de medidas zoométricas. Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios Chiapas. pp. 201-205.
11. **Romualdo, J.** (2002). Caracterización Etnológica del Ovino Pelibuey en Yucatán. (Tesis maestría). Instituto Tecnológico Agropecuario No.2, Conkal, Yucatán. México. 135 pp.
12. **Ruz, J.** (1966). Estudio del ovino tropical "Pelibuey" del sudeste de México y sus cruza con ovino Merino. (Tesis de licenciatura). Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México. 56 pp.
13. **Sheaffer, L.; Mendehall, W.; Ott, L.** (1987). Elementos de Muestreo. Editorial; Iberoamericana. México. D. F. pp. 55-80.
14. Sierra, A.; Pérez, F.; Gutiérrez, I.; Jun. J.; Romualdo, J. (2001). Sistema de producción del ovino Pelibuey: Avances preliminares. II Simposio Iberoamericano sobre Conservación de Recursos Genéticos Locales y el Desarrollo Rural Sostenible. Coro, Venezuela. pp. 56.

Evaluación andrológica de reproductores bovinos de razas naturalizadas brasileñas¹

Dode, M.A.N.¹; Silva, T. A.S. N.¹; Melo, N. S.S.¹; Martins, C.F.^{1,2}

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo realizar evaluación andrológica en toros de razas naturalizadas brasileñas y evaluar las características seminales después de la criopreservación. Fueron utilizados animales de las razas Pantaneira, Junqueira, Crioulo Lageano, Mocho Nacional y Curraleira. La motilidad individual y en masa, vigor y porcentaje de células con cromatina íntegra fue semejante para todos los animales. Con excepción de los animales de las razas Pantaneira y Curraleira, los demás presentaron características seminales fuera del patrón recomendando para el congelamiento. Para evaluar el efecto del congelamiento en el semen, fueron utilizados dos reproductores de la raza Curraleira. Todos los animales presentaron descenso en la motilidad individual y vigor en el poscongelación y un aumento en el porcentaje de células anormales, no habiendo alteraciones en la integridad de la cromatina. La reducción en el porcentaje de células vivas con acrosoma íntegro poscongelación, fue más acentuada en el semen de los toros de la raza Curraleira, que en el control. Una variación, fue también observada en las tasas de clivaje y blastocisto, siendo las menores tasas obtenidas cuando el semen de animales de la raza Curraleira fue utilizado. Los resultados indican que la evaluación de las características estructurales y funcionales de los espermatozoides posdescongelación debe ser realizada en todas las partidas de semen que serán utilizadas en la formación de bancos de germoplasma.

Palabras clave: semen, fertilidad, conservación, razas nativas, crío preservación.

SUMMARY

The objective of the present study was to evaluate andrological characteristics of bulls from Brazilian native breed and to verify the effect of cryopreservation on semen parameters. Animals from Pantaneira, Junqueira, Crioulo Lageano, Mocho Nacional and Curraleira breeds were utilized. Individual and in mass motility, and percentage of cell with intact chromatin, were similar for all animals. Except the animals from Pantaneira and Curraleira breeds, the remained showed seminal characteristics beyond the parameters recommended for cryopreservation. To evaluate the effect of freezing on semen characteristics, two males from Curraleira breed were used. All animals showed a decrease in overall and individual motility and an increase in the percentage of abnormal cells, after thawed. No changes in chromatin integrity were observed. The decrease in the percentage of cells alive and with intact acrosome after thawed was higher in the samples from bulls of the Curraleira breed than in the control bull. A variation was also observed in the cleavage and blastocyst rates, being the lowest rates obtained with semen from Curraleira animals. The results suggested that the structural and functional evaluation of the sperm cells after cryopreservation has to be done in all semen samples used to form a germplasm bank.

Key words: semen, fertility, conservation, native breeds, cryopreservation

INTRODUCCIÓN

Brasil posee una grande variedad de razas naturalizadas u autóctonas, que se desarrollaron a partir de aquéllas traídas por los colonizadores portugueses, enseguida al descubrimiento del país. Sin embargo, con la llegada de otras más productivas, las razas naturalizadas fueron poco a poco, siendo sustituidas por las exóticas, haciendo con que muchas de ellas hoy encuentrense amenazadas de extinción (11,12).

Esas razas sufrieron un proceso de selección natural, durante casi cinco siglos,

en condiciones ambientales específicas, de tal forma que hoy presentan alta adaptabilidad a determinadas condiciones, resistencia a enfermedades y excepcional rusticidad (11), constituyéndose en un patrimonio genético ímpar, que debe ser mantenido y preservado. La conservación de esos recursos genéticos animales, por lo tanto, es una cuestión prioritaria no-solo por su carácter histórico, pero también por serien una de las grandes fuentes de riqueza del país (19).

Con el advenio de las biotécnicas de la reproducción asistida y biología mole-

cular, se ha tornado posible preservar e multiplicar estos animales, de forma que, en el futuro, genes de importancia económica posan ser utilizados para incrementar la producción animal y/o atender a demandas específicas (20).

La criopreservación del gameto masculino es el primer paso para la conservación de germoplasma, por ser una técnica totalmente dominada, y de costes relativamente bajo. Sin embargo, antes de se preservar es necesario conocer el material que será almacenado. Con relación a los gametos masculinos, es necesario

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Parque Estação Biológica Final Av. W5 Norte, Brasília, DF, 70.770, Brasil. E-mail: margot@cenargen.embrapa.br.

²Universidade de Brasília.

se tener una estimativa cuanto a fertilidad del donante, para que esos poseen, en el futuro, serien utilizados de la forma más adecuada y con mayor seguridad. Por lo tanto, una evaluación de los reproductores es fundamental antes de criopreservar el semen que será utilizado en la formación de bancos de germoplasma. Pues, más importante que preservar es saber que tipo de material está siendo preservando, siendo necesario recolectar el máximo de informaciones posibles. Principalmente, en se tratando de razas naturalizadas, pues datos relacionadas a las características reproductivas son prácticamente inexistentes en la literatura brasileña.

El objetivo de esto estudio fue realizar evaluación andrológica de reproductores de razas naturalizadas brasileñas, así como evaluar las características seminales físicas y funcionales delante del proceso de criopreservación. El conocimiento de los aspectos reproductivos de esos animales es fundamental para proporcionar un mejor aprovechamiento de los mismos en programas de conservación y preservación de especies amenazadas de extinción.

MATERIALES E MÉTODOS

Ese estudio fue realizado en la Granja Experimental Sucupira de Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnología, en Brasília, DF, Brasil. Fueron utilizados animales de cada una de las siguientes razas naturalizadas brasileñas: Pantaneira, Junqueira, Crioulo Lageano, Mocho Nacional y Curraleira, con edad variando de tres a ocho años, pertenecientes al Banco Brasileño de Germoplasma Animal da Embrapa.

Inicialmente fue realizada la evaluación andrológica de cinco toros, un de cada raza. Fueron realizados tres exámenes andrológicos con intervalo de 15 días. En el examen externo fueron realizadas la circunferencia escrotal, la longitud, la anchura y la consistencia testicular, utilizándose cinta métrica y parquímetro. Las recolectas de semen fueron realizadas con auxilio de un electroeyaculador.

Inmediatamente, en el post-extracción seminal fue evaluado cuanto la motilidad en masa (1-5), motilidad individual (0-100%) y vigor espermático (0-5). Fue-

ron acondicionadas muestras en formalina, para posterior determinación de la concentración y morfoanomalía espermática, además de la integridad de la cromatina.

La concentración fue determinada a través de recuento de células en una cámara de Neubauer. Para la morfología espermática, fueron hechas preparaciones húmedas en portaobjetos y evaluadas en microscopio de contraste de fase, contándose un total de 200 células.

La integridad de la cromatina fue determinada utilizándose la técnica de tinción con *acridine orange* (21). De las muestras de semen hizo improntas, que fueron fijadas y corados con *acridine orange*. Los portaobjetos fueron analizados en microscopio de epifluorescencia, siendo contadas 200 células. Fueron considerados con cromatina intacta los espermatozoides colorados en verde y con cromatina danificada los colorados en amarillo u naranja.

Para evaluación del efecto de la congelación en las características seminales de animales de razas naturalizadas fueron utilizados dos (2) sementales de la raza Curraleira y un (1) semental de la raza Nelore (control) que presentaban características físicas del semen semejantes.

Los animales fueron sometidos a extracciones seminales, de acuerdo con lo descrito anteriormente y el semen sometido a criopreservación. La congelación del semen fue realizado con el medio de congelamiento tris-gema, utilizándose glicerol como crioprotector (13). Todos los análisis físicos y morfológicos del semen fueron realizados pre y poscongelación. Además de los análisis ya mencionados, fue también realizada una evaluación de la integridad del acrosoma.

La evaluación de la integridad del acrosoma fue realizada utilizando una tinción doble (tinción *trypan-blue*/Giemsa) de acuerdo con el descrito por Feliciano Silva (5). Inmediatamente post-recolecta y posdescongelación, una muestra de semen fue incubada con *trypan-blue*, y después de fijadas coradas con Giemsa. Estas improntas fueron evaluadas en microscopía de campo claro con recuento de 200 células, considerándose vivos los espermatozoides con acrosoma intacto que no se colorearon (blanco u ce-

niza/castaño-claro), mientras que los espermatozoides muertos con acrosoma desintegrado tenían una coloración de rosa-claro/rojo.

Para evaluar la capacidad fecundante del semen de animales de razas naturalizadas, poscongelación y la posibilidad de utilizarlos para la producción in vitro de embriones (PIV) se utilizó de semen de dos animales de la raza Curraleira y un animal de la raza Nelore (semen control), criopreservados en el experimento anterior.

Se utilizó un total de 441 ovocitos madurados y fecundados in vitro en tres repeticiones, utilizándose el protocolo de PIV recomendado por el laboratorio de reproducción animal de Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnología (16). Ovarios de vacas mestizas (*Bos indicus* x *Bos taurus*) fueron recolectados luego después del abate y los complejos cúmulos ovocitos (COCs) fueron aspirados, de folículos de dos a ocho mm de diámetro, con aguja de 18 G y con auxilio de una bomba a vacío. Los COCs seleccionados fueron transferidos para el medio de maduración y incubados por 22 h. Después de la maduración los COCs fueron transferidos para el medio de fecundación.

Simultáneamente, en cada una de las tres repeticiones, se utilizó de semen congelado de los tres toros. Para selección de los espermatozoides el semen fue sometido a un gradiente de Percoll (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Sweden) (15) y entonces adicionado en las gotas de fecundación (14) con una concentración final de 1×10^6 espermatozoides/mL. Espermatozoides y ovocitos fueron co-incubados por 22 h.

Después de la co-incubación, los supuestos cigotos fueron transferidos para el medio de cultivo embrionario, SOF aaci (8). Los embriones fueron evaluados 44 horas posinseminación para tasa divisiones celulares (clivage) y siete días posinseminación para la tasa de blastocisto. Los datos referentes a la producción de embriones "in vitro" fueron analizados pelo teste do Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Se puede observar que todos los animales presentaron circunferencia escrotal arriba de 30 cm (Cuadro 1). La evalua-

Cuadro 1. Características testiculares evaluadas a través del examen andrológico de bovinos de razas naturalizadas brasileñas (promedio de tres extracciones seminales).

Raza	Circunferencia	Anchura	Longitud	Anchura	Longitud	Consistencia
	escrotal (cm)	T.D. ¹ (mm)	T.D. ¹ (mm)	T.D. ² (mm)	T.D. ² (mm)	Testicular (1-5)
	X ± dt	X ± dt	X ± dt	X ± dt	X ± dt	X ± dt
Pantaneira	32,6 ± 0,6	75,6 ± 0,6	120,6 ± 0,0	74,6 ± 0,6	130,0 ± 0,0	2 ± 0
Junqueira	38,3 ± 0,6	74,3 ± 0,6	128,6 ± 1,5	68,6 ± 1,5	129,3 ± 0,6	2 ± 0
Criolo lageano	33,0 ± 0,0	84,3 ± 1,1	139,3 ± 1,6	70,0 ± 0,0	139,6 ± 0,6	3 ± 0
Mocho nacional	34,0 ± 0,0	68,3 ± 0,6	149,3 ± 1,5	65,3 ± 0,6	150,0 ± 1,0	2 ± 0
Curraleira	30,3 ± 0,6	64,6 ± 0,6	150,6 ± 1,1	61,0 ± 1,0	120,6 ± 1,1	2 ± 0

¹Testículo derecho

²Testículo Izquierdo

X = promedio y dt = desviaciones típicas

ción de las características seminales mostró que la motilidad en masa, el vigor e el porcentaje de células con cromatina intacta fue semejante para todas las razas (Cuadro 2). Los animales de las razas Crioulo Lageano y Junqueira presentaron motilidad inferior a la demostrada por las demás razas. Además de la baja motilidad, el animal de la raza Crioulo Lageano presentó una alta porcentaje de células anormales y la raza Junqueira una baja

concentración espermática, cuando comparado a los demás (Tabla 2). Las anomalías espermáticas observadas con mayor frecuencia en el semen del toro de la raza Crioulo Lageano fueron cabeza y pieza intermediaria (Cuadro 3).

Los patrones mínimos determinados por el Colegio Brasileño de Reproducción Animal (CBRA) para que un eyaculado pueda ser congelado son los siguientes: motilidad en masa 3, vigor 3, motilidad

en masa 70% y lo máximo 30 % de anomalías espermáticas totales (7). Por lo tanto, de todos los animales evaluados, solo las razas P y C, presentaban semen con características adecuadas para la criopreservación de acuerdo con las recomendaciones del CBRA.

Para evaluar el efecto de la criopreservación sobre las características espermáticas de animales de razas naturalizadas fueron utilizados dos animales de la raza

Cuadro 2. Evaluación física y morfológica del semen bovino de varias razas naturalizadas brasileñas tras electroeyaculación (promedio de tres extracciones seminales).

Raza	Motilidad en Masa (1-5)	Motilidade Individual (0-100%)	Vigor (1-5)	Concentración Espermática (x10 ⁶ spz/ml)	Células Normales (%)	Células con Cromatina Integra (%)
	X ± dt	X ± dt	X ± dt	X ± dt	X ± dt	X ± dt
Pantaneira	2,6 ± 0,6	70,0 ± 5,0	3,0 ± 0,0	113,0 ± 36,2	78,7 ± 1,1	98.5
Junqueira	2,0 ± 1,0	46,6 ± 15,3	3,0 ± 0,0	69,6 ± 2,5	81,4 ± 1,1	100.0
Criolo lageano	2,3 ± 0,6	58,3 ± 2,8	2,3 ± 0,6	383,3 ± 146,8	59,7 ± 1,6	97.0
Mocho nacional	3,6 ± 2,3	68,3 ± 24,6	3,0 ± 3,0	290,0 ± 217,0	92,7 ± 1,2	98.5
Curraleira	3,0 ± 1,0	70,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0	335,0 ± 52,9	82,2 ± 2,0	98.5

X = promedio y dt = desviaciones típicas

Cuadro 3. Porcentaje de patologías espermáticas observadas en muestras de semen bovino de las razas naturalizadas brasileñas (promedio de tres extracciones seminales).

Raza	Defectos de cabeza (%)	Defectos de pieza intermediaria (%)	Defecto de la cola (%)	Total de defectos (%)
	X ± dt	X ± dt	X ± dt	X ± dt
Pantaneira	10,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	5,3 ± 1,1	21,3 ± 1,1
Junqueira	7,0 ± 1,7	4,0 ± 0,0	7,6 ± 1,5	18,6 ± 1,1
Criolo lageano	14,6 ± 1,4	20,5 ± 0,0	5,2 ± 0,3	40,3 ± 1,6
Mocho nacional	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,8 ± 0,6	6,8 ± 1,4
Curraleira	4,2 ± 2,0	4,5 ± 0,0	7,8 ± 1,3	16,5 ± 3,1

X = promedio y dt = desviaciones típicas.

Curraleira y un animal de la raza Nelore (control). Los animales fueron seleccionados por presentaren características seminales semejantes y dentro de los patrones indicados por el CBRA (7), antes de sometidos a la criopreservación (Cuadro 4).

Todos los animales evaluados presentaron un descenso en la motilidad poscongelación cuando comparados a la precongelación, siendo que un de los reproductores de la raza Curraleira tuvo un descenso considerable (60%) en la motilidad de poscriocongelación. De la misma forma, ocurrió un descenso en el vigor en todas las muestras analizadas. Una variación en la morfoanomalía espermática

fue también observada, a pesar de ese parámetro tener sido menos afectado por el proceso de criopreservación que la motilidad (Cuadro 4). En el cuadro 5 se puede observar que el porcentaje de cola fuertemente doblada en el poscongelación fue la anomalía que más varió con relación a la precongelación, aumentándose el porcentaje total de las células anormales.

En el cuadro 6 encuéntrase los resultados referentes a la integridad del acrosoma y de la cromatina antes y después de la criopreservación. El porcentaje de espermatozoides con acrosoma intacto disminuyó en el poscongelación. Sin embargo, cuando el porcentaje de células vivas con acrosoma intacto es conside-

rado (Cuadro 6), se observa una reducción acentuada del semen de los toros de la raza Curraleira, siendo superior la disminución observada en el toro control. No hubo variación entre la pre y poscongelación, o sea, la criopreservación no afectó la integridad del ADN en los eyaculados evaluados, (Cuadro 6).

Cuando el semen de animales de la raza Curraleira fueron utilizados para la fecundación *in vitro*, las tasas de clivaje y blastocisto, fueron inferiores ($p < 0.05$) a las del toro control (Cuadro 7), siendo que el toro dos de la raza Curraleira presentó menor ($P < 0,05$) tasa de clivaje (52,0%) y la menor tasa de blastocisto (8,6 %).

Cuadro 4. Características físicas y morfológicas del semen de reproductores bovinos de las razas Curraleira (C) y Nelore (Control) durante la pre y poscriocongelación.

	Motilidad		Vigor		Defectos Mayores		Defectos Menores		Total de defectos	
	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
Toros	(%)	(%)			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Control	80	70	4	3	8,5	17	4,5	3	13	20
C 1	80	50	4	3	8	19	4,5	1,5	12,5	20,5
C 2	80	20	4	3	6	18	2,5	0,5	8,5	18,5

Cuadro 5. Evaluación de la morfoanomalía espermática del semen de sementales bovinos de las razas Curraleira (C) y Nelore (Control) en el pre y poscongelación.

Toro	Defectos Mayores								Defectos Menores				Total de defectos			
	Acrosoma rugoso		Cola fuertemente Doblada		Gota Citoplasmática Proximal		Gota Citoplasmática Distal		Cabeza Aislada		Knob esper.		Pouch form		pre	post
	pre (%)	post (%)	pre (%)	post (%)	pre (%)	post (%)	pre (%)	post (%)	pre (%)	post (%)	pre (%)	post (%)	pre (%)	post (%)		
Control	4	3,5	2	14	2	5	0,5	0	0	0	1	0	3,5	0	13	20
C 1	2	6	1,5	11	1,5	1	1	0	0,5	0	2,5	0	2	1	12,5	20,5
C 2	4	5,5	1	7,5	1	1,5	0	0,5	0	0	1,5	0,5	1	0	8,5	18,5

Cuadro 6. Evaluación de la integridad del acrosoma y cromatina espermática de los sementales de las razas Curraleira (C) y Nelore (Control) durante la pre y poscongelación.

Toro	Evaluación de la integridad del acrosoma				Evaluación de la integridad de la cromatina	
	Vivos con acrosoma				Cromatina integra	
	intacto		Total con acrosoma intacto		% pre	% post
	% pre	% post	% pre	% post		
Control	70,0	63,0	95,0	89,0	100	100
C 1	71,5	33,5	94,0	62,0	100	100
C 2	74,5	17,5	95,0	84,5	100	98

Cuadro 7. Tasa de clivage y de blastocisto posfecundación in vitro de ovocitos bovinos, utilizándose semen criop congelado, de sementales bovinos de las razas Curraleira (C) y Nelore (N).

Toro	Nº de ovocitos	Clivage ¹ (%)	Blastocisto en el D7 (%)
Control	144	127 (88,2) ^c	62 (43,1) ^c
Curraleiro 1	147	112 (76,2) ^a	33 (22,4) ^a
Curraleiro 2	150	78 (52,0) ^b	13 (8,6) ^b

¹Evaluación realizada 44 horas posinseminación.

^{a,b,c} Representan diferencia significativa entre toros ($P < 0,05$, χ^2).

DISCUSIÓN

La fertilidad de un macho está relacionada a varios factores, tales como: producción espermática, viabilidad y capacidad fecundante de los espermatozoides del eyaculado, deseo sexual y capacidad de monta. El método más utilizado para evaluar la fertilidad todavía es el examen andrológico completo, que involucra varios testes tales como el análisis físico y morfológico del semen, evaluación del interés sexual y biometría testicular. Si embargo, muchas veces toros con semen de motilidad normal y número adecuado de espermatozoides normales, ni siempre atingen tasas aceptables de concepción, pues los espermatozoides del eyaculado pueden tener problemas estructurales u funcionales y se tornaren incapaces para fecundar. Por eso motivo, otras características espermáticas tales como la integridad de la cromatina, la integridad del acrosoma y la capacidad de se ligar a zona pelúcida del ovocitos deben ser evaluadas.

La toma de la circunferencia escrotal es, indiscutiblemente, una medida fácil de ser obtenida y altamente relacionada con producción espermática, además de ser de alta heredabilidad (2). Todos los animales evaluados presentaron una circunferencia escrotal superior a 30 cm, a pesar de eso, la circunferencia escrotal fue inferior a normalmente encontrada en animales de las razas europeas (1), así como de razas zebuínas (6). Teniendo en vista que, las razas naturalizadas son originadas de las razas europeas era es-

perado que ellos presentasen circunferencia escrotal más próxima de las razas europeas. Sin embargo, es posible que debido a selección natural a que esas razas fueron sometidas, los aspectos relativos a rusticidad y adaptabilidad tengan sido seleccionado en detrimentos de aquellos relacionados a fertilidad. Si embargo, es difícil hacer comparaciones porque en este estudio se utilizó un solo semental/raza, aliada a la escasez de datos relativos a esos animales en la literatura especializada. Vale resaltar que el semental de la raza Junqueira fue lo que presentó mayor circunferencia escrotal, que es indicativo de mayor producción espermática, pero presentó una menor concentración, indicando que ninguna medida aisladamente debe ser utilizada para evaluaciones de la reproducción de los sementales.

Las características físicas del semen como motilidad en masa y vigor fueron semejantes para todos los animales. El mismo ocurrió con el porcentaje de células con cromatina intacta, siendo esa característica una de las responsables por pérdidas embrionarias, visto que la cromatina alterada permite que el espermatozoide fecunde el ovocito, pero ese no llega además de estadio de pro-núcleo, no ocurriendo consecuentemente desarrollo embrionario (4,24).

Los sementales de la raza Curraleira y Pantaneira fueron los que presentaron características seminales de acuerdo con los patrones de fertilidad considerados aceptables por el CBRA. Los demás pre-

sentaron baja motilidad y alta porcentaje de células anómalas. La motilidad es esencial para la fertilidad, a pesar de no ser necesariamente indicativa de capacidad fecundante. De todos los modos, la morfoanomalía espermática es también una importante característica, pues la misma está relacionada a función del espermatozoide. Alteraciones morfológicas, principalmente ubicadas en la región de la cabeza, afectan la capacidad del espermatozoide de fecundar, comprometiendo consecuentemente la tasa de concepción (22,23).

Cuando el semen de animales de la raza Curraleira fue sometido a criop congelación, todas las muestras presentaron un descenso en el vigor y en la motilidad en lo poscongelación cuando comparado a la precongelación. Siendo que un de los reproductores tuvo una disminución considerable (60%) en la motilidad, indicando la sensibilidad individual diferenciada con relación a las injurias de la criop congelación. Esos resultados ya eran esperados visto que la criop congelación causa daños en el espermatozoide y un de los primeros señales es la reducción del porcentaje de espermatozoides vivos. Ese descenso en la motilidad y vigor están relacionados al estrés y injurias causadas en los espermatozoides durante el proceso de criop congelación (17,18).

Se ha observado una variación en la morfoanomalía espermática, aún que tenga sido menos influenciada por el proceso de criop congelación do que el observado para la motilidad. El porcentaje de cola

fuertemente doblada en el poscongelación fue la anomalía que más varió con relación a la pre congelación, elevando el porcentaje total de las células anómalas. Es importante resaltar que ese tipo de anomalía también puede ser provocada por la manipulación del semen en el momento de la descongelación. Los procesos de congelación y descongelación también tracen daños irreversibles a varias membranas de los espermatozoides, pudiendo también causar daños estructurales a célula (17,18). Por lo tanto, en eso estudio también fue evaluado la integridad del acrosoma antes y después de la criocongelación. El porcentaje de espermatozoides con acrosoma intacto presentó leve disminución en el poscongelación. Sin embargo, el aspecto más importante con relación a esa característica es el porcentaje de células vivas con acrosoma intacto, visto que esas son las células dentro de la población que tiene la posibilidad de fecundar el ovocito. Cuando esa evaluación fue considerada se ha observado una brusca reducción del semen de los reproductores de la raza Curraleira, habiendo una variación considerable entre ellos. Esa característica tiene sido correlacionada (25) con daños que la criocongelación causa a las células espermáticas. Por otro lado, se ha demostrado que la integridad del acrosoma presenta alta correlación con la tasa de penetración (3), confirmando la importancia de ese parámetro en la funcionalidad del gameto masculino.

La criocongelación no afectó la integridad del ADN en los sementales evaluados, no habiendo variación entre pre y poscongelación.

La fertilidad de los toros está relacionada con la capacidad del espermatozoide de fecundar el ovocito, formar el cigoto

y proporcionar un desarrollo embrionario normal. Con el advenio de la técnica de fecundación *in vitro* (FIV) se ha tornado posible evaluar la capacidad fecundante y el papel del espermatozoide después de la fecundación (9,10). Los sementales de la raza Curraleira presentaron tasas divisiones celulares (clivage) y blastocisto inferiores al del toro control. Sin embargo, el toro 2 de la raza Curraleira presentó menor tasa de clivage y blastocisto que el toro 1. Vale resaltar que el toro 2 también presentó la menor motilidad y el menor porcentaje de espermatozoides vivos con acrosoma intacto en la evaluación posdescongelación, indicando que el semen es de fertilidad inferior u es más susceptible a las injurias de la criocongelación que el toro 2 de la misma raza. Esos resultados indican que la determinación de las características físicas (motilidad individual y en masa, vigor y concentración), por si solo no son suficientes para predecir la fertilidad de un semental. Las evaluaciones poscriocongelación son muy necesarias para si tener una mejor estimativa acerca de la fertilidad del semen criocongelado.

Debido al pequeño muestreo no se puede sacar conclusiones definitivas en esto estudio, pero ya señala los primeros datos sobre algunas características andrológicas de sementales de razas naturalizadas brasileñas, tornándose imprescindible la evaluación de un mayor número de animales para se tener mejor conocimiento acerca del patrón andrológico de esas razas. Los resultados obtenidos aquí muestran que es posible utilizar semen de esos animales para la criocongelación y posterior utilización en la producción "in vitro" de embriones. Si embargo, el aspecto más importante de esto trabajo es que, en lo que se refiere a los animales

en extinción, se deba tener un mayor cuidado en el momento de la evaluación del semen criocongelado, pues como en general se dispone de pocos ejemplares dentro de una misma raza, sementales rechazados deben ser sometidos a exámenes complementares, pues dependiendo del tipo de problema presentado, se puede utilizar alternativas, como, por ejemplo, aumentar la concentración espermática, en la tentativa de criopreservar este material. Todavía, se puede utilizar otras técnicas que posibiliten el uso de eso material, mismo con algunos problemas, como es el ejemplo de la fecundación *in vitro* (FIV) e inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).

CONCLUSIONES

La evaluación andrológica de sementales de razas naturalizadas brasileñas permite identificar animales con características seminales adecuadas para la criocongelación. El semen de sementales en programas de conservación "In Situ" debe ser criopreservado, sin embargo, la extensión de las injurias causadas por el estrés de la congelación depende de características individuales, siendo que las más afectadas la integridad del acrosoma y la motilidad. La evaluación de las características estructurales y funcionales de los espermatozoides posdescongelación debe ser realizada en todas las partidas de semen que serán utilizadas en la formación de bancos de germoplasma. El semen de estos animales también puede ser utilizado para la producción *in vitro* de embriones.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. José Robson Bezerra Sereno, Embrapa Pantanal, por las valiosas sugerencias técnicas y traducción del manuscrito.

Referencias Bibliográficas

1. Brito, L.F.; Silva, A.E.; Rodrigues, L.H.; Vieira, F.V.; Deragon, L.A.; Kastelic, J.P. (2002). Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. *Theriogenology* 58:1175-86.
2. Cyrillo, J.N.S.G.; Razook, A.G.; Figueiredo, L.A. *et al.* (2001). Estimativa de tendências e parâmetros genéticos do peso padronizado aos 378 dias de idade, medidas corporais e perímetro escrotal de machos Nelore de Sertãozinho, SP. *Rev. Bras. Zootec.* 30:56-65.
3. Dode, M.A.N.; Chiochetta, L.; Rodovalho, N.C.; Zúccari, C.E.S.N. (2000). Teste de penetração de ovócitos: associação com características seminais (resultados preliminares). *Arq. Facul. Vet.* 28: 242.
4. Ellington, J. E.; Evenson, D. P.; Fleming, J. E.; Brisbois, R. S.; Hiss, G. A.; Broder, S. J.; Wright, R.W. (1998). Coculture of human sperm with bovine oviduct epithelial cells decreases sperm chromatin structural changes seen during culture in media alone. *Fertil. Steril.* 69:643-649.
5. Feliciano Silva, A.E.D. (1998). Reação acrossômica induzida: Método indicador de fertilidade de touros. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, Brasília, Dezembro. 38p. (Documento 35).
6. Feliciano Silva, A.E.D.; Unanian, M.M.; Cordeiro, C.M.T.; Freitas, A.R. (2002). Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. *Rev. Bras. Zootec.* 31:1168-1176.
7. Fonseca, V.O.; Vale Filho, V.R. do; Filho, A.M.; Abreu, J.J. (1992). Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. *Colegio Brasileiro de Reprodução Animal*, CBRA, Belo Horizonte, 79p.
8. Holmes P.; Booth P.J.; Schmidt M.H.; Greve T.; Callesen H. (1999). High bovine blastocyst development in a static *in vitro* production system using SOFaa medium supplemented with sodium citrate and myo-inositol with or without serum-proteins. *Theriogenology* 52:683-700.
9. Larsson B, Rodriguez-Martinez H. (2000). Can we use *in vitro* fertilization tests to predict semen fertility? *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:327-36.
10. Lonergan, P. (1994). The application of *in vitro* fertilization techniques to prediction of Bull fertility. *Reprod. Domest. Anim.* 29:12-21.
11. Mariante A.S.; Cavalcante N. (2000). Animals of the Discovery: Domestic breeds in the History of Brazil. *Brasilia, Embrapa*, pp.228.
12. Mariante, A.S.; Egito, A.A. (2002). Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. *Theriogenology* 57:223-235.
13. Martins, C. F. (2002). Congelamento de sêmen bovino. *In: Dode, M.A.N.; Martins, C. F.; Silva, A.E.D.F.; Zúccari, C.E.S.N.; Pimentel, C.A.; Melo, N.S.S.* Apostila do Curso de Andrologia, Brasília: Embrapa- Recursos Genéticos e Biotecnologia, pp. 220.
14. Parrish, J.J.; Susko-Parrish, J.L.; Winer, M.A.; First N.L. (1988). Capacitation of bovine sperm by heparin. *Biol. Reprod.* 38:1171-1180.
15. Parrish J.J.; Krogenaes A.; Susko-Parrish J.L. (1995). Effect of bovine sperm separation by either swim-up or percoll method on success of *in vitro* fertilization and early embryonic development. *Theriogenology* 44:859-869.
16. Pereira, D.C.; Dode, M.A.N.; Rumpf, R. (2004). Evaluation of different culture systems on the *in vitro* production of bovine embryos. *Theriogenology*, *In press*.
17. Rodriguez-Martinez, H.; Larsson, B.; Pertoft, H. (1997a). Evaluation of sperm damage and techniques for sperm clean-up. *Reprod. Fertil. Dev.* 9:297-308.
18. Rodriguez - Martinez, H.; Zhang, B.R.; Larsson, B. (1997b). Bovine semen quality and the ability to produce embryos *in vivo* and *in vitro*. *Arq. Facul. Vet.* 25:108-126.
19. Rumpf, R.; Dode, M.A.N.; Silva, A.E.D.F. (2000a) Avanços na biotecnologia da reprodução dos bovinos. *In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL*, 3, Belo Horizonte: [Anais...]. Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2000. p.248-253.
20. Rumpf, R.; Dode, M.A.N.; Brandão, D.; Peixer, M.A. (2000). Multiplication biotechniques in the conservation of female germplasm. The Embrapa Genetic resource and Biotechnology experience. *In: GLOBAL CONFERENCE ON CONSERVATION OF DOMESTIC ANIMAL GENETIC RESOURCES*, 5., Brasília. Proceedings. Brasília: Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, 2000. CD-ROM.
21. Tejada, R. I.; Mitchell, J. C.; Norman, A.; Marik, J. J.; Friedman, S. A. (1984). Test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescent. *Fertil. Steril.* 42:87-91.
22. Thundathil J.; Palasz A.T.; Mapletoft. R.J.; Barth, A.D. (1999). An investigation of the fertilizing characteristics of pyriform-shaped bovine spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 57(1-2):35-50.
23. Thundathil J.; Meyer R.; Palasz A.T.; Barth, A.D.; Mapletoft. R.J. (2000). Effect of the knobbed acrosome defect in bovine sperm on IVF and embryo production. *Theriogenology* 54:921-34.
24. Unanian, M. M. (2000). Integridade da cromatina. Método complementar para avaliação da qualidade do sêmen bovino. *In: Embrapa- Recursos Genéticos e Biotecnologia*. Brasília, 2000, (Documento 56).
25. Way, L.A.; Henault, A.M.; Killian, G.J. (1995). Comparison of four staining methods for evaluating acrosome status and viability of ejaculated and cauda epididymal bull spermatozoa. *Theriogenology* 43:1301-1316.

Caracterización del caprino Criollo del Noroeste Argentino*

Roldán, D.L.¹; Fernández, J.L.²; Saldaño, S.A.²; Rabasa, A.E.³; Holgado, F.D.⁴; Poli, M.A.¹

RESUMEN

Existe una creciente necesidad de determinar cuáles son los recursos genéticos animales actuales y desarrollar estrategias para su conservación y desarrollo. El objetivo de este trabajo es describir morfológica, zoométrica y genéticamente, los caprinos Criollos del Noroeste Argentino (NOA).

Para ello se muestrearon 1105 cabras Criollas, 36 Saanen y 24 Anglo Nubián de las provincias de Jujuy, Salta, Tucumán y Santiago del Estero. Se usaron 20 microsatélites y se midieron 20 variables zoométricas y 14 morfológicas. Con los datos moleculares se encontró que aproximadamente el 89% de la variación genética total es debida a la variación dentro de cada raza. Los caprinos Criollos tienen mayor número de alelos por locus (11.80) respecto de Anglo Nubian (6.05) y Saanen (5.56). De la información fenotípica se extrae que los animales Criollos, comparados con los de otras razas, presentan menor alzada y tamaño, ubres chicas, perfil subcóncavo, cuello largo y fino, orejas paradas, cuernos del tipo espiral, pelo corto, de colores compuestos y mucosas negras. Las variables que mejor contribuyen para identificar diferencias entre razas fueron: largo de oreja, perímetro de menudillo, peso vivo, implantación de las ubres, color de capa, presencia de barba, perfil, tipo y posición de las orejas y tipo de cuerno.

Palabras Clave: caprinos Criollos, caracterización, microsatélites, morfología, zoometría.

Summary

There is an increased need to establish the actual animal genetic resources and to develop strategies for their conservation and development. The goal of this work is to descriptive the population of Creole goats in the northwest Argentina (NWA) using genetic, morphological and zoometric information. For this, 1105 adult Creole goats and 36 Saanen and 24 Anglo Nubian from Jujuy, Salta, Tucumán and Santiago del Estero provinces were tested. Twenty microsatellites were used, 20 zoometric and 14 morphological variables were measured in each animal. With the molecular data we found that about 89% of the total genetic variation was due to the genetic differentiation within each breed. Creole goats have higher number of alleles for each locus (11.8). From the phenotypic information we establish that the Creole goats had minor height and size, small udder, sub concave profile, length and thin neck, vertical ears, spiral horn shape, short hair with longer one in the rumps and various hoof color and black mucosa. Ear size, shin circumference, live weight, udder implantation, coat color, presence of wattles, cranial profile, type and position of ears and horn shape, were the parameter with major contribution to distinguish between breeds.

Key words: Creole goats, characterizations, microsatellites, morphological, zoometrics.

INTRODUCCIÓN

La población caprina mundial ha sido estimada en 693.260 millones de cabezas (<http://www.inia.cl/cobertura/quilamapu/textos/capl.htm>). Esta se concentra principalmente en Asia (63%) y África (29%), y en diversos países de América. Brasil y Argentina tienen la mayor participación en la población caprina de Sudamérica (48% y 16%, respectivamente). Generalmente la presencia de cabras está asociada a condiciones "pobres" desde un punto de vista ecológico y socio-económico, constituyendo en la mayoría de los casos, una fuente importante de recursos, permitiendo la subsistencia del

productor y su familia. La explotación de cabras en América Latina, se ha realizado por varios siglos bajo condiciones extensivas, lo que produjo animales conocidos genéricamente como Criollos. Estos poseen rasgos valiosos, tales como: resistencia a enfermedades, longevidad, adaptación a ambientes de extrema aridez, aceptable producción de leche, alta fertilidad y reducida estacionalidad reproductiva (15).

En nuestro país la existencia de caprinos fue estimada para el año 2004 en 3.964.146 animales (<http://www.sagpya.mecon.gov.ar>), y existen aproximadamente 50.000 pequeños productores campesinos que las ex-

plotan. La mayoría de las poblaciones se localizan en dos regiones: en el centro-norte del país y en la Patagonia. En la primera, se encuentra aproximadamente el 27% del total de las cabezas y la producción es, fundamentalmente, para la obtención de carne. En el norte de la región Patagónica, que agrupa al 46% de animales del país, la producción es básicamente para pelo (moahir).

La diversidad genética en el mundo animal es la que sostiene la capacidad de los sistemas de producción de responder a un amplio rango de ambientes físicos y económicos. A causa del ritmo de los cambios económicos, la diversidad de las

*Trabajo financiado por el FONCYT, Proyecto BID1201, PICT08-04226.

¹Instituto de Genética, CICVyA-INTA, Castelar. s/n. CC: 25, CP:1712. Buenos Aires. Argentina. Tel.: 54 11 44500805/1876, e-mail: mpoli@cnia.inta.gov.ar;

²Fac. de Agronomía y Zootecnia (UNT).Tucumán. Argentina. ³ CONICET, Fac. de Agronomía y Zootecnia (UNT).Tucumán. Argentina; ⁴ CER Leales-INTA. Argentina.

razas de animales domésticos está decreciendo rápidamente. Por lo tanto existe una necesidad de determinar cuáles son los recursos genéticos actuales y desarrollar estrategias para su conservación y desarrollo. Los caracteres morfológicos aportan información complementaria a otros trabajos relacionados a la caracterización racial de poblaciones animales. Simultáneamente estos caracteres pueden constituir marcadores raciales para discriminar grupos poblacionales. Existen numerosos trabajos que describen y caracterizan poblaciones con marcadores genéticos y parámetros zoométricos en especies de interés agropecuario: bovinos (2), ovinos (9, 21) y caprinos (4, 5, 7, 10, 12, 17).

Se entiende por caprino Criollo a los animales que descienden de aquellos traídos por los españoles y que luego de un proceso de adaptación a distintas condiciones ambientales habitan fundamentalmente en regiones donde las otras razas no pueden sobrevivir. Existen escasas referencias bibliográficas relacionadas a la descripción de la cabra Criolla en Argentina (8, 22) y por lo tanto el objetivo de este trabajo es describir desde el punto de vista morfológico, zoométrico y genético, a los caprinos Criollos del Noroeste Argentino (NOA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Dentro del proyecto FONCyT-PICT 04226 se muestrearon 1105 hembras criollas adultas (mayores de 3 años de edad) no emparentadas, pertenecientes a 71 majadas de las provincias de Jujuy, Salta, Tucumán y Santiago del Estero. Los criterios para la selección de los rebaños y animales fueron su aislamiento geográfico, referencias históricas en la organización de los rebaños y características fenotípicas de los animales. Simultáneamente, se colectaron muestras de animales de razas puras, Saanen (36 cabezas en cuatro majadas) y Anglo Nubian (24 animales pertenecientes a dos majadas).

Variabiles

1- Genéticas. Como indicadores de la variabilidad a nivel del ADN se usaron 20 microsatélites de un set de 26, reco-

mendados para estudios de diversidad por la Unión Europea en el Programa IV de Biotecnología y Biodiversidad Caprino y Ovino. Las frecuencias alélicas en cada raza y dentro del grupo de caprinos Criollos se estimaron con el programa CERVUS 2.0 (14). Los coeficientes de variabilidad de Wright se estimaron con el software GDA (19). Se construyó una matriz de distancia con el coeficiente de distancia de Nei (1978) (16) y un árbol de distancia por el método de Neighbor-Joining.

2.- Zoométricas y Morfológicas. Las medidas zoométricas se tomaron siguiendo la metodología de Agraz García (1) y fueron: longitud del cuerpo, altura a la cruz, altura al hueco retroesternal, perímetro de tórax, ancho de hombros, diámetro bicostal, ancho de anca posterior y anterior, largo de anca, ancho de cabeza superior y orbital, largo de cabeza, largo de oreja, perímetro de menudillo y de caña y peso vivo. Con respecto a los caracteres morfológicos y fanerópticos, se midieron: largo de cola, anca, ubre, cuello, mamellas, perfil, posición de las orejas, aptitud, largo del pelo, color de capa, barba, cuernos, y pigmentación de mucosas.

Los análisis se realizaron empleando el programa estadístico SAS (18), con el cual se obtuvieron estadísticos descriptivos de los caracteres zoométricos (medias, desvíos estándar -d.s.- y coeficientes de variación-c.v.- por el procedimiento means) y de los morfológicos (frecuencias relativas mediante el procedimiento freq). Mediante el procedimiento stepdisc se seleccionaron aquellas variables cuantitativas con mayor poder discriminante, y con este conjunto de variables seleccionadas se calcularon las probabilidades de incluir un animal en un determinado grupo, teniendo en cuenta

el error cometido en la clasificación usando el procedimiento discrim. Además se estimó el coeficiente de distancia de Mahalanobis, y se realizó un análisis canónico para determinar las variables de mayor importancia en la discriminación entre las razas. Los niveles de las variables discretas se establecieron de acuerdo al número de clases fenotípicamente distinguibles. Por medio de un análisis de correspondencia, se determinó la asociación entre los caracteres discretos y las razas analizadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis descriptivo y multivariado

1.- Genotípico. En el Cuadro 1 se muestran los valores estimados: número de alelos por locus (Ap), heterocigosis media esperada (HeM), y los coeficientes de variabilidad de Wright (FIT, FIS, FST). En caprinos Criollos se obtuvo el mayor número Ap (11.81) respecto de las otras razas (Anglo Nubian= 6.05 y Saanen= 5.56). La heterocigosis media esperada promedio para las tres poblaciones fue similar, siendo de 0.66 para la raza Criolla, 0.67 para la Saanen y 0.59 para Anglo Nubian. Similares resultados fueron obtenidos por Li *et al.* (13) cuando analizaron la variabilidad genética de doce poblaciones nativas de China con el mismo set de microsatélites usados en este trabajo, y encontraron valores de Ap= 6.89, y una HeM de 0.603. El coeficiente FST promedio fue 0.11 (no se muestra en el Cuadro) el cual permite inferir que aproximadamente el 89% de la variación genética total es debida a la variación dentro de cada raza. En la población Criolla (Cuadro 1), la mayor variabilidad es debida a la variabilidad individual (FIT = 51%). Los altos valores de FIS (coeficientes de variabilidad entre

Cuadro 1. Parámetros genéticos estimados en cada raza.

Razas	Ap	HeM	F _{IT}	F _{IS}	F _{ST}
Criollo	11.81	0.66	0.51	0.44	0.11
Anglo Nubian	6.05	0.59	0.52	0.40	0.20
Saanen	5.56	0.67	0.32	0.19	0.15

Ap: Número de alelos por locus; HeM: Heterocigosis esperada media; F_{IT}= coeficiente de variabilidad individual; F_{IS}= coeficiente de variabilidad entre subpoblaciones; F_{ST}= coeficiente de variabilidad entre poblaciones.

subpoblaciones) encontrados contrastan con la mayoría de los estudios de poblaciones animales, en los que generalmente FIS no es significativamente distinto de cero (5, 6, 20). Sin embargo, éstos coinciden con los estimados por Barker et al. (3), que analizaron la variabilidad en poblaciones caprinas asiáticas, estimada mediante polimorfismos proteicos y microsatélites. Estos altos valores de los estimadores de FIS ocasionados por la deficiencia de individuos heterocigotas, podría ser el resultado de varios factores, tales como: la segregación de alelos nulos, del efecto Wahlund, de errores de genotipado (heterocigotas incorrectamente genotipados como homocigotas), la selección hacia homocigotas o *inbreeding*

(3). Dado las características de los microsatélites empleados en este trabajo, (baja tasa de alelos nulos) y que el efecto Wahlund como los errores de genotipado pueden ocurrir para algún alelo y algún locus, aunque imposible para todos, se podría suponer que estos altos valores de FIS pueden deberse a que en las poblaciones Criollas muestreadas, la baja proporción de machos empleados como reproductores, conduciría a un menor tamaño efectivo de la población, y consecuentemente, un efecto de deriva génica podría estar exhaltado. Por otro lado, los valores estimados de FIS para las poblaciones Saanen y Anglo Nubian podrían suponerse debidos a la selección realizada hacia individuos homocigotas

para determinados caracteres. En el Cuadro 2 se muestra la matriz de distancia genética entre las tres razas, y en Figura 1 el árbol de distancia obtenido. En un mismo cluster se agrupan las poblaciones Criollas y Anglo Nubian.

2.- Morfometría. En general los animales Criollos presentaron menor alzada, tamaño y estructura corporal respecto de las cabras Saanen y Anglo Nubian, y mayor variabilidad en cuanto al ancho de cabeza orbital y altura al hueco retroesternal (datos no mostrados). La diferenciación de los tres grupos raciales se obtuvo por la construcción de una matriz de distancia (Coeficiente de Mahalanobis) con las probabilidades asociadas (Cuadro 3). Se observa una menor diferenciación de los animales Anglo Nubian respecto de Criollos, comparado con la obtenida entre cabras Saanen y Criollas. Este mismo grado de diferenciación se describió anteriormente con la información genética (Cuadro 2). Las variables con mayor poder discriminante fueron: largo de oreja, ancho de cabeza superior, largo de anca y ancho (anterior y posterior), largo y ancho de cabeza, perímetro de menudillo, ancho de cabeza orbital y altura al hueco retroesternal. Con estas variables, la probabilidad a posterior estimada de cometer errores en la asignación de individuos dentro de las razas Criollo, Anglo Nubian y Saanen fue de 0.10, 0.18 y 0.08, respectivamente, lo cual determina el potencial de estas variables para la caracterización racial. La representación gráfica del análisis discriminante canónico se muestra en la Figura 2, donde, largo de oreja, perímetro de menudillo y peso vivo son las variables con mayor poder discriminante para el eje principal (eje canónico 1), y largo y ancho de cabeza para el segundo eje (eje canónico 2). La capacidad discriminante de las variables largo de orejas, perímetro de menudillo, largo y ancho de cabeza, fueron también mencionadas por Herrera *et al.* (11) como variables potenciales para identificar poblaciones caprinas españolas no estandarizadas. Crepaldi *et al.* (7) encontraron también que, en razas caprinas italianas estas mismas variables y la longitud del cuerpo y el altura a la cruz están asociadas a la diversidad observada entre razas.

Cuadro 2. Matriz de distancia genética entre razas.

	Criollo	Anglo Nubian	Saanen
Criollo	0.000	0.712	0.751
Anglo Nubian	0.712	0.000	0.616
Saanen	0.751	0.616	0.000

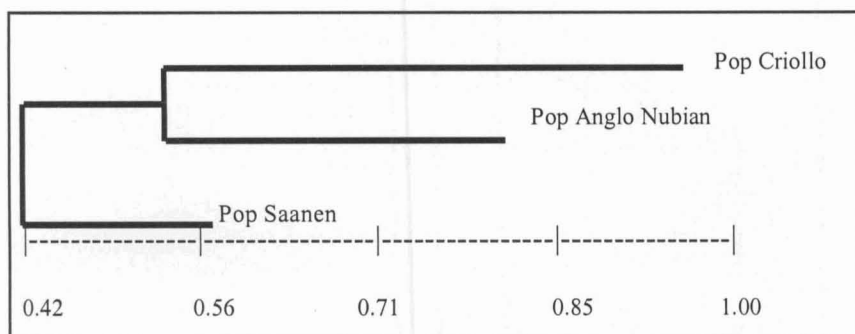


Figura 1. Árbol de distancia genética entre las tres razas.

Cuadro 3. Matriz de distancia (coeficiente de distancia de Mahalanobis). Entre paréntesis valores de p-value.

	Criollo	Anglo Nubian	Saanen
Criollo	0	20.80 (≤ 0.0001)	21.48 (≤ 0.0001)
Anglo Nubian	20.80 (≤ 0.0001)	0	15.73 (≤ 0.0001)
Saanen	21.48 (≤ 0.0001)	15.73 (≤ 0.0001)	0

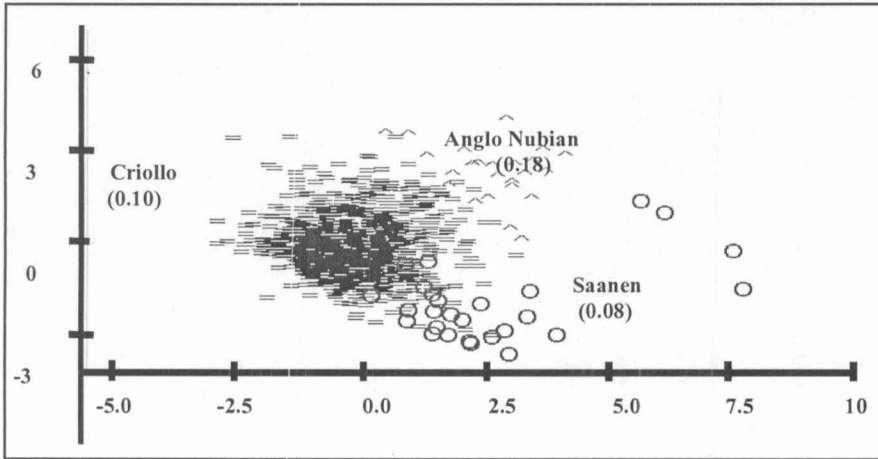


Figura 2. Representación Canónica de los tres razas de caprinos analizadas.

3.- Morfología. Las variables que contribuyen a identificar diferencias entre razas fueron: implantación de las ubres, color de capa, presencia de barba, perfil, tipo y posición de las orejas y tipo de cuerno (Figura 3). Se verificaron diferencias significativas ($p < 0.05$) de las frecuencias de estas variables entre los animales de las tres razas muestreadas. Así, los animales Criollos presentan en más alta frecuencia (mayores de 60%) ubres chicas y con implantación recogida, per-

fil subcónico, cuello largo y fino, orejas paradas, cuernos del tipo espiral y con barba. En cuanto al pelaje, se encontró mayor frecuencia (mayor al 70%) de animales con pelo corto y con calzón, de colores compuestos y mucosas negras.

CONCLUSIONES

Los parámetros de diversidad encontrados en la cabra Criolla, estimados a través de microsatélites e información fenotípica permitió describirla e identi-

carla, con una baja probabilidad de error, respecto de animales Saanen y Anglo Nubian. Algunos resultados presentados a través de árboles y diagramas, posicionan a la raza Criolla más próxima a la raza Criolla respecto de la Saanen. Además no puede descartarse que algún cruzamiento haya existido en el pasado con la raza Anglo Nubian, principalmente en la provincia de Santiago del Estero, lo cual podría revelar la existencia de 'subtipos' de caprinos Criollos.

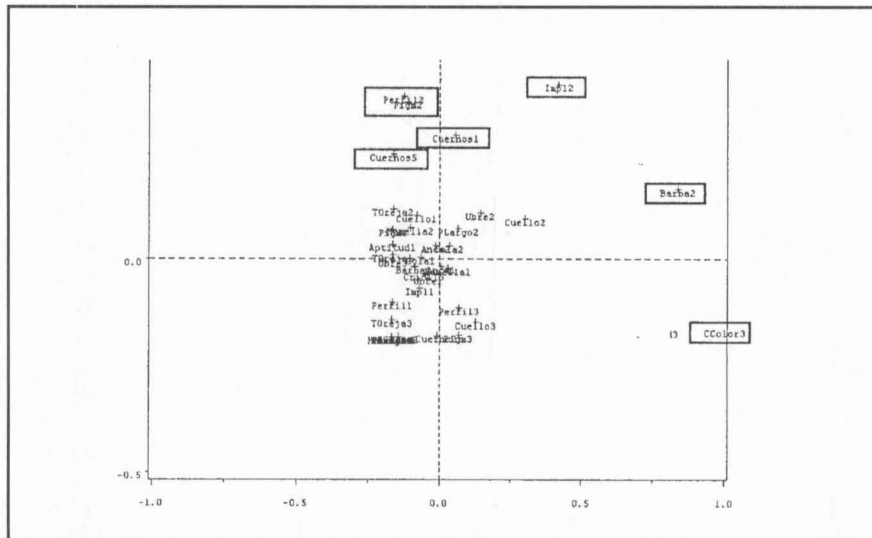


Figura 3. Contribución de las variables morfológicas a cada eje.

El recuadro indica las variables que contribuyen a identificar diferencias entre razas: perfil, pigmentación de mucosas, implantación de ubres, tipo de cuernos, presencia de barba y color de capa.

Referencias Bibliográficas

1. **Agraz García A.** (1976). Estudio zoométrico de tres razas caprinas. Ed.H.Sur. Bs. As. 211 p.
2. **Arranz, J. J.; Bayón, Y.; San Primitivo, F.** (1996). Comparison of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle populations. *Anim. Genet.* 27:415-419.
3. **Barker, J. S. F.; Tan, S. G.; Moore, S. S.; Mujherjee, T. K.; Matheson, J.-L.; Selvaraj O. S.** (2001). Genetic variation within and relationships among populations of Asian goats (*Capra hircus*). *J. Anim. Breed. Genet.* 118: 213- 233.
4. **Cañón, J.; Checa, M. L.; Carleos, C.; Vega-Pla, J. L.; Vallejo, M.; Dunner, S.** (2000). The genetic structure of Spanish Celtis horse breeds inferred from microsatellite data. *Anim. Genet.* 31: 39- 48.
5. **Capote, J.; Delgado, J. V.; Fresno, M.; Camacho, M. E.; Molina, A.** (1998). Morphological variability in the Canary goat population. *Small Rum. Res.* 27: 167-172.
6. **Ciampolini, R.; Moazami-Goudarzi, K.; Vaiman, D.; Dillmann, C.; Mazzanti, E.; Foulley, J. L.; Leveziel, H.; Cianci, D.** (1995). Individual multilocus genotypes using microsatellites polymorphism to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds. *J. Anim. Sci.* 73: 3259- 3268.
7. **Crepaldi, P.; Negrini, R.; Milanesi, E.; Gorni, C.; Cicogna, M.; Arjmonemarsan, P.** (2001). Diversity in five goat populations of the Lombardy Apls: comparison of estimates obtained from morphometric traits and molecular markers. *J. Anim. Breed. Genet.* 118(3): 173-180.
8. **Deza, C.; Pérez, G. T.; Varela, L.; Villar, M.; Rubiales, S.; Gardenal, C. N.; Barioglio, C.** (2000). Protein polymorphism in native goats from central Argentina. *Small Rum. Res.* Vol. 35 (3):195-201.
9. **Diez-Tascón, C.; Littlejohn, R. P.; Almeida, P. A. R.; Crawford, A. M.** (2000). Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. *Anim. Genet.* 31: 243-251.
10. **García-Casas, C.; Moreno, A.; Capote, J.; De la Heba, M. R.** (1992). Characterization of the Canary racial group with erythrocyte genetic markers. *Small Rum. Res.* 6(4):361-368.
11. **Herrera, M.; Rodero, E.; Gutiérrez, M. J.; Peña, F.; Rodero, J. M.** (1996). Application of multifactorial discriminant analysis in the morphostructural differentiation of Andalusian caprine breeds. *Small Rum. Res.* 22: 39-47.
12. **Jordana, J.; Ribo, O.; Pelegrin, M.** (1993). Analysis of genetic relationships from morphological characters in Spanish goat breeds. *Small Rum. Res.* 12: 301-314.
13. **Li, M.-H.; Zhao, S.-H.; Bian, C.; Wang, H.-S.; Wei, H.; Liu, B.; Mei, Y.; Fan, B.; Chen, S.-L.; Zhu, M.-J.; Li, S.-J.; Xiong, T.-A.; Li, K.** (2002). Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. *Genet. Sel. Evol.* 34: 729- 744.
14. **Marshall, T. C.** (2001). Cervus. Computer program designed for large-scale parentage analysis. Versión 2.0.
15. **Mellado, M.** (1997). La cabra Criolla en América Latina. *Vet. Mex.* 228 (4): 333- 343.
16. **Nei, M.** (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583- 590.
17. **Rodríguez, P. L.; Tovar, J. J.; Rota, A. M.; Rojas, A.; Martín, L.** (1990). El exterior de la Cabra Verata. *Arch. Zootecnia* 39: 43-57.
18. **Statistical Analysis Systems Institute Inc. SAS/STAT®.** V. 8 (1999). Cary, N.C., USA.:SAS Institute Inc.
19. **Weir, B.; Lewis, P. O.; Zaykin, D.** (2001). Genetic Data Analysis. Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c).
20. **Yang, L.; Zhao, S. H.; Li, K.; Peng, Z. Z.; Montgomery, G. W.** (1999). Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. *Anim. Genet.* 30: 452-455.
21. **Zanotti Casati, M.; Gandini, G. C.; Leone, P.; Rognoni, G.** (1988). Genetic relationship among four sheep breeds of the Italian Alpine Ark. *J. Anim. Breed. Genet.* 105: 135- 142.
22. **Zerpa, C. M.; Rabasa, A. E.; Roldán, D. L.; Poli, M. A.** (2001). Identificación de caprinos Criollos de tres áreas geoclimáticas diferentes del noroeste argentino en base al perfil morfométrico. XXX Congreso Arg. de Genética. *J. of Basic and Applied Genetics*, Vol. XIV, N° 2 :129-130.

Comparación de tres diferentes pruebas para medir el grado de infestación de *Varroa destructor* en colmenas de abejas melíferas

Utrera Q. F¹, Flores R. E.¹, Hernández Z. J. S¹ y Vargas L.S.²

INTRODUCCIÓN

El ácaro *Varroa destructor* (Anderson y Trueman, 2000) es un parásito externo que ocasiona serios daños en abejas melíferas, teniendo impactos negativos en la apicultura mundial y nacional como son: reducción de números de colmenas y disminución de producción de miel. El diagnóstico de *Varroa destructor* se basa solamente en la identificación de la hembra adulta, la cual es detectable a simple vista sobre las abejas adultas y en la celda de cría por opercular y operculada, los machos y las ninfas no se localizan fácilmente debido a que permanecen dentro de las celdas de la cría operculada (Chihu *et al.*, 1992). Se han propuesto numerosos métodos para la estimación y predicción de los niveles de infestación de varroa en las colmenas (Ritter, 1981; De Jong *et al.*, 1982 y Marchetti, 1986), sin embargo los métodos propuestos difieren entre sí en cuanto al nivel de infestación y cuando se realizan estudios genéticos provoca errores de interpretación de tolerancia en colmenas, es por ello que se propone el siguiente trabajo cuyo objetivo es determinar la mejor o mejores pruebas para medir el grado de infestación de *Varroa destructor* en colmenas de abejas *Apis mellifera* m.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el apiario de la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla ubicado en el la Posta Zootécnica el salado. Se eligieron 16 colmenas al azar para realizarles las pruebas de Nitrato, Muerte Natural y Celdilla. De las pruebas de Nitrato y Muerte Natural se realizaron cinco repeticiones por cada colmena mientras que debido a las condiciones climáticas, solamente se realizó una repetición para la

prueba de Celdilla. Las pruebas se hicieron durante los meses de abril y mayo del 2001 consistiendo de lo siguientes:

Para la prueba de Muerte Natural se utiliza una lamina de aluminio impregnada con aceite comestible y una malla encima que es colocada a las 7:00 a.m. y se retira 24 h después, contándose el número de ácaros muertos sobre la lamina.

La prueba de nitrato (Utrera, 1998) consiste en tomar un bastidor del centro de la cámara de cría y sacudir en un tamizador de 300 a 500 abejas. Con un ahumador al que se le han agregado 20 g de nitrato de amonio se aplica el humo producto de la combustión sobre el tamizador provocando un efecto anestésico en las abejas y los ácaros. Las abejas y los ácaros anestesiados son depositados en dos láminas diferentes, se cuentan por separado y se calcula el porcentaje de infestación.

Finalmente, la prueba de celdilla consiste en abrir 100 celdillas y contar el número de ácaros fundadores, obteniéndose promedios por colmena.

Para el análisis de la información se calculó la media y desviación estándar para cada colmena con las diferentes pruebas; se realizó correlación entre ambos muestreos de cada una de las cinco repeticiones y finalmente se correlacionaron los datos de las tres pruebas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los promedios y desviación estándar se presentan en el Cuadro 1. Como se puede observar existieron colmenas con una caída alta de ácaros con la prueba de muerte natural y a la vez también presentaron porcentajes de infestación altos con la prueba de nitrato (colmenas 21, 9, 7, 8, y 17) y aquellas colmenas que con la prueba de Muerte Natural tie-

nen caída pequeña de ácaros y con valores medios de infestación con la Prueba de Nitrato, tienen coeficientes de correlación negativos (colmenas 23, 15, 3, 24 y 18) y positivos (colmenas no. 12, 14 y 19) pero coeficientes de correlación muy bajos. Las colmenas que tienen poca caída de ácaros con Prueba de Muerte Natural y un alto porcentaje de infestación con la Prueba de Nitrato se debe a que en esos momentos existen pocos ácaros reproduciéndose en las celdillas y la mayoría se encuentran en fase fonética, entonces es lógico encontrar en la Prueba de Nitrato altos grados de infestación y, cuando sucede que hay poca caída de ácaros y bajos porcentajes de infestación, es muy probable que en esos momentos los ácaros estén reproduciéndose en las celdillas.

En el Cuadro 2 se reportan las correlaciones entre las dos pruebas (PMN y PN) para los cinco diferentes muestreos, como se puede observar las correlaciones de los muestreos: 1, 2 y 5 son significativas estadísticamente y además dieron los valores de asociación mas altos, no así los muestreos 3 y 4 que dan los coeficientes de correlación bajos y no significativos estadísticamente, esto puede deberse a que en esos momentos existe poca caída de ácaros por MN porque estos están reproduciéndose en celdas de obreras y zánganos o se encuentran en fase forética (Figura 1). Finalmente, en el Cuadro 3 se presentan correlaciones de las tres diferentes pruebas y como se puede observar las pruebas que miden mas exactamente el grado de infestación de varroa en las colmenas son la PN y PMN que son las que tienen el coeficiente de correlación más alto y significativo estadísticamente, esto puede indicar que estas dos pruebas pueden ir acompañadas cuando se desee saber con

¹Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 4 Sur No 304 Col. Centro, Tecamachalco Puebla, México. C.P. 75480. E-mail : nantequ@yahoo.com.mx

²Colegio de Postgraduados, Campus Puebla.

Cuadro 1. Promedios y desviación estándar para cada una de las colmenas con ambas pruebas.

COLMENA	MUERTE NATURAL		NITRATO		CORRELACIÓN
	MEDIA	D.E.	MEDIA	D.E.	
22	21.60	9.58	1.61	0.91	0.67
12	5.0	1.73	0.89	0.32	0.02
21	149.00	57.76	4.81	1.44	0.91
23	10.25	2.75	1.69	0.34	-0.04
9	101.80	26.98	2.25	3.58	0.82
14	48.60	29.61	2.50	1.62	0.28
15	36.20	8.98	1.19	0.58	-0.52
7	142.60	59.60	4.42	1.45	0.95
6	34.80	15.69	5.04	3.92	0.70
3	23.20	8.53	1.70	1.05	-0.43
24	62.60	9.74	1.77	0.40	-0.19
20	70.00	18.70	3.11	1.88	-0.09
19	50.20	23.41	1.98	0.93	0.03
17	120.00	20.03	4.56	0.92	0.89
18	32.00	20.12	3.33	2.72	-0.56
8	79.60	32.42	7.86	5.22	0.61

Cuadro 2. Correlaciones para los muestreos en cada una de sus repeticiones (PMN y PN).

1	2	3	4	5
0.544	0.628	0.439	0.483	0.747
0.029**	0.009*	0.088 N.S	0.058 N.S	0.001**
0.295	0.034	0.192	0.233	0.558 = R ²

* : Significativo al 0.05. Coeficiente de Correlación de Pearson.

** : Significativo al 0.05. Coeficiente de Correlación de Pearson.

N.S: No significativo.

Cuadro 3. Correlación de las tres pruebas realizadas en el apiario.

	PN	PMN	PC
PN	1.00	0.640	-0.064
PMN		1.00	0.812 NS
PC			1.00

más precisión el grado de infestación de varroa en colmenas, pero cuando se correlacionan PN con PC el coeficiente de correlación es negativo y no significativo estadísticamente sin embargo hay que hacer la aclaración que para la prueba de

celdilla solo se realizó una repetición por colmena es posible que con más repeticiones para esta prueba arrojará resultados más satisfactorios. Se puede decir que la prueba de celdilla es consistente con la prueba de muerte natural porque

la primera con solo una repetición da coeficientes de correlación positivos aunque no estadísticamente significativos. Es probable que la prueba de celdilla con igual número de repeticiones y realizadas al mismo tiempo se podría tener resultados adecuados.

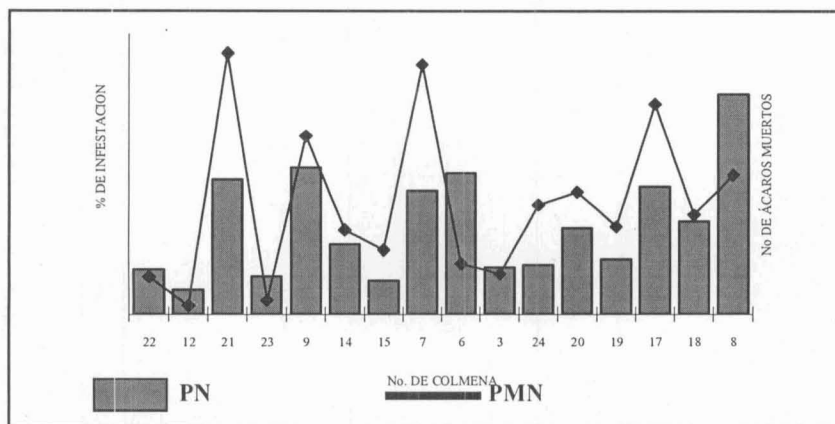


Figura 1. Comparación de promedios de cinco muestreos de PMN y PN.

CONCLUSIONES

La población de *Varroa* en las colmenas de la EMVZ-BUAP, sufre fluctuaciones en periodos muy cortos como se puede observar en los diferentes muestreos.

La prueba de nitrato y de muerte natural son las que más se pueden utilizar para medir niveles de infestación en varroa.

La prueba de celdilla es factible de utilizar alternándola con la prueba de muerte natural.

Referencias Bibliográficas

Anderson D.L.; Trueman J.W.H. 2000. *Varroa Jacobsoni*; (Acari Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24:165-189

Chihu A. D.; Chihu A. L. 1992. La varroasis de la abeja: 2: Métodos de diagnóstico, prevención y control. Estudio recapitulativo. *Revista Mexicana de Parasitología*. Vol.3 No.1 pp.33-37.

De Jong, D.; Morse R. A; Eickwort G. C. 1982. Mite pest on honey bees. *Annual Review of Entomology*. 27:229-252.

Marchetti, S. 1986. Reinfestation rates of varroatosis after treatment in brood-free honey bee colonies. In *Proc. Meet EC. Expert's group*; Bad homburg: 145-156.

Ritter, W. 1981. *Varroa* disease of the honey bee *Apis mellifera*. *Bee World*. 62 (4): 141-153.

Utrera Q. F. 1998. Análisis de la Transmisión de la descendencia de la Tolerancia a *Varroa Jacobsoni* O., de una Población de abejas. Tesis de maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados. Texcoco Edo., de México. 60 p.

Describir claramente la marca, modelo y origen (ciudad y país del fabricante) de los equipos utilizados. Los reactivos, drogas o medicamentos deben describirse por su nombre genérico o químico o por marcas comerciales patentadas (que se señalarán al pie de página).

Los métodos y procedimientos deben ser detallados y bibliográficamente referenciados. Deben precisarse con claridad, tiempos, temperaturas, etc. Los métodos de los análisis estadísticos deben señalarse y citarse bibliográficamente.

RESULTADOS

La descripción de los resultados obtenidos debe presentarse con claridad. Primeramente hacer un "pantallazo general" de los resultados experimentales y luego pueden describirse en cuadros (tablas) o figuras (gráficos, dibujos, fotografías) los datos de los experimentos. No deben presentarse datos repetitivos o demasiado extensos y detallistas.

Deben usarse medidas del sistema métrico decimal dentro de lo posible u otras medidas convencionales. Los análisis estadísticos de datos deben señalar su significación.

Debe redactarse en tiempo pasado

DISCUSIÓN

Deben mostrarse las relaciones entre los hechos observados, con las hipótesis del propio experimento y/o con las teorías, resultados o conclusiones de otros autores

Formule las conclusiones en forma clara. Deben aplicarse las referencias bibliográficas al experimento y no abundar en detalles no estudiados.

Deben exponerse la significación de los resultados y evitar las repeticiones.

Escrito en tiempo pasado en tercera persona del singular o plural según corresponda.

CONCLUSIONES

Se deben dar interpretaciones que sean justificadas por los datos.

Se deben resumir y globalizar las conclusiones parciales que se obtuvieron de diferentes resultados del trabajo. No deben darse conclusiones demasiado generales.

Debe haber una coherencia entre los objetivos, los resultados y las conclusiones, pudiendo sugerirse recomendaciones.

AGRADECIMIENTOS

Deberá constar el nombre de las personas y la institución a la que pertenecen haciendo mención al motivo del agradecimiento. Debe ser escrito en forma concisa y hacer referencia a materiales o equipos y al apoyo financiero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

En el texto: Al final de cada cita bibliográfica se colocará: el número correspondiente al autor con punto. Si existieran varias citas en el mismo párrafo se citará de la siguiente manera (ej.): (8, 10, 12-14, 22). Si es necesario mencionar un autor en el texto, se escribirá el apellido del 1er. autor entre paréntesis; si los autores fueran dos se colocarán los apellidos de ambos y entre medio el símbolo &. En todos los casos deberá citarse además el número correspondiente a la referencia bibliográfica.

En el ítem de Referencias bibliográficas: Debe hacerse especial atención al texto de las referencias bibliográficas, no se aceptarán trabajos mal referenciados. Las referencias deben colocarse en orden alfabético de autores, numerando las obras citadas y consultadas en el texto. Deberán citarse de la siguiente manera: Apellido seguido de coma y un espacio (,) y luego la(s) inicial(es) seguida(s) de un punto (.). Ej.: González, R.. Si hubieran varios autores deben separarse entre sí por un punto y coma (;). A continuación, se colocará el año de la publicación entre paréntesis. Ejemplo: González, R.; López, A. (1989). Más de una referencia del mismo autor se ordenará en orden cronológico decreciente.

Después del año se escribirá el título del artículo terminado en punto. Las revistas científicas serán citadas según las abreviaturas convencionales, ej.: Am.J.Vet.Res. o el nombre completo de la revista, seguido por el volumen, el número entre paréntesis, seguido por los números de páginas precedidos por dos puntos, ejemplos: 12:44-48. ó también: 12(8):44-48. Ejemplo: González, R.; López, A. (1989) Paraqueratosis en suinos. Am.J.Vet.Res. 12(8):44-48.

En el caso de la cita de libros, se indicará Autores (Año) Título, n° de edición (salvo la 1ra.), Lugar de edición, Editorial, Cantidad de páginas del libro. Ejemplo: Rosemberger, G. (1983) Enfermedades de los bovinos. 2a. ed. Berlín, Ed. Paul Parey, 577 p.

En el caso de la cita de capítulo de libros, se indicará Autores (Año) Título del capítulo, In: Autores (editores) del libro, Título del libro, Edición, Lugar de edición, Editor, Páginas inicial y final del capítulo precedido por pp y entre guión. Ejemplo: Dirksen, G. (1983) Enfermedades del aparato digestivo. En: Rosemberger, G. Enfermedades de los bovinos. 2a. ed. Berlín, Ed. Paul Parey, pp. 235-242.

En la cita de congresos: Autores (Año) Título del artículo. Nombre del congreso. Número ordinal del congreso, Ciudad, País, páginas.

En la cita de una tesis: Autores (Año) Título de la tesis. Tipo de tesis (ej.: doctor veterinario), Institución, Ciudad, País.

En la cita de comunicaciones personales: se cita el Nombre (apellido, inicial del nombre) (Año), se hace una llamada y se cita al pie de página con el texto: Comunicación personal. No citar en las referencias bibliográficas.

Cuadros

Los cuadros deben tener un n° de identificación correlativo que figurará en el texto y contendrán un texto de título en la parte superior. Deben contener información sobre el experimento que lo autodefinen. Las referencias o símbolos de los cuadros se presentarán al pie del mismo en letra cursiva de tamaño 10 puntos. Ejemplo: Cuadro I. Variación de la temperatura en función del tiempo., Ejemplo de pie de cuadro: T = temperatura, t = tiempo (en minutos). Si el cuadro no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

Figuras y Gráficos

Las figuras o gráficos deben tener un n° de identificación correlativo que corresponda con el texto y contener un texto de definición del contenido en la parte inferior, con leyendas y definición de los símbolos utilizados. Si la figura o gráfico no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

Fotos

Las fotografías y especialmente las microfotografías deben contener una escala de referencia. Deben tener un n° de identificación correlativo que corresponda con el texto y contener un texto de definición del contenido en la parte inferior, con leyendas y definición de los símbolos utilizados. Si la fotografía no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

Normas de redacción para Revisiones

Es un trabajo científico con el objetivo de efectuar una revisión o recapitulación actualizada de los conocimientos presentando una evaluación crítica de la literatura publicada según la perspectiva del autor. Este tipo de trabajo permite una mayor discrecionalidad en la presentación de la organización pero debe mantener rigor científico. Deberán describirse los objetivos y el alcance que se pretende lograr. La cita de bibliografía será la misma que la de los artículos originales.



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay