

T
955

80703



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

Casa abierta al tiempo

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

“
Efecto de la suplementación de *Saccharomyces cerevisiae*
sobre el desarrollo, la digestibilidad y la salud del conejo
zacatuche (*Romerolagus diazi*) en cautiverio. ”

T E S I S

(Idónea Comunicación de Resultados)

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA

MVZ ROGELIO CAMPOS MORALES

COMITÉ TUTORAL:

DIRECTOR

PH D. GERMÁN DAVID MENDOZA MARTÍNEZ

ASESORES

M. EN C. JAVIER OJEDA CHÁVEZ

M. EN C. JOSÉ ANTONIO MARTÍNEZ GARCÍA

MÉXICO, D. F., JUNIO DE 2009.

80703



Zacatuches (*Romerolagus diazi*) en el Zoológico de Chapultepec.

"...ha sido muy, muy provechoso, hemos visto algo nuevo en cada inmersión, algo nuevo para nosotros, algo nuevo para la Ciencia.

Todavía tendremos que pasar mucho tiempo verificando y confirmando que lo que vimos no fue pasado por alto o mal identificado o mal interpretado en el pasado en la literatura.

Estoy seguro que mucho de lo que hacemos, con el tiempo, será desafiado y cuestionado, y todo ello es parte del proceso de la Ciencia..."

*John McKasker
Academia de Ciencias de California
Expedición Submerine Islas Galápagos, 1996.*



A mis padres

Ana María Morales Salazar y Juan Manuel Campos Martínez[†]

A mis hermanas

Patricia, Angélica, Gabriela, Ana María y Maribel

Al Sr. Abel Median Sánchez[†]



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo recibido como becario

A la Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre de la Ciudad de México/ Secretaría del Medio Ambiente por el apoyo recibido para esta investigación por medio de sus diversos directivos: Martha Delgado Peralta, José Bernal Stoopen, Fernando Gual Sill, Rosalía Pastor Nieto, Javier Riojas, Gerardo Tapia H. Jorge Calderón Figueroa, Miguel A. Peña Riverón ...

A mis asesores: M en C Javier Ojeda Chávez, M en C José Antonio Martínez García y particularmente al PhD. Germán D Mendoza Martínez, por sus acertadas observaciones en la revisión de las diversas versiones de este trabajo y apoyo en general.

Al Dr. Luis Arturo García Hernández por todo el apoyo recibido, tanto como estudiante de la maestría como en la realización misma de la investigación.

A mis profesores de la maestría: Germán Mendoza, Guadalupe Prado, Ramón Soriano, Héctor Castillo, Facundo Rivera ...

Al Sr. Andrés Lee, Laboratorio de Nutrición Animal/ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por la colaboración en el procesamiento de muestras (digestibilidad).

A Alltech de México, por medio del Dr. Mauro Arieta, por la donación del probiótico (Yea-Sacc 1026®) utilizado en este estudio.

Al apreciado personal y amigos del Laboratorio de Patología de la DGZVS por su ayuda y por permitirme montar y procesar las muestras del estudio microhistológico de heces (orden jerárquico): M en C Ignacio Rangel Rodríguez, QFB M. de los Ángeles Pintado Escamilla y MVZ Osvaldo López Díaz.

A Delia♥Noemí (Grajales Nájera) por su ayuda profesional y sobre todo apoyo personal.

A mis compañeros y amigos del Zoológico de Chapultepec, ya sea por su apoyo directo y/o indirecto en esta investigación (orden cronológico): Doña Lourdes Reyes Guerra (Lukas), Everardo Montfort Ramírez (Monfy), Xóchitl Ramos Magaña (Tonchil), Miguel A. Peña Riverón, José L. González Mendoza (Cacho), Javier Ojeda Chávez (Joch), Saúl Soto Mendoza, Adriana Rivera Cruz, Edgar Gayosso Domínguez, Erika Servín Zamora.

A los guarda-animales del "Bioma Bosque Templado" por el apoyo recibido ya sea para la colecta y colocación del pasto zacatón en los albergues y en general mientras trabajamos en el Bioma (orden de ocurrencia): Alfredo Medina Sánchez, Elías García R., Armando López, Fidel Mejía, Mario Franco, Noé Palestina, Ramón Huanet, Francisco López, y particularmente al Sr. Abel Medina Sánchez (†) que por varios años mostró gran dedicación y entusiasmo en el cuidado de los zacatuches en el Zoológico, además de colaborar constantemente en el trabajo con esta especie.

A todos los zacatuches que formaron parte de esta investigación, y a los que no.



RESUMEN

El zacatucho (*Romerolagus diazi*) es una especie endémica mexicana en peligro de extinción que sólo habita la zona central del Eje Neovolcánico Transverso (al sur de la Ciudad de México). Se ha recomendado el establecimiento de colonias en cautiverio como parte de la estrategia de conservación; sin embargo, hasta la fecha la única colonia viable a largo plazo ha sido la del Zoológico de Chapultepec. Considerando que tanto en reportes de otras colonias como los mismos del Zoológico de Chapultepec, hacen referencia a porcentajes altos de mortalidad (alrededor de 80-90%) y que los problemas digestivos y respiratorios son los más comunes, el presente estudio se enfocó en determinar el efecto de la suplementación del probiótico *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta del zacatucho, específicamente sobre el desarrollo (con el peso corporal como variable respuesta), digestibilidad aparente (DA) y la salud (con la mortalidad como variable respuesta). Se utilizaron dos albergues, cada uno con un promedio de 63 conejos de diferentes edades y sexos. Se buscó analizar el efecto en condiciones rutinarias de manejo, por lo que los albergues estuvieron bajo condiciones demográficas activas (p.ej., natalidad, mortalidad, competencia intraespecífica, etc.). El probiótico se suplementó en cada albergue con un diseño cruzado en dos periodos (dos meses cada uno). Los datos se analizaron en general (suplementados vs. no suplementados) y por grupos de edad (adultos, juveniles y crías). No se encontró efecto significativo del probiótico ni en el desarrollo ni en la salud de los zacatuchos. Como era de esperarse las crías presentaron el mayor promedio de cambio de peso por periodo (+207 g, DE 50.3), mientras que los adultos jóvenes el menor (+68 g, DE 25.2). Se determinaron los estadísticos somatométricos para adultos (promedio±DE): peso corporal 602±88.4 g, longitud de pata trasera 46.6±1.3 y longitud corporal 336.5±19.3; también se obtuvieron por sexo, determinándose la existencia de dimorfismo sexual por talla. Hay evidencia de que la talla de los ejemplares de esta colonia es mayor que los promedios reportados en animales de vida silvestre, como en otras especies, seguramente esto se relaciona a factores del cautiverio como la dieta, la longevidad y selección. En el caso de la salud, aparentemente la densidad poblacional tiene un peso importante en la incidencia de mortalidad, probablemente haciendo difícil detectar un posible efecto del probiótico. La mortalidad en crías representó el 78 % de los casos, de los que se encontró un alto porcentaje sin diagnóstico específico (43 %). En la digestibilidad aparente, se encontró un efecto significativo positivo, pero sólo en las crías y particularmente en MS, FND y Hemicelulosa. La digestibilidad aparente (%) general fue: MS 52.8 (EE 0.32), MO 57.8 (EE 0.31), FND 30.2 (EE 0.62), Hemicelulosa 54.0 (EE 0.28), y Energía 55.4 (EE 0.28).

Palabras clave: lagomorpha, volcano rabbit, probióticos, digestibilidad, mortalidad, morfometría.

ABSTRACT

The zacatuche rabbit (*Romerolagus diazi*) is an endangered endemic species inhabiting a restricted area within the Neo-Volcano Transverse Axis (to the South of Mexico City). As a part of its conservation strategy, it has been recommended to establish captive colonies. However, so far the only long-term successful colony has been the one at Chapultepec Zoo, Mexico City. One of the most important problems in captive colonies has been a high mortality rate (around 80-90%) affecting younger rabbits mainly. Also, digestive and respiratory diseases have accounted by the major incidences in general. This study focused on analyzing the effect of the supplementation with the probiotic *Saccharomyces cerevisiae* in the diet of the zacatuche rabbit in captivity. The effect on the body weight (BW), apparent digestibility (AD) and mortality rate incidence were evaluated. Two reproductive groups of zacatuches at Chapultepec Zoo were used, each one with an average of 63 rabbits (pups to adults; males and females). The rabbits were kept into their habitual external enclosures, under active demographic conditions (e.g., birth, mortality, competition) and under ordinary management practices. They were feed on fresh alfalfa, carrot, and commercial rabbit food. Furthermore, there were "zacaton grass" (*Muhlenbergia macroura*) planted in the enclosures, which is used as food, cover and nesting material. The probiotic supplementation was given on a crossover design during two periods of two months each. Data were analyzed in general (supplemented vs. no-supplemented), and by age groups (adults, young and pups). No significant effect was found ($P > 0.05$) neither on development (BW) nor on mortality rate (incidence in pups was 78 %). On the other hand, pups showed the highest average weight change per period (+207 g, SD 50.3), while young-adults the lowest (+68 g, SD 25.2). Somatometric statistics for adults (mean \pm SD) were: BW 602 \pm 88.4 g, hind foot length 46.6 \pm 1.3 mm, and body length 336.5 \pm 19.3 mm. Sexual-size dimorphism in adults was establish clearly. There are evidence that, on average, the size of the zacatuches from this colony might be bigger than on wild conditions. So, captivity factors (e.g., diet, longevity and selection) seem to be the cause for this increase in size. Digestibility showed a significant positive effect, but only in the pups group, particularly in DM, NDF and hemicellulose. Overall apparent digestibility (%) was: DM 52.8 (SE 0.32), OM 57.8 (SE 0.31), NDF 30.2 (SE 0.62), Hemicellulose 54.0 (SE 0.28), and Energy 55.4 (SE 0.28).

Keywords: Lagomorpha, volcano rabbit, digestibility, morphometrics, disease.

ÍNDICE

RESÚMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Aspectos taxonómicos del conejo de los volcanes ..	3
2.2 Hábitat, distribución y abundancia del zacatuche ..	4
2.3 Hábitos alimenticios.....	5
2.4 Aspectos anatómicos y fisiología digestiva de los conejos.....	6
2.5 Somatometría y desarrollo corporal.....	8
2.6 Aspectos reproductivos.....	9
2.7 Comportamiento.....	11
2.8 Conservación ex situ ..	11
2.9 Enfermedades y mortalidad en cautiverio.....	12
2.10. Los probióticos en la alimentación animal.....	13
3. OBJETIVOS.....	16
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
4.1 Animales e Instalaciones.....	16
4.2 Repeticiones en el tiempo.....	19
4.3 Suplementación de probiótico (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	19
4.4 Alimentación.	20
4.5 Muestreos ..	20
4.5.1 Evaluación del desarrollo ..	20
4.5.2 Evaluación del efecto sobre la salud.....	21
4.5.3 Evaluación de la digestibilidad.....	22
4.6 Análisis microhistológico cuantitativo de heces (AMCH).....	24
4.7 Análisis estadístico.....	25
5 RESULTADOS.....	26
5.1 Somatometría y efecto del probiótico sobre el desarrollo.....	26
5.2 Descriptivos poblacionales y efecto del probiótico sobre la salud.....	32

5.2.1 Descriptivos poblacionales.....	32
5.2.2 Mortalidad general.....	33
5.2.3 Supervivencia de crías.....	33
5.2.4 Cambios en la incidencia de mortalidad por el efecto del probiótico.....	35
5.3 Descripción de la dieta y de la digestibilidad general y efecto del probiótico sobre la digestibilidad.....	38
6. DISCUSIÓN	46
6.1 Somatometría y efecto sobre el desarrollo	46
6.2 Mortalidad y efecto en la salud: Cambios en la incidencia de la mortalidad.....	48
6.3 Aspectos nutricionales y efecto sobre la digestibilidad.....	52
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	56
8. REFERENCIAS.....	58
9. APÉNDICE 1.....	66
10. APÉNDICE 2.....	68

1. INTRODUCCIÓN

México es un país privilegiado pues se calcula que alberga entre el 10 y 12 % del total de especies del planeta, muchas de ellas endémicas. Es el tercer país con mayor diversidad biológica, el primero en especies de reptiles y anfibios (750 y 290, respectivamente), segundo en mamíferos (452), así como alrededor de 1,050 especies de aves, de las que 125 son endémicas [Ceballos y Eccardi, 1996].

Desafortunadamente estamos viviendo un momento histórico y crítico para la conservación de las especies a nivel planetario. Como resultado de la actividad humana, muchas especies, ecosistemas y comunidades biológicas se están perdiendo; en la actualidad la tasa de extinción es muy superior a la tasa evolutiva [Wilson, 1987; Raup, 1992]. Se calcula que desde 1600 a la fecha, se han extinguido 2.1% de las especies de mamíferos y el 1.3% de las aves, tasa que corresponden a entre 100 y 1000 veces la ocurrencia natural de este fenómeno [citados en Primack et al., 2001].

En México existen 14 especies de lagomorfos nativos (ocho del género *Sylvilagus*, una de *Romerolagus* y cinco de *Lepus*), siendo uno de los países con mayor biodiversidad de lagomorfos del mundo y el primero del Continente Americano. De las 14 especies, ocho son endémicas, incluyendo al zacatuche (*Romerolagus diazi*). Por si fuera poco, de estos endemismos, sólo el conejo montés o mexicano (*S. cunicularius*) y la liebre torda (*L. callotis*) tienen una amplia distribución; el resto son de distribución restringida [Cervantes y González, 1996]. A nivel mundial, cinco géneros de lagomorfos tienen poblaciones tan pequeñas o hábitats tan restringidos que se recomienda su protección completa, en el caso de México se incluyen cuatro especies: el conejo de las Islas Marias (*S. graysoni*), el conejo de Omiltemi (*S. insonus*), la liebre tropical (*L. flavigularis*) y el zacatuche [Cervantes y González, 1996].

El zacatuche (del náhuatl: zacatl = zacate, tochtli = conejo) es una especie en peligro de extinción [IUCN, 1969; NOM-059-ECOL-2001] que además posee el menor rango de distribución para un mamífero mexicano [Hall, 1981; Bell et al., 1985; Leopold, 1990]. Únicamente habita en el centro del Eje Neovolcánico Transverso, al sur de la Ciudad de México. Diversos investigadores han recomendado el establecimiento de colonias en cautiverio como una medida para su conservación [Durrell y Mallinson 1970; Hoth y Granados 1987; Fa y Bell 1990; IUCN, 1996]. La importancia del mantenimiento adecuado de las colonias en cautiverio (conservación *ex situ*) radica en que son centros potenciales de animales para la reintroducción, así como centros para realizar investigación básica que algunas veces sería difícil o imposible realizar en condiciones de campo. No debe perderse de vista que la conservación *ex situ* es un complemento de la *in situ*, pues el

objetivo a largo plazo en un programa de conservación en cautiverio debe ser reintroducir las poblaciones generadas en cautiverio, una vez disponibles un número suficiente de individuos y el hábitat apropiado [Primack y Massardo, 2001]. Sin embargo, en el caso del zacatuche, de los diversos intentos por iniciar y mantener colonias en cautiverio, tanto en México como en el extranjero [Velázquez, 1996; AMCELA, 2008], hasta la fecha sólo la colonia del Zoológico de Chapultepec ha sido viable desde su establecimiento en 1984, recientemente se estableció una nueva colonia (diciembre de 2003) en el Zoológico Los Coyotes (ambas en la Ciudad de México).

Aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento sobre este lagomorfo, aún hay aspectos básicos por estudiar, uno de los más importantes están los nutricionales pues en conejos domésticos se sabe que están estrechamente relacionados no sólo al desarrollo y parámetros reproductivos sino a la salud [Bennegadi et al., 2001; Brooks, 2004] y por lo tanto al bienestar animal. Al mismo tiempo, son escasos los reportes sobre las enfermedades y mortalidad del zacatuche; en general, se mencionan altas incidencias de mortalidad, como se explica más adelante [Fa y Bell, 1990]. Aparentemente, en última instancia, esta alta mortalidad ha sido la causa de la inviabilidad de la mayoría de las colonias en cautiverio. La dieta es un punto clave en la salud de los conejos domésticos [Kermauner et al., 1996; Rödel et al., 2008] por lo que debe contemplarse como una fuente importante de los problemas de salud observados en los zacatuches en cautiverio.

Los reportes sobre aspectos de alimentación y nutrición en esta especie son, en general, poco conocidos [Fa y Bell, 1990], y se han enfocado principalmente a la descripción de hábitos alimenticios [p.ej. Gaumer, 1913; Cervantes, 1980; Martínez-Vázquez, 1987; Cervantes y Martínez, 1992]. Probablemente por esto, la dieta del zacatuche en cautiverio se ha basado en la del conejo doméstico, a pesar de diferencias obvias como la talla más pequeña, preferencias alimenticias (en vida silvestre), características reproductivas (tamaño de camada, patrón de desarrollo, periodo de gestación, entre otras). Es fundamental investigar aspectos nutricionales que, p.ej., permitan mejorar e implementar estrategias de alimentación en cautiverio congruentes con los objetivos de conservación.

Por otro lado, los aspectos somatométricos pueden brindar información que en muchas especies han sido usados no sólo para su descripción taxonómica sino para el monitoreo de variables poblacionales como son el crecimiento, salud, nutrición, calidad del hábitat, características evolutivas y reproductivas, etc. [Lundrigan 1996; Murray 2002]. Para esta colonia se han reportado algunos datos sobre su somatometría [Hoth y Granados, 1987; Campos et al., 2001] pero no se había estudiado su relación con aspectos nutricionales o de desarrollo.

El uso de probióticos en la alimentación animal se ha venido fomentando desde hace relativamente poco tiempo (1960's). Una de las principales causas para ello ha sido una creciente preocupación por el desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos, los que han sido usados por mucho tiempo como promotores de crecimiento en animales [Turner et al., 2001; Rosmini et al., 2004; Mordenti, 2006]. Diversas investigaciones han mostrado que tres de los efectos benéficos más importantes de los probióticos se presentan en: la salud (p.ej., reduciendo la mortalidad y/o disminución de trastornos digestivos -desplazando competitivamente a agentes patógenos-), el desarrollo (p.ej., ganancia de peso, maduración de la flora intestinal, estimulación del sistema inmune); y en la nutrición (p.ej., reforzando la flora intestinal, como sustrato bacteriano, o mejorando la digestibilidad) [Maertens y De Groote, 1992; Kermauner et al., 1996; Marteau y Shanahan, 2003, Trocino et al., 2005]

Considerando que podría ser una alternativa para mejorar las condiciones actuales de alimentación y salud, y teniendo como principal objetivo contribuir a la conservación del zacatuche, el presente estudio se enfocó a investigar el efecto del probiótico *Saccharomyces cerevisiae* sobre el desarrollo, salud y digestibilidad del zacatuche en cautiverio en el Zoológico de Chapultepec.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Aspectos taxonómicos del conejo de los volcanes

Actualmente, dentro del Orden de los lagomorfos, existen 2 familias, 13 géneros y 81 especies. La Familia Ochotonidae (pikas o conis) comprende 27 especies que se distribuyen en Eurasia y en el este de Norte América; mientras que la Familia Leporidae (conejos y liebres) está compuesta por 54 especies de distribución mundial (excepto, de manera natural, en extremo sur de Sudamérica, las Indias Orientales, Madagascar y la mayoría de las islas del Sureste de Asia) [Nowak, 1999].

En México existen 14 especies de lagomorfos nativos (ocho del género *Sylvilagus*, una de *Romerolagus* y cinco de *Lepus*), siendo uno de los países con mayor biodiversidad de lagomorfos del mundo y el primero del Continente Americano. Además, ocho de esas especies son endémicas: conejo matorralero de la Isla de San José, Baja California (*S. mansuetus*); conejo montés o mexicano (*S. cunicularius*); conejo de Omiltemi, Guerrero (*S. insonus*); conejo de las Islas Marias (*S. graysoni*), liebre torda (*L. callotis*); liebre negra (*L. insularis*); liebre tropical (*L.*

flavigularis); y desde luego el zacatuche (*R. diazi*, también llamado teporingo, conejo de los volcanes, tepolito, burrito, entre otros nombres) [Romero y Velázquez, 1994].

Así, el zacatuche pertenece al género monotípico *Romerolagus* y es considerado una especie primitiva que se originó a finales del Mioceno, hace más de 7 millones de años. En términos generales, por sus características óseas, se le ha considerado cercano a las pikas (*Ochotona*), pero por su aspecto físico general se le asocia más a los *Sylvilagus*; aunque sus atributos reproductivos lo relacionan más al género *Lepus* [Cervantes y González, 1996]. Un estudio reciente sobre variabilidad genética indica que *Romerolagus* es más próximo a *Sylvilagus* que a *Lepus* [Cervantes et al., 2002].

2.2 Hábitat, distribución y abundancia del zacatuche

Su hábitat comprende la región central del Eje Neovolcánico Transverso, al sur de la Ciudad de México y estados colindantes en el área (Morelos, Puebla y Estado de México) [Cervantes y González, 1996; Hoth et al., 1987], principalmente entre los 2,800 y 4,250 msnm. El clima se caracteriza por un verano caluroso y lluvioso e invierno frío y seco. La temperatura media anual es de 9.6 ° C y la precipitación media anual de 1,334 mm; el mes más cálido es mayo y el más frío enero, el más húmedo agosto y el más seco febrero [Cervantes, 1980]. Velázquez et al. [1996a] indican que el hábitat comprende básicamente áreas en los Volcanes Popocatepetl e Iztaccihuatl (Sierra Nevada), El Pelado y Tláloc (Sierra Chichinautzin) y El Ajusco. La cobertura vegetal de pino abierto (*Pinus montezumae*, *P. rudis*, *P. teocote*, *P. patula* y *P. pseudostrobus*) en asociación estrecha con zacatonales (gramíneas amacolladas) de hasta 1.5 m de altura (principalmente de las especies *Muhlenbergia macroura*, *Festuca rosei*, *F. amplissima* y *Stipa ichu*). También se encuentra en parches de bosque secundario denso de Aile (*Alnus arguta*) [Cervantes et al., 1990]. Desde luego hay una amplia variedad de otras plantas, muchas de las cuales forman parte, en mayor o menor grado, de su dieta [Cervantes y Martínez, 1992].

En 1996, el área total del hábitat del zacatuche se estimó en 386.5 km² y se describió que está fragmentada en 16 zonas aisladas (4 núcleo y 12 periféricas) [Velázquez et al., 1996a]. No se sabe con exactitud cual fue la distribución histórica del zacatuche, Hoth et al. [1987] realizaron un estudio para tratar de encontrar al zacatuche en otros sitios del Eje Neovolcánico Transverso, sin que reportaran nuevas poblaciones. Sin embargo, se reportó la colecta de un ejemplar en la zona del Volcán Nevado de Toluca [Cervantes et al., 1990]. Aparentemente los zacatuches que habitaron o habitan en el Nevado de Toluca derivaron de una colonia introducida [comunicación personal Martínez, 2006]. Paralelamente, en foros internacionales, se ha coincidido en que, a nivel mundial, cinco géneros de lagomorfos tienen poblaciones tan pequeñas o hábitats tan restringidos

que se recomienda su protección completa; en el caso de México se incluyen: el conejo de las Islas Marias, el conejo de Omiltemi, la liebre tropical y el zacatuche [Cervantes y González, 1996].

Desafortunadamente no se ha realizado un seguimiento estricto de las poblaciones de zacatuche en su hábitat. En 1969 la población total se estimó en 1,000 a 1,200 ejemplares [Nowak, 1999], aunque se considera que ese dato fue subestimado. Para los 1980's, se estimó una población de entre 2,470 y 12,120 individuos solo en la zona del Volcán El Pelado [Velázquez, 1994]. Por medio de cálculos indirectos (basados en los resultados de campo obtenidos del Volcán El Pelado), se ha estimado una población de 1,811 ejemplares en el Volcán El Pelado, 1,816 en el Volcán Tláloc, 3,458 en el Iztaccihuatl-Popocatepetl y 3,086 en las áreas periféricas combinadas, resultando un total de 10,171 individuos [Velázquez, 1997].

En general, el impacto de las actividades humanas sobre los ecosistemas se puede englobar en dos grandes grupos: 1) la fragmentación, principalmente por la expansión urbana y la agrícola que disminuyen la superficie forestal y forman islas; y 2) las actividades que promueven de manera directa o indirecta la modificación del hábitat; por ejemplo, la contaminación, el pastoreo, incendios, extracción de madera, pastos y suelo [López et al., 1996], e incluso el "ecoturismo". Sánchez-Cordero et al. [2005], en un estudio sobre deforestación y distribución potencial de 85 especies de mamíferos endémicos mexicanos, determinaron que 72% de estas especies tienen una alta proporción (34.5%) de transformación de su hábitat, y 19 especies tienen un hábitat remanente menor al 50% a nivel nacional, como se estimó para el zacatuche con 45%.

2.3 Hábitos alimenticios

Estudios de campo indican que el zacatuche se alimenta principalmente de pastos amacollados ó "zacatones"; se ha demostrado una fuerte preferencia por la especie *Muhlenbergia macroura*, seguido por *Stipa ichu* [Cervantes, 1980]. Cervantes y Martínez [1992], por medio de análisis microhistológico de heces, confirmaron que las principales especies de plantas consumidas por *Romerolagus* fueron: dos zacatones (*M. macroura* -con 88.6% de frecuencia relativa promedio- y *S. ichu* -con 42.4%-) y aile (*Alnus arguta*, con 71.1%); mientras *Festuca amplissima*, otra amacollada, presentó una baja frecuencia de consumo y principalmente en primavera. El consumo de arbustivas fue bajo, principalmente en la época de secas y particularmente en primavera; el consumo de herbáceas aumentó en la temporada de sequía. De manera similar a otros lepóridos, el zacatuche consume plantas leñosas en altas proporciones (particularmente herbáceas) durante las estaciones frías y secas del invierno. Los pastos no sólo son una fuente importante de alimento sino que proveen material para nidos y cobertura [Durrell y Mallinson, 1970].

Cervantes [1980] menciona que el zacatuche selecciona las hojas jóvenes (verdes, suaves y con menor contenido de sílice y oxalatos) de los zacatones. Otros estudios reportan que los zacatuches también hacen uso alimenticio de diversas plantas o de alguna de sus partes, incluyendo: hierbas dicotiledóneas (*Alchemilla* spp. y *Donnellsmithia juncea*) [Rojas, 1951], herbáceas espinosas (*Eryngium columnare* y *Cirsium jurullense*), semillas de enredadera (*Sicyos parviflorus*), corteza jugosa de árboles de aile (*Alnus* spp.), menta (*Cunila lythifolia*), maíz (*Zea mays*), avena forrajera (*Avena sativa*), papa (*Solanum tuberosum*), chícharo (*Pisum sativum*), haba (*Vicia faba*), *Buddleia parviflora*, una Laminacea, *Geranium* sp. y *Eryngium columnare* [Gaumer, 1913; Rojas, 1951; Martínez, 1987]. En el Zoológico de Chapultepec, se ha observado a los zacatuches consumir incluso hojas (completamente secas) y raíces de pasto zacatón, ocasionalmente hojas de otras plantas (ubicadas dentro o próximas a los albergues) e incluso semillas (p.ej., alpiste proporcionado a algunas aves del albergue) [observación personal].

En cautiverio, el zacatuche ha sido mantenido desde condiciones netamente de laboratorio, como ocurrió en la Universidad de Okkaido, Japón [Matsuzaki et al., 1996], donde fue alimentado únicamente con un alimento concentrado (pelet), hasta bajo condiciones de semicautiverio. En la colonia del Zoológico de Chapultepec se proporcionan pastos amacollados (principalmente *M. macroura*, *Festuca* sp., *S. ichu*), además de alimento concentrado para conejos, zanahoria y alfalfa fresca. Otros alimentos ofrecidos ocasionalmente (dentro de programa de enriquecimiento animal) son: manzana, pera, plátano, avena, lechuga, jícama, achicoria, avena con salvado. Usualmente también se proporciona algún complemento multivitamínico-mineral comercial (p.ej., Fervinac^{MR}). También en cautiverio, se ha observado que inician el consumo de alimento sólido alrededor de la tercera semana de edad [Van der Loo y De Poorter, 1981], aunque esto no está bien establecido. En cambio, en condiciones de laboratorio se observó que inician la búsqueda de alimento a los 16 días y consumen alimento en pelet entre los 21 y 24 días, siendo destetados entre los 21 y 28 días; además se determinó una ingesta diaria máxima de agua de 35 ml por adulto [Matsuzaki et al., 1996].

2.4 Aspectos anatómicos y fisiología digestiva de los conejos

Entre las características generales de los lagomorfos se encuentran: al nacimiento presentan tres pares de incisivos superiores pero el tercero involucrena rápidamente, quedando dos pares - uno detrás del otro-; los incisivos crecen durante toda su vida; las patas están totalmente recubiertas con pelo; las orejas y patas traseras son largas; el labio superior se forma por la característica fisura leporina; el ciego es muy largo y funciona como cámara de fermentación posterior [Grzimek, 1990; Nowak, 1999]. Todos los lagomorfos realizan la cecotofia, combinan un

estómago simple con la fermentación cecal para ingerir con mayor eficiencia alimentos ricos en fibra. La fibra dietética es poco digerible y esencial para el peristaltismo normal y funcionamiento digestivo [Brooks, 2004; Álvarez et al., 2007].

Dentro de las funciones de la fibra dietética están: regulación de la motilidad intestinal y del vaciado cecal, así como actuar sustrato microbiano cecal, además de proporcionar energía [Carabaño et al., 1988, 1997; Gidenne et al., 2004]. Asimismo, algunas adaptaciones de los conejos para el aprovechamiento de alimentos fibrosos son: alimentación frecuente (hasta 30 veces al día, 2-8 g/ 4-6 min); tránsito digestivo relativamente bajo [Fraga et al., 1991; Johnson-Delaney, 2006]; y, desde luego, la cecotrofia [Carabaño et al., 1988; Davies R y Davies J, 2003].

La cecotrofia (pseudo-rumia ó ingestión de heces blandas), consiste en la ingestión del cecotrofo resultante de la fermentación cecal. Es una estrategia evolutiva con la que los lagomorfos logran aprovechar de manera más eficiente el contenido nutritivo de los alimentos. Después de ingerir el alimento, hay un primer proceso en el que la mayor cantidad de la fibra ingerida pasa rápidamente por el tracto y es eliminada, produciendo las heces duras; mientras tanto las partículas de alimento más pequeñas y con mayor gravedad específica se retrasan y sufren un mayor proceso de digestión principalmente en el ciego, por medio de fermentación bacteriana. El flujo del contenido cecal y colónico está regulado por mecanismos de peristaltismo periódicos, la contracción segmental cíclica del ciego hace pasar el contenido rápidamente al intestino grueso, resultando la producción de cecotrofos que son ingeridos generalmente durante la noche o a tempranas horas de la mañana [Jenkins, 2004].

El crecimiento corporal (ya sea por acumulación o movilización) es una expresión directa de los balances energéticos y material, representando la integración o esfuerzo de las estrategias de adaptación de un animal por acumular recursos en un ambiente frecuentemente hostil [Robbins y Robbins, 1979]. Dadas las características biológicas de los lagomorfos silvestres, es de esperar que tengan necesidades energético-nutricionales muy particulares y/o de acuerdo a otras diferencias obvias como el tamaño corporal, el peso y tamaño de camada, como lo determinó Boyd [1985] en hembras de conejo silvestre europeo (*O. cuniculus* L.). Así, por ejemplo, Johnson y Maxwell [1966] estudiaron la dinámica energética del pika (*Ochotona princeps*, un lagomorfo pequeño) que, además de realizar cecotrofia como estrategia de alimentación, apila pasto para usarlo en la temporada invernal. Analizaron contenidos estomacales, excretas (duras y blandas) y alimento apilado. Tanto las heces duras como las blandas mostraron un contenido calórico constante (mayor para las segundas), mientras que el contenido estomacal y alimento apilado presentaron una mayor variación. Estimaron el consumo diario de energía de un pika adulto (no-

gestante y no lactante) en 54.8 kcal, de lo cual el 68 % es asimilable. También indicaron que la ingestión de alimento, y quizás la de cecotrofos, aumenta durante la gestación y lactación.

Sin duda que la flora bacteriana cecal juega un papel fundamental en la fisiología digestiva de los conejos. En conejos domésticos, se ha establecido que las crías comienzan a establecer la flora bacteriana a las dos semanas, por medio de la ingesta de cecotrofos de su madre, pero es hasta las cuatro a seis semanas de edad cuando realmente podría desarrollarse gradualmente la flora microbiana, momento en que los factores protectores -grumo lácteo, "aceite lácteo", pH de entre 5.0 y 6.5- comienzan a perderse [Brooks, 2004; Debray et al., 2002]

2.5 Somatometría y desarrollo corporal

El zacatuche se caracteriza por ser uno de los dos lepóridos más pequeños del mundo (sólo es mayor que *Brachylagus idahoensis*), sus miembros anteriores y posteriores son pequeños, dando la impresión de que son de la misma longitud cuando camina; la cola es pequeña, casi imperceptible [Nowak, 1999].

La mayoría de los estudios somatométricos previos de la especie suelen ser parciales si se considera que reportan pocas medidas, han sido realizados a partir de muestras pequeñas, o no se especifica la edad de los ejemplares (Tabla 1). En estudios previos en la población de zacatuches del Zoológico de Chapultepec [Campos et al., 2001, 2004] se determinó que existían diferencias significativas entre sexos en cuanto al peso corporal, sin embargo esos estudios abarcaron rangos de edad menores que en este estudio (adultos). Cervantes [1982] reportó que aunque hay algunas diferencias entre sexos, las hembras no son significativamente más grandes. Por otro lado, Matsuzaki et al. [1996], al examinar durante un año el peso de los zacatuches capturados de vida silvestre, reportan que los mayores pesos para los machos fueron de 412, 456 y 504 g; en tanto el peso máximo de una hembra fue de 600 g.

En crías, los datos sobre somatometría y desarrollo han sido aislados y generalmente poco sistematizados, lo que ha generado algunas contradicciones. Los promedios e intervalos de cinco recién nacidos fueron: longitud total (mm) 93.8 (83-106); longitud de cola 8.0 (7-10); longitud de la pata posterior 17.0 (16-18), longitud de la oreja desde la escotadura 9.3 (8.0-10.5); y peso corporal 24.1 g (22.6-25.0) [Cervantes, 1982]. Matsuzaki et al. [1996] reportaron que el desarrollo del cuerpo es muy rápido después de los 21 días y que el peso a esa edad varía entre 83-130 g para las hembras y entre 95-128 g para los machos; indican que el crecimiento en ambos sexos es acelerado durante los primeros cuatro meses, después de lo cual el de las hembras se frena ligeramente, mientras que el de los machos continúa hasta los cinco meses de edad, para esa edad reportan pesos promedio de 455 g en hembras y de 555 g en machos; mientras que para

los seis meses reportan 497 y 577 g, respectivamente. Durrell y Mallinson [1970] reportaron que las crías nacen con una capa corta de pelo y abren los ojos a los 5-6 días, mientras que Van der Loo y De Poorter [1981] indicaron que las crías abren los ojos a los 4-8 días, y Matsuzaki et al. [1996] indican que esto ocurre entre los 10 y 12 días.

Tabla 2.5.1 Síntesis de datos de somatometría del zacatuche reportados en la literatura (promedios y rangos).

Cita	Sexo	n	PC	LO	LP	LC	Edad
1	M	2	---	42.5 (41-44)	47.5 (40-55)	316.0 (275-357)	---
	H	7	---	43.1 (40-45)	51.3 (42-55)	320.0 (295-350)	---
2	M	31	417.4 (386.6-479.1)	--	---	268.3 (234-292)	Ad
	H	26	535.9 (462.1-602.5)	--	---	285.1 (240-321)	Ad
3	M	3	---	40.0 ^a (39-42)	48.3 ^a (48-49)	---	---
	H	6	---	38.5 ^a (32-42)	45.8 ^a (40-51)	---	---
4	---	---	---	-- (40-44)	--	-- (270-315)	---
5	---	---	-- (400-540)	-- (36-44)	52	-- (270-357)	---
6	M	40	498.9 (395-612)	42.6 ^b (40-46)	45.4 (42-48)	306.0 (270-330)	>5mes
	H	81	623.8 (406-788)	43.2 ^b (40-46)	45.8 (43-50)	329.5 (285-370)	>5mes

M macho, H hembra, --- no determinado; PC peso corporal (g), LO longitud de oreja (mm), LP longitud de pata (mm), LC longitud corporal (mm); Ad adultos

Citas: 1) Rojas, 1951; 2) Cervantes, 1982; 3) Bernal, 1990; 4) Leopold, 1990; 5) Grzimek, 1990; 6) Campos-Morales et al., 2004.

^aValor calculado a partir de los datos reportados por el autor en el reporte original.

^bLongitud lateral.

2.6 Aspectos reproductivos

El período de gestación reportado para *Romerolagus* es de 38 a 41 días [Durrell y Mallinson, 1970, Matsuzaki et al., 1996], comparativamente mayor que el de *Sylvilagus* (en general 27 - 30 días) pero menor que en la mayoría de las especies de *Lepus* (36 - 50 días) [Cervantes, 1980]. Se ha determinado que en vida silvestre el zacatuche se reproduce durante todo el año, alcanzando un pico reproductivo en el verano y disminuyendo en el invierno [Cervantes, 1982]. Matsuzaki et al. [1996], en condiciones de laboratorio, reportaron nacimientos todo el año, excepto en mayo, y afirman que la reproducción está determinada por la disponibilidad de alimento.

El tamaño promedio de camada varía entre 2.1 a 2.4 [Cervantes, 1982; Hoth y Granados, 1987; Matsuzaki, 1996], con un mínimo de 1 y un máximo de 4, en este sentido el zacatuche es más parecido al género *Lepus*. Sauter [1988], observó la duración de amantamiento fue de entre 5 y 20 minutos durante el periodo que los observó (7 AM a 17:00 PM) e indicó que un nido tenía crías de dos hembras, siendo visitado por ambas durante el día. Cervantes [1982] registró que zacatuches jóvenes (longitud promedio de 154 mm; peso de 99.4 g) aún estaban lactando cuando ya deambulaban con su madre, indica que en promedio solamente cuatro de las seis mamas secretan leche y que el zacatuche presenta estro posparto (como otros lagomorfos), registró hembras preñadas que al mismo tiempo estaban lactando. En cuanto al destete, las crías permanecen en el nido hasta los 14 a 16 días, volviéndose independientes a los 25 a 30 días de edad [Durrell y Mallinson, 1970; Matsuzaki et al., 1996]. Asimismo, Matsuzaki et al. [1996] mencionan que el destete temprano (entre los 21 a 28 días de edad) es indicativo de una madurez postnatal rápida, en comparación con otras especies. Por otro lado, reportan que, con frecuencia, uno gazapos de una misma camada presenta menor desarrollo y que en promedio dos de cada cinco crías de una misma hembra (de diferentes camadas) son devorados por la madre, ambas situaciones estuvieron relacionadas con hembras primíparas o con hembras que peleaban durante el apareamiento.

Matsuzaki et al. [1996] reportan que la estabilización del peso corporal ocurre entre los 400 a 450 g (a los 5 meses de edad) en hembras y machos, respectivamente, considerando este criterio como el inicio la reproducción. Observaron el primer parto a los 7 meses de edad y la primer monta exitosa entre los 5 y 6 meses; además reportan que las hembras no presentan un ciclo estral definido, sino que permanecen receptivas constantemente una vez alcanzada la pubertad, aparentemente la ovulación es inducida. Hoth y Granados [1987] reportaron que sólo las hembras más grandes se reproducen, inhibiendo reproductivamente a las subordinadas, y reportaron partos a lo largo de todo el año con un pico en primavera. Estimaron una edad a la madurez sexual de 8 meses (pesando entre 410 y 650 g) para hembras, mientras que en un macho se observó el inicio de la actividad sexual cerca de los 6.5 meses (440 g), aunque en 5 machos el descenso de los testículos se observó alrededor de los 5 meses. Dentro de los escasos datos sobre cambios en el peso corporal de hembras gestantes, Van der Loo y De Poorter [1981] reportaron que el incremento de peso es evidente desde una semana después de la cópula.

Con referencia a los nidos en vida silvestre, se indica que el material de construcción está conformado por restos de plantas como pino, aile, hierbas (*Penstemon* sp., *Eryngium* sp., *Gnaphalium* sp.), fragmentos de gramíneas amacolladas finamente cortados, así como pelo de la madre [Cervantes y Martínez, 1996a]. En cautiverio se ha descrito que las hembras inician la

construcción del nido un día antes del parto [Matsuzaki et al., 1996]. En el caso de la colonia de Chapultepec [Sauter, 1988] la construcción inició alrededor de tres horas antes, siempre en los zacatones y generalmente en la parte central y/o cerca de las raíces.

2.7 Comportamiento

Rojas [1951] y Durrell y Mallinson [1970], reportaron la ocurrencia de pequeños grupos de dos a cinco zacatuches en vida silvestre. Hoth y Granados [1987] reportaron que en los dos grupos que formaron originalmente (de machos y cuatro hembras cada uno) se observó un rápido establecimiento de jerarquías, uno de los machos fue excluido y sólo la hembra dominante produjo crías. Usualmente, la hembra dominante fue la más pesada y constantemente acosaba tanto a las subordinadas como al macho reproductor; además de ejercer el mencionado efecto de inhibición reproductiva en las otras hembras. Cuando una hembra dominante moría, una de las subordinadas incrementaba su peso corporal, volviéndose reproductiva. Por último, indican que la formación de jerarquías observada en el zoológico podría ser resultado de las limitaciones que implica el encierro. Durante el proceso de cortejo, Matsuzaki et al. [1996], describen un despliegue conductual denominado "pelea o evasión" en el cual se observan conductas agresivas hacia el macho (incluso puede resultar muerto). También reportan conductas agresivas fuertes entre las crías, al grado que después de las seis semanas de edad las peleas podían resultar en la muerte de alguna.

2.8 Conservación *ex situ*

La mejor estrategia para el mantenimiento a largo plazo de la diversidad biológica es la preservación de las comunidades naturales y poblaciones silvestres (conservación *in situ*). Sin embargo, en el caso de muchas especies en peligro o amenazadas de extinción, la conservación dentro de su hábitat es una opción poco viable o que debe reforzarse por medio de la conservación *ex situ*, a veces ésta es la única alternativa [Primack y Massardo, 2001]. Así, la conservación en cautiverio debe caracterizarse por ser una estrategia complementaria a la *in situ*, que propicie actividades de investigación, educación ambiental y captación de recursos, y que reduzca la necesidad de coleccionar individuos de vida silvestre [Primack y Massardo, 2001].

La Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre de la Ciudad de México (DGZVS/ Secretaría del Medio Ambiente, Gobierno del Distrito Federal) cuenta con el llamado Programa Interno de Conservación de Especies Prioritarias (PICE). Las especies mexicanas incluidas en este programa son: el zacatuche, el lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), el borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) y el ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*). Actualmente, las únicas

colonias de zacatuche en México están a cargo de esta institución, y en conjunto conforman una población de alrededor de 170 a 200 individuos; además existen planes para, en breve, iniciar otra colonia en el Zoológico de San Juan de Aragón.

Entre los principales intentos por establecer colonias de zacatuche en cautiverio, se encuentran: Facultad de Ciencias/UNAM (introducciones en 1953, 1966, 1968 y 1970); Zoológico de Jersey, Reino Unido (con dos introducciones: 1968 y 1979); Zoológico de Amberes, Bélgica (establecida en 1977); Universidad de Hokkaido, Japón (iniciada en 1979); Estación Ecológica de San Cayetano, México (establecida en 1989); Zoológico de Chapultepec, Ciudad de México (establecida en 1984, con introducción de nuevos ejemplares en 1998)*; Zoológico de Zacango, México (establecida en 2001); Zoológico de Ueno, Japón (establecida en 2002)*; y Zoológico Los Coyotes, Ciudad de México (establecida en 2003 a partir de zacatuches de la colonia de Chapultepec)* [Velázquez, 1996; Fa y Bell, 1990; Velázquez, 1997; *Campos et al., 2004]. Aparentemente, en el extranjero, sólo la colonia del Zoológico de Ueno sigue viable.

2.9 Enfermedades y mortalidad en cautiverio

Son escasos los reportes sobre las enfermedades que afectan al teporingo. Durrell y Mallinson [1970] y Hoth y Granados [1987] indicaron que las principales causas de mortalidad en cautiverio son debidas a trastornos digestivos (enteritis) y respiratorios (neumonías). Un patrón similar en la mortalidad se ha observado en años recientes en el Zoológico de Chapultepec, con una alta incidencia de trastornos digestivos y respiratorios, y afectando en su mayoría a zacatuches jóvenes; no obstante, los casos clínicos, sin considerar los debidos a lesiones por peleas entre congéneres, son poco frecuentes [Campos-Morales, 2007, no publicado]. Asimismo, Reyes [1996, comunicación personal, citada en Velázquez, 1996] reportó que en el periodo 1984-1988 la mortalidad total en la colonia de Chapultepec fue de 88%.

En conejos domésticos, los mayores índices de mortalidad se presentan en conejos jóvenes y en particular en la etapa predestete [Farougou et al., 2006]. Rashwan y Marai [2000] hicieron una revisión de mortalidad en conejos jóvenes, encontraron que puede variar del 10 al 100 %, incluso en la misma raza bajo diferentes situaciones. Además, encontraron diferencias significativas por raza, lo que implica que la mortalidad puede ser reducida genéticamente. Indican que la mortalidad aumentó en asociación con: el tamaño de camada al nacimiento; el acortamiento del intervalo entre camadas; y sobre todo por la calidad de la producción láctea de la madre (que en gran medida depende de la dieta). Resaltan la importancia de la prevención de las enfermedades (p.ej., por medio del uso de probióticos), dado el relativamente bajo éxito curativo en comparación con otros animales de abasto. Por otro lado, Rödel et al. [2008] estudiaron la

mortalidad de conejo europeo silvestre (*O. cuniculus* sp.) en semilibertad, registraron que 43 % de todas las camadas presentaron mortalidad, y un 32 % de mortalidad total en crías. La mayor mortalidad se presentó en los primeros días de vida; detectaron que características de la madre (p.ej., masa corporal y rango) son importantes factores en la mortalidad de crías.

En conejos domésticos se ha estudiado ampliamente la importancia de la fibra en la salud. Por ejemplo, Bennegadi et al. [2001] determinaron, en conejos de 28-70 d, que la diarrea es el signo más común de enteritis debida a deficiencia de fibra (90 % de los casos) y que las lesiones digestivas más frecuentes fueron: dilatación del segmento cecocólico (30 %) y contenido intestinal y cecal acuoso (60 %). El índice de mortalidad y el de riesgo sanitario fueron mayores (25 y 60 % respectivamente) cuando usaron una dieta baja en fibra (9 %), en comparación de los porcentajes (9 y 41 %) cuando el nivel de fibra fue del 19 %. Concluyen que la enteropatía no-específica depende conjuntamente del estatus sanitario y nutricional de los animales.

2.10 Los probióticos en la alimentación animal

El concepto de probiótico ha evolucionado a lo largo de los años a partir de su significado original "para la vida" [Fuller, 1992, citado por Rosmini et al., 2004]. Actualmente, en nutrición animal, los probióticos son considerados como un suplemento alimenticio microbiano vivo, que afecta benéficamente al animal hospedero, fomentando el balance microbiano intestinal endógeno y/o nutrición. El uso de probióticos se conoce desde hace siglos, pero recientemente se ha intensificado a la par de su investigación [Schrezenmeir y de Vrese, 2001; Rosmini et al., 2004], dada la clara tendencia por evitar el uso de antibióticos como aditivos en la alimentación animal [Close, 2001; Ragland et al., 2006].

Investigadores como Collins y Gibson [1999, citados por Tumer et al., 2001] indican que los beneficios potenciales de los probióticos sobre la salud incluyen mejorar la digestión, estimular la inmunidad gastrointestinal e incrementar la resistencia natural a infecciones entéricas. Los estudios sobre el efecto de probióticos en la salud han sido diversos y concluyen que por uno u otro mecanismo el efecto es benéfico [Isolauri et al., 2001; Rosmini et al., 2004]. Además se ha llegado al "mejoramiento" de probióticos por métodos genéticos, p.ej., bacterias ácido-lácticas mejoradas mostraron un efecto de exclusión sobre el desarrollo de patógenos intestinales específicos como *E. coli* y *Salmonella* [Close, 2000]. En rumiantes el uso de probióticos ha mostrado disminuir las diarreas en neonatos, incrementar la producción láctea, disminuir la morbilidad en becerros recién destetados y/o recién ingresados a lotes de engorda, e incrementar la ganancia diaria de peso y peso de canal en lotes de engorda. [Robinson y Garrett, 1999; Krehbiel et al., 2003; Lila et al., 2004].

El efecto sobre el sistema inmune ha sido estudiado en algunas especies como son los humanos y los ratones, en los que se demostró que la administración oral de bifidobacterias incrementa los niveles de IgA intestinal; en los ratones lactantes también hubo un incremento de IgA en leche [Tumer et al. 2001]. Pessi et al. [1998], usaron ratas Wistar lactantes para investigar la participación de *Lactobacillus*, cepa GG ATCC 53103, en la degradación y transporte de antígenos en la membrana mucosal intestinal, indican que este probiótico es benéfico como mecanismo de defensa natural para la prevención y tratamiento de alteraciones de la barrera intestinal.

Algunas de las especies bacterianas y fúngicas que comúnmente han sido usadas como probióticos en animales domésticos son *Lactobacillus*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterias*, *Streptococcus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus*. Los dos últimos han sido incluidos con mayor frecuencia en la dieta de animales no-rumiantes. En estudios con cerdos, algunos investigadores indican que el efecto de los probióticos ha sido más consistente y positivo en lechones que en animales en crecimiento o finalización [Close, 2000; Close, 2001; Tumer et al., 2001; Mordenti, 2006]

Hay evidencia de que la respuesta a los probióticos puede variar de acuerdo a la especie y/o cepa microbiana usada, especie animal receptora, edad y condición experimental, entre otras [Tumer et al., 2001; Beauchemin et al., 2003; Plata et al., 2004; Rosmini et al., 2004; Ragland et al., 2006]. Para algunos autores, los resultados del uso de probióticos han sido inconsistentes, incluso en una misma especie [Zaragoza et al., 2001; Rosmini et al., 2004]. En algunos casos se ha propuesto que la variación en la respuesta puede estar directamente relacionada con el estado de salud y sanidad de la especie [Close, 2001; Turner et al., 2001; Mordenti, 2006].

La investigación particular sobre el empleo de probióticos en conejos domésticos también ha incrementado en los últimos años. Matusevicius et al. [2004] reportaron que el uso de la preparación comercial *Yeasture* (CENZONE Co, USA; *S. cerevisiae*, *Lactobacillus casei* y *Streptococcus faecum*), en el alimento para conejos, afectó positivamente su desarrollo pero la eficiencia de tal efecto se vio afectada por la edad y dosis administrada. Asimismo indicaron que sus resultados fueron consistentes con otros estudios que sugieren un efecto positivo en el mejoramiento de la digestibilidad de la materia seca y de los tejidos celulares. Encontraron que después de suplementar la ración de los conejos durante 60 días, la masa corporal aumentó 18% ($P < 0.05$) mientras que el consumo de alimento por unidad de ganancia disminuyó en 8.4%. Indicaron que las hembras fértiles y lactantes parieron camadas más grandes, sanas y numerosas.

En otra investigación con conejos, Trocino et al. [2005] probaron *Bacillus cereus* var *toyoi* a

dosis de 2×10^5 y de 1×10^6 esporas/g de dieta, respectivamente. Encontraron que la dosis más baja tuvo un efecto positivo moderado sobre el crecimiento y leve en la morbilidad; mientras que la dosis alta no tuvo ningún efecto. Sin embargo, Hattori et al. [1984] reportan un aumento en el desarrollo y una reducción importante de diarreas cuando aumentaron la dosis del mismo probiótico (de 1×10^5 a 5×10^6 esporas/g de dieta). Chaudhary et al. [1995], suplementaron *S. cerevisiae* a dosis de 5×10^8 UFC/animal /día (directamente por vía oral) pero emplearon dos dietas con diferentes niveles de fibra (alta en fibra: 12.86%, y baja en fibra: 9.73%), observaron un efecto positivo en varios parámetros de la digestibilidad (p.ej., materia seca, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno) y en la conversión alimenticia en los conejos con la menor inclusión de fibra pero el probiótico no tuvo efecto significativo.

El uso terapéutico de probióticos en conejos está indicado cuando se aplican antibióticos debido al efecto estabilizador que pueden ejercer sobre la flora bacteriana intestinal, previniendo la denominada toxicidad medicamentosa (puede ocurrir cuando se aplica un tratamiento antibiótico de amplio espectro que abate la flora intestinal normal, favoreciendo el sobre crecimiento de clostridias y una consecuente producción de toxinas en tracto intestinal) [Collins, 1995].

Aunque se resalta que una de las características de los probióticos es su inocuidad, se ha mencionado que para la producción a nivel industrial es indispensable considerar dos elementos fundamentales: las mejores cepas microbianas son las que provienen de especies animales semejantes, y la importancia de que el microorganismo sea empleado en el mismo lugar donde actúa en el huésped. Paralelamente, las cepas seleccionadas deben cumplir requisitos básicos: benéficos en el hospedero, estabilidad a ácidos y bilis, capacidad de colonizar el intestino y adherirse a las superficies de mucosas, seguridad para su uso como alimento o con funciones terapéuticas, ausencia de patogenicidad y toxicidad, y supervivencia durante el procesamiento y almacenamiento. La utilización de cepas microbianas autóctonas probióticas, aisladas a partir de distintas regiones anatómicas de los animales de diferentes edades, o incluso de los alimentos que estos consumen, como pasturas y ensilados, permitirá mejorar las condiciones sanitarias y de producción de las explotaciones intensivas [FAO/WHO, 2002; Rosmini et al., 2004].

Los reportes de efectos colaterales debidos a probióticos son escasos y la mayoría no han sido bien documentados. En general se han descritos cuatro tipos [Marteau, 2002, citado en FAO/WHO 2002]: efectos sistémicos, actividad metabólica deletérea, estimulación inmune excesiva en individuos susceptibles y transferencia de genes. Además hay evidencia de que el efecto de un probiótico es específico de la cepa [FAO/WHO, 2002], por lo que no se debería esperar que un producto sea efectivo ó posea la misma efectividad en todas las especies. Ya que

uno de los mecanismos de acción de los probióticos es por medio de la modificación de la flora endógena [Marteau y Shanahan, 2003], el desarrollo de probióticos debería ser específico de especie [Rosmini et al., 2004].

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la suplementación del probiótico *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta del zacatuche, específicamente sobre el desarrollo, digestibilidad aparente y salud, contribuyendo al mejoramiento de su manejo alimenticio en cautiverio y a su conservación.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto del probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) en el peso corporal del zacatuche.
- Estimar el efecto del probiótico sobre la salud del zacatuche por medio de cambios en la incidencia de la mortalidad según su origen: infeccioso o no infeccioso, diagnóstico, y sistema afectado.
- Conocer la digestibilidad general de la dieta del zacatuche en cautiverio y evaluar el efecto del probiótico sobre esta.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Animales e instalaciones

La fase de campo se llevó a cabo en las instalaciones del Zoológico de Chapultepec, donde, para esta especie, se cuenta con una sección en el "Bioma Bosque Templado", dividida en cuatro albergues externos y una sección interna ó "casa de noche". De los albergues externos, uno está a la vista del público visitante y tres no, se caracterizan por contener plantas de gramíneas amacolladas (pasto zacatón, usualmente *M. macroura*), por lo que se considera que los individuos

son alojados en "semicautiverio". Los pisos son de tierra y hay algunos montículos que se han formado por amontonamiento de los "tocones" de pasto zacatón. Los montículos proveen sitios de refugio, diversifican el ambiente y sirven, en algún grado, como fuente de alimento (ocasionalmente se observó a los zacatuches alimentarse de las raíces o de los remanentes de hojas de estos tocones).

Sólo dos de los albergues externos constaban de grupos de machos y hembras reproductivos, así como de crías en distintas fases de desarrollo. Estos dos albergues son los que se usaron en este estudio, contando con animales en crecimiento, bajo procesos activos de natalidad-mortalidad. Los otros dos albergues externos sólo alojaban zacatuches adultos. En adelante se denominará a los albergues externos con los que se trabajó como: Albergue 1 y 2 (ó ALB1 y ALB2).

Dentro o muy próximos a los albergues hay algunos árboles que proporcionan sombra, cobertura y amortiguan el ruido externo. Además, ocasionalmente se observó a los zacatuches consumir de las hojas que habían caído al piso. Las especies identificadas son: trueno (*Ligustrum ligidum*), fresno blanco (*Fraxinus uhdei*), ailé (*Alnus acuminata*) y encino enano (*Quercus* sp.).

Los albergues son muy similares, la principal diferencia es el tamaño; el Albergue 1 con cerca de 90 m² y de periferia aproximadamente circular, mientras que el Albergue 2 era de unos 60 m² y de forma rectangular (aproximadamente de 5 x 12 m). Ambos cuentan con bebederos de cemento en el piso y comederos de madera para el alimento en pelet (concentrado) y para la zanahoria (diferentes comederos). Los albergues cuentan con dos tipos de refugios: 1) en el interior del área de manejo hay cajas metálicas (denominadas nidos –aunque rara vez se han registrado nacimientos en ellos) que se comunican a los albergues por túneles en la pared; y 2) plataformas de madera (láminas de triplay elevadas del piso por postes horizontales quedando a unos 15 cm de altura) Ambos albergues están completamente cerrados, lateralmente por bardas de concreto o tabique, a una altura de aproximada de 1.5 m y luego se continúan con malla ciclónica hasta el techo. Los techos son de la misma malla y tienen una zona cubierta con lona plástica que cubre aproximadamente un tercio de su superficie del Albergue 2 y aproximadamente un cuarto del Albergue 1. Las Figuras 4.1.1 a 4.1.4 ilustran los albergues del zoológico.

En cuanto al área interna, se caracteriza por alojar a los zacatuches individualmente en jaulas pequeñas. Algunos ejemplares de esta sección fueron utilizados para hacer ensayos sobre la tasa de defecación, consumo de materia seca y para la obtención de muestras de referencia para el estudio microhistológico de heces.

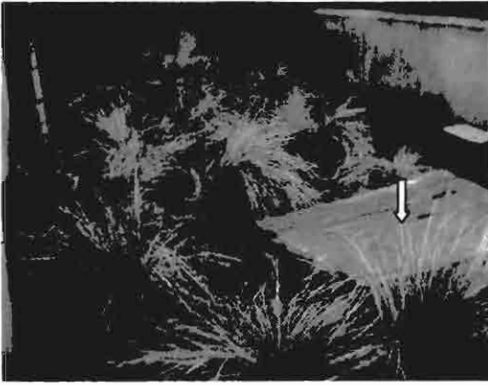


Figura 4.1.1 Albergue 2 con pasto plantado recientemente, está verde y robusto. Se aprecia la tarima-madriguera de piso (flecha).



Figura 4.1.2 Albergue 1, los macollos de pasto zacatón habían sido usados moderadamente (aproximadamente día 30).



Figura 4.1.3 Albergue 2, casi al final del periodo experimental. Se aprecia el intenso uso del pasto, hojas escasas y secas.

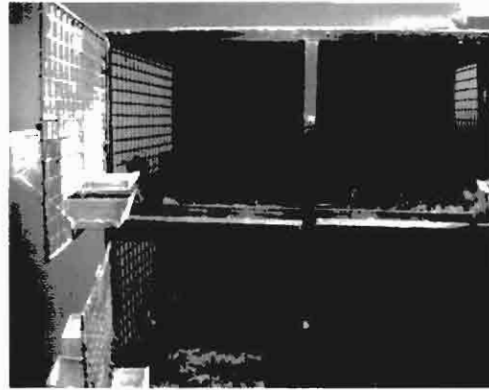


Figura 4.1.4 Jaulas individuales con caja-madriguera: fundamental para proporcionar refugio y seguridad.

Ya que, como se explicó, los grupos experimentales estaban sujetos a procesos demográficos activos (incluyendo reproducción constante), fue imposible tener un control preciso sobre aspectos como: natalidad, número de animales, proporción de sexos y edades por albergue (p.ej. debido a la natalidad/mortalidad). Sin embargo, se consideró que las características poblacionales fueron similares; sólo al inicio del experimento se ajustaron los tamaños poblacionales (lo que es parte del manejo rutinario de la especie). En la sección resultados se

describe la población promedio en cada periodo y albergue.

Los zacatuches fueron categorizados en grupos de edad (crías, juveniles y adultos); no obstante, los criterios para esta categorización variaron levemente para cada grupo de análisis de datos (desarrollo, digestibilidad y salud).

Diariamente se pesó el alimento ofrecido y se distribuyó de la misma forma (hora, número de comederos y sitios de alimentación). Sin embargo, ya que el consumo diario presentó algunas variaciones durante el estudio (p.ej., disminución o aumento notorio en el consumo de algún ingrediente) se llegaron a realizar algunos ajustes en la cantidad de alimento ofrecida, principalmente para garantizar la disponibilidad y acceso al alimento para todos los animales y en particular garantizar el consumo de zanahoria (vehículo para el probiótico).

4.2 Repeticiones en el tiempo

Se realizaron dos repeticiones en el tiempo (periodo 1 -PER1-, y periodo 2 -PER2-) en cada albergue. Cada periodo tuvo una duración de dos meses (julio a noviembre de 2007), esto se basó en que el pasto zacatón de los albergues es cambiado como parte del manejo rutinario en el zoológico. Actualmente, el cambio del pasto en los albergues se realiza cada 3 a 4 meses (dependiendo del uso que los animales hagan de mismo), para el experimento se decidió hacerlo cada dos meses, intentando garantizar un aporte suficiente y homogéneo de pasto, evitando que el consumo se viera afectado por la disponibilidad. De tal manera que cada periodo inició con la renovación del pasto zacatón en los albergues, utilizando sólo *M. macroura*.

4.3 Suplementación de probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*)

La suplementación del probiótico en cada albergue se realizó como diseño cruzado. Cada uno de los dos albergues fue suplementado con el probiótico (*S. cerevisiae*, SCC; c = con; s = sin) durante diferentes periodos: 1) Periodo 1: el albergue 1 es suplementado (ALB1cSCC), y el albergue 2 no se suplementa (ALB2sSCC); 2) Periodo 2: el albergue 1 no es suplementado (ALB1sSCC), y el albergue 2 sí se suplementa (ALB2cSCC). Así, en cada periodo un albergue quedó como testigo.

El probiótico se dio diariamente con el producto comercial Yea Sacc 1026^{MR} (Alltech®, México) que es utilizado para formulación de alimento concentrado para animales domésticos (mono y poligástricos). Este producto contiene un mínimo de 1×10^8 UFC/g y es producido en un medio de cultivo a base de maíz molido, malta y melaza. La dosis diaria utilizada por albergue (2 g) se calculó de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (monogástricos 1 kg/ ton de alimento balanceado) y estimando un desperdicio de 10 % por la manera de suplementarlo; diariamente se adicionó a la porción de zanahoria correspondiente. Por experiencia se sabía que

la zanahoria es un alimento con buena palatabilidad para los zacatuches, generalmente es consumida totalmente. Para garantizar una buena distribución del probiótico, la zanahoria fue picada en trozos de 1 a 3 cm, el probiótico fue adicionando mezclando constantemente. Antes de iniciar el experimento, se comprobó que el producto era palatable para los zacatuches, de manera que el consumo (de zanahoria y del probiótico) no se viera afectado. Se tuvo mucha precaución en no "contaminar" con probiótico el alimento del albergue no suplementado.

4.4 Alimentación

La dieta promedio ofrecida a los zacatuches de cada albergue consistió en: alfalfa fresca (6 kg), alimento peletizado para conejo (Conejina N®, Purina; 1.8 kg, con 88 % MS, 15.5 % de proteína y 15 % de fibra), zanahoria fresca troceada (3.0 kg) y pasto zacatón (*M. macroura*; *ad libitum*).

El pasto zacatón se colectó de la Comunidad de Coajomulco (Municipio de Hutzilac, Morelos) con el permiso del Comisariado Ejidat. Aunque normalmente se colecta pasto de diferentes zonas para reducir el impacto por la extracción de las plantas, para fines del estudio, las dos colectas (julio y septiembre, 2007) se realizaron en la misma zona, en la siguiente ubicación geográfica: 19° 05' 31.61" N, 99° 12' 43.35" O, a una elevación promedio de 3008 msnm. Las plantas de pasto zacatón se colectaron extrayéndolas con una base de tierra de tal manera que son sembradas en los albergues del zoológico, si bien no llegan a enraizar debido al uso intensivo que hacen los animales del mismo.

4.5 Muestras

El día 1 del experimento es el de la colocación del pasto en cada albergue, el cambio de pasto se hizo el mismo día en ambos albergues y periodos. Las particularidades para la toma de muestras para cada uno de los tres estudios se detallan a continuación.

4.5.1 Evaluación del desarrollo

De acuerdo a las recomendaciones para la medición de pequeños mamíferos [Hall, 1981; Lundrigan 1996; Romero-Almaraz et al. 2007], en cada animal se midieron las siguientes variables: peso corporal (PC, en gramos), longitud de oreja (LO, desde el vértice a la punta de la oreja, mm), longitud de pata trasera (LP, desde el talón a la punta del dedo, pata derecha, mm) y longitud corporal (LC, desde la nariz a la base de la cola, mm). En el caso de la longitud corporal, la literatura recomienda colocar la espalda del animal en posición recta, lo que no es posible tratándose de animales vivos bajo sujeción física, por lo cual esta medición se hizo con una cinta

métrica flexible (adosándola sobre la línea media). En el caso de la LP, no se incluyó la uña [Lundrigan 1996] ya que se observó que en algunos zacatuches eran muy largas, seguramente debido al cautiverio o por ser más longevos. La cola no fue medida debido a que es muy pequeña.

Para evaluar el efecto del probiótico sobre el desarrollo, se determinó utilizar el peso corporal como variable de respuesta. Lo anterior debido a que las variables LO y LP se estabilizan a una edad relativamente temprana (aprox. 90-100 días). Por otro lado, se observó que la LC es la variable que está sujeta a un mayor error de muestreo, principalmente influenciado por la rigidez o relajación muscular que presente el conejo, la medición puede variar hasta varios centímetros. Además, ya que es evidente que los adultos maduros ya han completado su crecimiento ó, en el caso de las hembras, su peso se ve afectado por su estado reproductivo (gestación y lactación principalmente), se decidió utilizar sólo los datos de ejemplares en crecimiento, bajo las siguientes categorías de edad inicial: crías (CR, de aprox. 30 a 60 días), juveniles (JV, 61 a 130 días) y adultos jóvenes (AJ, 131 a 170 días).

El cambio de peso corporal (CPC) se definió como la diferencia del peso inicial y final [Church y Pond, 1998] en cada periodo y albergue; se determinó en cada animal. Sólo se utilizaron los datos de zacatuches en crecimiento que completaron el periodo (60 días). Otro criterio de restricción fue la salud, sólo se consideraron datos de zacatuches clínicamente sanos ya que el proceso de enfermedad puede afectar el crecimiento.

Para determinar los estadísticos de cada variable somatométrica se emplearon los datos de todos los muestreos, excepto para el peso corporal (PC) donde se analizó por separado el de las hembras gestantes (en cada muestreo se realizó el diagnóstico de gestación por palpación digital abdominal).

4.5.2 Evaluación del efecto sobre la salud

El efecto del probiótico sobre la salud se determinó recabando información sobre la incidencia de la mortalidad general y por grupos de edad, y por medio de un análisis de sobrevivencia en crías. Se determinaron las siguientes categorías de edad: crías (CR, ≤ 30 días), juveniles (JV, 31-135 d) y adultos (AD, ≥ 136 d). Diariamente (7:30 AM y 4:30 PM) se revisaron los albergues para detectar individuos muertos (práctica rutinaria en el zoológico). Los cadáveres fueron identificados y entregados a la brevedad al área de patología de la DGZVS ó, en caso necesario, se mantuvieron en refrigeración hasta la realización de la necropsia. Posteriormente se recabaron los datos sobre edad, sexo, lesiones más relevantes y diagnóstico presuntivo de defunción. Los datos de mortalidad se clasificaron en tres grupos: 1) Categoría de la causa de muerte (infecciosa, no infecciosa, indeterminada), 2) Sistema(s) afectado(s) principalmente

(digestivo, respiratorio, musculo-esquelético, sistémico, otro, indeterminado), y 3) Diagnóstico(s) de defunción.

En un alto porcentaje de casos no se pudo establecer la causa de muerte (diagnóstico indeterminado = no se pudo determinar NSPD). Las principales causas para no poder emitir un diagnóstico fueron: avanzados cambios autolíticos (ACA) del cadáver ó que había sido devorado parcialmente por congéneres (DXC). En el caso de las crías, primero se hizo un análisis de la mortalidad total general y luego se eliminaron los casos indeterminados, pues la alta incidencia de éstos hacia difícil analizar los datos, asumiendo que la incidencia de indeterminados fue la misma en los diferentes albergues y periodos. Ya que la asignación de cada caso en las categorías mencionadas dependió de aspectos cualitativos (p.ej., descripción de lesiones ó establecer a que sistema correspondían), no existe una correspondencia absoluta entre los tamaños de muestra de cada categoría y la mortalidad total (n = 114). En algunos casos las lesiones se consideraron como severas para más de dos sistemas o con más de un origen. El que una sola persona realizara la categorización hizo que exista mayor homogeneidad en los criterios.

Adicionalmente, se hizo una breve descripción de los estadísticos vitales, como tasas y razones de mortalidad [Daniel, 1997]. La tasa bruta de mortalidad (TBM) y la razón de mortalidad total (RMT), que se definen como sigue:

$$TBM \% = \frac{\text{muertes en el periodo}}{\text{población promedio del periodo}} * 100$$

$$RMT \% = \frac{\text{muertes del grupo específico}}{\text{muertes totales}} * 100$$

La población promedio del periodo es la población determinada para el día 30 del periodo respectivo (1 ó 2)

Las muertes de grupo específico son las que se presentaron en cada Albergue-Periodo, así como las de cada periodo total (mortalidad general).

4.5.3 Evaluación de la digestibilidad

En cada albergue se realizó la toma de muestras de heces y alimento a la mitad de cada periodo, entre los días 25 al 35, de tal manera que los animales ya habían estado bajo el efecto del probiótico durante al menos 25 días, excepto las crías pues dependía de su edad e inicio de ingesta de alimentos sólidos. En cada albergue se colectaron muestras de alimento peletizado,

alfalfa, zanahoria, pasto zacatón, y heces. Ya que se considera que es un alimento con una composición más constante y además su aporte nutricional es mínimo, para la zanahoria sólo se colectó una muestra por periodo y se combinaron para su análisis. De los otros ingredientes, se tomaron muestras de aproximadamente 50 g por día y luego se combinaron por periodo antes de su análisis en el laboratorio. Todas las muestras fueron presecadas (55-60 °C/ 24 hrs) para su conservación [Morfin, 1997].

Durante los días de muestreo, usualmente las heces (duras) fueron colectadas por la mañana en cada albergue (< 9:00 hrs.), se hizo un esfuerzo por colectar muestras de cada grupo individual de pelet fecales (es decir de cada grupo correspondiente a una misma deyección) en el albergue, así como de incluir todos los tamaños pues luego serían cribadas para separarlas de acuerdo a las categorías de edad (APÉNDICE 1). Estas muestras fueron colectadas en un mismo recipiente (muestra general), una vez secas, se limpiaron manualmente para eliminar basura (restos de hojas, pasto, tierra, heces viejas, aplastadas, etc.). Para la eliminación de la basura más fina se empleó una criba de 1.2 x 1.7 mm que dejaba pasar los restos de tierra principalmente. La categorización de las heces, por medio del cribado, en grupos de edad de zacatuches se hizo de la siguiente forma: Adulto (AD, \geq 4.5 meses), Adulto joven (AJ, 3-4.5 meses), Juvenil (JV, 2-3 meses), y Crias (CR, aprox. < 60 días, en general crías en destete, algunas posiblemente apenas abandonando el nido).

Así, cada muestra general de heces (procedentes de cada albergue y de cada periodo, cuatro muestras) fue cribada para categorizarla (subdividirla) por grupos de edad, obteniéndose 16 muestras: 4 por albergue-periodo (AD, AJ, JV, CR). Las muestras de las crías fueron escasas y no fueron suficientes para realizar todos los análisis de laboratorio (aunque la natalidad registrada fue alta, muchas crías murieron antes de abandonar el nido).

En el análisis químico de las muestras de heces y alimento, se determinó: humedad (AOAC, 934.01) y Materia Seca (MS); Cenizas (AOAC, 942.05); Fibra Detergente Neutro (FDN); Fibra Detergente Ácido (FDA); Lignina (LIG) [Van Soest et al., 1991]; y Energía (ENE) [Morfin, 1997]. Posteriormente, por diferencia, se calculó el contenido celular y la hemicelulosa de cada muestra [Church y Pond, 1998] En los alimentos también se determinó proteína (método de Kjeldahl, AOAC 984.13). Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, Estado de México.

Simultáneamente, durante los días de muestreo de heces, se determinó el consumo aparente en cada Albergue-Periodo, con la finalidad de estimar la composición de la dieta ingesta y su digestibilidad aparente (DA) por el método con indicadores. Se usó la lignina como indicador

interno [Morfin, 1997, Church y Pond, 1998]. La fórmula utilizada fue la siguiente [Church y Pond, 1998]:

$$DA (\%) = 100 - \left(100 \times \frac{\% \text{ de indicador en el alimento}}{\% \text{ indicador en heces}} \times \frac{\% \text{ nutrimento}^* \text{ en heces}}{\% \text{ nutrimento}^* \text{ en alimento}} \right)$$

*nutrimento a determinar: FDA, FND, energía, etc.

4.6 Análisis microhistológico cuantitativo de heces (AMCH)

Las muestras de heces fueron procesada por medio de estudio microhistológico para determinar los porcentajes de MS de cada ingrediente de la dieta [Sparks y Malechek, 1968; Peña y Habib, 1980; González y Pérez, 1990].

Para mejorar la exactitud en la determinación microhistológica, previamente a la lectura de las muestras del propio experimento, se realizó un ensayo con zacatuches alimentados con dietas conocidas, obteniéndose muestras de heces de composición conocida. Las dietas probadas fueron: 1) alfalfa *ad libitum* (200 g), 2) alimento en pelet *ad libitum*, 3) alfalfa restringida (100 g/ día/ adulto) y pasto *ad libitum*, y 4) alfalfa restringida (60 g) y zanahoria (100 g). Para dicho ensayo se utilizaron zacatuches alojados en las jaulas individuales. De manera paralela, se utilizaron los mismo animales para estimar la tasa de defecación, consumo de materia seca por animal y consumo promedio de pasto, evidentemente se tenía control sobre la alimentación y era posible colectar el total de las heces producidas/ día.

En el caso del estudio microhistológico de heces para el estudio de digestibilidad, se hizo un ajuste para el contenido de la alfalfa pues, además de la alfalfa fresca, los animales consumían el alimento en pelet que también es formulado con alfalfa. Se hizo el microhistológico del alimento en pelet para determinar su contenido de alfalfa y esto se restó al total (%) del valor de alfalfa en heces.

El estudio microhistológico fue realizado en el Laboratorio de Patología de la Dirección General de Zoológicos de la Ciudad de México. Se utilizó la técnica descrita por Peña y Habib [1980] con algunas modificaciones. En general, se montaron cinco laminillas de referencia (heces de composición conocida) y se tomaron fotos de los tejidos característicos de los ingredientes de cada dieta.

Los resultados del estudio microhistológico se usaron para estimar el consumo diferenciado de los ingredientes por grupo de edad. Es decir, se tenían muestras de heces categorizadas por grupos de edad (AD, AJ, JV, CR), y con el microhistológico se determinó el porcentaje de MS procedente de cada ingrediente en las heces y a su vez se estimó, de manera general, la proporción de alimento consumida

Debe recordarse que aunque por el monitoreo diario se determinó el consumo aparente de la dieta, esto solo permitía conocer el consumo aparente total, ya que los animales están alojados en grupos que incluyen zacatuches de diversas edades, si bien la mayoría eran adultos. Por ejemplo, se conocía el consumo aparente total de alfalfa en un albergue, usando la proporción de alfalfa en heces (AMCH) se estimó a su vez qué proporción del total correspondía a cada grupo de edad (adultos, adultos-jóvenes, juveniles y crías). La composición proporcional de la dieta consumida es diferente a la ofrecida porque los animales disponen de los cuatro ingredientes individuales de la dieta (pues no están formando un solo alimento) y cada grupo de edad (o específicamente cada individuo) tiene un consumo de acuerdo a sus necesidades (los resultados mostraron que efectivamente existen diferencias en el consumo por grupos de edad).

4.7 Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SPSS (versión 12.0). Para todos los datos en escala de razón (somatometría, peso corporal, digestibilidad) se hizo una evaluación gráfica inicial y se determinaron medidas de tendencia central y dispersión (media, rango, varianza, DE, asimetría, curtosis). Se descartaron o corrigieron datos aberrantes. En el caso de medias o diferencia de medias, se calcularon los intervalos de confianza al 95% (IC) [Daniel, 1997; Ferrán, 2001]

En general, para cada grupo de datos (poblacional general, mortalidad, somatometría y cambio de peso, y digestibilidad), se inició por un análisis descriptivo y posteriormente se realizaron las pruebas estadísticas específicas para evaluar el efecto del probiótico. Se exploró la relación entre las diversas variables (tamaño de muestra en cada grupo de edad, efecto del sexo y de la edad y peso iniciales, albergues, periodo, suplementación) para observar cómo se veían afectadas pues, al realizarse bajo condiciones de manejo rutinario, no fue posible tener un control estricto sobre algunas de estas variables. Algunas de estas relaciones son reportadas por primera vez en esta colonia o incluso para la especie.

En el caso del cambio de peso corporal (CPC), se evaluó el peso corporal inicial para verificar que no existieran diferencias significativas previas. Se utilizaron pruebas de ANOVA, T-student, Tukey o Scheffé para la comparación de medias. Además, por medio de coeficientes de

correlación y ecuaciones de predicción, se buscó establecer las principales relaciones entre las variables de desarrollo corporal.

El análisis estadístico de la mortalidad y pruebas de sobrevivencia fue realizado con pruebas no paramétricas, en particular Chi-cuadrada de Pearson (pruebas de bondad del ajuste en tablas de contingencia o por parejas). Se realizaron diversas comparaciones, tanto por mortalidad general como dentro de cada grupo de edad y por las categorías definidas [Daniel, 1997; Ferrán, 2001].

5. RESULTADOS

5.1 Somatometría y efecto del probiótico sobre el desarrollo

Se determinaron los estadísticos descriptivos somatométricos para la población de zacatuches adultos (Tabla 5.1.1). El peso corporal de las hembras gestantes se analizó por separado ya que era evidente que se agrupaban por encima de los promedios de las otras. El PC promedio de las hembras gestantes fue de 737.5 g (DE 58.5; IC, 724.4 a 750.6), promedio significativamente diferente al de las hembras no gestantes ($P < 0.001$). También fue posible estimar la ganancia de peso gestacional: 130 a 153 g (IC 95%). El promedio de la longitud de oreja (LO) de las hembras fue de 45 ± 1.7 mm ($n = 3$) y no se contó con datos para los machos. Los promedios de adultos para PC, LT y LC fueron significativamente diferentes por sexo (Tabla 5.5.1, Figura 5.1.1). El peso corporal general (todas las edades, todas las muestras) estimado para la colonia fue de 548 g (DE 170.6, min. 94, máx. 904.). La información somatométrica de adultos se reporta con mayor detalle en el artículo redactado como parte del programa de titulación de la maestría [Campos-Morales et al., 2009, en prensa].

La frecuencia del monitoreo somatométrico y el contar con ejemplares identificados, permitió estimar curvas de crecimiento y en particular sus formulas de predicción con respecto a la edad (Tabla 5.1.2; APÉNDICE 2). Inicialmente, la edad se estimó por medio del monitoreo diario de nidos ó por medio de la gráfica reportada por Matsuzaki et al. [1996], por ello se observa gran alineación en los datos de los animales más jóvenes de la gráfica general de peso corporal (Figura 5.1.1).

Por medio de dichas curvas de crecimiento (APÉNDICE 2), se observó que la LT, y probablemente la LO, se estabiliza mucho antes (alrededor de los 100 días de edad) que el PC y LC, los cuales reducen el ritmo de crecimiento aproximadamente entre los seis y siete meses pero

continúan aumentando hasta al menos los 12 meses de edad. También se hizo evidente que las hembras mayores de un año, siguen con un crecimiento muy lento unos cuatro a seis meses más, pero es difícil establecerlo con precisión por el efecto de la gestación en el peso corporal.

Tabla 5.1.1 Promedios \pm DE e intervalos de confianza de las variables somatométricas determinadas: peso corporal (PC), longitud de la pata trasera (LP), y longitud corporal (LC) para zacatuches adultos (por sexo y total).

SEXO	Variables		
	PC	LP	LC
Machos	514.6 \pm 38.4 ^a	45.9 \pm 1.2 ^a	319.4 \pm 14.7 ^a
IC 95 %	505.6 - 523.6	45.6 - 46.2	315.9 - 322.9
Hembras*	651.5 \pm 68.0 ^b	46.7 \pm 1.3 ^b	342.6 \pm 16.9 ^b
IC 95 %	639.5 - 663.3	46.6 - 46.9	340.2 - 344.9
General	602.2 \pm 88.4	46.5 \pm 1.3	336.5 \pm 19.3
n	200	267	271
IC 95 %	589.9 - 614.5	46.4 - 46.6	334.2 - 338.8

PC en gramos; longitudes en mm.

Prueba de ANOVA, letras diferentes en columna indican diferencias significativas (en todos los casos $P < 0.001$).

*hembras no gestantes.

TABLA 5.1.2 Coeficientes de correlación y ecuaciones de predicción para las variables (Y) PC, LO, LT y LC con la edad (X) para zacatuche entre 25 y 245 días de edad.

Variable (Y)	r ²	g.l.	Ecuación	RP-X
PCM*	0.948	86	$Y = (-88E-04)x^2 + 4.25x + 18.06$	30-200
PCH*	0.926	141	$Y = (-6.9E-03)x^2 + 4.07x + 18.81$	25-300
LOMH*	0.816	45	$Y = 0.1916x + 25.35$	27-120
LTMH*	0.775	94	$Y = 0.1462x + 31.8$	25-100
LCM*	0.902	85	$Y = (2.6E-05)x^3 - 0.0155x^2 + 3.16x + 100.34$	31-245
LCH*	0.912	125	$Y = (2E-05)x^3 - 0.013x^2 + 2.928x + 102.8$	25-244

PC= peso corporal, LO = longitud de oreja, LT = longitud de tarso, LC = longitud corporal, M = macho, H = hembra, MH = ambos sexos.

RP-X = rango de predicción estimado de la variable independiente (edad en días).

Todas las correlaciones fueron significativas ($p < 0.001$). Se eligió la relación cuadrática cuando el ajuste de la curva fue notoriamente mejor que la lineal.

Respecto al cambio de peso corporal (CPC). La Figura 5.1.1 muestra el gráfico de dispersión para esta variable por período (todos los datos, incluyendo adultos maduros) En los adultos maduros las mayores diferencias de peso (pérdida o ganancia) se presentaron en las hembras y claramente asociados al estado reproductivo (Figura 5.1.2 y 5.1.3).

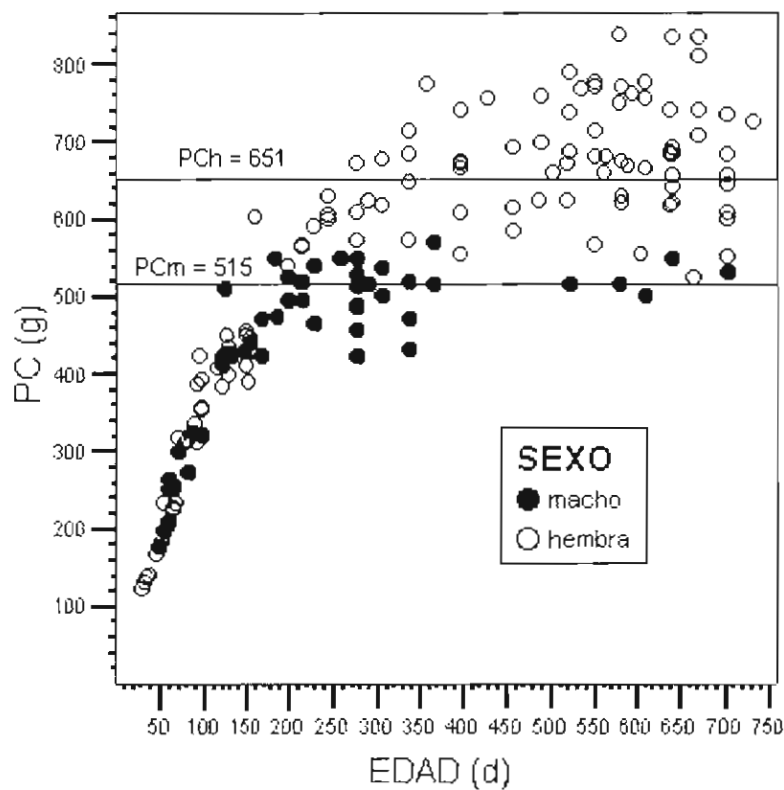


Figura 5.1.1 Gráfica de dispersión para peso corporal por edad y sexo. Se indican los promedios para hembras -sin gestantes- (PCh) y machos adultos (PCm).

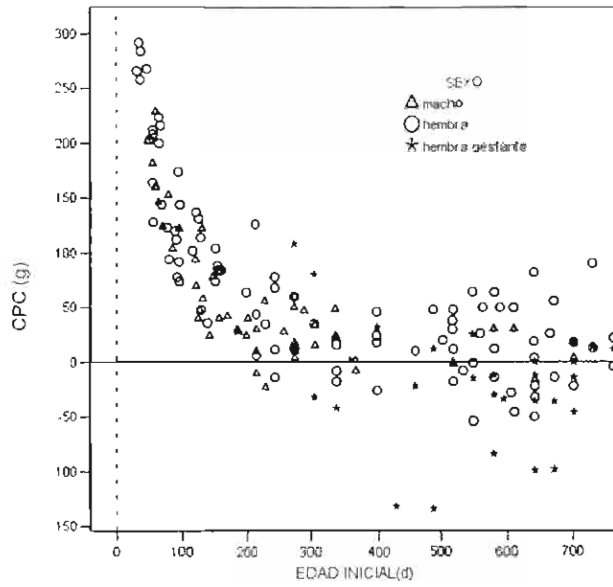


Figura 5.1.2 Cambio de peso corporal (CPC) por periodo, sexo y estado reproductivo de hembras. Incluye crías a adultos.

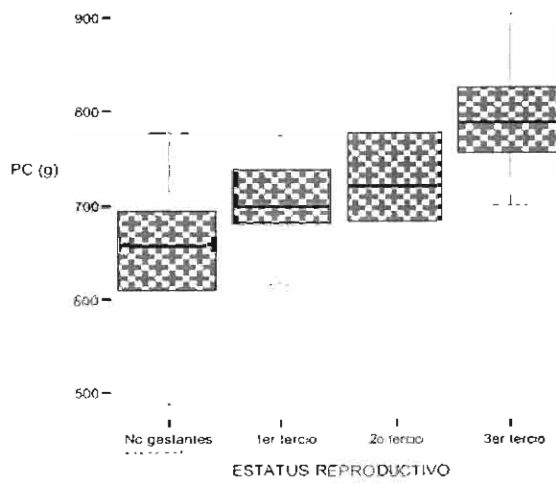


Figura 5.1.3 Peso corporal promedio de hembras adultas por estado reproductivo: no gestantes y gestantes -primer, -segundo ó -tercer tercio.

Los resultados de la correlación de Pearson para CPC, peso corporal inicial (PC-IN) y edad inicial (ED-IN) para los diferentes grupos de edad de zacatuches se presentan en la Tabla 5.1.3.

Tabla 5.1.3 Correlación de Pearson para cambio de peso corporal (CPC), peso corporal inicial (PC-IN) y edad inicial* (ED-IN) en cada grupo de edad.

	CPC x PC-IN (P)	CPC x ED-IN (P)	PC-IN x ED-IN (P)
ADULT-JOV.	-0.278	0.011	0.078
n = 11	(0.380)	(0.972)	(0.808)
JUVENILES	-0.677	-0.657	0.899
n = 27	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)
CRIAS	-0.780	-0.790	0.93
n = 15	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)

*Edad inicial dentro de cada grupo.

No se encontraron diferencias significativas (en general $P > 0.05$) en el peso inicial dentro de cada grupo de edad entre los albergues, lo que apoyaría la idea de que la categorización y rangos de edad elegidos fueron adecuados para probar la hipótesis planteada. Tampoco por sexo se encontraron diferencias significativas en el PC-IN dentro de ninguno de los grupos de edad ($P > 0.214$); sólo entre los adultos hubo diferencias significativas en el CPC entre sexos ($P < 0.018$), indicando que es hasta esta etapa cuando se comienza a dar el desarrollo diferenciado entre sexos que finalmente resultará en el dimorfismo sexual por talla en adultos maduros.

En cambio, los promedios generales de CPC, PC-IN y ED-IN fueron significativamente diferentes entre grupos de edad ($P \leq 0.001$), lo que era de esperarse si la categorización por edades usada era efectiva. La Tabla 5.1.4 muestra estos datos así como los tamaños de muestra entre las principales interacciones analizadas para el efecto del probiótico. Se puede observar que el menor tamaño de muestra fue el de Adultos-Jóvenes (AJ, $n = 11$), que además sólo registraron un dato en el Albergue1-Periodo1. Para las otras edades las muestras fueron más homogéneas, ya se explicó que el tamaño de muestra dependía de la demografía poblacional en cada albergue.

La Tabla 5.1.5 muestra el resultado de las pruebas estadísticas para evaluar el CPC por estado de suplementación, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en ningún caso.

Tabla 5.1.4 Descripción general (medias, DS, tamaños de muestra) de los grupos de edad analizados para cambio de peso corporal ($n = 53$), se indican los principales factores considerados (suplementación general y por albergue) para medir el efecto del probiótico en el CPC y los resultados de la prueba de T-student entre los promedios de PC-IN, ED-IN y CPC de los grupos de edad.

GRUPO	PROMEDIOS (DE)			TAMAÑO DE MUESTRA					
	PC-IN	ED-IN	CPC	SSCC		ALBERGUES POR PERIODO			
				cSSC	sSSC	ALB1PER1*	ALB2PER1	ALB1PER1	ALB2PER2*
AJ	434.4 ^a (22.7)	151.9 ^a (7)	68.2 ^a (25.2)	5	6	1	2	4	4
JV	353.9 ^b (69.7)	97 ^b (23)	118.9 ^b (46.9)	14	13	7	6	7	7
CR	194.8 ^c (52.7)	50 ^c (11)	207 ^c (50.3)	6	10	3	6	4	3
Total	322.8 (107.1)	95 (40)	134 (107.1)	24	29	11	14	15	13

PC-IN peso corporal inicial; ED-IN edad inicial; CPC cambio de peso corporal por periodo; SSCC suplementación general del probiótico; cSSC suplementado con *S. cerevisiae*; sSSC no suplementado. Albergue-Periodo: ALB 1 y 2 albergue 1 y 2, P1 y 2 periodos 1 y 2. *Albergue suplementado en cada periodo. Grupos: AJ adulto-joven ($n = 11$), JV juveniles ($n = 27$), CR crías ($n = 15$). Letras diferentes en columna indican diferencias significativas ($\text{sig.} \leq 0.05$).

Tabla 5.1.5 Resultados de la comparación de medias (T-student ó ANOVA) para cambio de peso corporal (CPC) por estado de suplementación de probiótico.

GRUPO	SUPLEMENTACIÓN GENERAL			SUPLEMENTACIÓN POR ALBERGUE-PERIODO				P
	cSSC	sSSC	P	ALB1P1*	ALB2P1	ALB1P2	ALB2P2*	
AD	78.4 ^a (26)	59.7 ^a (26)	0.240	42.0 ^a -	56.0 ^a (45.2)	61.5 ^a (20.8)	87.5 ^a (11.3)	0.262
JV	133.8 ^a (46.9)	103.0 ^a (43.1)	0.089	147.5 ^a (54.7)	90.0 ^a (25.6)	114.1 ^a (53.5)	120.1 ^a (36.6)	0.177
CR	190.6 ^a (67.3)	217.1 ^a (37.6)	0.407	149.3 ^a (18.5)	225.0 ^a (46.2)	205.0 ^a (19.3)	232.0 ^a (76.2)	0.132

* y cSSC suplementado con *S. cerevisiae*; sSSC sin suplementación. Albergue-Periodo: ALB 1 y 2 albergue 1 y 2, P1 y 2 periodos 1 y 2. Grupos: AJ adulto-joven ($n = 11$), JV juveniles ($n = 27$), CR crías ($n = 15$). La letras diferentes en fila (dentro de cada grupo de edad) indica diferencias significativas.

5.2 Descriptivos poblacionales y efecto del probiótico sobre la salud

5.2.1 Descriptivos poblacionales

En la Tabla 5.2.1 se presenta la descripción de la población promedio de zacatuches estudiada durante cada periodo experimental, se consideraron los datos de los inventarios realizados a la mitad de cada periodo. Debe recordarse que los datos únicamente corresponden a los dos albergues estudiados, la población total de zacatuches del zoológico incluye a otros dos albergues externos y a los alojados en la sección de jaulas individuales. Ya que no era posible conocer con exactitud el número de crías lactantes al momento de los inventarios (muchas estaban dentro de los nidos), su número se estimó con base al promedio de nacimientos por Albergue-Periodo, es decir por el número de camadas registrado.

Tabla 5.2.1 Descripción de la composición poblacional de zacatuches (grupos de edad, sexos) por albergue durante cada periodo experimental*.

		GRUPO DE EDAD**			TOTAL (m:h:i)
		ADULTOS	JUVENILES	CRÍAS	
PERIODO 1	ALB1	42	17	6	65 (19:41:6)
	ALB2	39	15	6	60 (10:45:5)
	Total	81	32	12	125 (29:86:11)
PERIODO 2	ALB1	47	11	5	63 (20:38:5)
	ALB2	45	13	5	63 (12:46:5)
	Total	92	24	10	126 (32:84:10)

*Población promedio a la mitad de cada periodo.

**Adultos \geq 136 d; Juveniles 31-135 d, Crías \leq 30d. La definición de los grupos de edad varía en los estudios de digestibilidad y somatometría. m macho; h hembra; i indeterminado.

En cuanto a la natalidad, se registraron un total de 65 nidos pero sólo en 61 hubo crías (n = 143). El tamaño de camada promedio determinado fue de 2.32 (DE 0.695). En el Periodo 1 se registraron 28 camadas: 17 en el Albergue 1 y 11 en el Albergue 2; mientras que en el Periodo 2 se registraron 33 camadas: 11 en el Albergue 1 y 22 en el Albergue 2. La tasa general de fertilidad (considerando hembras > 550 g de peso corporal) durante el periodo total (4 meses) fue de 2.3 crías/ hembra, es decir que en promedio sólo se registro una camada por hembra. La tasa bruta de natalidad (número de nacimientos/ población total a la mitad del periodo, expresada en porcentaje)

[Daniel, 1997] durante el periodo total fue de 119 %. El registro de la natalidad permitió realizar el análisis de la sobrevivencia de crías.

5.2.2 Mortalidad general

De manera similar a las secciones anteriores, se hizo un análisis general y luego por grupos de edad. La descripción general de la mortalidad total en los grupos de estudio se presenta en la Tabla 5.2.2. En la Figura 5.2.1 se representan la razón de causas de defunción total (ambos periodos) por diagnóstico, categoría y sistema afectado primariamente.

5.2.3 Sobrevivencia de crías

Además de evaluar el efecto del probiótico como una posible reducción en la mortalidad, también se midió como un posible aumento (mayor proporción) en la sobrevivencia de las crías (Figura 5.2.2 y Tabla 5.2.3). Estos conceptos deben diferenciarse porque al evaluar la mortalidad se buscan cambios en las proporciones de las categorías en que se divide a la mortalidad total misma, p.ej., causa de defunción. Mientras que en la sobrevivencia se evalúa la proporción de vivos y muertos, es decir, considera el efecto de la natalidad. La natalidad por albergue y por periodo fue determinada con base al número de nidos registrados en cada Albergue-Periodo y con el tamaño de camada promedio. El resultado de la prueba de Chi-cuadrada de Pearson no fue significativo ($P > 0.05$), la sobrevivencia observada en los albergues en ambos periodos no fue proporcionalmente diferente (Tabla 5.2.3).

Tabla 5.2.2 Descripción de la mortalidad total ($n = 114$) durante la realización del estudio por grupos de edad.

		GRUPO DE EDAD*			TOTAL	TBM (%)	RMT (%)
		ADULT.	JUVEN.	CRÍA			
PER1	ALB1	6	9	28	43	66	66
	ALB2	3	1	18	22	37	34
	Total	9	10	46	65	52	57
PER2	ALB 1	0	3	13	16	25	33
	ALB2	0	3	30	33	52	67
	Total	0	6	43	49	39	43
TOTAL		9	16	89	114	95	100

*Adultos ≥ 136 d; Juveniles 31-135 d; Crías ≤ 30 d; PER periodo; ALB albergue
TBM tasa bruta de mortalidad por periodo; RMT razón de mortalidad total. Los datos se refieren sólo a los grupos estudiados no a la población total de zacatuches del zoológico.

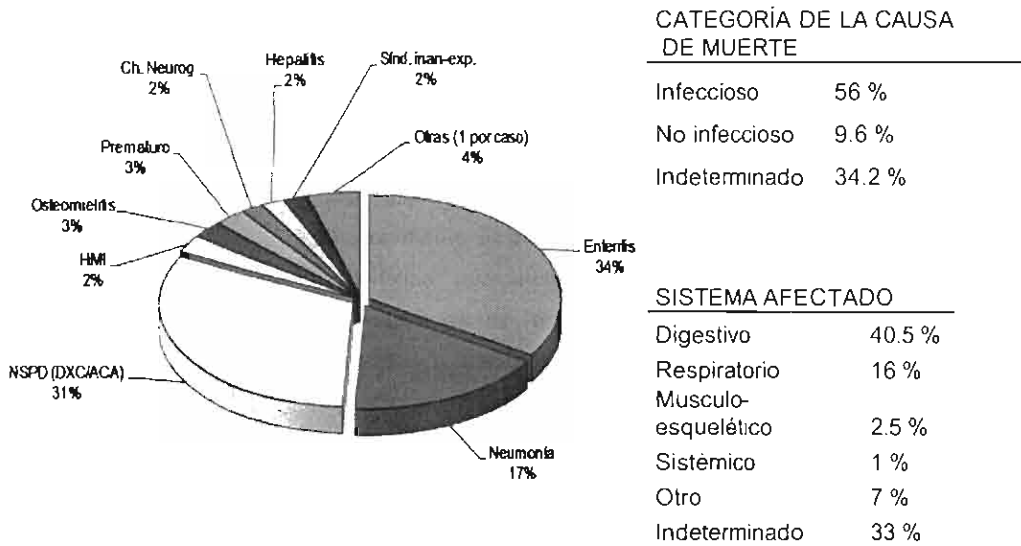


Figura 5.2.1 Razón de mortalidad total por diagnóstico, categoría y sistema afectado primariamente.

NSPD = no se pudo determina; DXC = devorado por congéneres; ACA = Avanzados cambios autolíticos; Ch = choque; HMI hallazgos macroscópicos insuficientes.

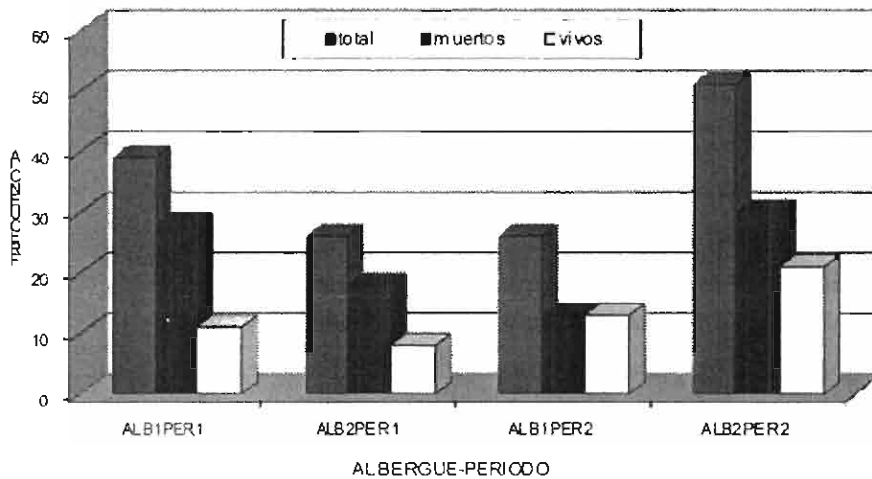


Figura 5.2.2 Sobrevivencia por albergue-periodo (incidencia total); la primera columna muestra la natalidad en cada Albergue-Periodo para hacer más clara su relación con la sobrevivencia. Los albergues suplementados con *S. cerevisiae* fueron el ALB1PER1 y el ALB2PER2.

Tabla 5.2.3 Tabla de contingencia para la prueba de Chi-cuadrada de Pearson para la sobrevivencia de crías ($\leq 30d$) por albergue-periodo (ALB-PER).

ALBERGUE-PERIDO	SOBREVIVENCIA			TOTAL
	CONTEOS	VIVO	MUERTO	
ALB1PER1*	Observado	11	28	39
	Esperado	14.6	24.4	39
	Residuo estd.	-0.9	0.7	
ALB2PER1	Observado	8	18	26
	Esperado	9.7	16.3	26
	Residuo estd.	-0.5	0.4	
ALB1PER2	Observado	13	13	26
	Esperado	9.7	16.3	26
	Residuo estd.	1.1	-0.8	
ALB2PER2*	Observado	21	30	51
	Esperado	19.0	32.0	51
	Residuo estd.	0.5	-0.3	
TOTAL	Observado	53	89	142
	Esperado	53.0	89.0	142

*Albergues suplementados en cada periodo: ALB1PER1 y ALB2PER2.

El resultado de la prueba de Chi-cuadrada de Pearson no fue significativo (sig. 0.264).

5.2.4 Cambios en la incidencia de mortalidad por el efecto del probiótico

Los principales factores analizados y los resultados de las principales interacciones realizadas (Chi-cuadrada de Pearson), tanto en la mortalidad general (crias a adultos, $n = 114$) como por grupos de edad son mostrados en la Tabla 5.2.4. Asimismo, la Figura 5.2.3 ejemplifica cómo se categorizó la mortalidad por Albergue-Periodo, en este caso para mortalidad total, y muestra la mortalidad por grupo de edad dentro de cada albergue-periodo.

En el caso de las crías, que representaron el 78 % de la mortalidad, primero se analizaron incluyendo la mortalidad total y luego se excluyeron los casos de causa de muerte indeterminada ($n = 38$; 48% de los casos). En la Figura 5.2.3 se parecía gráficamente la alta mortalidad de las

Tabla 5.2.4 Resumen de las pruebas de independencia (Chi-cuadrada de Pearson en tablas de contingencia) para la mortalidad total (n= 114, todos los grupos de edad) y para los diferentes grupos de edad (se ejemplifican los más relevantes).

RT	FACTORES	ARREGLO [CATEGORIAS]	CONTEOS			g.l.	Sig. (2 colas)
			OBS.	ESP.	RES.STD.		
1. Mortalidad total (n =114)							
A	ALB*PER	ALB1*PER1	43	33.6	1.6	1	0.001
		ALB2*PER1	22	31.4	-1.7		
		ALB1*PER2	16	25.4	-1.9		
		ALB2*PER2	33	23.6	1.9		
B	SUP*PER	cSCC*PER1	43	43.1	-0.1	1	0.894
		sSCC*PER1	22	21.7	0.1		
		cSCC*PER2	33	32.7	0.1		
		sSCC*PER2	16	16.3	-0.1		
C	SUP*ALB	cSCC*ALB1	43	39.3	0.6	1	0.145
		sSCC*ALB2	22	18.3	0.9		
		sSCC*ALB1	16	19.7	-0.8		
		cSCC*ALB2	33	36.7	-0.6		
2. Mortalidad de crías (edad ≤30d, total n = 89, sin indeterminados n = 51)							
D	ALB * PER	ALB1*PER1	28	21.2	1.5	1	0.004
		ALB1*PER1	18	24.8	-1.4		
		ALB1*PER2	13	19.8	-1.5		
		ALB2*PER2	30	23.2	1.4		
E	SUP*CDEF**	cSCC*INF	30	27.6	0.5	1	0.044
		cSCC*NINF	2	4.4	-1.1		
		sSCC*INF	14	16.4	-0.6		
		sSCC*NINF	5	2.6	1.5		
F	SUP*SAFE**	cSCC*DIG	23	20.3	0.6	2	0.36
		cSCC*RES	9	8.9	0.0		
		cSCC*OTR	1	3.8	-1.4		
		sSCC*DIG	9	11.7	-0.8		
		sSCC*RES	5	5.1	-0.1		
		sSCC*OTR	5	2.2	1.9		
3. Mortalidad juveniles (edad 31-135 días, n = 16)							
G	ALB * PER	ALB1*PER1	9	7.5	0.2	1	0.074
		ALB1*PER1	1	2.5	-0.9		
		ALB1*PER2	3	4.5	-0.7		
		ALB2*PER2	3	1.5	1.2		
H	SUP*CDEF	cSCC*INF	10	10.5	-0.2	2	0.683
		cSCC*NINF	1	0.8	0.3		
		cSCC*IND	1	0.5	0.3		
		sSCC*INF	4	3.5	0.3		
		sSCC*NINF	0	0.3	-0.5		
		sSCC*IND	0	0.3	-0.5		
4. Mortalidad adultos (edad ≥ 136 d, n = 9)							
I	SUP*ALB	cSCC*ALB1	6	4	1	1	0.003
		sSCC*ALB2	3	1	2		
		sSCC*ALB1	0	2	-1.4		
		cSCC*ALB2	0	2	-1.4		
J	cSCC*sCC	cSCC	6	4.5	1.5	1	1.000
		sSCC	3	4.5	-1.5		
K	SUP*CDEF	cSCC*INF	2	3.3	-0.7	1	0.058
		cSCC*NINF	4	2.7	0.8		
		sSCC*INF	3	1.7	1.0		
		sSCC*NINF	0	1.3	-1.2		

RT clave de referencia en el texto (se usa para facilitar la ubicación de los resultados)

SUP suplementación del probiótico (cSCC suplementado, sSCC no suplementado); los albergue período suplementados fueron el ALB1PER1 y el ALB2PER2. PER1 ó 2= período 1 ó 2; ALB1 ó 2= albergue 1 ó 2

CDEF categoría de defunción (INF infeccioso, NINF no infeccioso, IND indeterminado); SAFE sistema afectado (digestivo, respiratorio, otro) ** No se consideró a los animales con diagnóstico indeterminado por lo que la n es menor que el total.

crias. En los adultos todos los casos tuvieron diagnóstico determinado, mientras que en juveniles sólo un caso quedo como indeterminado.

En el caso del análisis del efecto del probiótico por medio de la mortalidad general (todos los casos) se observó un efecto significativo ($P < 0.001$) y negativo (Tabla 5.2.4-a), es decir que la mayor mortalidad se presentó en los Albergue-Periodo suplementados (ALB1PER1 Y ALB2PER2), posteriormente se discute que este debe considerarse como un resultado falso positivo. En crías, la mortalidad por categoría de defunción (Tabla 5.2.4-e) aparece como significativa pero en este caso podemos ver (por los residuos tipificados) que es debido a cambios en la incidencia de mortalidad en la categoría de defunción de No Infecciosa (NINF), lo que no se relaciona al probiótico. Otras interacciones no fueron significativas.

En los juveniles ninguna de las interacciones probadas fue significativa, en la Tabla 5.2.4-g y 5.2.4-h se presentan dos ejemplos importantes: por Albergue-Periodo y por Suplementación vs. Categoría de la Causa de Muerte (infecciosa, no infecciosa ó indeterminada).

En adultos sólo la interacción de la suplementación vs. albergue fue significativa (Tabla 5.2.4-i, $P \leq 0.003$) pero podemos ver (residuos tipificados) que esto es consecuencia de la nula mortalidad en los Albergues 1 (no suplementado) y 2 (suplementado) por lo que tampoco se puede relacionar a un efecto del probiótico. Desde luego debe considerarse que la muestra de adultos fue la más pequeña ($n = 9$) pero aún comparando suplementados contra no suplementados (que es como se da la mayor muestra de cada categoría) no hay un efecto significativo (Tabla 5.2.4-j).

Se realizaron otras pruebas de independencia que no fueron estadísticamente significativas. A continuación se mencionan algunos de dichos resultados.

En el caso de las crías, la prueba de independencia para Suplementación/ Diagnóstico de Defunción se obtuvo una significancia de 0.435. Los diagnósticos reportados ($n = 49$) fueron: enteritis (29), neumonía (14), septicemia (2), hipotermia (1), insuficiencia hepática (1), insuficiencia renal (1) y síndrome inanición-exposición (1). Las pruebas para Suplementación/ Periodo y Suplementación/ Albergue tampoco fueron significativas ($P \geq 0.379$ y 0.568 , respectivamente).

En los juveniles tampoco se encontraron diferencias en las pruebas de independencia de la Suplementación (suplementado ó no suplementado) con: /Albergue ($P \geq 0.849$), /Periodo ($P \geq 0.074$), /Sistema Afectado ($P \geq 0.362$), ni con /Diagnóstico de Defunción ($P \geq 0.649$). Los diagnósticos de defunción reportados ($n = 16$) fueron: choque endotóxico (1), choque neurogénico (1), enteritis (8), neumonía (3), septicemia (2) e indeterminado (1). Mientras que los sistemas afectados fueron: digestivo (10), respiratorio (4), musculo-esquelético (1) e indeterminado (1).

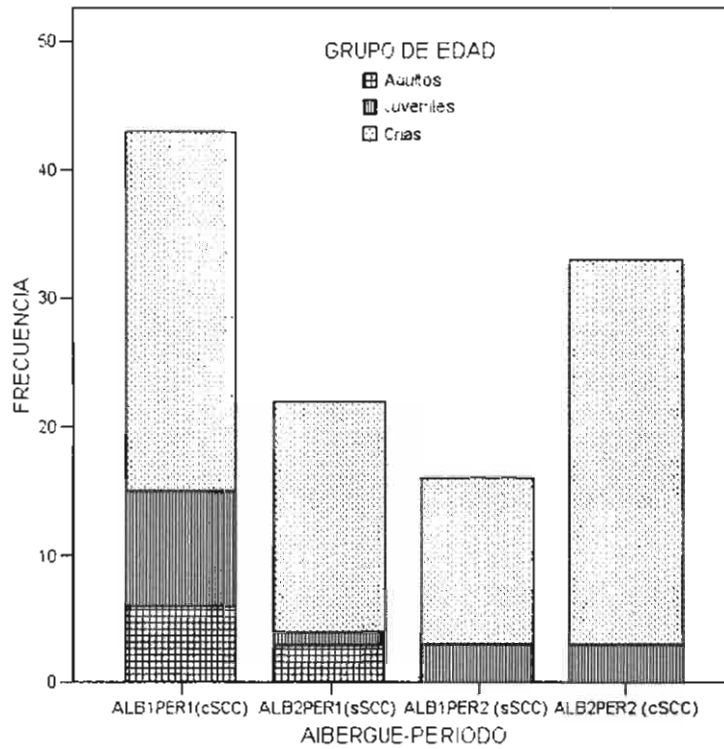


Figura 5.2.3 Mortalidad total por Albergue-Periodo y Grupos de Edad. Se aprecia la alta mortalidad de crías en todos los Albergues-Periodo. Se muestra el estado de suplementación de cada Albergue-Periodo (cSCC suplementado, sSCC no suplementado).

Para los adultos tampoco se encontraron diferencias significativas entre el uso del probiótico (suplementado ó no suplementado) y la mortalidad agrupada por Sistema Afectado ($P \geq 0.771$), o por Diagnóstico de Defunción. Los diagnósticos fueron ($n = 9$): choque hipovolémico (1), choque neurogénico (1), enteritis (3), gastritis ulcerativa (1), metritis (1) y septicemia (2).

5.3 Descripción de la dieta y de la digestibilidad general y efecto del probiótico sobre la digestibilidad

En cuanto al montaje de la técnica del AMCH, los mejores resultados se obtuvieron usando agua caliente (aprox. 70-80 °C/ 2-3 minutos) para humedecer la muestra y mejorar la penetración del aclarador (hipoclorito de sodio de uso doméstico); el tiempo de aclaramiento utilizado fue de 2-

2.5 min. Cabe mencionar que usando hidróxido de sodio al 50 % y/o con mayor tiempo de aclaramiento las muestras se despigmentan mejor, pero ese proceso daña severamente las espinillas microscópicas del pasto (al grado de hacer muy difícil su identificación), y algunas otras características del pasto son muy similares a las de la alfalfa. Por otro lado, se observó que la zanahoria es muy difícil de identificar (aun en las heces de composición conocida), aparentemente esto puede deberse a que es más digerible y/o a que sus tejidos sufren un mayor daño por el procesamiento de las muestras. El medio de montaje utilizado (Entellan Nuevo^{MR}, Lab. Merck, usado para histopatología patología de tejidos animales) resultó muy efectivo, pues la lectura de las muestras puede realizarse apenas unas horas después del montaje. Sin embargo, muchas laminillas se mantuvieron en buen estado sólo por unas dos semanas (luego se formaban burbujas, a pesar del sellado). Seguramente la técnica para prolongar la conservación de las muestras con el medio Entellan puede ser mejorada.

Como se indicó, el ajuste del contenido de alfalfa en heces se realizó restando el contenido de alfalfa (estimado por el microhistológico) del concentrado (en promedio 6.5 %) a la proporción total (MS de alfalfa) en heces. La Tabla 5.3.1 muestra el resultado del análisis microhistológico de heces por grupo de edad ya ajustado para contenido de alfalfa.

Los resultados indican que la excreción de MS por ingrediente es diferente por grupo de edad, por lo que se puede asumir que también el consumo es diferenciado. Por otro lado, el promedio general (entre Albergues y Periodos) fue prácticamente idéntico (Tabla 5.3.2). Por medio del análisis microhistológico de heces (AMCH), asumiendo que para cada ingrediente la proporción de MS en heces es similar a la proporción ingerida, se hizo una estimación del consumo diferenciado por grupo de edad, si bien es evidente que la proporción real debe ser diferente pues la digestibilidad de los ingredientes no es la misma. En crías, como no se contó con suficiente muestra para el AMCH de las heces, para estimar el consumo diferenciado se usaron los datos de los juveniles.

En el ensayo del consumo, se determinó un consumo general de MS de 31 g/ adulto y un consumo de pasto de 4.6-4.7 g MS/ adulto (PC promedio fue de 570 g/ adulto). Mientras que la excreción de MS (heces) promedio fue de 14.3 g/ adulto / día; no obstante este dato y el del consumo general se obtuvieron sólo con las dietas puras de alfalfa y alimento en pelet para conejo pues las dietas alfalfa-pasto y alfalfa-zanahoria fueron evidentemente deficientes, los zacatuches perdieron un promedio de 40.8 g de peso durante el ensayo. En cuanto al número de pelet fecales por día, se observó una gran variación dependiendo directamente del consumo de MS. El consumo de MS g/ día/ adulto y el número de pelet fecales/ día /adulto, según las dietas fue de 27

g y 390 pelet con la dieta pura de alfalfa; 35 g y 538 pelet con la dieta de concentrado; 15 g y 292 pelet con la dieta de alfalfa-pasto; y 18 g y 324 pelet con la dieta de alfalfa-zanahora, respectivamente. En la dieta alfalfa-pasto, la alfalfa se ofreció de manera restringida y el pasto estaba *ad libitum*, por lo que el consumo de pasto indicado (4.6-4.7 g) se podría considerar como el máximo consumo, pero debe tenerse en cuenta que el ensayo se realizó con zacatuches que habían estado en las jaulas individuales por varios meses, aunque se les dio un periodo de adaptación de cinco días (la dieta habitual de los zacatuches de las jaulas individuales no incluye pasto). No fue posible usar una dieta exclusiva de pasto porque si bien se ha reportado que en vida silvestre es parte fundamental de su dieta, en el zoológico las principales fuentes de alimento son la alfalfa y alimento concentrado para conejo, posiblemente porque los animales se han adaptado en cautiverio y/o porque la calidad del pasto se va reduciendo a medida que pasa el tiempo desde que se planta en los albergues. De hecho, como se mencionó arriba, los zacatuches con las dietas 3 y 4 perdieron peso durante el ensayo.

En el caso del consumo general de MS por día/ zacatuche (PC promedio 548 g), en los albergues externos se estimó un promedio de 42.4 g.

Tabla 5.3.1. Resultado del análisis microhistológico de heces (contenido de MS) por grupos de edad de los zacatuches.

	GRUPO DE EDAD		
	ADULTO	AD-JOV	JUVENIL
ALFALFA %	34.8	33.3	34
PASTO %	18.0	16.1	13
*PELET %	43.9	47.7	48
ZANAHORIA %	3.4	2.9	5.0

No se contó con suficiente muestra para el estudio en crías.
 *PELET alimento concentrado para conejo doméstico.
 AD-JOV adulto-joven

Los promedios para la dieta ofrecida en cada Albergue y por Periodo, así como el consumo aparente registrado, son mostrados en la Tabla 5.3.2.

Tabla 5.3.2 Dieta ofrecida general y consumo (g) aparente promedio diario (\pm DE) por periodo (base húmeda) por albergue.

INGREDIENTE	OFRECIDO	CONSUMO APARENTE	
		PERIODO 1	PERIODO 2
ALFALFA	5302.4 (573.3)	4125 (745)	4460 (544)
PASTO*	Ad libitum	646 (29)	656 (7.2)
PELET**	1705.2 (113.5)	1504 (125)	1593 (195)
ZANAHORIA	2937.3 (471.3)	3096 (164)	2499 (670)
TOTAL	9945	9372	9209

*El pasto (*M. macroura*) está plantado en los albergues, consumo *ad libitum*.

**Alimento concentrado para conejo doméstico.

Número promedio de zacatuches/ albergue n = 60;

peso corporal promedio: 548 g/ animal.

Los resultados de la composición química promedio de la dieta consumida durante cada periodo experimental muestran que no existen diferencias importantes entre periodos (Tabla 5.3.3).

En general, al comparar Suplementados vs. no Suplementados, no se obtuvo evidencia de que el probiótico tuviera un efecto significativo positivo en la digestibilidad aparente en los grupos de edad Adulto, Adulto-Joven y Juvenil; de hecho se observa que en los resultados que fueron significativos ($P < 0.001$) los promedios más altos se presentan en los animales no suplementados. En cambio, en el grupo de las crías los promedios de la digestibilidad de MS, FND, FAD y HEM fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$) y mayores en los animales suplementados. En el caso de crías, no se contó con muestra suficiente para analizar materia orgánica ni energía de los zacatuches de dos albergues (ALB2PER1 y ALB1PER2). Las Tablas 5.3.4 y 5.3.5 muestran las principales interacciones probadas y sus resultados.

La comparación por Albergue-Periodo arrojó resultados similares, no hay evidencia consistente de que el probiótico tuviera un efecto significativo (alfa 0.05) en los grupos de edad de AD, AJ ni JV. Aunque los juveniles suplementados presentaron los promedios más altos (ALB2PER2) de digestibilidad (MS, MO, ENE, FND, HEM), también presentaron los promedios más bajos (ALB1PER1) (Tabla 5.3.4).

Tabla 5.3.3 Dieta. Composición química de la dieta consumida (base seca) por los zacatuches durante cada periodo experimental y general (promedio y error estándar).

	PERIODO 1		PERIODO 2		Total	
	Promedio	(EE)	Promedio	(EE)	Promedio	(EE)
*MS%	31.2	(0.04)	32.7	(0.55)	32.0	(0.49)
LIG %	4.7	(0.01)	4.8	(0.02)	4.7	(0.01)
CEN %	10.8	(0.01)	10.8	(0.01)	10.8	(0.01)
MO %	86.5	(0.06)	86.3	(0.04)	86.4	(0.04)
FND %	43.1	(0.13)	43.8	(0.13)	43.4	(0.13)
FAD %	22.9	(0.07)	23.3	(0.07)	23.0	(0.07)
**CC %	56.9	(0.13)	56.2	(0.13)	56.6	(0.13)
**HEM %	20.2	(0.11)	20.6	(0.09)	20.4	(0.09)
ENE %	3936	(1.63)	3947	(1.91)	3942	(1.93)
PRO %	15.7	(0.03)	16.0	(0.04)	15.9	(0.04)

MS materia seca; LIG lignina; MO materia orgánica; FND fibra neutro detergente; FAD fibra ácido detergente; CC contenido celular; HEM hemicelulosa; PRO proteína
*como se ofrece.; **calculados por diferencia.

Respecto a los resultados generales de la digestibilidad para cada nutriente por grupo de edad (sin considerar la suplementación), en general, en el caso de MS, FDN, FAD y HEM, se observa que adultos, adulto-jóvenes y juveniles no presentan diferencias significativas ($P > 0.05$) entre si pero son diferentes a las crías que son las que presentan los mayores porcentajes de digestibilidad. En el caso de la MO y la ENE se observa un agrupamiento de los adultos-jóvenes y juveniles que son similares y presentan promedios de digestibilidad intermedios; mientras que los adultos maduros y crías se agrupan cada uno por separado, nuevamente las crías presentan los mayores promedios de digestibilidad, seguidos por los adultos y finalmente por adultos-jóvenes y juveniles (Tabla 5.3.5).

Tabla 5.3.4 Resultados de la prueba de T para la diferencia de medias de digestibilidad aparente (%) por grupos de edad Suplementados vs. no Suplementados. [Promedio (error estándar de la media)]

		MS			MO			FND			FAD			HEM			ENE		
		cSCC	sSCC	sig.	cSCC	sSCC	sig.	cSCC	sSCC	sig.	cSCC	sSCC	sig.	cSCC	sSCC	sig.	cSCC	sSCC	sig.
AD	Prom.	50.8 ^a	54.6 ^b	***	57.5 ^a	60.4 ^b	***	25.0 ^a	31.8 ^b	***	2.0 ^a	10.5 ^b	***	51.2 ^a	56.4 ^b	***	54.5 ^a	57.3 ^b	***
	(ES)	(0.27)	(0.59)		(0.25)	0.41		(0.50)	(1.08)		(0.23)	(1.64)		(1.17)	(0.53)		(0.22)	(0.48)	
AJ	Prom.	50.1 ^a	51.6 ^a	NS	54.1 ^a	57.2 ^b	.	26.5 ^a	29.1 ^a	NS	5.7 ^a	8.4 ^a	NS	49.4 ^a	52.0 ^a	NS	53.4 ^a	54.5 ^a	NS
	(ES)	(1.02)	(0.52)		(1.35)	0.49		(1.47)	(1.07)		(1.35)	(1.40)		(1.59)	(0.79)		(0.94)	(0.60)	
JV	Prom.	48.2 ^a	53.7 ^b	***	55.0 ^a	58.7 ^b	***	25.3 ^a	34.0 ^b	***	4.2 ^a	13.8 ^b	***	48.8 ^a	56.7 ^b	***	51.6 ^a	56.1 ^b	***
	(ES)	(0.73)	(0.27)		(0.53)	0.23		(0.35)	(0.14)		(0.19)	(0.16)		(0.62)	(0.27)		(0.27)	(0.15)	
CR	Prom.	59.2 ^a	51.5 ^b	***	61.7	-		41.8 ^a	28.2 ^b	***	22.2	-	***	63.3 ^a	54.0 ^b	***	60.3	-	
	(ES)	(0.19)	(0.54)		(0.39)	-		(0.51)	(1.18)		(0.15)	(1.81)		(1.02)	(0.59)		(0.20)	-	

MS = materia seca, MO = materia orgánica, FND = fibra neutro detergente, FAD = fibra ácido detergente, HEM = hemicelulosa (calculada por diferencia), ENE = energía

Medias con letras diferentes en fila (para el mismo nutriente) presentan diferencias significativas.

- sin datos para comparación de medias.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, NS no significativa ($P > 0.05$)

Tabla 5.3.5 Resultados de las pruebas de ANOVA y de Scheffé para la igualdad de medias por albergue-pera (suplementación/albergue) de digestibilidad aparente (%) para cada nutriente por grupos de edad. También se muestran promedios generales (totales) para cada nutriente*.

Edad	Suplem.	MATERIAL SECA					MATERIA ORGÁNICA					ENERGÍA			
		ALB1P1	ALB2P1	ALB1P2	ALB2P2	Total	ALB1P1	ALB2P1	ALB1P2	ALB2P2	Total	ALB1P1	ALB2P1	ALB1P2	ALB2P2
		cSCC	sSCC	sSCC	cSCC		cSCC	sSCC	sSCC	cSCC		cSCC	sSCC	sSCC	cSCC
AD	Prom.	49.7 ^a	52.1 ^b	57.2 ^c	51.8 ^b	52.7 ^A	56.5 ^a	58.7 ^b	62.2 ^c	58.5 ^b	59.0 ^A	53.6 ^a	55.3 ^b	59.4 ^c	55.4 ^b
	(ES)	(0.05)	(0.04)	(0.19)	(0.24)		(0.06)	(0.03)	(0.17)	(0.25)		(0.03)	(0.02)	(0.16)	(0.18)
AJ	Prom.	45.6 ^a	49.4 ^b	53.9 ^c	54.5 ^d	50.8 ^A	48.3 ^a	55.1 ^b	59.4 ^c	60.1 ^d	55.7 ^B	49.3 ^a	51.9 ^b	57.1 ^c	57.5 ^c
	(ES)	(0.04)	(0.04)	(0.18)	(0.19)		(0.08)	(0.03)	(0.16)	(0.19)		(0.03)	(0.02)	(0.14)	(0.14)
JV	Prom.	45.1 ^a	54.8 ^b	52.6 ^c	51.3 ^d	51.0 ^A	52.8 ^a	59.6 ^b	57.7 ^c	57.2 ^c	56.8 ^B	50.6 ^a	55.6 ^b	56.6 ^c	52.6 ^d
	(ES)	(0.06)	(0.05)	(0.25)	(0.36)		(0.08)	(0.05)	(0.23)	(0.37)		(0.04)	(0.03)	(0.19)	(0.29)
CR	Prom.	59.7 ^a	49.2 ^b	53.8 ^c	58.7 ^d	55.3 ^B	63.3	-	-	60.1	61.7 ^C	61.1	-	-	59.6
	(ES)	(0.04)	(0.05)	(0.25)	(0.31)		(0.06)			(0.34)		(0.03)			(0.24)
*TOTAL					52.8 (0.32)						57.8 (0.31)				

Promedios (error estándar); AD adulto; AJ adulto joven; JV juvenil; CR cría; cSCC se suplementó *S. cerevisiae*, sSCC no se suplementó. Medias con subíndices en letras minúsculas diferentes en fila (para el mismo grupo de edad) presentan diferencias significativas, alfa 0.05; mayúsculas diferentes en columna indican diferencias significativas (en general $P < 0.05$) - sin datos para comparación de medias.

Tabla 5.3.5 resultados de las pruebas de ANOVA y de Scheffé para la igualdad de medias por albergue-período (suplementación/albergue) de digestibilidad aparente (%) para cada nutriente por grupos de edad También se muestran los promedios generales (totales) para cada nutriente*. (continuación)

Edad	Suplem.	FIBRA NEUTRO DETERGENTE					FIBRA ÁCIDO DETERGENTE					HEMICELULOSA				
		ALB1P1	ALB2P1	ALB1P2	ALB2P2	Total	ALB1P1	ALB2P1	ALB1P2	ALB2P2	Total	ALB1P1	ALB2P1	ALB1P2	ALB2P2	Total
		cSCC	sSCC	sSCC	cSCC		cSCC	sSCC	sSCC	cSCC		cSCC	sSCC	sSCC	cSCC	
AD	Prom. (ES)	23.0 ^a (0.35)	27.1 ^b (0.23)	36.5 ^c (0.16)	27.1 ^b (0.15)	28.4 ^A	2.8 ^a (0.30)	3.3 ^a (0.21)	17.6 ^b (0.18)	1.3 ^C (0.17)	6.3 ^A	46.4 ^a (0.78)	54.4 ^b (0.44)	58.4 ^C (0.33)	56.0 ^b (0.26)	53.
AJ	Prom. (ES)	20.1 ^a (0.38)	24.4 ^b (0.24)	33.7 ^C (0.17)	32.9 ^C (0.14)	27.8 ^A	-	2.3 ^a (0.23)	14.5 ^b (0.19)	11.5 ^C (0.14)	7.0 ^A	42.8 ^a (0.84)	48.8 ^b (0.50)	55.2 ^C (0.35)	56.1 ^C (0.26)	50
JV	Prom. (ES)	24.0 ^a (0.36)	34.2 ^b (0.21)	33.8 ^b (0.17)	26.6 ^C (0.15)	29.6 ^A	3.9 ^a (0.31)	14.2 ^b (0.20)	13.5 ^b (0.22)	4.4 ^a (0.20)	9.0 ^A	46.8 ^a (0.79)	56.8 ^b (0.42)	56.6 ^b (0.35)	50.8 ^C (0.29)	52
CR	Prom. (ES)	39.6 ^a (0.29)	23.1 ^b (0.25)	33.3 ^C (0.17)	43.9 ^d (0.11)	35.0 ^B	22.4 ^a (0.25)	-	13.1 ^b (0.22)	22.1 ^a (0.16)	13.7 ^B	59.1 ^a (0.61)	51.7 ^b (0.47)	56.2 ^C (0.35)	67.6 ^d (0.19)	58
*TOTAL					30.2 (0.52)						9.0 (0.61)					54 (0.1)

Promedios (error estándar); AD adulto; AJ adulto joven, JV juvenil, CR cría; cSCC se suplementó *S. cerevisiae*, sSCC no se suplementó
Medias con letras diferentes en fila (para el mismo grupo de edad) presentan diferencias significativas, alfa 0.05; letras mayúsculas diferentes en columna indican diferencias significativas (en general $P < 0.05$)
- sin datos para comparación de medias

6. DISCUSIÓN

Es importante recordar que el diseño experimental buscó evaluar el efecto del probiótico bajo las condiciones ordinarias de manejo de los zacatuches en lugar de bajo condiciones experimentales estrictas.

6.1 Somatometría y efecto sobre el desarrollo

Las curvas de crecimiento estimadas permitirán hacer una predicción más precisa de la edad de los zacatuches jóvenes, p.ej. al momento de identificarlos por primera vez, y posiblemente sean útiles para hacer una estimación de la edad de los zacatuches en condiciones de campo.

Se estableció la existencia de dimorfismo sexual por talla en los zacatuches adultos de esta colonia, principalmente en lo referente al PC; en las variables LP y LC los resultados, aunque significativos, parecen marginales. Por otro lado, comparando los promedios establecidos en este estudio con los reportes previos, se aprecia que los promedios determinados aquí son mayores, sobre todo para el PC y LC. No obstante, en la LC la diferencia puede deberse a diferencias metodológicas. Para LP y LO es difícil establecer si son diferentes de otros estudios, pues los éstos últimos son inconsistente, p.ej., como se muestra entre los datos de Rojas [1951] y Bernal [1990] (Tabla 2.5.1); en el caso de la LO, en este estudio no se contó con datos suficientes para establecer el estadístico poblacional en adultos, pues sólo se obtuvieron datos para hembras (con una muestra pequeña, $n = 4$). Es oportuno recordar que, en el grupo de los lepóridos, las hembras son más grandes que los machos [Grzimek 1990; Nowak, 1999] y que Cervantes [1980] no encontró diferencias significativas en la talla de zacatuches adultos, mientras que Fa y Bell [1990] y Velázquez et al. [1993] indicaron que el dimorfismo sexual en esta especie es mínimo, siendo las hembras ligeramente más grandes que los machos.

Aparentemente, la talla promedio podría haber aumentado como consecuencia del cautiverio, lo que se podría ligar a una pérdida de aptitud, capacidad reproductiva o de viabilidad en vida silvestre. Diversos autores [como Meffe y Carrol, 1994; Ford, 2002; Frankham, 2007] han indicado que el cautiverio puede reducir significativamente la aptitud de una especie cuando se regresa a vida silvestre. Meffe y Carrol [194] indican que el peso corporal es una característica fácilmente medible que puede servir para cuantificar la aptitud de una especie. Asimismo, algunos resultados de este estudio señalan que el patrón de crecimiento de los zacatuches de esta colonia podría estar alterado (crecimiento más rápido), lo que se esperaría si la talla ha aumentado. Por ejemplo, Matsuzaki et al. [1996] reportaron que el peso del cuerpo de los zacatuches se estabiliza desde los 400-450 g (a los 5 meses de edad), mientras que en este estudio esto ocurre aparentemente alrededor de los 6-7 meses y que el crecimiento continúa hasta cerca de un año de

edad (Figura 5.1.1). Es importante hacer notar que algunas hembras maduras presentaron un peso corporal relativamente bajo pero se mantienen arriba del promedio de los machos. Aparentemente estas hembras presentarían una talla promedio que sería más acorde con lo reportado en vida silvestre [Cervantes y Martínez, 1996b]. No obstante, no se han hecho estudios específicos sobre el crecimiento de la especie en condiciones silvestres, lo que sería la mejor comparación para determinar alteraciones en dicho patrón.

La diferencia promedio de peso entre machos y hembras no gestantes adultos fue de 137 g, mientras que Matsuzaki et al. [1996] reportaron 142 g y Cervantes [1982] 119 g. Comparando los promedios de PC para machos y hembras, se encontró que las hembras en este estudio fueron 51 g más pesadas que en el trabajo de Matsuzaki et al., mientras que entre machos la diferencia fue de sólo 11 g. En cambio, con respecto al estudio de Cervantes [1982], los promedios que reporta para machos y hembras (417 y 536 g) están alrededor de 100 g abajo de los promedios de este estudio (514 y 651 g, respectivamente). Debe recordarse que los datos de Matsuzaki et al. son de cautiverio e incluye a algunos zacatuches recientemente introducidos de vida silvestre, en tanto que los de Cervantes son de vida silvestre.

La dieta debe ser una de las principales causas de un aumento de talla. Tanto en animales silvestres en cautiverio como en su hábitat, se ha demostrado el efecto positivo de la suplementación alimenticia sobre el peso corporal [Robbins y Robbins, 1979; Sánchez et al., 1985; Hodges et al., 1999; Dominguez y Barbani, 2006]. En caso de deberse a la dieta, es necesario determinar si el efecto en la talla se ha fijado o si es temporal y/o a que grado se debe a la dieta.

Otras causas como la selección y/o aspectos conductuales también deben estar actuando. En conejos domésticos, se ha encontrado que las hembras jóvenes con mayor peso corporal tienen un mayor consumo de alimento y algunas ventajas reproductivas sobre las de menor peso, principalmente en el primer parto [Rommers et al., 2002]. También en conejos domésticos, se observó que un efecto de la selección para crecimiento rápido es el incremento del peso promedio de los adultos [Blasco et al., 2003]. En cuanto al comportamiento, en vida silvestre los zacatuches viven en pequeños grupos de dos a cinco animales [Gaumer, 1913, citado en Fa y Bell 1990; Durrell y Mallinson, 1970] y al ser introducidos al cautiverio establecen jerarquías rápidamente, y sólo las hembras dominantes (las más grandes, agresivas y de mayor edad) son las reproductivas; así que, dentro de un grupo, los individuos dominantes son siempre hembras [Hoth y Granados, 1987; Fa y Bell, 1990]. Como los zacatuches en el zoológico están alojados en grupos numerosos (entre 30 a 60/ albergue) esto permitiría que la reproducción este sujeta a una competencia jerárquica donde las hembras, y seguramente los machos, más grandes deben tener mayor éxito

reproductivo. Adicionalmente, parece que se ha dado una creciente adaptación a una mayor densidad poblacional en la colonia del zoológico, lo que podría dar mayor oportunidad de reproducción a las hembras subordinadas; sin embargo, quizás sus crías tendrían menor probabilidad de sobrevivir, de acuerdo a lo encontrado por Rödel et al. [2008] en hembras de conejo europeo (*O. cuniculus*) de baja jerarquía. Aunque no se analizó estadísticamente, fue claro que las crías de menor tamaño y/o aquellas en nidos con multicamadas tenían menor oportunidad de sobrevivir, lo que concuerda con un reporte de Poigner et al. [2000] en conejos domésticos.

Era de esperarse que la mayor tasa de crecimiento se presentara en los animales más jóvenes; esto se debe a que, mientras más jóvenes, son de menor peso corporal y su crecimiento es mayor (el mayor incremento de peso registrado fue de casi 290 g/ periodo) (Figura 51.2). Por otro lado, también se esperaba que el probiótico favoreciera un mayor incremento pero no ocurrió así, o al menos no de manera consistente como para que pueda atribuirse al suplemento. Chaudhary et al. [1995] y Kamra et al. [1996], en experimentos de suplementación de *S. cerevisiae* en conejos de seis semanas de edad inicial, no encontraron evidencias de un efecto positivo, ni en el cambio de peso ni en la digestibilidad (excepto para proteína en el reporte de Kamra). Dichos investigadores usaron una mayor dosis de probiótico (5×10^8 células/animal) que la que se empleó en este experimento, además de administrarlo directamente vía oral. También en referencia a la dosificación, Trocino et al. [2005] probaron la inclusión de *Bacillus cereus* var. *toyoi* a dos diferentes niveles (2×10^5 a 1×10^6 esporas/g dieta) en la dieta de conejos en crecimiento, encontraron un efecto positivo en el rendimiento y morbilidad pero no encontraron relación con la dosis.

Aunque en este estudio no se encontraron diferencias significativas en el peso inicial, ni por sexo ni entre albergues, probablemente una mayor homogeneidad y tamaño de muestra en cada grupo podrían ser requeridos para detectar un efecto significativo del probiótico como ha sido reportado por diversos investigadores [Villamide y Ramos, 1994; García et al., 2001; Fernández-Carmona et al., 2005]. A su vez esto nos indica que si existe, el efecto del probiótico no es muy grande. Dado que no se trata de animales de producción pecuaria, tampoco existe interés en detectar ese tipo de diferencias en los zacatuches y, de acuerdo a los hallazgos mencionados de un aparente aumento de talla madura, de hecho podría considerarse indeseable que el probiótico tuviera un efecto en el aumento de peso.

6.2 Mortalidad y efecto en la salud: Cambios en la incidencia de la mortalidad

Es importante indicar que generalmente el cambio de pasto zacatón se realiza con intervalos mayores, se decidió acortarlo a dos meses para evitar que la cantidad y calidad de pasto

disponible se redujera mucho, causando tensión en la colonia y probablemente influyendo en la mortalidad.

La incidencia de enfermedades digestivas y respiratorias fue alta, sin embargo, a pesar del que diariamente se realizó el monitoreo de los ejemplares y de que fueron inspeccionados físicamente cada mes, no se detectaron zacatuches con signología evidente de estas enfermedades. Clínicamente, lo más frecuente fueron lesiones cutáneas ocasionadas por peleas entre congéneres; en los albergues nunca se detectaron heces diarreicas.

Analizando la sobrevivencia en cada Albergue-Periodo (Tabla 5.2.3), la mayor mortalidad ocurrió en los mismos albergues donde la natalidad fue mayor. Esto hace que el resultado para el efecto del probiótico en la mortalidad total de las crías (Tabla 5.2 4-d) aparezca como significativo ($P \leq 0.004$), es decir, hay una clara relación entre la mayor natalidad y alta mortalidad, que a la vez coinciden con la suplementación en cada Albergue-Periodo. Ya que la sobrevivencia no fue significativamente diferente en cada albergue-periodo, se puede afirmar que no existe un efecto negativo del probiótico y los resultados mencionados de mayor mortalidad en crías deben considerarse como falsos positivos.

Aparentemente el origen de la alta mortalidad en crías está asociado principalmente a una alta densidad poblacional en los albergues (durante el estudio fue de entre 0.75-1.0 zacatuche /m²). Evidencia de esto es la ocupación múltiple de nidos, se detectaron crías de hasta tres ó cuatro camadas diferentes en un mismo nido (no necesariamente de manera simultánea). Otros indicios son la construcción de nidos en sitios aparentemente inadecuados (lejos de los zacatones), la estrecha asociación entre natalidad y mortalidad de crías, y la alta incidencia de lesiones en las orejas por agresiones entre congéneres. Rommers y Meijerhof [1998] estudiaron el efecto del tamaño de grupo (animales/ m²) en conejos domésticos destetados (31-73 d), encontraron que el porcentaje de lesiones (5-16 %) no se relacionó al tamaño de grupo pero sí a la severidad de las mismas, con más del 80 % en la cabeza y orejas. En conejos entre 71-80 d el porcentaje de lesiones aumentó notoriamente (20-42 %), afectando principalmente la zona genital. Por otro lado, se observó que, a pesar de la alta tasa bruta de mortalidad (TBM), el número de zacatuches en cada albergue se mantuvo constante (alrededor de 63/ albergue). Es decir, que los pocos zacatuches que sobreviven a la etapa más crítica (predestete) son los que ocupan el espacio dejado por la menor mortalidad de juveniles y/o adultos. De acuerdo a la experiencia con esta especie, una densidad más adecuada en cautiverio podría ser de ≤ 0.3 zacatuches/ m² [Campos-Morales, no publicado]. Entre otros factores, la alta densidad es favorecida por la disponibilidad permanente de alimento, como lo observaron O'Donogue y Krebs [1992], y por una

paulatina adaptación al cautivo, haciendo que la densidad en los albergues haya aumentado a través de los años y quizás que las agresiones y lesiones entre congéneres sean menos severas pero más frecuentes. Además de reducir la densidad en los albergues, sería recomendable hacer una extracción continua de ejemplares jóvenes, lo que podría hacerse desde aproximadamente las cuatro a seis semanas de edad.

La etapa predestete es la más peligrosa en la vida de un conejo pero es difícil establecer cuál sería un nivel normal de mortalidad en los zacatuches. Siendo una especie silvestre y estando alojados grupalmente, se podría pensar que debe ser mayor que la encontrada en conejos domésticos, pero ya se indicó que la mortalidad en estos últimos es muy variable [Rashwan y Marai, 2000; Rödel et al., 2008]. También se ha encontrado que la mortalidad promedio en pequeños mamíferos altriciales es alta (30 a 90 %) y con un alto porcentaje de origen desconocido [Millar et al., 2004, Millar, 2007]. Hay antecedentes de que en crías de zacatuche de esta colonia la mortalidad ha sido alta (88 %) y se reportaron como principal causa el "nerviosismo", y luego otras como coccidiosis, ectoparasitismo y traumatismo, pero no especifican la incidencia por causa [Reyes, 1996, comunicación personal citada en Velázquez, 1996]. Muchas enfermedades en animales silvestres muestran un patrón denso dependiente, afectando mayores proporciones de la población a mayores densidades [Robinson y Bolen, 1989]. Además, al nacer en nidos ya ocupados, las crías nuevas enfrentan condiciones sanitarias de menor calidad y mayor competencia; muchas veces la reocupación de un nido ocurre antes de que sea retirado el material de nido y excretas generadas por la camada previa. Así que, la alta densidad poblacional de zacatuches parece una explicación muy probable, aunado a que de por sí sería de esperar una alta mortalidad en una especie como esta.

El factor genético podría ser otra causa del origen de una alta mortalidad [Drouet-Viard y Fortune-Lamothe, 2002a] pero no hay evidencia contundente que lo respalde. En este estudio ningún caso se atribuyó a un origen genético si bien el porcentaje de casos indeterminados en crías fue alto. El estudio de Salomón et al. [2005] con esta colonia mostró que ha ocurrido una pérdida de 2.17 % de heterocigosis con respecto a animales de vida silvestre. Sin embargo, a la fecha no se ha estudiado si esta pérdida se ligue a una mayor susceptibilidad a enfermedades, ni se han observado otros efectos que se asocien a una alta consanguinidad (p.ej., baja fertilidad, alta incidencia de malformaciones anatómicas). La mortalidad causada por debilidad biológica podría ser atribuida al factor genético más que a otros, como patógenos específicos o condiciones de manejo (p.ej., higiene deficiente) [Farouguo et al., 2006], pero es difícil de demostrar bajo las actuales condiciones de la colonia; primero sería necesario corregir la densidad poblacional en los albergues y quizás la proporción de sexos.

En los zacatuches de mayor edad (adultos u juveniles) la incidencia de la mortalidad fue baja, en particular en los adultos (9 casos en cuatro meses, sólo tres afectando al sistema digestivo). Como el tamaño de muestra fue pequeño en adultos, no se esperaba poder demostrar el efecto del probiótico. En cambio, en los juveniles casi todos los casos (14 de 16) se consideraron de origen infeccioso, por lo que en este grupo de edad es en el que se podría haber esperado el efecto del probiótico.

No se encontró evidencia de que *S. cerevisiae* tuviera un efecto positivo en la salud. Aunque la incidencia de casos digestivos fue alta, un alto porcentaje son atribuidos a crías predestete, la mayoría de las cuales seguramente no habían tenido acceso al probiótico. La falta de respuesta en crías muy jóvenes puede relacionarse con la fisiología digestiva de los conejos, particularmente a los factores protectores que funcionarían como una barrera para el paso del probiótico (como la hacen para los agentes patógenos). Considerando la edad a la que abandonan el nido los zacatuches (alrededor de los 18 d), es a esta edad cuando su flora bacteriana se debe estar estableciendo, incluso un poco antes de lo reportado en conejos doméstico por Debray et al. [2002]. En el estudio del efecto sobre la salud, el grupo de las crías abarcó a todos los menores de 30 días; probablemente, en futuros estudios de mortalidad, sea recomendable hacer una diferenciación de crías en dos grupos: < 2 semanas y de 2 a 4 semanas.

A pesar de lo anterior, se esperaba que el probiótico pudiera tener un efecto positivo, reduciendo la mortalidad de crías, por medio del efecto que tuviera en la madre, p.ej., mejorando su digestibilidad, lactación y mejorado su aporte de gama-globulinas en la leche [Maertens et al., 1994; Pinheiro et al., 2007], pero no fue así. Ya se indicó que el aparente efecto negativo del probiótico debe considerarse como falso positivo pues por medio del análisis de sobrevivencia se demostró que no hay cambios en la proporción de muerte en los arreglos analizados. En general, se considera que una de las virtudes de los probióticos es que son considerados inicuos, si bien estudios recientes indican que no necesariamente están exentos de efectos colaterales [Marteau y Shanahan, 2003]. No obstante, no puede descartarse que el probiótico pueda ser benéfico en caso de las enfermedades gastrointestinales y/o infecciosas pues en este estudio sólo se administró de manera preventiva; su uso terapéutico no medicamentoso ha sido investigado por diversos autores [p.ej., Collins, 1995; Rosmini et al., 2004]. En otras ocasiones, en los zacatuches del zoológico, se han empleado probióticos (p.ej., levadura de cerveza y lactobacilos) de manera terapéutica, con la intención de reforzar la flora intestinal cuando se estaba aplicando un antibiótico (ya sea de manera curativa o preventiva); aunque aparentemente la respuesta ha sido positiva, nunca se ha evaluado estadísticamente.

Es probable que la alta incidencia de trastornos digestivos en crías y juveniles tenga alguna relación con la dieta. En conejos en general, se sabe que la dieta, particularmente por deficiencia de fibra, es un origen importante de este tipo de trastornos [Kermauner et al., 1996, Debray 2002, Gidenne, 2003]. No obstante, clínicamente no se detectó ningún ejemplar con diarrea, ni diarrea en los albergues. El ocultar signos de enfermedad es un mecanismo adaptativo anti-depredatorio [Robinson y Bolen, 1989] que en este caso dificulta la detección y tratamiento de una enfermedad, pero no debe perderse de vista el enfoque de manejo poblacional que es más importante que el individual para especies alojadas grupalmente. De Blas et al. [1986] sugirieron que el peso del contenido cecal podía utilizarse como indicador en el estudio de dietas que pudieran favorecer el riesgo de desordenes digestivos, en lugar de usar la frecuencia de mortalidad pues es muy variable. A reserva de corroborar esto, esta recomendación podría considerarse no sólo en futuros estudios de nutrición en esta especie, sino también como indicador de la calidad de la dieta por medio de los exámenes post-mortem (realizados rutinariamente en cautiverio).

6.3 Aspectos nutricionales y efecto sobre la digestibilidad

Hasta la fecha, no había ninguna referencia de la cantidad de pasto consumida por los zacatuches en cautiverio, ni del consumo y excreción de MS. Asimismo, se evaluó por primera vez la dieta completa de los zacatuches en el zoológico pues otros estudios no habían considerado la inclusión del pasto en la dieta. Además, por medio del AMCH se estimaron las diferencias en el consumo por grupos de edad.

En general, el AMCH es aceptado como una buena aproximación para conocer la dieta de las especies silvestres, pero también se ha observado que esta técnica tiende a subestimar los alimentos más digeribles, mientras que los más fibrosos pueden ser sobreestimados [Flinders y Crawford, 1977; Vavra y Holeček, 1980; Fatehi et al., 1988; Katona y Altbäcker, 2002]. Algunos autores como Bartolomé et al. [1995] y Leslie et al. [1983], han estudiado el uso de factores de corrección para mejorar la estimación de la dieta por el método microhistológico. Igualmente, considerando que Carabaño et al. [1988] encontraron una relación directa entre la ingesta de fibra y su contenido en las heces duras ($Y = 16.81 + 0.93 CF$; $r = 0.89$; $P < 0.001$), el uso del AMCH para hacer la estimación de composición proporcional de la dieta en este estudio se muestra como una estrategia adecuada. Las dos limitantes que podría tener la estimación que se hizo sobre el consumo de pasto son el tamaño de muestra ($n = 4$) y que se trataba de zacatuches que llevaban algún tiempo en jaulas interiores, donde no se les provee pasto y podrían carecer parcialmente de la flora microbiana especializada en la digestión del mismo. Es posible que los zacatuches de los albergues externos tengan un mayor consumo de pasto, tanto porque están más habituados

(quizás con flora intestinal ligeramente diferente) como porque el grado de actividad y demanda nutricional (p.ej., por crecimiento, lactación, competencia, etc.) sean mayores. Sin embargo, aparentemente con el cautiverio, los zacatuches han reducido su consumo de pasto a medida que han aumentando el de alfalfa y alimento peletizado. Sería importante investigar esto pues, además de que puede relacionarse con la aptitud de la colonia si se reintegrara a vida silvestre, también es necesario para mejorar el manejo en cautiverio y debe ser considerado al momento de establecer técnicas de rehabilitación pre-liberación.

Aunque no fue posible evaluarlo de manera directa, se observó que aparentemente el pasto zacatón presenta una baja digestibilidad, como lo muestra, p.ej., su alta proporción de MS en heces a pesar de la aparente baja ingesta. Sin duda este tipo de gramíneas es fundamental en la dieta, pero seguramente su función como fibra dietética sea más importante que como fuente directa de nutrientes. En estudios de campo, la técnica microhistológica de heces ha sido usada para estimar hábitos alimenticios del zacatuche [Cervantes y Martínez, 1992], y ya se mencionó como la naturaleza de los alimentos puede favorecer la sobre o subestimación de los mismos. En este caso un alimento fibroso como el pasto zacatón, disponible todo el año, puede ser sobreestimado mientras que plantas suculentas (p.ej., tréboles y brotes diversos) serían subestimadas. La fibra dietética aportada por el pasto debe cumplir las mismas funciones que en conejos domésticos. Sin embargo, no se puede descartar la importancia del pasto como fuente directa de nutrientes (principalmente a través su contenido celular) pues algunas especies son conocidas por su consumo de alimentos aparentemente pobres, p.ej., el panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) que se alimenta de bambú poco digerible, pero compensa esto ingiriendo grandes cantidades y seleccionando el de menor contenido de celulosa y lignina [Schaller et al., 1985]. Otro ejemplo, es el conejo pigmeo (*B. idahoensis*), especializado en una arbustiva poco digerible *Artemisia tridentata* que además contiene un alto contenido de metabolitos secundarios [Shipley et al., 2006].

Continuando con aspectos generales de la digestibilidad, previamente se indicó que las crías presentaron los porcentajes de digestibilidad más altos, seguidas por los adultos maduros y juveniles. Esto puede explicarse principalmente porque las crías presentan una mayor tasa de crecimiento, y deben contar con mecanismos adaptativos que se los permitan, como una mayor digestibilidad, aunada a una selección diferenciada de los ingredientes más digeribles. En conejos domésticos se ha reportado que los animales en la etapa predestete presentan los niveles más altos de digestibilidad (> 75% para MO, proteína o grasa) que luego se reducen para MO y proteína, aparentemente con relación a la calidad de los nutrientes de la dieta, mientras que aumenta para fibra (+ 14 %) y grasa (+ 5 %) [Debray et al., 2003]. Resultados similares se han

encontraron en cerdos donde el efecto de los probióticos ha sido más consistente y positivo en lechones que en animales de mayor edad [Close, 2000, 2001; Turner et al , 2001; Mordenti, 2006]. No obstante que no se contó con muestras para el AMCH de crías, en zacatuches juveniles (JV) se aprecia que tuvieron un mayor consumo de alimento concentrado y menor de pasto, es decir, se observa una predilección por el ingrediente más digerible. Es de esperar que ocurra algo similar o incluso más marcado en el grupo de las crías. La diferencia en patrones de consumo con relación a la edad ha sido reportada también en conejos domésticos [Cheeke, 1987; Kermauner et al., 1996].

Al mismo tiempo, si la ingesta de pasto se ha reducido a costa del mayor consumo de alfalfa y alimento concentrado, esto indicaría que los zacatuches están recibiendo una dieta con mayor densidad de nutrientes o más digerible de la que consumirían en vida silvestre. En su investigación sobre los requerimientos nutricionales del conejo pigmeo (*B. idahoensis*), Shipley et al. [2006] encontraron que la digestibilidad de *A. tridentata* fue mejor de lo esperado: cuando fue proporcionada como alimento único, los conejos consumían apenas lo suficiente para cubrir sus requerimientos de energía; cuando se proporcionó con alimento en pelet de buena calidad, el consumo de la arbustiva se redujo. El conejo pigmeo es el único lagomorfo más pequeño que el zacatuche, en estos casos parece que la talla pequeña está relacionada al consumo de alimentos relativamente pobres a los que se han adaptado. Sin embargo, parece que el teporingo no está tan especializado, Cervantes y Martínez [1992] encontraron que sus hábitos alimenticios cambian estacionalmente, aunque aparentemente el consumo de pasto permanece constante, el de otras plantas varía a lo largo del año. Por otro lado, es evidente que el conejo doméstico ha sido desarrollado como una raza de abasto de crecimiento rápido y por lo tanto su alimentación ha sido guiada en ese sentido, por lo que la alimentación del zacatuche en cautiverio no debería estar basada en dicha especie.

Lo anterior, junto con los otros hallazgos mencionados, pone en evidencia que la dieta actual en cautiverio no es la más adecuada, sobre todo por la inclusión de alimento concentrado o pelet para conejo. Antes de pensar en eliminar, reducir o modificar este alimento de la dieta, se deben hacer estudios más profundos y buscar alternativas de alimentación, además de considerar la plasticidad de los ejemplares para volver a adaptarse a una dieta menos densa o digerible. En particular, puede ser necesario estimular un mayor y/o constante consumo de fibra, idealmente por medio del pasto, si bien parece que el pasto por sí mismo no podría cubrir las necesidades de los zacatuches, al menos no por ahora que los animales se han adaptado al consumo de esa dieta en cautiverio, y que aparentemente han aumentado su talla en el proceso. Es posible que esto se pueda revertir de manera paulatina (readaptación a una dieta más acorde con sus requerimientos

de vida silvestre), e incluso se pueden esperar resultados favorables en el peso corporal, sobre todo si el origen del incremento se debe principalmente a la dieta. En todo caso, el manejo alimenticio debería asociarse un programa de selección artificial que evite la reproducción de los zacatuches de mayor talla.

En este estudio, algunas muestras de heces presentaron valores bajos de lignina y esto se asoció directamente a porcentajes bajos de digestibilidad, particularmente de FDA en ambos albergues en el periodo 1. No se pudo establecer una causa particular de dichos valores bajos de lignina, el muestreo se hizo metódicamente en cada albergue, aunque ya se mencionó que sí se observaron variaciones en el consumo aparente. El único factor que se relacionó consistentemente con estas variaciones de consumo fue la lluvia, los días más lluviosos el consumo general de alimento disminuyó notoriamente. Los resultados de laboratorio no mostraron diferencias importantes en la composición de los ingredientes de la dieta en ambos periodos, incluyendo al pasto que podría haber sufrido diferente grado de lignificación después de haber sido colectado y re-plantado en el zoológico.

Con relación al efecto del probiótico, en general, excepto en las crías, se observó un patrón más o menos constante, en el que la digestibilidad de todos los nutrientes es menor en los grupos suplementados (Tabla 5.3.4). En las crías los resultados son consistentes con un efecto positivo significativo, pues los suplementados presentan los promedios más altos: aparentemente la digestibilidad se vio reforzada por el probiótico. Esto indica que las crías debieron beneficiarse por la integración de *S. cerevisiae* a la flora intestinal, precisamente durante la fase de transición para el establecimiento de la microbiota intestinal [Drouet-Viard y Fortun-Lamothe, 2002b; Brooks, 2004]. Sin embargo, en este estudio no se investigó de manera directa el efecto en la microbiota intestinal.

Por otro lado, en los adultos y juveniles, las diferencias detectadas entre los suplementados y no suplementados (Tabla 5.3.4) no son tan evidentes en la Tabla 5.3.5, incluso en algunos casos la digestibilidad no presenta diferencias significativas entre los albergues. Resultados inconsistentes han sido reportados por diversos autores con diversos probióticos. Maertens et al. [1994] probaron un probiótico a base de *Bacillus*, reportaron, por ejemplo, que el peso corporal promedio y el pH y concentración de AGV en ciego no se vieron afectados, pero el contenido cecal sí aumentó, lo mismo que tendió a ser alta la mortalidad en los conejos suplementados. Keurmaner y Struklec [1996] en un experimento en conejos, emplearon un compuesto probiótico (Acid-Pak 4-Way, Alltech, Inc., que entre otros contiene *S. cerevisiae*) sin encontrar un efecto significativo en los parámetros cecales. Cheeke et al [1989, citado en Kermauner et al., 1996] reportaron una

disminución en la producción de cecotrofos cuando se adicionaron probióticos o acidificantes en la dieta de conejos. En este experimento, la reducción de la digestibilidad observada en los grupos de mayor edad podría deberse a que, a diferencia de las crías, el probiótico en lugar de reforzar la microbiota intestinal compitió con ella. La microflora primaria de los conejos esta conformada principalmente por *Bacteroides* (a diferencia de, p.ej., los bovinos en los que prevalecen *Lactobacillus*), además pueden haber protozoarios ciliados, levaduras y pequeñas cantidades de *E. coli* y clostridias en la flora cecal [O'Malley, 2005].

Ya se indicó que, idealmente, los probióticos deberían desarrollarse a partir de la microbiota endógena de cada especie. Esto es más viable para las especies domesticas, por lo que la selección de un probiótico para fauna silvestre debe hacerse con base a los productos o investigación desarrollados en especies afines, en este caso el conejo doméstico. Seguramente el efecto de mayor interés en animales silvestres debería ser el de la salud, aunque finalmente dependerá de necesidades particulares, p.ej., podría ser de interés mejorar el crecimiento de las crías si esto aumenta sus posibilidades de sobrevivencia. En este caso, precisamente se uso como una alternativa para mejorar la viabilidad de las crías de zacatuches; sin embargo, aparentemente la influencia de factores que sobrepasan el mecanismo de acción del probiótico limitaron su respuesta. Desde luego, el mayor interés fue conocer si bajo estas condiciones adversas el *S. cerevisiae* podía ser de utilidad en el manejo alimenticio de esta colonia u otras cautivas.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Por medio de la somatometría, se demostró la existencia de dimorfismo sexual en los zacatuches de la colonia, siendo particularmente evidente en el caso del peso corporal. Además hay evidencia de que se ha producido un aumento de la talla promedio de los zacatuches de esta colonia con respecto a los de vida silvestre. Aparentemente, factores relacionados al cautiverio son la causa de dicho aumento de talla. Futuros estudios deberán profundizar en el origen de este incremento de talla, así como la magnitud que corresponda a los factores involucrados. En particular deberá establecerse hasta que grado el aumento de talla es temporal o permanente.
2. Los estadísticos somatométricos determinados en este estudio servirán como referencia en futuros estudios sobre somatometría del zacatuche en cautiverio, pero se requiere comprender mejor el comportamiento de las variables de longitud (corporal, de oreja y de pata trasera).

Dados los aparentes cambios en talla, es evidente que se requieren también estudios paralelos en vida silvestre.

3. No se encontró evidencia de que el probiótico *S. cerevisiae* tuviera un efecto significativo en el desarrollo ni en la salud. Probablemente las condiciones demográficas actuales de la colonia tengan un peso muy grande como para que un efecto benéfico del probiótico fuera evidente. Tampoco se observó que tuviera un efecto adverso.
4. El probiótico tuvo un efecto positivo en la digestibilidad en las crías, en cambio en los adultos y juveniles se observó una tendencia negativa. Posiblemente debido a la edad, en las crías el *S. cerevisiae* tendría una mejor oportunidad de colonizar, junto con la flora normal, el trato digestivo; en los otros grupos de edad podría entrar en competencia negativa con la flora nativa establecida. De todos modos, de acuerdo a lo mencionado, esto no representó un efecto significativo, positivo o negativo, sobre el cambio de peso ni sobre la mortalidad.
5. Los resultados obtenidos sugieren que la dieta actual en cautiverio podría no ser la adecuada, aparentemente es una dieta muy concentrada y de relativamente fácil digestión, en comparación de la dieta a la que los zacatuches tendrían acceso en vida silvestre. No obstante, este tema aún debe ser investigado a profundidad.
6. Futuros estudios deberían enfocarse a probar probióticos desarrollados a partir de conejos y buscando principalmente un efecto benéfico sobre la salud, aunque desde luego otros efectos (digestibilidad, cambio de peso, colaterales, etc.) deben evaluarse. El uso de probióticos no debe descartarse, sobre todo, ante la creciente tendencia de desincentivar el uso de antibióticos en la alimentación animal y porque, en el caso de este especies silvestres en peligro, pueden ser una alternativa en el manejo en cautiverio, particularmente en la medicina preventiva y/o como complemento terapéutico.

8. REFERENCIAS

- Álvarez JL, Marguenda I, García-Rebollar P, Carabaño R, De Blas C, Corujo A, García-Ruiz Al. 2007. Effects of type and level of fiber on digestive physiology and performance in reproducing and growing rabbits. *World Rabbit Sci* 15:9-17
- [AMCELA] Mexican Association for Conservation and Study of Lagomorphs (AMCELA), Romero MFJ, Rangel CH, De Grammont PC, Cuarón AD. 2008. *Romerolagus diazi*. En: IUCN 2008. 2008 IUCN Red List of Threatened Species. <www.iucnredlist.org>. Consulta: 18 de marzo, 2006.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed Arlington, VA, EUA.
- Bartolomé J, Franch J, Gutman M, Seligma NG. 1995. Physical factors that influence fecal analysis estimates of herbivore diets. *J Range Manage*. 48:267-70.
- Beauchemin KA, Yang WZ, Morgavi DP, Ghorbani GR, Kautz W, Leedle JA, 2003. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. *J Anim Sci* 81:1628–1640.
- Bell DJ, Hoth J, Velázquez A, Romero FJ, León L and Aranda M. 1985. A survey of the distribution of the volcano rabbit *Romerolagus diazi*: an endangered Mexican endemic. *Dodo, J Jersey Wildlife Preservation Trust*. 22:42-8.
- Bennegadi N, Gidenne T, Licois D. 2001. Impact of fiber deficiency and sanitary status on non-specific enteropathy of the growing rabbit. *Anim Res* 50:401–413.
- Bernal SJF 1990. Manejo y reproducción del conejo de los volcanes (*Romerolagus diazi*) en la estación de San Cayetano. En: (memorias) VIII Simposio sobre Fauna Silvestre. México, D.F.: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma De México, p 81-89.
- Blasco A, Piles M, Varona L. 2003. A bayesian analysis of the effect of selection for growth rate on growth curves in rabbits. *Genet Sel Evol* 35: 21-41.
- Boyd IL. 1985. Investment in growth by pregnant wild rabbits in relation to litter size and sex of the offspring. *J Anim Ecol* 54:137-47.
- Brooks DL. 2004. Nutrition and gastrointestinal physiology (Rabbits). En: Quesenberry KE, Carpenter JW, eds. *Ferrets, rabbits and rodents, clinical medicine and surgery*, 2a. ed., St. Louis, MI: Saunders-Elsevier, 155-60.
- Campos-Morales R, Mendoza MGD, Ojeda CJ, Martínez GJA. 2009. Body weight and other morphometric variables of adult zacatuche rabbits (*Romerolagus diazi*) in captivity. (en prensa)
- Campos-Morales R, Ramos MX, Gual SF. 2004. Determinación de parámetros morfológicos externos en el zacatuche (*Romerolagus diazi*) en el Zoológico de Chapultepec", México, D.F. En: Asociación Mexicana de Mastozoología. VII Congreso Nacional de Mastozoología, 8 al 12 de noviembre de 2004, San Cristobal de las Casas, Chiapas, 33
- Campos-Morales R, Ramos MX, Gual SF, Medina SA. 2001. Determinación de parámetros morfológicos externos en el teporingo (*Romerolagus diazi*) en el Zoológico de Chapultepec. In: XVIII Simposio sobre Fauna Silvestre "Gral. M.V. Manuel Cabrera Valtierra, XVIII Congreso de la Asociación de Zoológicos, Criaderos y Acuarios de la República Mexicana-3er Encuentro de UMA'S; 2001 fecha; Estado de México (MEX): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia- Universidad Nacional Autónoma de México-Universidad Autónoma del Estado de México. P 149-59.
- Carabaño R, De Blas C, García J, Nicodemus N, Pérez de Ayala P. 1997. Necesidades de fibra en conejos. XIII Curso de especialización FEDNA. Madrid.
- Carabaño R, Fraga MJ, Santoma G, De Blas JC. 1988. Effect of diet on composition of cecal contents and on excretion and composition of soft and hard feces of rabbits. *J Anim Sci*

66:901-910.

- Ceballos G, Eccardi F. 1996. Diversidad de fauna mexicana. México: Agrupación Sierra Madre, Ímpetu Comunicación y Redacta (CEMEX).
- Cervantes FA. 1980. Principales características biológicas del conejo de los volcanes *Romerolagus diazi*, Ferrari Pérez 1983 (Mammalia: Lagomorpha). [tesis]. México, DF (MEX). Facultad de Ciencias: 1980. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Cervantes FA. 1982. Observaciones sobre la reproducción del zacatuche o teporingo *Romerolagus diazi* (Mammalia: Lagomorpha). Doñana Acta Vertebrata 9:416-20.
- Cervantes RFA, González F. 1996. Los conejos y liebres silvestres de México. En: Velázquez A, Romero F, López PJ. eds. Ecología y conservación del conejo zacatuche y su hábitat. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica. p 17-25
- Cervantes FA, Lorenzo C, Hoffmann RS. 1990. *Romerolagus diazi*. Mamm Species 360:1-7.
- Cervantes FA, Martínez VJ. 1992. Food habits of the rabbit *Romerolagus diazi* (Leporidae) in Central México. J Mamm 73:830-834.
- Cervantes FA, Martínez VJ. 1996a. Historia natural del conejo zacatuche o teporingo (*Romerolagus diazi*). En: Velázquez A, Romero F, López PJ. eds. Ecología y Conservación del conejo zacatuche y su Hábitat. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica, p 29-40.
- Cervantes FA, Martínez VJ. 1996b. Morfología, taxonomía y sistemática del conejo zacatuche. En: Velázquez A, Romero F, López PJ. eds. Ecología y Conservación del conejo zacatuche y su Hábitat. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica, p41-50.
- Cervantes RFA, Lorenzo C, Yates TL. 2002. Genic variation in populations of Mexican lagomorphs. J Mamm 83(4):1077-1086.
- Cervantes RFA, Martínez J. 1992. Food habits of the *Romerolagus diazi* (Leporidae) in Central México. J Mamm 73(4):830-834.
- Close WH. 2000: Producing pigs without antibiotic growth promoters. Adv Pork Prod, 11: 47-56.
- Close WH. 2001. Usage of antimicrobials and growth promoters in pig production: a European perspective (online) Disponible en: http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc7pdf/Palestras2001/William_Close.Pdf [Consultado 19 de septiembre de 2006]
- Collins BR. 1995. Antimicrobial drug use in rabbits, rodents, and other small mammals. En: Bayer AG. Business Group Animal Health. Antimicrobial therapy in caged birds and exotic pets, An International Simposium, enero 18 de 1995, Orlando, Florida: Veterinary Learning Systems. p 3-10
- Collins MD, Gibson GR. 1999 Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. Am J Clin Nutr 69:1052S-1057S.
- Chaudhary LC, Singh R, Kamra DN, Pathak NN. 1995. Effect of oral administration of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on digestibility and growing performance of rabbits fed of different fiber content World Rabbit Sci. 3(1): 15-18.
- Cheeke PR. 1987 Rabbit feeding and nutrition. Orlando, Academic Press, 372p
- Cheeke PR, Holster AG, Robinson KL. 1989. Improving feed efficiency and reducing mortality in rabbits. A case study for use in all species. En: Lyons TP (editor) Biotecnology in the feed industry: Proceedings of Alltech's fifth annual symposium. Alltech Technical Publications. Nicholasville, Kentucky, 1989. P 253-259
- Church DC, Pond WG. 1998. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Limusa, México. 438p.
- Daniel WW. 1997. Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud 3ª. ed México: Limusa Wiley. 878p.

- Davies RR, Davies JA. 2003. Rabbit gastrointestinal physiology. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 6:139-53.
- De Blas JC, Santomá G, Carabaño R, Fraga MJ. 1986. Fiber and starch levels in fattening rabbit diets. *J Anim Sci* 63:1897
- Debray L, Fortun-Lamothe L, Gidenne T. 2002. Influence of low dietary starch/fibre ratio around weaning on intake behaviour, performance and health status of young and rabbit does. *Anim Res* 51:63-75.
- Debray L, Le Huerou-Luron I, Gidenne T, Fortun-Lamothe L. 2003. Digestive tract development in rabbit according to the dietary energetic source: correlation between whole tract digestion, pancreatic and intestinal enzymatic activities. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 135:443-55.
- Dominguez OL, Barbanti DJM. 2006. Gastro-intestinal transit time in South American deer. *Zoo Biol* 25:47-57.
- Drouet-Viard F, Fortun-Lamothe L. 2002a. Review: I—the organization and functioning of the immune system: particular features of the rabbit. *World Rabbit Sci* 10:15-23.
- Drouet-Viard F, Fortun-Lamothe L. 2002b. Review: II—diet and immunity: current state of knowledge and research prospects for the rabbit. *World Rabbit Sci* 10:25-39.
- Durrell G, Mallinson J. 1970. The volcano rabbit *Romerolagus diazi* in the wild and at the Jersey Zoo. *Internatl Zoo Yearbook* 10:118-122.
- Fa JE, Bell DJ. 1990. The volcano rabbit (*Romerolagus diazi*). In: J. A Chapman and J. E. C. Flux editors, 1990. Rabbits, hares, and pikas: status survey and conservation action plan. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources-The World Conservation Union and World Wide Fund for Nature, Gland, Switzerland, 162 p. Pp. 143-146.
- [FAO/ WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization (2002) Guidelines for the evaluation of probiotics in food (report of a joint FAO/WHO working group on Drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food) London Ontario , Canada, abril 30 y mayo 1, 2002. (disponible en internet: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>, consultado: 13-05-08).
- Farougou S, Kpodékon M, Koutinhouin B, Brahi ODH, Djago Y, Lebas F, Coudert P. 2006. Impact of immediate postnatal sucking on mortality and growth of sucklings in field condition. *World Rabbit Sci* 14:167-73.
- Fatehi M, Pieper RD, Beck RF. 1988. Seasonal food habits of blacktailed jackrabbits (*Lepus californicus*) in Southern New Mexico. *Southwest Nat* 33:367-370.
- Fernández-Carmona J, Blas E, Pascual J, Maertens L , Gidenne T, Xiccato G, Garcia J. 2005. Recommendations and guidelines for applied nutrition experiments in rabbits. *World Rabbit Sci*. 13: 209 – 228.
- Ferrán AM. 2001. SPSS para Windows. Análisis estadístico. Sánchez GC ed. España, McGraw-Hill/ Interamericana de España. 421p.
- Flinders JT, Crawford JA. 1977. Composition and degradation of jackrabbit and cottontail fecal pellets, Texas High Plains. *J Range Manag* 30:217-220.
- Ford MJ. 2002. Selection in captivity during supportive breeding may reduce fitness in the wild. *Conservation Biology* 16:815-25.
- Fraga MJ, Pérez de Ayala P, Carabaño R, De Blas JC. 1991. Effect of type of fiber on the rate of passage and on the contribution of soft feces to nutrient intake of finishing rabbits. *J Anim Sci* 69:1566-1574.
- Frankham R. 2007. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Mol Ecol* 17:325-333. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03399.x
- Fuller, R. 1992. History and development of probiotics. En: *Probiotics: the scientific basis*. Londres, Chapman & Hall. p1-8.
- García J, Nicodemus N, Carabaño R, Villamide MJ, De Blas C. 2001. Determination of the

- number of replicates required to detect a significant difference between two means in rabbits traits. *World Rabbit Sci* 9(1): 27-32.
- Gaumer GF. 1913. Monografía sobre el *Lagomys diazi* Ferrari Pérez Dirección General de Agrícola, Departamento de Exploración Biológica. Serie Zoológica 4:1-51. [en Fa y Bell, 1990, en Cervantes y Martínez, 1996a]
- Gidenne T. 2003. Fibres in rabbit feeding for digestive troubles prevention: respective role of low-digested and digestible fibre. *Livest Prod Sci* 81, 105-117.[en Álvarez et al., 2007].
- Gidenne T, Jehl N, Lapanouse A, Segura M. 2004. Inter-relationship of microbial activity, digestion and gut health in the rabbit: effect of substituting fibre by starch in diets having a high proportion of rapidly fermentable polysaccharides. *Brit J Nut* 92:95-104.
- González EA, Pérez AJ, 1990. Técnica microhistológica modificada. Universidad Autónoma de Chapingo, Departamento de Zootecnia, Área de Forrajes, Estado de México. 44 p.
- Grzimek B. 1990. Grzimek's encyclopedia of mammals. Vol 4, Lagomorphs. New York: McGraw-Hill. p 244-323.
- Hall ER. 1981. The mammals of North America. Second ed. New York: John Wiley and Sons. 1:1-600.
- Hatori Y, Kozasa M, Brenes J, 1984. Effect of Toyocerin® (*Bacillus toyoi*) on the intestinal bacterial flora of rabbits. En: 3rd World Rabbit Congress, Rome, Italy, 279-286.:
- Hodges KE, Krebs CJ, Sinclair AR. 1999. Snowshoe hare demography during a cyclic population low. *J Anim Eco* 68: 581-594.
- Hoth J, Granados H. 1987. A preliminary report on the breeding of the volcano rabbit *Romerolagus diazi* at Chapultepec Zoo, Mexico City. *Int Zoo Yearb* 26:261-265.
- Hoth J, Velázquez F, Romero FJ, León L, Aranda M, Bell DJ. 1987. The volcano rabbit: a shrinking distribution and a threatened habitat. *Orix* 21:85-91.
- Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S. 2001. Probiotics: effects on immunity1-3. *Am J Clin Nutr* 73:444-450.
- [IUCN] International Union for Conservation of Nature. 1969, 1996, 2008. Volcano rabbit. Sheet 9.59.3.1 In Red Data Book, Vol I. Mammalian, Gland, Switzerland.
- Jenkins JF. 2004. Gastrointestinal disease. (Rabbits). En: Quesenberry KE, Carpenter JW. eds. Ferrets, rabbits and rodents, clinical medicine and surgery, 2a. ed., St. Louis, MI: Saunders-Elsevier. p 161-171.
- Johnson-DeLaney CA. 2006. Anatomy and physiology of the rabbit and rodent gastrointestinal system. In Assoc. Exotic Mammals Veterinarians: Proceedings. www.aemv.org/Documents/2006_AEMV_proceedings_2.pdf; p 9-17. consultado 19 dic 2007.
- Johnson DR, Maxwell MH. 1966. Energy dynamics of Colorado pikas. *Ecol* 47(6): 1059-1061.
- Kamra DN, Chaudhary LC, Singh R, Pathak NN. 1996. Influence of feeding probiotics on growth performance and nutrient digestibility in rabbits. *World Rabbit Sci* 4(2):85-88.
- Katona K, Altbácker V. 2002. Diet estimation by faeces analysis: sampling optimisation for the European hare. *Folia Zool* 51:11-15.
- Kermauner A, Struklec M, Logar MR. 1996. Addition of probiotics to feeds with different energy and ADF content in rabbits. 2 Effect on microbial metabolism in the caecum. *World Rabbit Sci* 4(4):195-200.
- Krehbiel CR, Rust SR, Zhang G, Gilliland SE. 2003 Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E120-E132.
- Leopold AS. 1990. Fauna de México. Univ California Press, Berkeley. xiii + 568.
- Leslie DM, Vavra M, Starkey EE, Slater RC. 1983. Correcting for differential digestibility in Microhistological analyses involving common coastal forages of the Pacific Northwest. *J Range Manag* 36:730-32
- Lila ZA, Mohammed N, Yasui T, Kurokawa Y, Kanda S, Itabashi H. 2004. Effects of a twin

- strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation in vitro. *J Anim Sci* 82:1847–1854.
- López PJ, Romero F, Velázquez A. 1996. Las actividades humanas y su impacto en el hábitat del conejo zacatuche. En: Velázquez A, Romero F, López PJ. Eds. *Ecología y conservación del conejo zacatuche y su hábitat*. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica, p 119-132.
- Lundrigan R. 1996. Standard methods for measuring mammals. In: Kleiman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S., editors. *Wild mammals in captivity: Principles and techniques*. The University of Chicago Press. P 566-570.
- Maertens L, De Groote G. 1992. Effect of a dietary supplementation of live yeast on the zootechnical performance of does and weanlings rabbits. *J Appl Rabbit Res* 15:889-913.
- Maertens L, Van Renterghem R, De Groote G. 1994. Effect of dietary inclusion of Paciflor® (*Bacillus* CIP 5832) on the milk composition and performance of does and caecal, and growth parameters of their weanlings. *World Rabbit Sci.* 2(2):67-73.
- Marteau P (2002): Safety aspects of probiotic products. *Scand J Nutr* (en prensa, citado por FAO/WHO).
- Marteau P, Shanahan F. 2003. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Clin Gastroenterology.* 17(5):725-40. (doi:10.1016/S1521-6918(03)00055-6)
- Martinez-Vásquez J. 1987. Estudio sobre la variación estacional de la dieta del zacatuche o teporingo, *Romerolagus diazi* (Mammalia: Lagomorpha), [tesis]. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma De México, México, D.F. 56 p.
- Matsuzaki T, Kamiya M, Suzuki H, Nomura T, Velázquez A. 1996. Reproducción en el laboratorio del conejo zacatuche. En: Velázquez A, Romero F, López PJ. eds. *Ecología y conservación del conejo zacatuche y su Hábitat*. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica, 51-66.
- Matusevicius P, Sliadaryte R, Antoszkiewics Z, Bednarska A. 2004. A natural way to improve productivity of rabbits using probiotic Yeasture. *Veterinarija ir Zootechnika*, T26(48):61-64.
- Meffe GK, Carrol CR. 1994. Genetics, conservation of diversity within species. In: Sinauer Associates, Inc. *Principles of conservation biology*. Sunderland, Massachusetts p 143-78.
- Millar, J.S., 2007. Nest mortality in small mammals. *Ecoscience* 14, 286–291.
- Millar JS, Havelka MA, Sharma S. 2004. Nest mortality in a population of small mammals. *Acta Theriologica* 49:269-73
- Mordenti A. 2006. Probiotics and new aspects of growth promoters in pig production. Istituto di Zootecnica e Nutrizione Animale – Bologna – Italy. Disponible en : <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/s20/C1010926.pdf> [Consultado 9 de abril de 2006]
- Morfin LL. 1997. Manual de laboratorio de bromatología. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. México. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Murray DL. 2002. Differential body condition and vulnerability to predation in snowshoe hares. *J Anim Ecol* 71:614-625.
- NOM-059-ECOL-2001, NORMA OFICIAL MEXICANA: Protección Ambiental -especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- Lista de especies en riesgo [online]. México, Diario Oficial de la Federación. Disponible en: <http://www.profepa.gob.mx/NR/rdonlyres/84142613-CF26-4223-B7E9-38BE4AEB0C96/1426/NOMECOL0592001.pdf> [Consultado 5 de mayo de 2006].
- Nowak RM. 1999. Walker's mammals of the world. Order Lagomorpha. 6th ed. USA: Johns Hopkins University Press. P 1715-38.
- O'Donoghue M, Krebs CJ. 1992 Effects of supplemental food on snowshoe hare reproduction

- and juvenile growth at a cyclic population peak. *J Anim Ecol* 61:631-641.
- O'Malley B. 2005. Clinical anatomy and physiology of exotic species. structure and function of mammals, birds, reptiles, and amphibians. London, UK: Elsevier Saunders. (en Johnson-Delaney 2006)
- Peña NJM, De Habib PR. 1980. La técnica microhistológica: un método para determinar la composición botánica de la dieta de herbívoros. Venezuela: Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, Departamento de Manejo de Pastizales, Serie Técnico-Científica. Vol I, No. 6, 111p.
- Pessi T, Sütas Y, Marttinen A, Isolauri E. 1998. Probiotics reinforce mucosal degradation of antigens in rats: implications for therapeutic use of probiotics. *J Nutr* 128: 2313-2318.
- Pinheiro V, Mourão JL, Jiménez G. 2007. Influence of Toyocerin® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*) on breeding performance of primiparous rabbit does. *World Rabbit Sci.* 15:179-88.
- Plata PFX, Ricalde VR, Melgoza CLM, Lara BA, Aranda IE, Mendoza MGD. 2004. Un cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y la monensina sódica en el comportamiento productivo de ovinos. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIV(6):* p 522 – 525.
- Poigner J, Szendro Zs, Levai A, Radnai I, Biró-Németh E. 2000. Effect of birth weight and litter size on growth and mortality in rabbits. *World Rabbit Sci* 8:17-22.
- Primack R, Massardo F. 2001. Estrategias de conservación ex situ. En: Primack R, Roiz R, Feinsinger P, Dirzo R, Massardo F, eds. *Fundamentos de conservación biológica, Perspectivas latinoamericanas*. México, D.F.: Fondo de Cultura Económica, p 421-448.
- Primack R, Rozzi R, Dirzo R, Massardo F. 2001. Extinciones. En: Primack R, Roiz R, Feinsinger P, Dirzo R, Massardo F, eds. *Fundamentos de conservación biológica, Perspectivas latinoamericanas*. México, D.F.: Fondo de Cultura Económica, p 133-159.
- Ragland D, Scheneider JL, Amass SF, Hill MA. 2006. Alternatives to use of antimicrobial feed additives in nursery diets: a pilot study. *J. Swine Health Production* 14(2): 82-88.
- Rashwan AA, Marai IFM. 2000. Mortality in young rabbits: a review. *World Rabbit Sci* 8:111-124.
- Raup DM. 1992. Extinction: bad genes and bad luck. Norton, NY. Una clara síntesis sobre el fenómeno de extinción, con énfasis en procesos geológicos. (en Primack et al., 2001)
- Robinson PH, Garrett JE. 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. *J Anim Sci* 77: 988-999.
- Robinson WL, Bolen EG. 1989. *Wildlife ecology and management*. 2a Ed. Macmillan Publishing Company, NY. 574p.
- Robbins CT, Robbins BL. 1979. Fetal and neonatal growth patterns and maternal reproductive effort in ungulates and subungulates. *Am Natural* 114:101-16.
- Ródel HG, Starkloff A, Seltman MW, Prager G, von Holst D. 2008. Causes and predictors of nest mortality in a European rabbit population. *Mamm Biol* doi:10.1016/j.mambio.2008.04.003
- Rojas PM. 1951. Estudio biológico del conejo de los volcanes (género *Romerolagus*) (Mammalia: Lagomorpha) [tesis]. México, D.F.: Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma De México.
- Romero-Almaraz ML, Sánchez-Hernández C, García-Estrada C, Owen RD. 2007. *Mamíferos pequeños. Manual de técnicas de captura, preparación, preservación y estudio* 2da ed. México. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias, Instituto de Biología. 180 p.
- Romero FJ, Velázquez A. 1994. *El conejo zacatuche tan lejos de Dios y tan cerca de la Ciudad de México*. 1a ed. México: Instituto Nacional de Ecología-Consejo Nacional de la Fauna, Ed. Desarrollo Gráfico 63p.
- Rommers J, Meijerhof R. 1998. Effect of group size on performance, bone strength and skin lesions of meat rabbits housed under commercial conditions. *World Rabbit Sci* 6:299-

- Rommers JM, Meijerhof R, Noordhuizen JPTM, Kemp B. 2002. Relationships between body weight at first mating and subsequent body development, feed intake, and reproductive performance of rabbit does. *J Anim Sci* 80:2036-42.
- Rosmini MR, Sequeira GJ, Guerrero-Legarreta I, Marti LE, Dalla-Santina R, Frizzo L, Bonazza JC. 2004. Producción de probióticos para animales de abasto: importancia del uso de la microbiota intestinal indígena. *Rev Mex Ing Quím* 3:181-191.
- Salomón SVM, Contreras MJL, Matzumura PD, Vásquez PCG. 2005. Estimación de la variación genética en el teporingo (*Romerolagus diazi*) en cautiverio. *Vet Mex* 36:119-133.
- Sánchez-Cordero V, Illoldi-Rangel P, Linaje M, Sarkar S, Peterson TA. 2005. Deforestation and extant distributions of Mexican endemic mammals. *Biol Conserv* 126:465-473.
- Sánchez WK, Cheeke PR, Patton NM. 1985. Effect of dietary crude protein level on the reproductive performance and growth of New Zealand white rabbits. *J Anim Sci* 60:1029-39.
- Sauter CB. 1988. Estudio de algunos comportamientos del conejo de los volcanes (*Romerolagus diazi*) en el Zoológico de Chapultepec, México, D.F.: repertorio conductual, aspectos sociales y presupuestos de tiempo. [tesis]. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Schaller GB, Jinchu H, Wenshi P, Jing Z. 1985. The giant panda of Wolong. The University of Chicago Press, EUA. 298p.
- Schrezenmeir J, De Vrese M. 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 73(2): 361-364.
- ShIPLEY LA, Davila TB, Thines NJ, Elias BA. 2006. Nutritional requirements and diet choices of the pygmy rabbit (*Brachylagus idahoensis*): A sagebrush specialist. *J Chem Ecol* 32:2455-74.
- Sparks DR, Malechek JC. 1968. Estimating percentage dry weight in diets using a microscopic technique. *J Range Manag* 21: 264-265.
- Trocino A, Xiccato G, Carraro L, Jimenez G. 2005. Effect of diet supplementation with Toyocerin® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*) on performance and health on growing rabbits. *World Rabbit Sci.* 13:17-28.
- Turner JL, Dritz, PSS, Minton JE. 2001. Review: Alternatives to conventional antimicrobials in swine diets. *Professional Anim Scientist* 17: 217-226.
- Van der Loo W, De Poorter M. 1981. Report on the breeding and behaviour of the volcano rabbit at Antwerp Zoo. En: Myers K, Macinnes K. (comps). C.D. World Lagomorph Conference. Universidad de Guelph, Guelph, Ontario, 983 p.
- Van Soest JP, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74.3583-3597.
- Vavra M, Holeček JL. 1980. Factors influencing microhistological analysis of herbivore diets. *J Range Manag* 33(5): 371-74.
- Velázquez A. 1994. Distribution and population size of *Romerolagus diazi* on El Pelado volcano, México. *J Mamm* 75(3):743-49.
- Velázquez A. 1996. Síntesis de estudios sobre el zacatucho y su hábitat. En: Velázquez A, Romero F, López PJ. eds. *Ecología y conservación del conejo zacatucho y su hábitat*. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica. p 133-144.
- Velázquez A. 1997. (responsable del proyecto: J006): Taller internacional para la conservación de los conejos y liebres mexicanas en peligro de extinción (resumen ejecutivo). Consultado el 15 de octubre de 2006]. (informe del proyecto J006)[online]. México, D.F. Asociación Mexicana para la Conservación de los Lagomorfos Mexicanos. disponible en:

<http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfJ006.pdf>.

- Velázquez A, Cervantes FA, Galindo-Leal G. 1993. The volcano rabbit *Romerolagus diazi* a peculiar lagomorphs. *Lutra* 36:62-9.
- Velázquez A, Romero FJ, León L. 1996a. Fragmentación de hábitat del conejo zacatuche. En: Velázquez A, Romero F, López PJ. Eds. *Ecología y conservación del conejo zacatuche y su hábitat*. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica, p 73-86.
- Velázquez A, Romero FJ, López PJ. 1996b. Amplitud y utilización del hábitat del zacatuche. En: Velázquez A, Romero F, López PJ, Eds. *Ecología y conservación del conejo zacatuche y su hábitat*. México: Universidad Nacional Autónoma de México/Fondo de Cultura Económica. p89-101
- Villamide MJ, Ramos MA 1994. Length of collection period a number o rabbits in digestibility assays. *World Rabbit Sci* 2:29-35
- Wilson EO. 1987. The little things that run the world: the importance and conservation of invertebrates. *Conserv Biol*. 1:344-46
- Zaragoza HC, Ayala OJ, Mendoza MGD. 2001. Uso de *Saccharomyces cerevisiae* y monencina sódica en raciones con distinto nivel de proteína para vaquillas holstein. *Técnica Pecuaria en México* 39: 207-214.

OTRAS REFERENCIAS

- Alltech de México. Yea Sacc 1026. Registro SAGAR A-7569-010. Prolongación Calle 18, No. 218, Col. San Pedro de los Pinos, México, D.F. www.alltech.com.
- Campos-Morales R. 2007. Comparación del peso corporal y la incidencia de mortalidad en el zacatuche en cautiverio: estudio retrospectivo. Zoológico de Chapultepec, Dirección General de Zoológicos de la Ciudad de México. (no publicado)
- MVZ M en C José Antonio Martínez García. Actualmente labora como Profesor e Investigador de en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de la Salud [referido como comunicación personal]

Todas las imágenes por: Rogelio Campos Morales

9. APÉNDICE 1

ENSAYO PARA EL CRIBADO DE HECES EN LA DEFINICION DE GRUPOS DE EDAD PARA LA PRUEBA DE DIGESTIBILIDAD DE ZACATUCHES *Romerolagus diazi* (resumen)

Rogelio Campos Morales Maestría en C. Agropecuarias, UAM-X., 2007

Al momento de realizar los manejos para la somatometría de los zacatuches del Zoológico de Chapultepec, algunos ejemplares (de peso y edad conocida) fueron retenidos temporalmente en jaulas individuales para obtener muestras de heces. Las muestras se secaron (~55 °C/ 24 hrs). El secado es importante pues al deshidratarse las heces pierden volumen y se hacen más resistentes a la manipulación y al cribado, y desde luego se detiene su descomposición. Cada grupo de excretas de origen conocido se pasó por cribas (se probaron 8 diferentes medidas comerciales) para determinar cuáles las retenían mejor y/o cuáles las dejaban pasar.

Se estableció que con el uso de 4 cribas se lograba la mejor separación de los grupos de pelet fecales de diferente origen. Se categorizaron como procedentes de 4 grupos de edad: Adultos (AD, aprox. 5 meses o más, > 450-500 g), Adulto-joven o subadultos (AJ, aprox. 3 a 4.5 meses, 350-450 g), juveniles (JV, aprox. 2 a 3 meses, 200-350 g) y crías (CR, aprox. < 60 días, < 200 g, crías en proceso de destete). Posiblemente el segundo grupo sea el menos confiable pues incluye un alto porcentaje de heces de adultos maduros.

Posteriormente se ensayó el proceso de cribado de las muestras de campo (las colectadas en los albergues con zacatuches de diferentes edades). Determinando la siguiente metodología:

1) Los pellets fecales (secos) son vertidos paulatinamente sobre la criba #1 (5.4 x 6.6 mm), se agita moderadamente para que se retengan solo las heces más grandes. Se repitió el paso anterior cuatro veces pero cada vez agitando con mayor suavidad (al final prácticamente solo dejando caer las heces sobre la criba inmóvil), de tal manera que las heces grandes no pasen la criba al acomodarse en su forma más angosta. Las heces del zacatuche tienen una forma elipsoide por lo que si se acomodan con su eje longitudinal horizontal a la criba son retenidas, pero si se acomodan con el mismo eje perpendicular a la criba (a lo ancho) es más fácil que las pasen. Se observó que las heces de los adultos (y proporcionalmente pasó lo mismo ocurrido en las otras categorías de edad) pueden variar considerablemente en tamaño, pero en general la mayoría tiende a ser de dos tamaños: "muy grandes" ó "grandes" (un porcentaje bajo de heces son más pequeñas y generalmente de forma irregular). Este cribado retiene las heces más grandes de los ejemplares adultos por lo que se consideró una muestra que de manera confiable se podía asociar al grupo de edad. No se estableció si la diferencia de tamaño de heces observada (dentro de un mismo grupo de edad) se asocia a una diferencia en su composición química.

2) Las excretas que pasaron la criba #1, son vertidas con el mismo procedimiento de cinco pases por la criba #2 (3.7 x 4 mm). Se determinó que las heces retenidas en esta criba podían asociarse principalmente a adultos jóvenes. Esta fracción retenida puede contener un alto porcentaje de las heces "grandes" de los adultos, sin embargo se decidió conservarla y clasificarla como de adulto-joven (AJ).

3) Nuevamente, las heces que pasaron la criba anterior ahora son vertidas en la criba #3 (2.7 x 3 mm) con el mismo procedimiento de cinco pases. Se determinó que esta criba retiene las heces de ejemplares juveniles (JV).

4) Finalmente, las heces que pasaron la criba anterior son las más pequeñas y asociadas a los zacatuches crias (CR).

Se considera que se logró una metodología confiable para formar las categorías de edad pero, debido a que es un ensayo breve y con un tamaño de muestra limitado, se recomienda mejorarlo en el futuro.

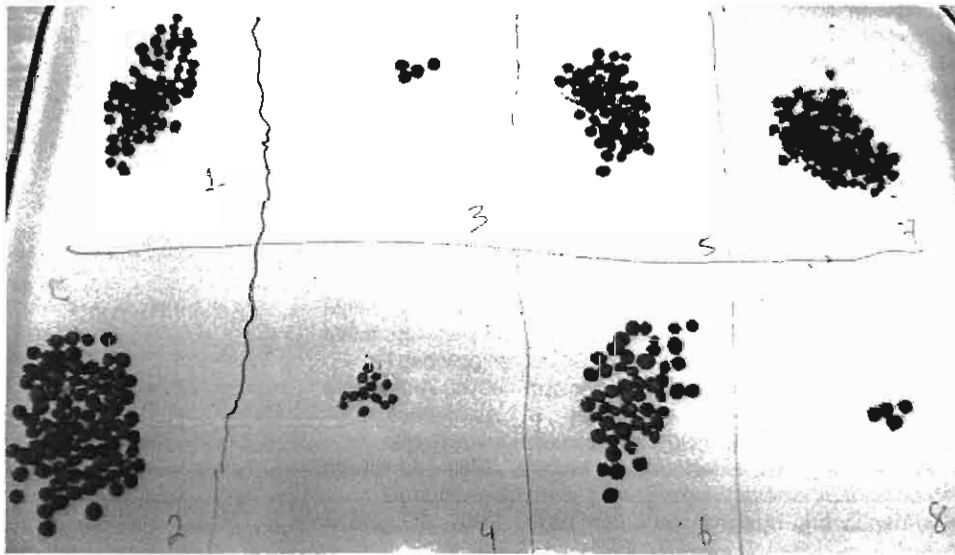


Figura A1.1 Pelet fecales obtenidos de zacatuches de peso-edad conocidos utilizados para determinar los tamaños de criba para asignar los grupos de edad: adulto, adulto-joven, juvenil, cría.

APÉNDICE 2

CURVAS DE CRECIMIENTO ESTIMADAS PARA ZACATUCHES JÓVENES

Las siguientes curvas de crecimiento están basadas en las ecuaciones de la Tabla 5.1.2, su utilidad inmediata es la de poder estimar la edad de zacatuches jóvenes a partir de variables somatométricas como son el peso y las longitudes de oreja, pata trasera o corporal.

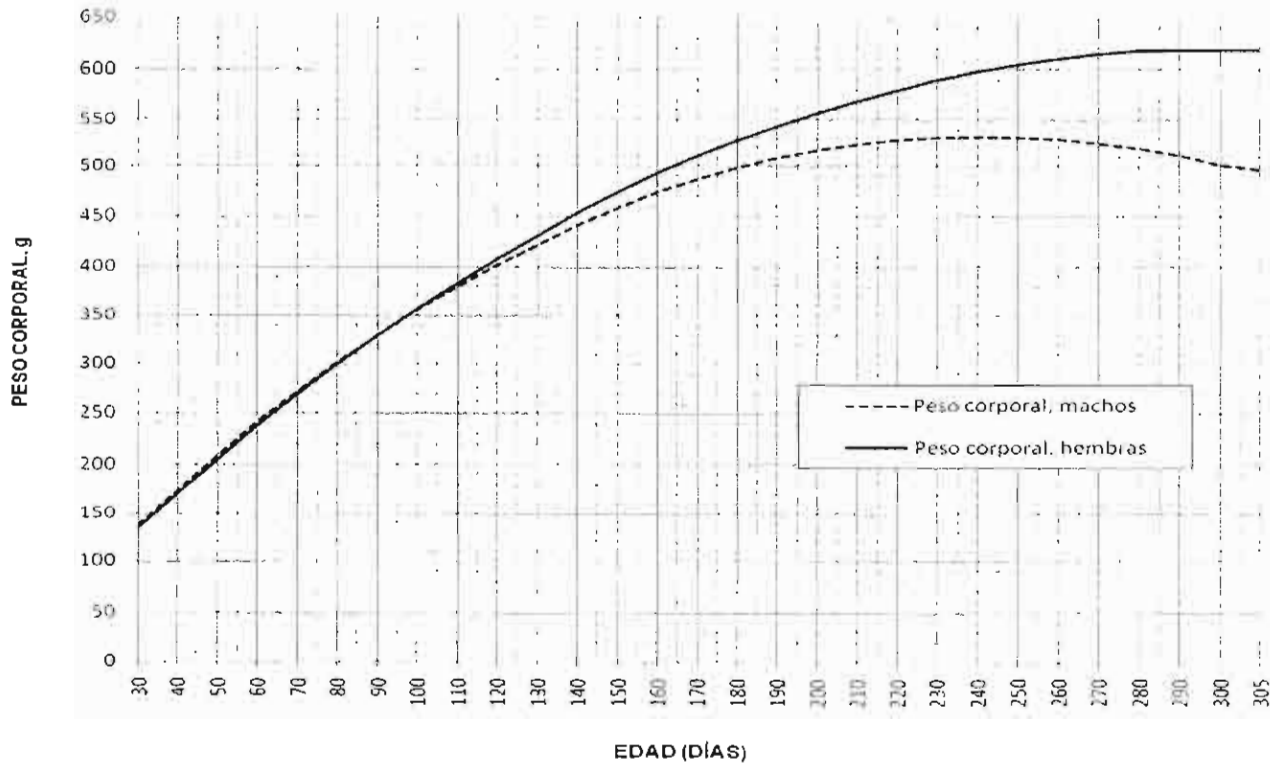


Figura A2.1 Curva de crecimiento para peso corporal: zacatuches entre 30 a 305 días de edad.

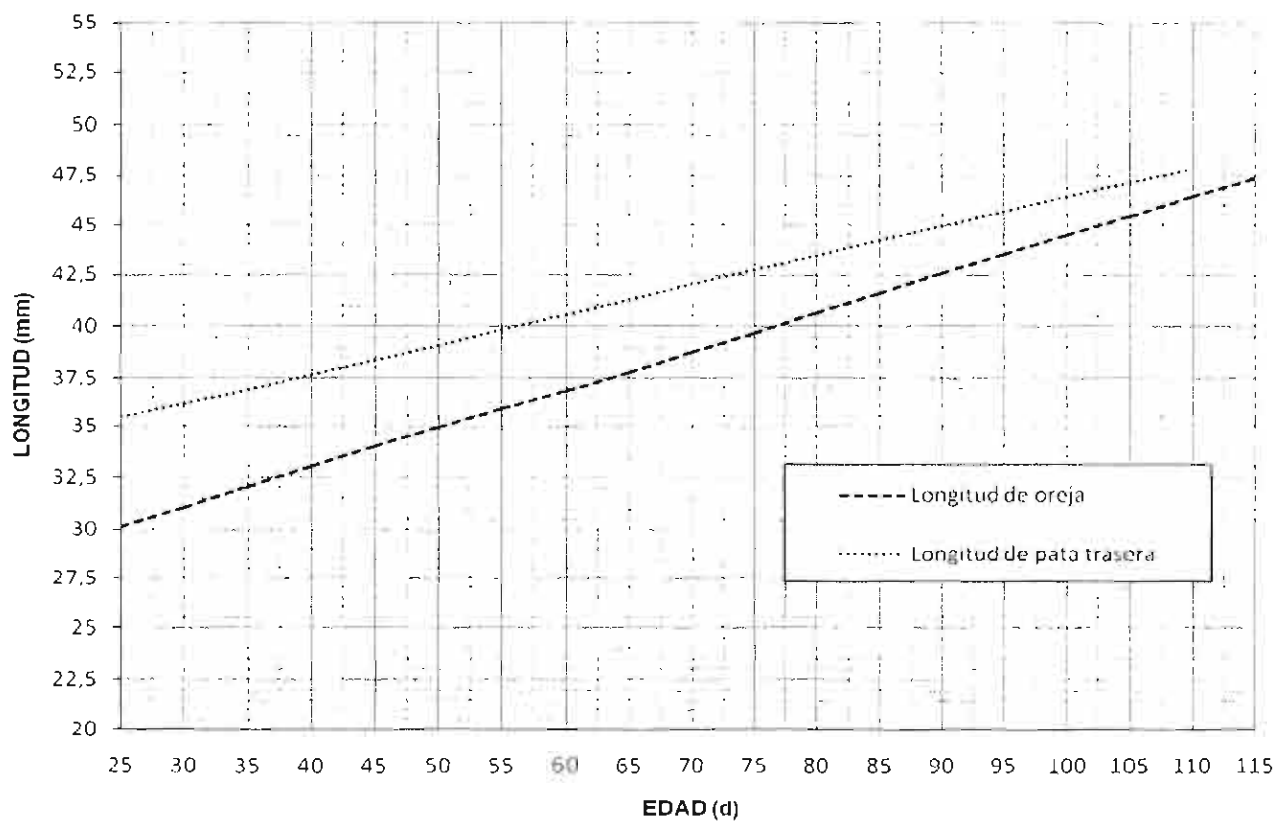


Figura A2.2 Curva de crecimiento para longitud de oreja y longitud de tarso: zacatuches entre 25 a 110 y 115 días de edad, respectivamente.

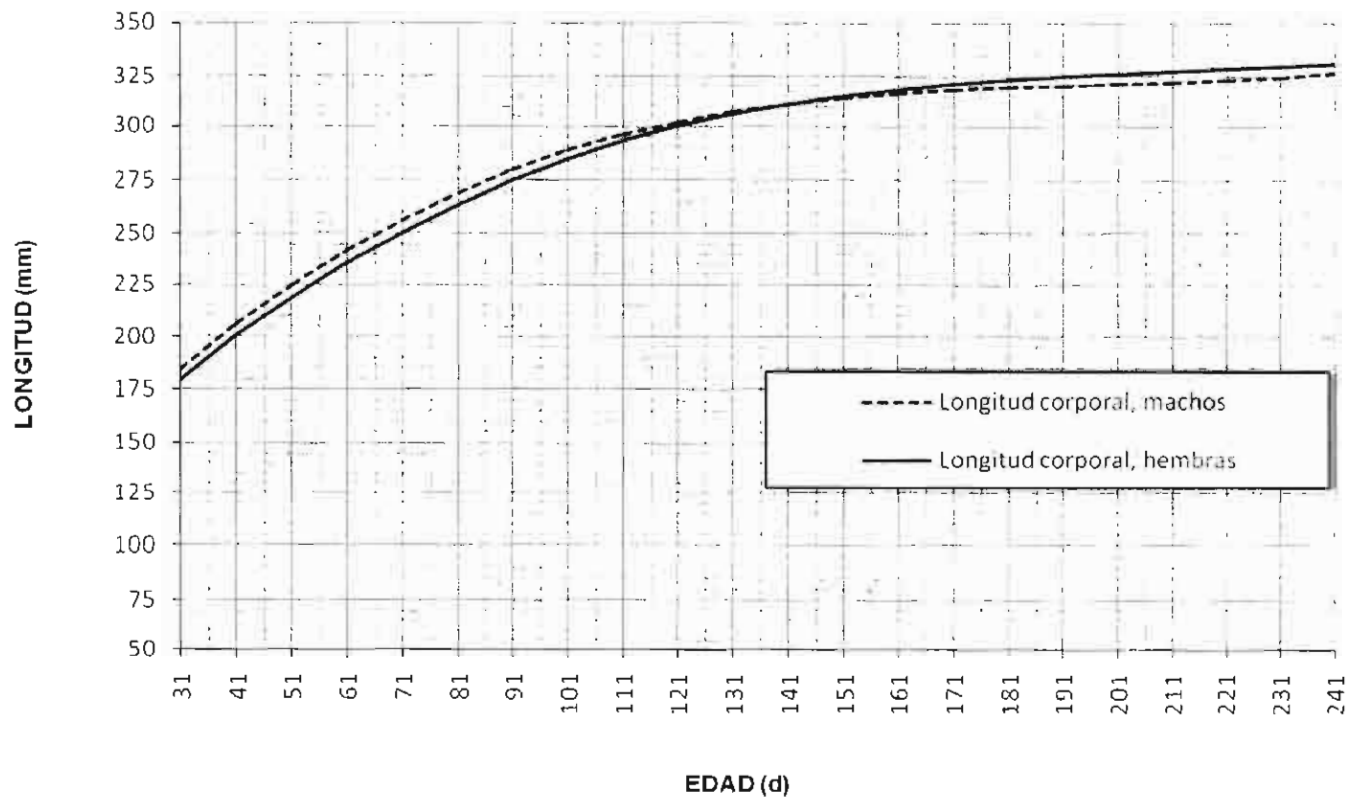


Figura A2.3 Curva de crecimiento para longitud corporal por sexo: zacatuches entre 30 a 241 días de edad.