

Manejo y reproducción de *Lutreolina crassicaudata* (Marsupialia, didelphidae) en condiciones de bioterio - Management and reproduction of *Lutreolina crassicaudata* (*Marsupialia, didelphidae*) under animal house conditions

Iodice, O. H., Cervino, C. O. y Affanni, J. M.: Instituto de Neurociencia, Facultad de Medicina, Universidad de Morón. Machado 714, 5to piso. (1408) Morón, Pcia. de Buenos Aires, Argentina.
Contacto: iodice@unimoron.edu.ar

RESUMEN

La utilización experimental de la zarigüeya colorada *Lutreolina crassicaudata* como animal de laboratorio no ha sido usufructuada como se merecería si se tuviesen en cuenta las interesantes posibilidades que ofrece. Esta situación es en parte debida a la ausencia de técnicas de mantenimiento y manipulación compatibles con el comportamiento y requerimientos de estos animales. En este trabajo se describen métodos de alojamiento y cuidado de una colonia de zarigüeyas coloradas junto con instrucciones sobre alimentación y reproducción. También se incluye la determinación de las fases del ciclo estral en esta especie. La aplicación de estos procedimientos permitió la reproducción en cautiverio y aseguró el crecimiento de sus crías.

Palabras clave: *Lutreolina crassicaudata* | zarigüeya | modelo experimental | animal de laboratorio | condiciones de bioterio | manipulación | reproducción | ciclo estral |

ABSTRACT

Experimental research on the thick-tailed opossum *Lutreolina crassicaudata* has been partly impeded by the absence of maintenance and manipulation techniques compatible with the behavioral characteristics and requirements of this species. In this paper we describe methods for housing and care of a *Lutreolina* colony together with instructions regarding feeding and mating procedures. The characterization of the phases of the estral cycle is also included. These procedures permitted the successful reproduction of this marsupial followed by a normal development and growth of the newborn.

Keywords: *Lutreolina crassicaudata* | opossum | experimental model | laboratory animal | animal facilities | handling | reproduction | estral cycle

INTRODUCCIÓN

Un número creciente de investigadores en biomedicina ha manifestado, a lo largo de los años, su interés por los marsupiales. Este hecho se puso de manifiesto desde los trabajos de los pioneros en esta área (Tyndale-Biscoe, 1973; Hunsaker, 1977; Stonehouse y Gilmore, 1977). Los marsupiales tienen en la actualidad un gran número de aplicaciones biológicas y médicas. Se han publicado las ventajas experimentales y las excepcionales propiedades exhibidas por estos mamíferos, en especial las referentes al opossum norteamericano (Jurgelsky, 1974; Jurgelsky y col., 1974; Jurgelsky y Porter, 1974).

Nuestro grupo de investigación ha señalado las propiedades biológicas de especies sudamericanas de marsupiales y las ha propuesto como modelos experimentales en biomedicina (Iodice, 1987 y 1988). Entre esas propiedades se destaca el hecho de que, luego de un corto periodo de gestación intrauterina, los recién nacidos completan la mayor parte de su desarrollo ontogenético dentro de la bolsa marsupial (Affanni, 1983). Allí permanecen durante un tiempo considerable pudiendo ser abordados por la simple separación de los bordes de la bolsa marsupial. Esta sencilla maniobra permite actuar sobre los recién nacidos con distintos procedimientos experimentales (inyecciones, estímulos, lesiones, etc). Esa propiedad, entre otras, los convierte en excelentes modelos para la embriología experimental.

En lo referente a los marsupiales de Argentina sobresalen dos especies muy abundantes *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata*, llamadas vulgarmente zarigüeya overa y zarigüeya colorada, respectivamente. Son conocidas también bajo diversos nombres en toda América, generalmente derivados de voces indígenas (Iodice, 1988 y 2010). Los estadounidenses las llaman *South American opossum* y *thick tailed opossum*, respectivamente. La denominación de comadreja, que a veces se le asigna, no es correcta, ya que ésta le pertenece a otro grupo de mamíferos (mustélidos) que son de origen europeo.

Debe resaltarse que algunos marsupiales americanos vienen siendo utilizados como modelos para el estudio de melanomas inducidos por radiación ultravioleta (UV) (Setlow, 1996; Robinson y col., 2000; Wang y Vandeberg, 2005) así como en estudios de otros tumores (Sabourin y col., 1993; Wang y col., 2003). Desde hace más de una década, se utiliza a la zarigüeya norteamericana, *D. virginiana*, en estudios morfológicos y funcionales del sistema gastrointestinal (Ren y Schulze-Delrieu, 1989 y

1990; Schulze y col., 2001). En Argentina ha sido utilizada la zarigüeya sudamericana, *D. albiventris*, como modelo en gastroenterología de modo tan ventajoso como su congénere norteamericano (García y col., 1998a, b; 2001 y 2002).

En lo referente a *D. albiventris* (antes denominada *D. azarae*), hemos publicado un estudio en cual se comunicaba por primera vez en la bibliografía mundial la existencia de sueño paradójico en un marsupial (Affanni y Vaccarezza, 1964; Affanni, 1965). También sobre la relación de los bulbos olfativos sobre el sueño (Vaccarezza y Affanni, 1966 y 1968), de los sistemas comisurales interhemisféricos (Affanni y Morita, 1966 y 1968; Morita y Affanni, 1966) y la fisiología del sistema olfativo (Vaccarezza y Affanni, 1964; Affanni et al., 1968). En esta línea, fueron publicados varios trabajos sobre las características del sueño (Affanni y Vaccarezza, 1966; Affanni y col., 1967; Affanni y García Samartino, 1984) y del comportamiento (Papini y col., 1984). Por último, se publicó un trabajo referente a la histología de la glándula pineal en el cual se comunica la presencia de un fotorreceptor en la misma (González y Affanni, 1995).

Teniendo en cuenta el variadísimo elenco de notables propiedades biológicas exhibido por los marsupiales americanos, consideramos probable que el estudio de una especie poco trabajada, como es *L. crassicaudata* (Fig. 1), permita descubrir nuevas propiedades o variantes de las descubiertas en otras especies.

Estas consideraciones han sido el principal motivo de nuestro esfuerzo por convertir a la zarigüeya colorada o coligrueso, *L. crassicaudata*, en un modelo experimental. Cabe señalar que este animal ya fue utilizado por nosotros (Scaravilli y col., 1974) habiéndose señalado una interesante característica de la actividad cerebral durante el Sueño Paradójico. Asimismo, se publicaron datos cuantitativos sobre el cerebro de *L. crassicaudata* (Pirlot y Affanni, 1997). El uso del mismo continúa actualmente rindiendo interesantes posibilidades para estudios neurobiológicos en nuestro Instituto de Neurociencia (Universidad de Morón, Argentina).

El género *Lutreolina* presenta una única especie: *L. crassicaudata*. Sus ejemplares poseen características diferentes de las del género *Didelphis*: son fundamentalmente terrestres (no arborícolas), mucho más rápidas, ágiles y escurridizas. Se los encuentra en zonas litorales, tanto en cursos como en espejos de agua, de cuyas riberas obtienen la mayor parte de sus alimentos. Son excelentes nadadores. Poseen un cuerpo alargado que mide entre 60 y 80 cm, de los cuales entre 30 y 35 cm pertenecen a su larga cola. Ésta es bastante gruesa en su mitad proximal. Esta última característica les ha valido la denominación de "coligruesos", uno de sus nombres comunes. El grosor de la cola está relacionado con su

estado de nutrición general y actúa como un depósito de reserva energética. La cabeza es pequeña, con orejas redondeadas. El pelaje varía mucho dentro de una coloración rojiza, que puede ir desde una tonalidad amarillenta hasta un pardo oscuro. Estos animales tienen un gran parecido exterior con los mustélidos europeos, por eso los primeros españoles que arribaron a Sudamérica las llamaron comadreas, permaneciendo esta denominación vulgar hasta nuestros días, a pesar de ser marsupiales (Cabrera y Yepes, 1940; Walker, 1968; Wilson y Reeder, 2005).

Las publicaciones referidas a esta especie son muy escasas. Merecen citarse: los estudios de distribución natural de Graipel y col. (1996); el detalle anatómico de la musculatura craneana de Delupi y col. (1997); el estudio de la dentición y de la reproducción en estado silvestre de Regidor y col. (1999); la referencia a la dieta natural realizada por Cáceres y col. (2002); los estudios genéticos publicados por Pagnozzi y col. (2002); la descripción detallada de diversos aspectos del comportamiento motor hecha por Santori y col. (2005); la determinación de los valores sanguíneos (Corujeira y col., 1986; Iodice, 2010), y los estudios preliminares de mantención y reproducción en cautividad hecho por nosotros (Iodice y col., 1986 y 2007; Iodice, 2010).

El objetivo de este trabajo es exponer los procedimientos que se utilizaron para el manejo y reproducción de *L. crassicaudata*, en condiciones de Bioterio en el Instituto de Neurociencia. Se propone sentar las bases para utilizarlo como modelo experimental en la investigación biomédica.

MATERIALES Y MÉTODO

Se denomina manejo al conjunto de procedimientos cíclicos, periódicos o estratégicos que se adoptan en la cría de animales en cautiverio. Estos involucran los aspectos referidos a la captura, alojamiento, manipulación, alimentación, sanidad y reproducción. Describiremos con este orden las diferentes etapas.

1.- Captura

La Colonia se inició con un plantel de 20 hembras y 12 machos. El pie de cría provino de los alrededores de las localidades de:

- Ceres, provincia de Santa Fe, Argentina (29° 53´ S // 61° 56´ O).
- Rosario, provincia de Santa Fe, Argentina (32° 57´ S // 60° 39´ O).
- Sauce Viejo, provincia de Santa Fe, Argentina (31° 46´ S // 60° 50´ O).

La mayor parte de los animales utilizados en el Instituto, se originó por apareamientos realizados en la Colonia (ver más adelante).

Los animales fueron capturados con jaulas-trampa que contenían cebos. Los lugares de captura fueron elegidos en base al reconocimiento de la abundante presencia de ejemplares en la zona, con el fin de minimizar el impacto ambiental por retiro de animales de su ambiente natural. Luego, los ejemplares fueron alojados en el Bioterio de diversos modos según su edad y estado reproductivo.

2.- Instalaciones y alojamiento

Estos estudios se iniciaron en el Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (FCEyN – UBA). El mismo contaba con un sector especialmente diseñado para la Colonia de Marsupiales, perteneciente al Instituto de Neurociencia (INEUCI) del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva - Argentina). Se continuaron en las instalaciones del Instituto de Neurociencia de la Facultad de Medicina (Universidad de Morón (UM) - Argentina).

Las instalaciones utilizadas para alojar zarigüeyas coloradas las hemos descrito, someramente, con anterioridad (Petersen y col., 1984; Iodice, 1987; Iodice y col., 2007). En forma más detallada podemos distinguir las condiciones de alojamiento en macro y microambiente.

Macroambiente:

El macroambiente o encierro secundario está constituido por las características de la habitación: tamaño, iluminación, temperatura, ventilación, humedad relativa, ausencia de ruido y polvo, entre otros (Olfert y col., 1998; Zuñiga y col., 2001; NIH, 2002).

La iluminación fue la del ciclo natural que llegaba a través de ventanas convenientemente selladas para evitar el ingreso de animales y elementos extraños. Se utilizó luz artificial para las tareas de limpieza y mantenimiento, en el horario de 8:00 a 12:00 h. En época invernal las salas fueron reguladas a la temperatura de 20 ± 3 °C. La ventilación de las salas se realizó mediante extractores de aire colocados a ras del piso y rejillas para entrada del aire ubicadas en la parte superior de la pared opuesta. Esta disposición permite una adecuada renovación del aire interior sin que se formen circuitos aéreos viciosos ni que haya suspensión de polvo en el ambiente. Los extractores estaban automatizados para funcionar treinta minutos cada cuatro horas.

Microambiente:

Se entiende por microambiente el encierro primario del animal, determinado por el habitáculo o jaula y todo lo que en él se incorpora, como ser lecho, agua, alimento, número de animales y elementos de enriquecimiento ambiental. Sus componentes deben satisfacer las necesidades fisiológicas, de conducta y de interacciones entre individuos, así como el establecimiento de jerarquías dentro del encierro (Olfert y col., 1998; NIH, 2002).

En nuestra experiencia, se utilizaron jaulas individuales y compartimientos de mampostería:

a. Jaulas individuales como las usadas convencionalmente para cobayos y ratas (Fig. 2A y B). Sus medidas son 44 cm de largo x 32 cm de ancho x 25 cm de altura con las siguientes características: paredes laterales, piso y techo de alambre galvanizado; puerta ubicada en la parte superior; distancia entre barrotes de 1 cm. Tienen una bandeja de acero inoxidable en la que se coloca viruta de madera para recibir las deyecciones. Estas jaulas se apoyan en estanterías metálicas dentro de las salas del Bioterio.

b. En compartimientos de cemento de 153 cm de largo, 90 cm de ancho y 43 cm de altura con tapas de alambre tejido. En su interior se coloca una pequeña caja de madera o metal sin tapa de 30 cm de largo, 20 cm de ancho y 14 cm de altura con pasto, paja o viruta de madera en su interior, acondicionada como habitáculo por el propio animal. Estos compartimientos se encuentran dentro de las salas (Fig. 3A y B).

3.- Alimentación

En estado silvestre, los ejemplares de *Lutreolina* son sumamente oportunistas. Se alimentan de variados recursos animales y vegetales. Sin embargo muestran tendencias hacia determinados grupos de alimentos en función de la localización geográfica o la estación climática. Por regla general son buenos cazadores. Pequeños mamíferos, aves, reptiles y anfibios se cuentan entre sus presas. Los insectos y otros artrópodos, lombrices, moluscos y otros invertebrados también forman parte de su dieta que complementan con productos vegetales como ser frutos o granos, además de poseer hábitos carroñeros. Por lo general, todos estos recursos se encuentran a orillas de cursos de agua, que son el hábitat elegido por esta especie (Vaughan y col., 1999; Martin y col., 2001; Cáceres y col., 2002; Feldhamer, 2003).

Para estos marsupiales en condiciones de cautividad y luego de muchos ensayos, hemos seguido el criterio adoptado por anteriores experiencias de otros investigadores (Coghill, 1939; Jurgelski Jr, 1974; Jurgelski Jr y

col., 1974; Jurgelski Jr y Porter, 1974). Hemos utilizado alimento balanceado calidad *premium* para caninos. Se les administraron entre 150 y 200 g diarios en comederos circulares de vidrio, cuyas medidas internas son: 9 cm de diámetro y 3 cm de profundidad (resistentes y de fácil lavado) (Fig. 3A y Fig. 4) y en comederos tolva en las jaulas similares a las usadas para cobayos (Fig. 1A).

Figura 1. Ejemplar adulto de zarigüeya colorada *Lutreolina crassicaudata*. Nótese el grosor de la cola en su mitad proximal. Esta última característica les ha valido la denominación de "coligruesos", uno de sus nombres comunes.



En época reproductiva, (primavera y verano del hemisferio sur), la dieta se suplementó con huevos frescos o desecados, leche entera y vitaminas liposolubles. El agua fue administrada *ad-libitum* en los recipientes de vidrio antes mencionados. En las jaulas individuales se utilizaron botellas con pico de acero inoxidable colocadas en forma invertida en el exterior de las mismas (Fig. 2A). Los animales aprenden a beber de ellas con sorprendente facilidad.

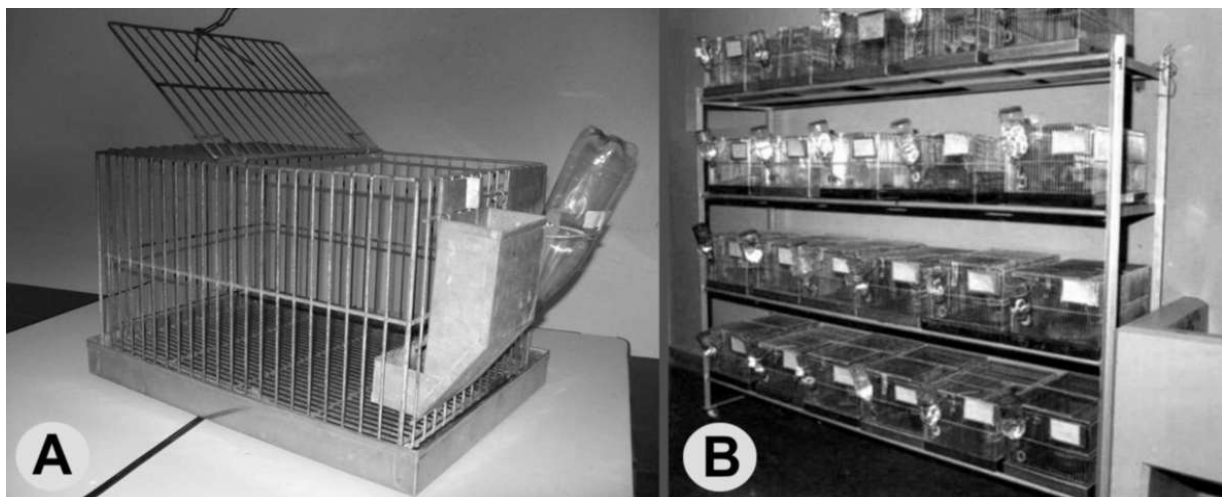


Figura 2. Alojamiento en jaulas individuales.

A. Vista general de una jaula de cobayo que resultó la más adecuada en vista de poseer la tolva para administrar el alimento ubicada en el exterior.

B. Vista de una de las estanterías colocadas dentro de la sala en las que se ubican las jaulas individuales.



Figura 3. Alojamiento en compartimentos de cemento.

A. Ejemplares *Lutreolina crassicaudata* alojados en los compartimentos de cemento, dentro de las salas del Bioterio.

B. Detalle de la caja colocada dentro de la jaula de cemento para ser usada como nido.

Figura 4. Recipientes de vidrio utilizados para administrar el alimento sólido y el agua a los ejemplares de *Lutreolina crassicaudata*, mantenidos en los compartimentos de cemento.



En las Tablas I y II se detalla la composición general y porcentual del alimento citado.

Tabla I. Componentes del alimento balanceado para caninos calidad *premium* de uso comercial utilizado como dieta sólida para el mantenimiento en cautividad de *Lutreolina crassicaudata*.

Materia prima	Minerales	Vitaminas y elementos esenciales
harina de pollo, harina de carne bovina, grasa de pollo, sebo 1 ^{er} jugo bovino, hidrolizado enzimático de pollo, maíz, arroz, harina de extracción de soja, pulpa de achicoria y extracto de yuca.	cloruro de calcio, óxido de zinc, óxido manganoso, sulfato ferroso, iodato de calcio, óxido de cobre y selenito de sodio	A, D3, E, K3, B1, B6, B12, D-pantotenato de calcio, ácido nicotínico, ácido fólico, colina, biotina, lisina, metionina y antioxidante (BHT)

Tabla II. Composición centesimal del alimento balanceado utilizado como dieta sólida para el mantenimiento en cautividad de *Lutreolina crassicaudata*.

Composición	Porcentaje
Humedad máxima	12 %
Proteína bruta mínima	27 – 30 %
Extracto etéreo mínimo	15 %
Fibra cruda máximo	2,8 - 3 %
Cenizas	9 %
Calcio	1,3 - 1,6 %
Fósforo	0,9 - 1,3 %
Energía metabolizable	4.100 – 4.200 Kcal./kg MS

4.- Manipulación

Los ejemplares de *L. crassicaudata*, en contraposición a lo que ocurre con otras zarigüeyas como la *D. albiventris* o zarigüeya overa (*oposum* para los norteamericanos), muestran gran agilidad y rapidez de movimientos. Son sumamente agresivos. Cuando el operador los mantiene suspendidos por la cola pueden girar sobre sí mismos y lanzar dentelladas.

Para la manipulación se utilizaron guantes protectores de goma tipo industrial o guantes de cuero impermeables para prevención sanitaria y para evitar lesiones producidas con las uñas o dientes en algún movimiento defensivo. Se complementa con un bastón de madera con empuñadura que puede o no poseer en el extremo opuesto al mango una forma en "V" u horqueta. Debe ser de madera para no lesionar a los animales, ya que estos lo muerden y/o se aferran a él (Fig. 5). El método para manipularlos consiste en distraer su atención con el bastón esgrimido en una mano mientras se lo toma por la cola con la otra. Luego se le ofrece el bastón por debajo del cuerpo para que se afirme sobre el mismo y de esta manera se puede extraerlo de la jaula y eventualmente transportarlo de un lugar a otro cercano. Si fuese necesario contenerlo con ambas manos, se procederá a depositarlo en el piso aferrándolo sólo por la cola con una mano y tomarlo con la otra por el dorso de cuello, en un movimiento rápido y firme. Se mantienen los brazos extendidos y se presenta el animal para que otro operador realice las maniobras necesarias –inspección del marsupio, inyecciones, curaciones menores, etc.-.



Figura 5. Personal del Instituto manipulando un ejemplar de *Lutreolina crassicaudata* con los elementos de contención habituales.

Cabe señalar que durante todos esos procedimientos los animales, con la boca abierta y amenazadora, suelen emitir un sonido peculiar, mezcla de bufido y chillido.

Para sujeciones más prolongadas o manipulaciones que requieran inmovilizar los ejemplares se utilizaron tranquilizantes y anestésicos. Las drogas utilizadas son las de uso rutinario en la práctica veterinaria. Ellas y sus respectivas dosis se resumen en la Tabla III (Iodice, 2010). Las dosis de la tabla son las sugeridas para lograr efectos sedantes sin llegar a producir un plano anestésico quirúrgico.

Tabla III. Drogas utilizadas para la inmovilización de los animales en estudio.

Droga	Dosis	Vía De Inoculación
Acepromazina	2 mg/kg	Intramuscular
Clorhidrato de Ketamina	25 – 30 mg/kg	Intramuscular
Xilacina	3 mg/kg	Intramuscular
Acepromazina + C. de Ketamina	2 mg/kg + 20 mg/kg	Intramuscular
Xilacina + C. de Ketamina	3 mg/kg + 20 mg/kg	Intramuscular

5.- Sanidad

Teniendo en cuenta que los animales habían padecido el estrés de la captura y posterior traslado y que procedían de un medio natural en el que se presentan diversos tipos de enfermedades, consideramos indispensable establecer desde su llegada a nuestro lugar de trabajo, un período de aislamiento estricto no menor de 30 días. Dicho período se cumplió en los alojamientos ya descritos, en salas *ad-hoc* de los Bioterios, mantenidas con las mismas condiciones ambientales antes mencionadas.

Durante este período los animales fueron observados diariamente, con los controles clínicos de rutina como ser examen de piel y faneras, dinamismo, normofagia, normodipsia y eupnea, entre otros. También se le realizaron análisis coproparasitológicos utilizando métodos con sustancias de enriquecimiento (según Borchert, 1964; Marek y Mócsy, 1973):

- Solución saturada de cloruro de sodio (Solución de Willis) y
- Solución sobresaturada de azúcar (Solución de Benbrook).

Los estudios se efectuaron por doble centrifugación a fin de investigar las muestras por:

- Método de Flotación y
- Método de Sedimentación.

En forma preventiva y/o terapéutica se realizaron desparasitaciones externas con productos a base de piretroides de muy baja toxicidad en mamíferos e internas con derivados benzoimidazólico asociados con prazicuantel para abarcar el más amplio espectro posible de parásitos, ambos por vía subcutánea (dos dosis con intervalos de dos semanas).

También se realizaron curaciones de las heridas y traumatismos que pudieran haber sufrido durante la captura y el traslado.

En animales aparentemente débiles y sin sintomatología clara, se efectuaron tratamientos preventivos basados en la administración de antibióticos solos o vitaminados. Su formulación incluía tetraciclinas y vitaminas hidro y liposolubles. Su administración fue por vía oral en el agua de bebida o parenteral según el caso y la gravedad del cuadro.

Una vez concluido el período de aislamiento los animales fueron trasladados a otras salas del Bioterio, con condiciones macroambientales similares a las de la sala de aislamiento, para formar parte de la colonia general.

Los animales de la colonia general recibieron desparasitaciones externas e internas estratégicas.

Los animales nacidos en la colonia fueron alojados en las jaulas individuales en salas independientes del resto de los animales de la colonia. Se les realizaron controles clínicos y análisis coproparasitológicos periódicos. Sólo se les administró medicación en caso de necesidad, de esta forma se evitaron tratamientos innecesarios capaces de interferir con usos experimentales posteriores.

6.- Ensayo de reproducción con apareamientos programados

Con el objeto de explorar la factibilidad de obtener reproducción en las condiciones descritas y con apareamientos programados durante la primavera, se utilizaron 20 hembras y 8 machos. Estos animales estaban adaptados al cautiverio y habían permanecido en la colonia por más de un año. Los machos fueron mantenidos en las jaulas individuales antes descritas. Las hembras fueron alojadas en los compartimientos de cemento ya mencionados.

Para determinar la fase del ciclo estral se procedió a realizar extendidos de muestras de la mucosa vaginal (citología vaginal exfoliativa), como se describirá más adelante. De esta forma, se procedió al diagnóstico de cada etapa del ciclo para ubicar el momento adecuado (estro) y así proceder al apareamiento.

A partir de la fase de proestro se colocó al macho con la hembra y se los mantuvo juntos en el mismo compartimiento durante un lapso que osciló

entre los 12 y 18 días, según los casos. El límite de ese lapso fue determinado por la presencia de "larvas" dentro del marsupio durante las inspecciones diarias. Deseamos aclarar que la adopción del término larva se origina en Grassè (1980) para referirse a los recién nacidos mientras están en proceso de desarrollo dentro de la marsupia. Al producirse el nacimiento, el macho era trasladado a su jaula original.

7.- Determinación del ciclo estral

El procedimiento para realizar la toma de muestra consistió en tomarlo y levantarlo por la cola con una mano, permitiendo que el animal se aferre, con sus miembros anteriores, a la tapa enrejada del compartimiento. Esta maniobra deja al alcance del operador el orificio ano-uro-genital. Con la otra mano se introdujo una espátula *ad-hoc* en dicho orificio (Fig. 6).



Figura 6. Modo de manipular al animal para la obtención de muestras con el fin de realizar estudios de citología vaginal exfoliativa.

Se extrajo una muestra de este material cada 48 hs y los frotis obtenidos se tiñeron con la técnica de coloración de Papanicolau (1942) modificada por Iodice y col. (1988). Se determinaron las distintas fases del ciclo mediante las características morfológicas y tintoriales de las células encontradas (Fig. 7 y Tabla IV).

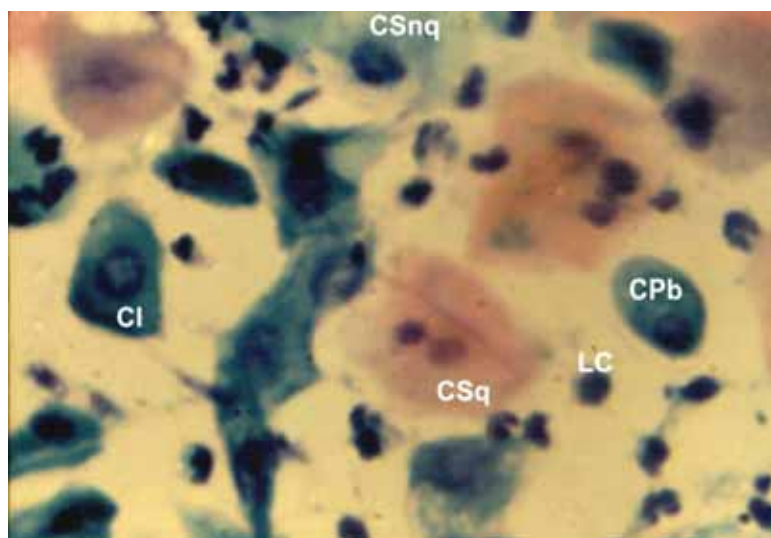


Figura 7.

Fotomicrografía de frotis vaginal, en fase de diestro de *Lutreolina crassicaudata*. **CI:** células intermedias; **LC:** leucocitos polimorfos nucleares; **CPb:** células parabasales; **CSq:** células superficiales queratinizadas; **CSnq:** células superficiales no queratinizadas. Aumento: 400x.

Tabla IV Denominación y características morfológicas y tintoriales de las células halladas en las muestras de citología vaginal exfoliativa.

Tipo Celular	Abreviatura	Características Celulares
Superficiales queratinizadas	CSq	Grandes, con bordes irregulares, plegadas y replegadas, transparentes, color rosado o anaranjado, generalmente sin núcleo.
Superficiales no queratinizadas	CSnq	Grandes, con bordes irregulares, plegadas y replegadas, levemente transparentes, color celeste o celeste verdoso, con o sin núcleo.
Intermedias	CI	Redondeadas u ovoides, algo más pequeñas que las anteriores, bordes muy regulares, color celeste o celeste verdoso, con núcleo, alta relación citoplasma/núcleo.
Parabasales	CPb	Redondeadas, pequeñas, bordes muy regulares, color celeste o celeste verdoso, con núcleo, baja relación citoplasma/núcleo.
Leucocitos (polimorfonucleares)	Lc	Muy pequeños, semejan puntos oscuros encadenados entre sí, diseminados por todo el preparado en medio de las células anteriores.

El diagnóstico de cada etapa del ciclo estral se estableció de acuerdo a las proporciones de los distintos tipos de células presentes en el extendido, clasificadas de acuerdo a su morfología y a su afinidad tintorial. La relación entre los diferentes tipos celulares establece índices y porcentajes que sirven para caracterizar cada una de las etapas del ciclo estral (Schutte, 1967).

Los procedimientos operacionales para el cuidado, manipulación y uso de estos animales se realizaron bajo las normas de buenas prácticas aprobadas por la Comisión de Ética de la Institución.

RESULTADOS

No se observaron muertes de animales durante el período de adaptación. Durante los tres años y medio en los que se desarrolló este estudio se logró mantener con éxito un número de 105 animales, entre los ingresados por captura y los nacidos en la colonia.

Como se discute más adelante, los procedimientos de alojamiento, de alimentación y de sanidad aseguraron el éxito en el desarrollo y crecimiento de la colonia bajo las condiciones descritas más arriba. En cuanto a la técnica de determinación de las fases del ciclo estral, los resultados obtenidos por medio del índice porcentual de células halladas se observan en la Tabla V y la Fig. 8.

Tabla V. Porcentaje de los diferentes tipos celulares (media \pm D.E.) que caracterizan las distintas fases del ciclo estral de *L. crassicaudata*, obtenidos por citología vaginal exfoliativa.

Fase	CSq	CSnq	CI	CPb
Proestro	45 % (\pm 11 %)	45 % (\pm 10 %)	10 % (\pm 8 %)	0 %
Estro	80 % (\pm 8 %)	15 % (\pm 12 %)	5 % (\pm 4 %)	0 %
Metaestro	25 % (\pm 15 %)	44 % (\pm 15 %)	25 % (\pm 12 %)	6 % (\pm 4 %)
Diestro	3 % (\pm 1 %)	7 % (\pm 6 %)	18 % (\pm 9 %)	72 % (\pm 9 %)

CSq: células superficiales queratinizadas. **CSnq:** células superficiales no queratinizadas. **CI:** células intermedias. **CPb:** células parabasales.

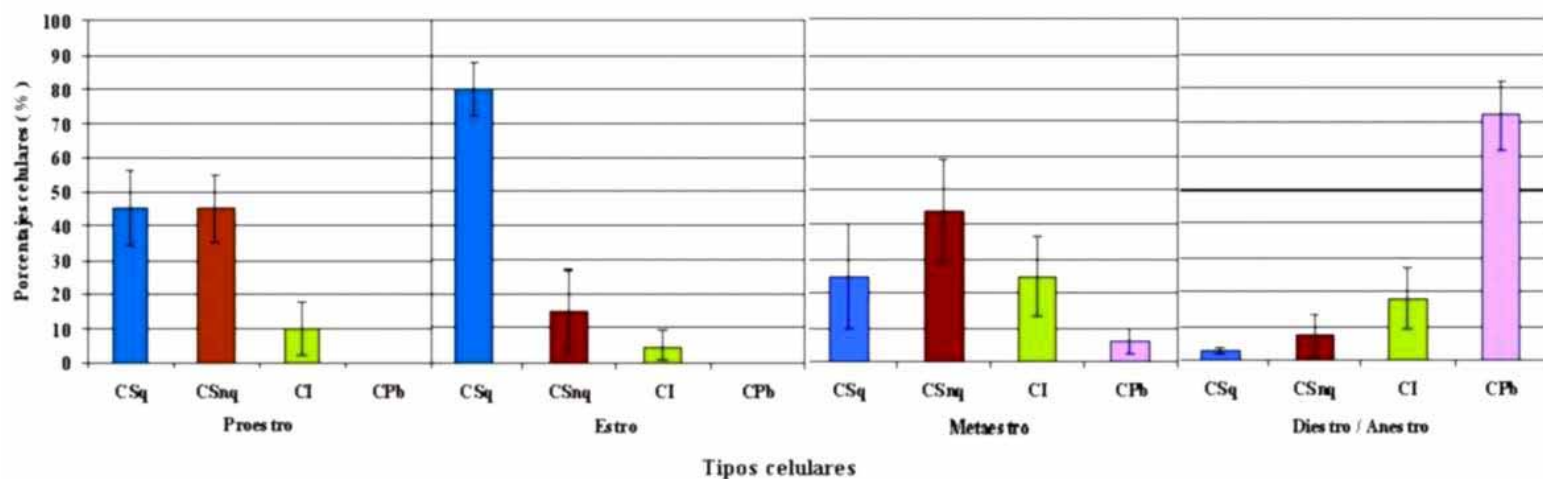


Figura 8. Histograma que muestra la proporción relativa de los distintos tipos celulares (media \pm D.E., n= 20) durante los diferentes estadios del ciclo estral de *Lutreolina crassicaudata*, obtenidos por citología vaginal exfoliativa. **CSq:** células superficiales queratinizadas. **CSnq:** células superficiales no queratinizadas. **CI:** células intermedias. **CPb:** células parabasales.

En las Figs. 9A, B, C, y D se puede observar la diversidad celular de cada fase del ciclo estral de *L. crassicaudata*, a partir de muestras tomadas por citología vaginal exfoliativa. Las características de los diferentes tipos celulares pueden consultarse en la Tabla V.

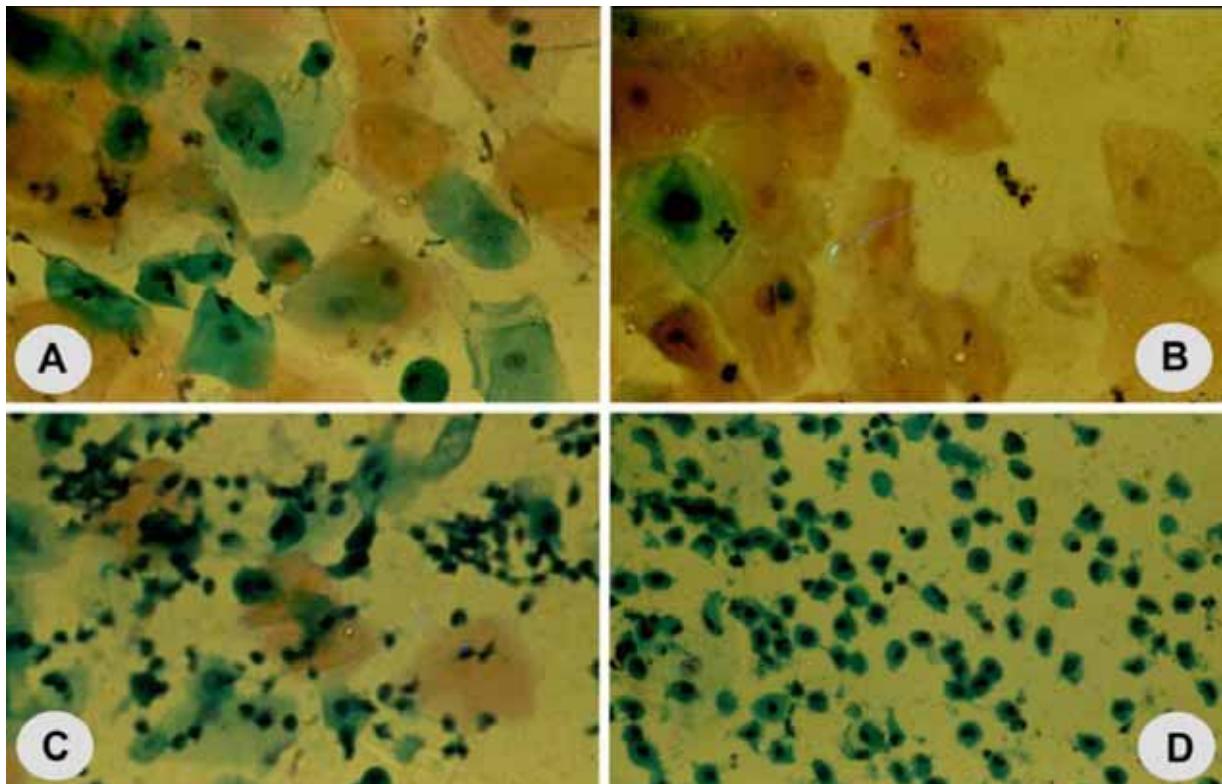


Figura 9. Microfotografías representativas de las distintas fases del ciclo estral de *Lutreolina crassicaudata* tomadas por citología vaginal exfoliativa y coloreadas con la técnica de Papanicolaou (1942) modificada por los autores (Iodice y col. 1988). Microscopio óptico, aumento 400 x.

A. Proestro. Abundan las células superficiales queratinizadas (**CSq**) y no queratinizadas (**CSnq**).

B. Estro. Predominan notoriamente las células superficiales queratinizadas (**CSq**).

C. Metaestro. Abundan las células superficiales queratinizadas (**CSq**) y no queratinizadas (**CSnq**), con notable presencia de células intermedias (**CI**) y algunas células parabasales (**CPb**).

D. Diestro / Anestro. Predominancia absoluta de células parabasales (**CPb**) con presencia notable en algunos casos de células intermedias (**CI**).

Figura 10. Fotografía demostrativa en la cual se observan en el interior del marsupio larvas de *Lutreolina crassicaudata* de pocos días.



Figura 11. Marsupio claramente desarrollado de un ejemplar juvenil hembra de *Lutreolina crassicaudata*.



DISCUSIÓN

Bajo las condiciones de cautiverio enunciadas precedentemente en el lapso que duró esta experiencia, los resultados fueron satisfactorios. Esto se comprobó por:

- el aspecto de los animales, evidenciado por la ausencia de alteraciones dérmicas notables y de enfermedades emergentes producto de una deficiente respuesta defensiva inespecífica;
- la deambulación y actividades desplegadas en los compartimientos de cemento;
- la ausencia de signos clínicos exteriores atribuibles a deficiencias nutritivas, evidenciadas por las características de piel, pelo, faneras y mucosas aparentes;
- la ausencia de muertes de dudosas etiología, ni siquiera en el período de adaptación donde es más probable que sucedan;
- el éxito reproductivo en cautividad, y
- el crecimiento y ganancia de peso de las crías.

En lo que respecta a las características del alojamiento, a pesar de que algunos autores han considerado a *L. crassicaudata* como semiacuática (Marshal, 1978; Stein, 1989) por sus hábitos natatorios, no hemos considerado necesario colocar en sus jaulas una batea con agua para nadar. Nuestra decisión se basa en el trabajo de Davis (1966), quien observó que los ejemplares de *Lutreolina* por él estudiados en cautividad usaban el estanque de agua sólo para beber. No nadaban en él. Además, estas zarigüeyas no presentan pelos impermeables ni miembros posteriores palmeados como los de *Chironectes minimus* (zarigüeya de agua o cuica de agua). Por esto es difícil considerarlas acuáticas.

Los animales en estudio se adaptaron rápidamente a la nueva presentación del alimento y a beber del pico dosificador en el caso de las jaulas individuales. Dezone Motta y col. (1983) reportan que el alimento balanceado para caninos produce obesidad y aletargamiento en *D. marsupiales*, por lo que administran exclusivamente hígado, frutas y huevos. En nuestra experiencia, en *D. albiventris* (Iodice, 1987 y 2010) no se observaron dichas alteraciones al usar el alimento balanceado. Además, sugerimos el uso del mismo para que los experimentos sean reproducibles y que las condiciones de mantenimiento alimentario estén normatizadas.

La mayor parte de las publicaciones sobre patologías de zarigüeyas (u opossum) se refieren a *D. virginiana* (Barr, 1963; Potkay, 1970 y 1977) y casi no hay registros para *Lutreolina*. Las comunicaciones referidas a endo- y ectoparasitosis de marsupiales de nuestra región son escasas y se refieren a hallazgos de campo (Boero, 1967; Boero y Boerhringer, 1967; Lombardero y Moriena, 1973; Martínez, 1986; Santa Cruz y col., 1998;

Santa Cruz y col., 1999). Esto hace que, en el caso particular de las endoparasitosis, no pueda confeccionarse aún una clave diagnóstica de huevos. Al respecto, pensamos que es menester un trabajo de investigación parasitológica más exhaustivo con cultivo de larvas para correlacionar morfología de huevos emitidos con la especie de parásito correspondiente y presencia cuantitativa del mismo.

A primera vista, la manipulación resulta complicada debido a las respuestas agresivas. Sin embargo con un breve y adecuado adiestramiento, el operador logra la destreza apropiada para la contención del animal. Se aprende rápida y fácilmente a interpretar el ritual corporal característico de rechazo por parte del animal y se actúa en consecuencia para evitar mordeduras. Con el transcurso del tiempo, los animales se van habituando a la manipulación y permiten asirlos sin dificultad. Sin embargo, nunca dejan de emitir sonidos de desagrado, aunque son de tono suave y no están direccionados hacia el operador. En algunos casos, en crías nacidas en el Bioterio, se logró alimentarlos ofreciéndoles alimento con la mano. Las crías nacidas en cautiverio son fácilmente manipulables y exhiben comportamiento amigable desde el destete hasta aproximadamente los 4 meses de edad. A partir de entonces comienzan a presentar agresividad.

Los extendidos de citología vaginal presentaron características muy particulares en cuanto a diversidad celular. Es menester recordar que estos animales tienen un solo orificio ano-uro-genital, por lo que las células halladas pueden no tener un origen exclusivamente reproductivo. Es necesario cuidar que la muestra no sea contaminada con desechos fecales y urinarios.

Los ensayos de reproducción con apareamientos programados fueron satisfactorios, ya que todas las hembras quedaron preñadas. Se observó aparición de larvas entre los 13 y 15 días posteriores al inicio del apareamiento (Fig. 10). Esto permite hacer una estimación aproximada del período de gestación en no menos de 12 días. El número de larvas nacidas osciló entre 5 y 11. Permanecieron dentro de la marsupia durante aproximadamente 45 días adheridas permanentemente a un mismo pezón. Durante un lapso similar, estas crías se mantuvieron lactando, con vida independiente, pero siempre relacionadas con la madre. Pasado este tiempo, fueron destetadas y alojadas en jaulas individuales.

Es significativo destacar la presencia infaltable de un marsupio bien desarrollado en hembras juveniles, en preñadas y en las que ya parieron (Fig. 11). Esta observación nos parece particularmente importante en razón de algunas contradicciones en la bibliografía referidas a la existencia de bolsa marsupial. En su libro, Walker (1968) niega la existencia de una bolsa desarrollada, mientras que en otro libro, Kirsch (1977) afirma que el género Lutreolina carece de esta estructura. Lo destacable de nuestra

observación es que contradice lo reportado en esas dos publicaciones que son fuente obligada de información sobre morfología y biología de marsupiales.

Merece señalarse, además, que en el interior de la marsupia se encuentran 11 mamas abdominales y de éstas, 10 tienen una disposición circular en derredor de una mama central. Esto contrasta con el número de nueve comunicado por Walker (1968).

La metodología hasta aquí descrita se sigue aplicando actualmente para el uso de estos animales en la investigación del Instituto de Neurociencia de la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón.

CONCLUSIONES

- Las condiciones de alojamiento propuestas resultaron eficientes y de fácil repetibilidad. Los animales se adaptaron rápidamente a ellas.
- La no adopción de una batea con agua para la práctica de la natación de esta especie de ningún modo impidió la reproducción en condiciones de cautiverio.
- La alimentación resultó adecuada para cubrir los requerimientos básicos de nutrición.
- La manipulación, con cuidados y entrenamiento mínimo, no ofrece reparos.
- Desde el punto de vista sanitario no aparecieron afecciones que pudiesen estar relacionadas con el estado de cautiverio y las condiciones de bioterio.
- En este trabajo no se pretende realizar un estudio exhaustivo de reproducción, sino simplemente demostrar que las condiciones de mantenimiento desarrolladas y adoptadas permitieron la misma con total éxito.
- La metodología utilizada nos permitió alcanzar nuestro objetivo para lograr que la especie *L. crassicaudata* sea adoptada como un nuevo modelo experimental adaptado a las condiciones de laboratorio.
- Se recomienda el uso de estas prácticas en el mantenimiento, cría y uso de la especie *L. crassicaudata* con el fin ser utilizadas como animales de experimentación en diversas áreas de la investigación biomédica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Affanni, J.M. Estudio experimental sobre los mecanismos del sueño *Didelphis azarae* (Zarigüeya). Buenos Aires, Biblioteca de la Fac. de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, 1965.
2. Affanni, J. M. Zarigüeyas y armadillos abren nuevos horizontes a la investigación científica. *Quid*, 1983, vol. II, n° 13, p. 35-54.

3. Affanni, J. M., Vaccarezza, O. L. Observaciones sobre el sueño del marsupial *Didelphis azarae* (zarigüeya). *Revta. Soc. Argent. Biol.*, 1964, vol. 40, p. 2-8.
4. Affanni, J. M., Morita, E. Bioelectrical asymmetry of the cortices of both cerebral hemispheres in marsupialia (*Didelphis azarae*). Effects of sectioning of the telencephalic commissures. *Revta. Soc. Argent. Biol.*, 1966, vol. 42, n° 5, p. 99-105.
5. Affanni, J. M., Vaccarezza, O. L. Electrographic study of sleep in the opossum *Didelphis azarae*. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, 1966, vol. 160, n° 3, p. 702-704.
6. Affanni, J. M., Vaccarezza, O. L., Aballone, J. C. Difference in electrical activity during wakefulness and the phase of 'sleep with muscular twitches' as recorded from the cortex of the marsupial *Didelphis azarae* (South American opossum). *Experientia*, 1967, vol. 23, n° 3, p. 216-217.
7. Affanni, J. M., Morita, E. Bioelectric asymmetry in the cortex of the cerebral hemispheres of the marsupial *Didelphis azarae*. Effects of sectioning the telencephalic commissures. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, 1968, vol. 162, n° 8, p. 1608-1609.
8. Affanni, J. M., Morita, E., García Samartino, L. Efecto de la sección de los pedúnculos olfatorios y de la comisura anterior sobre la actividad del bulbo olfatorio del marsupial *Didelphis azarae*. *Revta. Soc. Argent. Biol.*, 1968, vol. 44, p. 133-138.
9. Affanni, J.M.; Garcia Samartino, L. Comparative study of electrophysiological phenomena in the olfactory bulb of some South American marsupials and edentates. In: Bolis, L., Keynes, R. D., Maddrell, S. H. P. (eds.), *Comparative Physiology of Sensory Systems*, Cambridge: Cambridge University Press, 1984, p. 315-331.
10. Barr, T. R. B. Infectious diseases in the opossum: a review. *J. Wild. Mgmt.*, 1963, vol. 27, p. 53-71.
11. Boero, J.J. *Parasitosis Animales* (2^{da} ed.). Buenos Aires: EUDEBA, 1967, tomo 1.
12. Boero, J. J., de Boerhringer, I. K. El parasitismo de nuestra fauna autóctona. *Revta. Fac. Cs. Vet.*, 1967, año IX, n° 21, p. 147-160.
13. Borchert, A. *Parasitología Veterinaria*. Barcelona: Ed. Acribia, 1964.
14. Cabrera, A., Yepes, J. *Mamíferos sudamericanos*. Buenos Aires: Compañía Argentina de Editores, 1940.
15. Cáceres, N., I. R. Ghizoni Jr., Graipel, M. E. Diet of two marsupials, *Lutreolina crassicaudata* and *Micoureus demerarae*, in a Coastal Atlantic Forest island of Brazil. *Mammalia*, 2002, vol. 66, p. 331-340.
16. Coghill, G. E. Studies on rearing the opossum (*Didelphys virginiana*). *Ohio J Sci.*, 1939, vol. 39, p. 239-249.
17. Corujeira, M., Tirante, H., Grimoldi, R., Marquez A., Iodice, O. H., Affanni, J. M. Hemogram and blood values of *Didelphis albiventris* and *Lutreolina crassicaudata* reared under laboratory conditions. Regional/International Meeting on Laboratory Animals, ICLAS-CEMIB-FESBE (Agua de Lindoia, Brasil), 1986, com. 2.8.

18. Davis, J. A. Jr. Maverick opossums. *Animal Kingdom*, 1966, vol. 69, p. 112-117.
19. Delupi, L. H., Carrera, M. H, Bianchini, J. J. Morfología comparada de la musculatura craneal en *Lutreolina crassicaudata* y *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae). *Physis*, 1997, sec. C, vol. 53, n° 124-125, p. 19-28.
20. Dezone Motta, M. de F., de Araujo Carreira, J. D., Ramos Franco, A. M. A note on reproduction of *Didelphis marsupialis* in captivity. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1983, vol. 78, n° 4, p. 507-509.
21. Feldhamer, G. A. *Mammalogy: Adaptation, Diversity and Ecology*. San Francisco: McGraw-Hill, 2003.
22. García, H. A., Tiscornia, O. M., Iodice, O. H, Abello, R. J., Affanni, J. M., Sánchez, I., Azadovich, S. B., Torino, F. D. Algunas consideraciones sobre la utilización del opossum sudamericano como modelo experimental en la pancreatitis aguda. (Primera parte) (*The opossum as a laboratory animal for the study of acute pancreatitis*). *Prensa Médica Argentina*, 1998a, vol. 85, n° 1, p. 96-101.
23. García, H. A., Tiscornia, O. M., Iodice, O. H., Abello, R. J., Flores, I., Zadcovich, S. B., Gasali, F., Sapin, F., Añasco, L. G., Verges, J. Algunas consideraciones sobre la utilización del opossum sudamericano (zarigüeya), como modelo experimental en la pancreatitis aguda. (Segunda parte) (*The role of the opossum as a laboratory animal to study experimental acute pancreatitis*). *Prensa Médica Argentina*, 1998b, vol. 85, n° 8, p. 917-922.
24. Garcia, H. A., Tiscornia, O. M., Iodice, O., Cal, P., Gasali, F. J., Maschietto, A., Sapin, F., Eufemio, G., Sutura, S., Uchiumi, L., Affanni, J. M. Acute experimental pancreatitis in the opossum. The role of prior truncular vagotomy on the inflammatory response. *Acta Gastroenterol. Latinoam.*, 2001, vol. 31, n° 5, p. 387-393.
25. Garcia, H. A., Iodice, O., Garcia, W. M., Otero, G., Uchiumi, L., Affanni, J., Tiscornia, O. M., Eufemio, G., Sutura, S., Sapin, F., Cap, P., Llaya Candiotti, J., Maschietto, A. Acute experimental pancreatitis in the opossum. The role of early splenectomy in the inflammatory response. *Acta Gastroenterol. Latinoam.*, 2002, vol. 32, n° 2, p. 71-77.
26. Gonzalez, M.; Affanni, J. M. Cells of the photoreceptor line in the Pineal Gland of the South American Marsupial *Didelphis albiventris*. *Cell Tissue Res.*, 1995, vol. 282, p. 363-366.
27. Graipel, M., Miller, P. R M., Ximenez, A. Contribuição à identificação e distribuição das subespécies de *Lutreolina crassicaudata* (Desmarest) (Marsupialia, Mammalia). *Rev. Bras. Zool.*, 1996, vol. 13, p. 781-790.
28. Grassé, P. P. Vertebrados. Reproducción, biología, anatomía y sistemática. En Grassé, P. P. (dir), *Zoología*, Barcelona: Toray-Masson, 1980, vol. 3, pp. 1-413.
29. Hunsaker, D. *Biology of Marsupials*. New York: Academic Press, 1977, pp. 1-537.
30. Iodice, O. H., Dezi, R. E., Affanni, J. M. Reproduction and growth of *Lutreolina crassicaudata* in laboratory conditions. Regional/International

- Meeting on Laboratory Animals, ICLAS-CEMIB-FESBE (Aguas de Lindoia, Brasil), 1986, com. 2.23.
31. Iodice, O. H. On the importance of Marsupials and Armadillos in Biomedical Research. Their maintenance and reproduction in laboratory conditions. In: *Proceeding Regional/International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE*, 1987, p. 292-302.
32. Iodice, O. H. La zarigüeya (Marsupialia, Didelphidae) como modelo animal en investigaciones biomédicas. Una revisión. *Rev. Med. Vet.*, 1988, vol. 69, n° 6, p. 306-313.
33. Iodice, O. H., Golombek, D. A., Affanni, J. M. Determinación de las fases del ciclo estral de dos marsupiales americanos. *Actas XVI Congreso de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas* (Buenos Aires, Argentina), 1988, com. 1237, p. 116.
34. Iodice, O. H., Cervino, C. O., Affanni, J. M. Observaciones sobre las condiciones de mantenimiento y reproducción de *Lutreolina crassicaudata* en laboratorio. *Revta. Med. Vet.*, 2007, vol. 88, n° 4, p. 164-170.
35. Iodice, O. H. Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica: Contribuciones a la Generalización de su Uso. Tesis Doctoral, Universidad de Morón, 2010 (MS), pp. 383.
36. Jurgelsky, W. Jr. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model, I. Research perspective, husbandry and laboratory technics. *Lab. Anim. Sci.*, 1974, vol. 24, p. 375-403.
37. Jurgelsky, W. Jr., Forssythe, W., Dahl, D., Thomas, L. D., Moore, J. A., Kotin, P., Falk, H. L., Vogel, F. S. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model, II. Breeding the opossum in captivity: Facility design. *Lab. Anim. Sci.*, 1974, vol. 24, p. 404-412.
38. Jurgelsky, W. Jr., Porter, M. E. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model, III. Breeding the opossum in captivity: Methods. *Lab. Anim. Sci.*, 1974, vol. 24, p. 412-425.
39. Kirsch, J. A. The classification of marsupials. In: Hunsaker, D. (dir), *The Biology of Marsupials*, New York: Academic Press, 1977, p. 1-50.
40. Lombardero, O. J., Moriena, R. A. Nuevos helmintos de la comadreja overa (*Didelphis azarae*) para la Argentina. *Revta. Med. Vet.*, 1973, vol. 53, n° 4, p. 315-320.
41. Marek, J., Mócsy, J. *Diagnóstico clínico de las enfermedades internas de los animales domésticos* (4^{ta} ed.). Barcelona: Ed. Labor, 1973.
42. Marshall, L. *Chironectes minimus*. *Mammalian Species*, 1978, vol. 109, p. 1-6.
43. Martin, R. E., Pine, R. H., DeBlase, A. F. *A Manual of Mammalogy*. San Francisco: McGraw-Hill, 2001.
44. Martinez, F. A. Helmintofauna de los mamíferos silvestres. Trematodos. *Revta. Vet. Arg.*, 1986, vol. III, n° 26, p. 544-551.
45. Morita, E., Affanni, J. M. Efecto de las comisurotomías cerebrales y de secciones y hemisecciones del tronco cerebral sobre la actividad electrocortical del marsupial *Didelphis azarae*. *Acta Physiol. Latinoam.*, 1966, vol. XVI, supl. 1, p. 90.

46. National Institutes of Health Department of Health and Human Services. Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook, (2nd ed.), Office of Laboratory Animal Welfare, Bethesda, MD., 2002, pp. 210.
47. Olfert E. D., Cross, B. M., Mc William, A. A. Guide to the care and use of experimental animals (2nd ed.), Ontario: Canadian Council on Animal Care, 1998, vol. 1, pp. 211.
48. Pagnozzi, J. M, Ditchfield, A. D., Yonenaga-Yassuda, Y. Mapping the distribution of the interstitial telomeric (TTAGGG)_n sequences in eight species of Brazilian marsupials (Didelphidae) by FISH and the correlation with constitutive heterochromatin. Do ITS represent evidence for fusion events in American marsupials? *Cytogenet Genome Res*, 2002, vol. 98, p. 278-284.
49. Papanicolaou, G. M. A new procedure for staining vaginal smears. *Science*, 1942, vol. 95, n° 2469, p. 438-439.
50. Papini, M. R., Mustaca, A. E., Affanni, J. M. Spatial learning in South American opossums and armadillos. *J. Gral. Psychol.*, 1984, vol. 111, p. 45-55.
51. Petersen, R., Iodice, O. H., García Samartino, L., Affanni, J. M. Observaciones sobre el mantenimiento y reproducción del marsupial *Lutreolina crassicaudata* en condiciones de laboratorio. *Resúmenes 7^{mas} Jornadas Argentina de Zoología* (Mar del Plata, Argentina), 1984, com. n° 100.
52. Pirlot, P., Affanni, J. M. Brain size in Didelphids: new data from *Lutreolina crassicaudata*. In: Cabana, T. (ed.), *Animals in their Environments*, Canada: Edition Orbis Publishing, 1997, p. 143-150.
53. Potkay, S. Diseases of the opossum (*Didelphis marsupialis*): a review. *Lab. Anim. Care*, 1970, vol. 20, p. 502-511.
54. Potkay, S. Diseases of marsupials. In D. Hunsaker II Ed., *The biology of marsupials*. New York: Academic Press, 1977, Chapt. 8, p. 415-506.
55. Regidor, H., Gorostiague, M., Sühling, S. Reproduction and dental age classes of the little water opossum (*Lutreolina crassicaudata*) in Buenos Aires, Argentina. *Rev. Biol. Trop.*, 1999. vol. 47, n° 1-2, p. 271-272.
56. Ren, J., Schulze-Delrieu, K. Modulation of esophageal contractions by distension in vitro. *Dig. Dis. Sci.*, 1989, vol. 34, n° 4, p. 503-508.
57. Ren, J., Schulze-Delrieu, K. Movement of wax particles by contractions in the isolated opossum esophagus. *Am. J. Physiol.*, 1990, vol. 258, n° 1, p. G164-170.
58. Robinson, E. S., Hubbard, G. B., Dooley, T. P. Metastatic melanoma in an adult opossum (*Monodelphis domestica*) after short-term intermittent UVB exposure. *Arch. Dermatol. Res.*, 2000, vol. 292, n° 9, p. 469-471.
59. Sabourin, C. L., Kusewitt, D. F., Fry, R. J., Ley, R.D. Ultraviolet radiation-induced corneal tumours in the South American opossum, *Monodelphis domestica*. *J. Comp. Pathol.*, 1993, vol. 108, n° 4, p. 343-359.
60. Santa Cruz, A., Prieto, O., Lombardero, O., Gómez, L., Scheibler, N. First Finding of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille 1806), (Acari: Ixodidae) infesting *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) in the

- Province of Corrientes, Argentina. *Actas XXIII World Veterinary Congress of the Small Animal Veterinary Association* (Corrientes, Argentina), 1998.
61. Santa Cruz, A., Borda, T., Montenegro, A., Gomes, L., Prieto, O., Scheibler, N. Estudio de ecto y endoparasitos de *Didelphis albiventris* (Comadreja overa), Marsupiala, Didelphidae. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la de la Secretaria General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste*, 1999, tomo IV.
62. Santori, R. T., Rocha-Barbosa, O., Vieira, M. V., Magnan-Neto, J. A., Loguercio, M. F. Locomotion in aquatic, terrestrial, and arboreal habitat of thick-tailed opossum, *Lutreolina crassicaudata* (Desmarest, 1804). *J. Mammal.*, 2005, vol. 86, n° 5, p. 902-908.
63. Scaravilli, A. M., Affanni, J. M., García Samartino, L. Sobre la existencia de un ritmo theta registrable a nivel neocortical en *Lutreolina crassicaudata paranalisis*. *Physis*, 1974, sec. C, vol. 33, p. 151-155.
64. Schulze, K., Ellerbroek, S., Martin, J. Matrix composition in opossum esophagus. *Dig. Dis. Sci.*, 2001, vol. 46, n° 5, p. 968-975.
65. Schutte, A. P. Canine vaginal cytology. *J. Small Anim. Pract.*, 1967, vol. 8, p. 301-317.
66. Setlow, R. B. Relevance of in vivo models in melanoma skin cancer. *Photochem. Photobiol.*, 1996, vol. 63, n° 4, p. 410-412.
67. Stein, B. R. Bone density and adaptation in semiaquatic mammals. *J. Mammal.*, 1989, vol. 42, p. 428-429.
68. Stonehouse, B., Gilmore, D. *Biology of Marsupial*. Baltimore: University Park Press, 1977, pp. 1-486.
69. Tyndale-Biscoe, H. *Life of Marsupials*. New York: Elsevier Publishing, 1973, pp. 1-255.
70. Vaccarezza, O. L., Affanni, J. M. Actividad bioeléctrica del bulbo olfatorio del marsupial *Didelphis azarae* (Zarigüeya). *Revta. Soc. Argent. Biol.*, 1964, vol. 40, p. 9-13.
71. Vaccarezza, O. L., Affanni, J. M. Influence of the olfactory bulbs on sleep in marsupialia (*Didelphis azarae*). *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1966, vol. 42, n° 5, p. 106-111.
72. Vaccarezza, O. L., Affanni, J. M. Influence of the olfactory bulbs on sleep in the marsupial (*Didelphis azarae*). *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, 1968, vol. 162, n° 8, p. 1609-1610.
73. Vaughan, T., Ryan, J., Czaplewski, N. *Mammalogy*. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1999.
74. Walker, E. P. *Mammals of the World* (2nd ed.). Baltimore: J. Hopkins Press, 1968, pp. 1-23.
75. Wang, Z., Hubbard, G. B., Pathak, S., VandeBerg, J. L. In vivo opossum xenograft model for cancer research. *Cancer Res.*, 2003, vol. 63, n° 19, p. 6121-6124.
76. Wang, Z., Vandeberg, J. L. Immunotolerance in the laboratory opossum (*Monodelphis domestica*) to xenografted mouse melanoma. *Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.*, 2005, vol. 44, n° 5, p. 39-42.

77. Wilson, D. E., Reeder, D. M. (editors). *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed.). Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005.

78. Zuñiga, J., Tur, M., Milocco, S., Piñeiro, R. *Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal*. México: McGraw-Hill Interamericana, 2001, pp. 682.

Reseña Curricular de los Autores



IODICE, Omar Héctor.

- Médico Veterinario.
- Argentino, nacido en Buenos Aires.
- Egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires (UBA).
- Ex Docente de la Cátedra de Fisiología Animal Comparada. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.
- Docente Adscripto de la cátedra de Fisiología. Universidad de Morón (UM). Provincia de Buenos Aires.
- Miembro del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) como Profesional Principal en la Carrera de Apoyo a la Investigación.
- Veterinario de la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia (INEUCI – CONICET), 1982 – 2002.
- Veterinario del Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA, 2002 – 2003.
- Publicación de varios trabajos y dictado de numerosas conferencias sobre:
 - Nuevos modelos en experimentación biomédica, y
 - Armadillos y Zarigüeyas como modelos experimentales.
- Profesor Invitado al Curso sobre Animales de Laboratorio (según programa Federación de Asociaciones de Ciencia de Animales de Laboratorio de Europa). Bioterio Central. Fac. Cs. Ex. y Naturales. UBA. 1998 – 2009.



AFFANNI, Jorge Mario.

- Médico. Obtuvo el título de Doctor en Medicina en la Universidad de Buenos Aires.
- Realizó su formación como neurofisiólogo en el Instituto de Fisiología de la Universidad de Pisa, Italia, bajo la dirección de G. Moruzzi.
- Completó esa formación en Cambridge, UK (Ed Adrian), Estocolmo, Lyon-Paris, Bruselas y Oxford.
- Actualmente es Investigador Superior del Consejo

Nacional de Investigaciones Científicas y Técnica de Argentina.

- Ex Profesor Titular de Fisiología Comparada de la Universidad de Buenos Aires.
- Ex Vicepresidente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnica. Ex Miembro de su Directorio.
- Ex Director del Instituto de Neurociencia de la Universidad de Buenos Aires.
- Actual Director del Instituto de Neurociencia de la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón (Buenos Aires, Argentina).
- Es autor de varios libros sobre su especialidad.
- Es autor de más de un centenar de trabajos muchos de los cuales se refieren a Fisiología, Anatomía e Histología de mamíferos sudamericanos.



CERVINO, Claudio Osvaldo.

- Dr. en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires – Argentina).
- Orientación Fisiología – Suborientación Neurofisiología.
- Ex Docente de la Cátedra de Fisiología Animal Comparada. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.
- Profesor Asociado Regular de Fisiología (Facultad de Medicina – Universidad de Morón – Argentina).
- Profesor Titular de Fisiología Animal Comparada y de Etología (Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales – Universidad de Morón – Argentina).
- Ha publicado libros, trabajos científicos y capítulos en libros de edición internacional en Fisiología, Neurofisiología y Biomedicina.
- Profesor Invitado al Laboratorio de Biofluidos (Charite Facultad de Medicina – Universidad Humboldt de Berlín – Alemania).
- Premio “PROF. DR. EDUARDO DE ROBERTIS”, al mejor trabajo de Neurociencia Básica (Buenos Aires, Argentina – 1999). Trabajo presentado: *“Nuevo ritmo alfa y actividad gamma en los bulbos olfatorios de un armadillo sudamericano: cuantificación y perspectivas futuras”*.

REDVET: 2010, Vol. 11 N° 11

Recibido: 06.08.09 / Ref. prov. JUL0921B_RED VET / Revisado: 28.02.10 / Aceptado 28.09.2010 / Ref. def. 111007_RED VET / Publicado: 01.11.2010

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111110.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111110/111007.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET®- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>