

N=86
221.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

**ANATOMIA REPRODUCTIVA, CICLO ESTRAL,
GESTACION, LACTANCIA Y ALGUNAS ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS USADAS EN DELFINES NARIZ DE BOTELLA (*Tursiops Truncatus*) EN CAUTIVERIO, ASI COMO BASES PARA EL ESTABLECIMIENTO DE UN PROGRAMA REPRODUCTIVO EN MEXICO**

TRABAJO FINAL ESCRITO

DEL III SEMINARIO DE TITULACION
EN EL AREA DE: ANIMALES
DE ZOOLOGICO

PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P O R

AUTOR: CARLOS RAMON GODINEZ REYES

ASESOR: M.V.Z. JOSE LUIS SOLORZANO VELASCO

MEXICO D. F.

ABRIL 1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

		página.
	Resumen.....	1
Cap.	1 Introducción.....	3
	1.1 Aspectos generales de los delfines.....	4
	1.2 Situación actual en México.....	13
Cap.	2 Anatomía reproductiva de los delfines.....	18
	2.1 Cambios anatómicos.....	18
	2.2 Anatomía del sistema urogenital.....	21
	2.3 Apariencia externa.....	23
	2.4 Anatomía reproductiva del macho.....	24
	2.5 Anatomía reproductiva de la hembra.....	29
Cap.	3 Parámetros reproductivos en los delfines.....	32
Cap.	4 Fisiología reproductiva.....	36
	4.1 Ciclo estral.....	36
	4.1.1 Monitoreo del ciclo estral en la hembra Tursiops truncatus.....	39
	4.1.1.1 En sangre.....	39
	4.1.1.2 En orina.....	52
	4.1.1.3 Por medio de citología vaginal exfoliativa...55	
	4.2 Ciclo reproductivo en el macho Tursiops truncatus.....	64

Cap.	5	Conducta reproductiva en delfines.....	74
	5.1	Interacción sexual y afectiva.....	75
	5.2	Hibridación en delfines.....	79
	5.3	Actividad reproductiva.....	81
Cap	6	Gestación y lactancia.....	83
	6.1	Diagnóstico de gestación.....	84
	6.1.1	Monitoreo de hormonas reproductivas en sangre.....	85
	6.1.2	Ultrasonido.....	86
	6.1.3	Sonografía Doppler.....	89
	6.1.4	Radiografía.....	91
	6.2	Determinación de la viabilidad fetal.....	92
	6.3	Placentación en Tursiops.....	95
	6.4	El parto en delfines.....	98
	6.5	Periodo de lactancia.....	103
	6.6	Algunos problemas que se presentan pre, durante y post-parto.....	105
	6.6.1	Algunos agentes etiológicos reportados.....	106
Cap.	7	Otras estrategias usadas en la crianza de delfines en cautiverio.....	110
	7.1	Inducción de la ovulación.....	111
	7.2	Inseminación Artificial (IA).....	113
	7.2.1	Técnica de Inseminación Artificial.....	115
	7.2.2	Evaluación de la Inseminación Artificial....	117

	7.3	Colección y almacenamiento de sémen.....	118
	7.4	Evaluación del sémen.....	120
Cap.	8	Conclusiones.....	121
		Literatura citada.....	125

RESUMEN

GODINEZ REYES CARLOS RAMON. "ANATOMIA REPRODUCTIVA, CICLO ESTRAL, GESTACION, LACTANCIA Y ALGUNAS ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS USADAS CON DELFINES NARIZ DE BOTELLA (*Tursiops truncatus*) EN CAUTIVERIO, ASI COMO BASES PARA EL ESTABLECIMIENTO DE UN PROGRAMA REPRODUCTIVO EN MEXICO: ESTUDIO RECAPITULATIVO": III SEMINARIO DE TITULACION EN EL AREA DE ANIMALES DE ZOOLOGICO (Bajo la supervisión del MVZ José Luis Solórzano Velasco).

El presente trabajo es un estudio recapitulativo de algunos de los aspectos más relevantes en la reproducción de delfines en cautiverio, para poder establecer un programa reproductivo en los diferentes delfinarios de nuestro país. Para ello se ha consultado la base de datos de Compact Cambridge: ASFA 1982 - Dec. 1990, los abstracts de ASFA desde 1970, los INDEX VETERINARIUS de 1970 a 1992, así como las referencias bibliográficas que aparecieron en los trabajos consultados. Además se consultó personalmente a algunos de los principales autores de investigaciones relacionadas con reproducción de delfines en NOSC (Naval Ocean Systems Center) en San Diego, CA, los parques marinos Sea World tanto de San Diego CA, como de San Antonio TX, y la San Diego Zoological Society (USA), los cuales nos proporcionaron copias de sus más recientes investigaciones. También se consultó la base de datos existente en la biblioteca de Mastozoología de la Universidad de Santa Cruz en California (USA), y se fotocopiaron los artículos allí encontrados. Se realizaron prácticas de obtención de frotis vaginales, así como diferentes manejos con

los delfines existentes en cautiverio en nuestro país, a cargo del MVZ José Luis Solórzano, principal especialista en delfines en cautiverio de México, además de facilitarnos el acceso a su biblioteca particular. En base a toda la información obtenida se recalca la importancia de iniciar un programa reproductivo con todos los delfines que se tienen en cautiverio en nuestro país, enfatizando la necesidad de adiestrarlos para que le permitan al entrenador y al MVZ obtener muestras sanguíneas y frotis vaginales sin necesidad de sacar a los animales del agua con red, para que, teniendo un monitoreo preciso de el estado reproductivo en el que se encuentran, se pueda instaurar un programa de crianza de delfines en cautiverio en México.

CAPITULO 1. Introducción:

No es mucho lo que se conoce acerca de la anatomía y fisiología reproductivas de los delfines. La mayoría de lo que actualmente sabemos sobre la reproducción de los cetáceos en general proviene de aquéllas especies que en el pasado tenían un alto valor económico y comercial. La información fue obtenida mediante la recolección de órganos de éstos animales por investigadores emplazados en las estaciones balleneras, en barcos o en museos. No fue hasta que en 1938, con la apertura del primer delfinario en Florida, se logró mantener con éxito algunos ejemplares de delfines, iniciándose con ello el estudio sistemático de la anatomía y fisiología reproductivas de estos animales (8 y 58).

Dada la importancia que en los últimos años han adquirido las colonias de delfines en cautiverio en todo el mundo, la Comisión de Mamíferos Marinos financió un taller de Crianza de Delfines en el Zoológico de San Diego en diciembre de 1975, en apoyo del Acta de Protección de los Mamíferos Marinos de 1972. La crianza de Delfines en cautiverio, que nos ayuda a conocer las necesidades de estos animales para la investigación, exhibición y educación del público, es uno de los significados de protección y conservación. Además un mejor entendimiento de la fisiología reproductiva y la etología de estas especies, esencial para una crianza exitosa, proveerá información

biológica básica, utilizable para un entendimiento de su reproducción en vida libre (Foto #1) (8, 33 y 50).

1.1 Aspectos generales de los delfines.

Los delfines pertenecen al Orden de los Cetáceos, que incluye a todas la ballenas. Este gran orden es a su vez dividido en tres subórdenes: las ballenas dentadas u Odontocetos (orcas, belugas, delfines y marsopas), las ballenas verdaderas o Mysticetos (ballenas azules, grises, jorobadas, rorcuales, etc..) y las antiguas ballenas extintas en el Oligoceno, hace cerca de 30 millones de años, los Archaeocetos (15).

El origen de los cetáceos es aún incierto. Muchos aspectos de la anatomía de los cetáceos son obvias adaptaciones para la vida acuática, y son muy poco indicativas acerca de sus ancestros, sin embargo estudios bioquímicos y genéticos sugieren que los cetáceos se relacionan con los ungulados. Esta relación es también soportada por hallazgos fósiles que datan de hace 50 millones de años. Por lo tanto, es en los mamíferos terrestres de esta edad o más antiguos en donde debemos de buscar los ancestros de los cetáceos. El más parecido grupo ancestral es el Mesonychidae, una familia de primitivos ungulados terrestres que vivieron en América del Norte, Europa y Asia. Los Mesonychidos podían tener desde el tamaño de un perro pequeño hasta el tamaño de los grandes osos. Los cetáceos probablemente evolucionaron de las formas pequeñas ya que las



Foto # 1. Delfín nariz de botella (Tursiops truncatus) dando espectáculo en el parque marino "CICI" de Acapulco, Gro. México.

radiaciones mas evolucionadas han iniciado de formas pequeñas, más que de grandes ancestros. Los Mesonychidos incluían animales con bastantes dientes simples, posible adaptación para comer peces, al igual que los grandes carnívoros (como los osos polares, etc..). Se puede especular que alguno de estos animales que se alimentaban de peces, llegó a adaptarse a obtener su alimento abundantemente en aguas poco profundas alrededor del Tethys - el gran mar que una vez se extendió desde el este del Mediterráneo actual hacia mas allá de India- y rápidamente tomó una vida anfibia. (Los estadios tempranos de una radiación evolutiva parecen ser rápidos cuando los animales se mueven a nichos previamente desocupados). Inicialmente el animal debió haber sido como una nutria o un lobo marino en hábitos, utilizando sus cuatro miembros para moverse dentro del agua. La cola probablemente se adaptó para realizar rápidos movimientos verticales, pero no se sabe como el final de la cola de los mesonychidos llegó a aplanarse. Ya que los primeros cetáceos probablemente se alimentaron en tierra por muchos millones de años, hubo probablemente rápidos cambios fisiológicos para la vida en el agua, por ejemplo, ojos y ríñones se adaptaron a un diferente balance electrolítico (para la vida marina), pérdida de pelo, desarrollo de una capa de aislamiento debajo de la piel, habilidad para escuchar bajo el agua (hasta la ballena más primitiva, el *Pakicetus*, tenía una bulla timpánica que parece haber funcionado para escuchar bajo el agua), pérdida de extremidades posteriores, adaptación de la circulación sanguínea cerebral para un medio acuático de

grandes profundidades y desarrollo de tapones nasales para cerrar los orificios nasales durante el buceo. Todas estas mutaciones y adaptaciones fueron favorables para poder habituarse a un medio extraño (15).

Quizás el problema más serio al que se enfrentaron las primeras ballenas que colonizaron el mar fue que entraban a un medio ambiente en donde otros animales tenían, en el curso de muchos millones de años, sistemas sensitivos ya perfeccionados e idealmente adaptados para el medio ambiente marino. Los tiburones en particular tenían un altamente desarrollado sentido del "olfato" bajo el agua, así como un bien desarrollado sentido para la detección de sonidos, por consiguiente ellos indudablemente debieron ser los depredadores más exitosos. Para las primeras ballenas, el tiburón debió haber sido la mayor amenaza tanto como depredador como compitiendo por el alimento. Las ballenas verdaderas (Mysticetos) resolvieron el problema en gran parte, creciendo hasta alcanzar tallas enormes y alimentándose de grandes cantidades de plancton. Para las ballenas dentadas (Odontocetos) fue diferente. Si iban a competir exitosamente con los tiburones en los océanos del mundo, tenían que desarrollar una nueva facultad sensitiva que equiparara aquella de los tiburones. Los Odontocetos desarrollaron entonces un sistema sensorial único hace millones de años basado en el sonido, permitiéndoles atrapar su alimento en las oscuras profundidades del océano y competir exitosamente con los

tiburones en su propio medio ambiente. Prácticamente aprendieron a "ver con sus oídos" (39).

La comunicación sonar en el agua es tanto efectiva como eficiente y es usada por las ballenas dentadas como la base de una de las más avanzadas facultades sensoriales que se conocen actualmente: La ecolocación (6, 25, 35, 39 y 44).

La ecolocación involucra un proceso activo de emisión de sonidos en forma de pulsos (clics) y obtención de información del medio ambiente que lo rodea por el análisis de los ecos que regresan al emisor después de rebotar en algún objeto. Ecolocación altamente precisa, usando un ancho de banda para emisiones de sonido tanto de baja como de alta frecuencia, aunado a un muy sensible oído direccional, le ha dado a las ballenas dentadas un sistema sensorial único que le permite sobrevivir dentro del agua (6, 25, 35, 39 y 44).

Cuando nosotros miramos un objeto, lo que estamos viendo es la luz que este refleja. Cuando los Odontocetos "ven" un objeto con su sistema de ecolocación, están escuchando los sonidos reflejados de sus clics de ecolocación. Las ondas de sonido llevan mas información que la luz. Esto es debido a que el sonido tiene una mas compleja interacción con el medio ambiente. Mientras que la luz nos puede dar patrones de color por absorción selectiva de ciertas longitudes de onda, el sonido por un proceso similar nos puede dar una imagen

tridimensional. El material del objeto al que es dirigido el sonido, su estructura interna y su textura se llegan a combinar para producir un eco específico. No es sino hasta años recientes que el ser humano ha valorado lo poderoso de esta técnica sensorial y como resultado las exploraciones con ultrasonido están reemplazando a los rayos-X en la exámenes médicos de estructuras internas humanas (39).

A pesar de que varias especies de ballenas dentadas han desarrollado sus propias facultades acústicas por separado, se cree que todas se basan en el mismo principio y todas involucran cambios anatómicos importantes en la estructura básica de la cabeza del animal (39).

Todas las ballenas dentadas examinadas, contenían grandes depósitos de grasa en la cabeza y en la mandíbula inferior. Dichos depósitos son únicos en el reino animal y son importantes por un número de razones. En primer lugar son grandes en relación al tamaño del animal y representan un almacén inmenso de energía metabólica potencial, sin embargo no parecen ser utilizados como fuente de energía. En segundo lugar, la composición química de estos depósitos es marcadamente diferente de la grasa corporal normal del animal y de la grasa que este obtiene en su dieta regular. En tercer lugar, la forma y posición de los depósitos han sido muy importantes, aparentemente, en cambios mayores en la forma y estructura del cráneo (39).

Estos grandes depósitos de grasa se encuentran localizados al frente del cráneo. En los cachalotes (Physeter catadon) estos depósitos son enormes, llegando a pesar algunas toneladas (por ello se les conoce en algunos lugares como ballenas de esperma, ya que a dicha grasa los balleneros le llamaban esperma, un aceite muy fino por el que eran muy buscadas y cazadas). La mayoría de las otras ballenas dentadas tienen un órgano similar más pequeño al que se le conoce con el nombre de melón. El otro depósito de grasa, en la mandíbula inferior, se encuentra estratégicamente detrás de un área en donde la mandíbula es muy delgada. Este depósito es similar en composición al melón, y se extiende hasta la región del oído medio, ayudando aparentemente a la ecolocación. El proceso se cree que funciona de la siguiente manera:

1. El sonido es producido internamente por el animal. Se ha comprobado que Tursiops, Delphinapterus, Delphinus, Phocoena y Stenella cuando menos, producen el sonido no en la laringe sino en el sistema nasal, un sistema de sáculos que se encuentran cercanos al respiráculo y que se llenan de aire.
2. El melón, órgano de grasa de la cabeza enfoca este sonido en un haz direccional.
3. Los ecos reflejados que contienen la información acerca de los objetivos es recibida en el área de la "ventana acústica" de la mandíbula inferior. La mandíbula inferior en los odontocetos es hueca, funcionando como una especie de caja de resonancia.

4. Este sonido es transmitido por el órgano de grasa de la mandíbula inferior al oído medio y posteriormente al cerebro para su procesamiento e interpretación.

Existen otros dos cambios estructurales en la cabeza de las ballenas dentadas que se piensa que están unidas al desarrollo de la facultad acústica. El primero es el reducido número de dientes funcionales, comparado con sus más cercanos ancestros. En casi todos los odontocetos, los dientes son indiferenciados y de la misma forma (homodontos) a lo largo de la mandíbula (Foto #2), en contraste con los dientes diferenciados (heterodontos) de la mayoría de los demás mamíferos. El segundo cambio es el gran tamaño del cerebro de estos cetáceos (39). La ecolocación es un sentido altamente sofisticado que requiere de mucho procesamiento de información. Mucho se ha especulado acerca de la función del gran cerebro de los odontocetos. Estudios hechos con cerebros de delfines muestran que es menos desarrollado que el cerebro humano, pero más desarrollado que el cerebro de otros mamíferos altamente encefalizados* como el chimpancé (*Pan troglodytes*). Hay quienes afirman que gran parte del cerebro de las ballenas dentadas se involucra únicamente en el almacenamiento, procesamiento e interpretación de toda la información acústica que continuamente le llega de su entorno (5).

* Se han hecho algunos intentos por medir la extensión relativa del desarrollo cerebral entre animales, y el término "encefalización" se ha usado para hacer referencia a un índice o grado de desarrollo cerebral.



Foto # 2. Keiko (Orcinus orca), Silver y Lulú (Tursiops truncatus macho y hembra), en el parque recreativo "Reino Aventura", México, D.F.

El tamaño del cerebro en cetáceos puede no significar lo mismo que representa en mamíferos terrestres como lo es en primates o seres humanos. Una explicación de porqué el cerebro de los delfines es tan grande, y si este es funcionalmente primitivo o no, no se tiene en la actualidad. El ganador del Premio Nobel, Francis Crick (quien contribuyó enormemente en el descubrimiento de la molécula de doble hélice DNA), ha relacionado el tamaño del cerebro en mamíferos a su rango metabólico, y a si presentan o no sueños o fases REM (movimientos rápidos de los ojos) al dormir. El observó que en aquellos mamíferos en los que los sueños al dormir están

ausentes o son mínimos (en los que se encuentran tanto delfines o ballenas), tienen grandes cerebros, y propone que sus cerebros pueden ser grandes porque requieren de una muy grande área de almacenamiento para asociaciones no deseadas que en otros mamíferos pueden ser eliminadas durante los sueños. Como muchas otras teorías acerca de la función del cerebro de los delfines y las ballenas, esta es sólo una hipótesis que tal vez tarde mucho tiempo en poderse comprobar o deshechar (Foto # 3) (5).

1.2 Situación actual en México.

En México los delfines han adquirido particular importancia en años recientes, debido a que algunas especies, sobre todo del género *Stenella*, se han asociado a cardúmenes de atún y han quedado sujetos a una significativa mortalidad anual, como resultado del uso de redes de cerco. Para el Dr. Bernardo Villa, investigador emérito del Instituto de Biología de la U.N.A.M., la asociación de delfines con cardúmenes de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental, aún no ha sido completamente aclarada por la ciencia. Sin embargo, existen algunos estudios, como los realizados por Juan Pablo Gallo Reynoso en el Golfo de California, que sugieren que los peces que le sirven de alimento a ambas especies forman una bola compacta para protegerse, a la que los atunes no pueden penetrar. Los delfines, de acuerdo a esta teoría, se mueven



Foto # 3. Investigadora de la Universidad de Santa Cruz, en California (USA), realiza pruebas de ecolocación con uno de los delfines nariz de botella que poseen allí.

directamente al centro de la bola y dispersan los peces que de esta manera quedan a disposición de los tñidos.

Aprovechando dicha asociación, los barcos atuneros localizan las manadas de delfines, tendiendo un cerco con redes larguísimas a su alrededor, para pescar los cardúmenes de atún que nadan debajo de ellos. Esto hace que dentro del cerco queden algunos delfines atrapados que no puedan escapar y mueran ahogados.

Prosiguiendo el esfuerzo iniciado hace varios años con la finalidad de proteger al delfín y mejorar las artes de la pesca del atún, el gobierno mexicano elaboró un programa especial que entró en vigor en 1991; posteriormente lo transformó en una serie de medidas prácticas para conformar el Código de Ensenada. Algunos de los diez puntos de dicho código son:

Punto 2. Enviar al Congreso de la Unión una iniciativa para incluir en la Ley de Pesca elementos más rigurosos que sancionen, incluso con la privación de la libertad, a quienes realicen actos que atenten contra la ecología y la protección de las especies. El 30 de diciembre de 1991, el diario oficial publicó el Decreto que adiciona el artículo 254 bis al Código Penal para el D.F. en materia del fuero federal. En él se indica que "quienes de manera intencional capturen, dañen gravemente o priven de la vida a mamíferos o quelonios marinos, o recolecten o comercialicen en cualquier forma sus productos sin autorización, en su caso, de la autoridad competente, se les impondrá pena de seis meses a tres años de prisión".

Punto 6. El gobierno federal, en coordinación con el estado de Nayarit, se compromete a la construcción de un santuario de delfines con la asesoría de grupos y fundaciones ecologistas mexicanos y extranjeros. Se mencionó explícitamente a la Sociedad Costeau. Más que un santuario será un centro de investigación. Para sentar sus bases, en Punta Mita, Nayarit, se reunieron autoridades del gobierno estatal, Sedue y Sepesca;

también concurrieron grupos ecologistas, miembros de la comunidad pesquera de la zona, así como investigadores de las universidades autónomas de Nayarit y Nuevo León, el Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, campus Guaymas, y la UNAM. Esta última tendrá a su cargo la elaboración del proyecto para lo que será el Centro de Investigaciones y Conservación de Mamíferos Marinos.

Son evidentes los esfuerzos, tanto mundiales como nacionales, para la conservación de las especies. Esta mentalidad también ha llegado a cambiar el antiguo concepto que se tenía de los zoológicos y parques acuáticos de sólo mantener colecciones de fauna silvestre para mostrarlos al público. Hoy en día, los objetivos principales de un parque zoológico son:

- Educación. No tan sólo en el sentido de ampliar los conocimientos de los visitantes, mostrándoles especies de animales que no conocen, e informándoles de sus hábitos alimenticios y algunos de sus aspectos biológicos, sino en el sentido de fomentar la educación ambiental, sobre todo en los niños, inculcándoles un compromiso de protección de los diferentes ecosistemas que existen en el planeta, incluidas todas sus especies de flora y fauna, pues ello redundará en un beneficio directo de toda la humanidad.

- Conservación. Manteniendo dentro de sus instalaciones, especies que se han sido sobreexplotadas y se encuentran en peligro de extinción.

- Reproducción. Implementar programas reproductivos dentro de las instalaciones de los parques zoológicos para tratar de ayudar a la conservación. En particular en aquéllas especies que se encuentran amenazadas de extinción, pues ya hay muy pocos ejemplares en vida libre, para tratar de lograr su reintroducción al medio natural.

El propósito fundamental del presente trabajo es dar a conocer los aspectos más relevantes acerca de la anatomía y fisiología reproductivas de los cetáceos en general y de los delfines nariz de botella Tursiops truncatus en particular, y así poder sentar las bases para el establecimiento de un programa reproductivo que ayude a aumentar la población de delfines en cautiverio en México, sin tener que recurrir a su captura en vida libre, contribuyendo con ello a su protección y conservación.

CAPITULO 2. Anatomía Reproductiva.**2.1 Cambios anatómicos en los delfines.**

La ausencia de miembros posteriores y la reducción asociada de la zona pelviana tiene importantes implicaciones en la forma general del cuerpo de los cetáceos. especialmente en su mitad posterior. Se afirma que en los cetáceos no existe una verdadera demarcación entre el tronco y la cola, ni siquiera en la columna vertebral. El tronco se mezcla gradualmente con la cola o parte posterior del cuerpo, una porción que es más desarrollada que en la mayoría de los mamíferos. En dicha porción posterior la columna vertebral se encuentra envuelta por grandes masas musculares que le proporcionan al animal fuertes movimientos de propulsión. Muchos componentes de dicha masa muscular posterior no pertenecen exclusivamente a la región de la cola sino que se combinan con algunos músculos del tronco. No sólo la forma general del cuerpo de los cetáceos está determinada por estas masas musculares, también lo son muchas estructuras del tronco (Figura #1)(54).

El tamaño de la cavidad abdominal en estos mamíferos está estrictamente ligada a la forma de los músculos de la región de la cola. Generalmente esta cavidad es sorprendentemente pequeña. Cranealmente está limitada por el diafragma, que se encuentra en forma oblicua. Caudalmente se limita, no por los huesos pelvianos, sino por fuertes músculos hypaxiales (54).

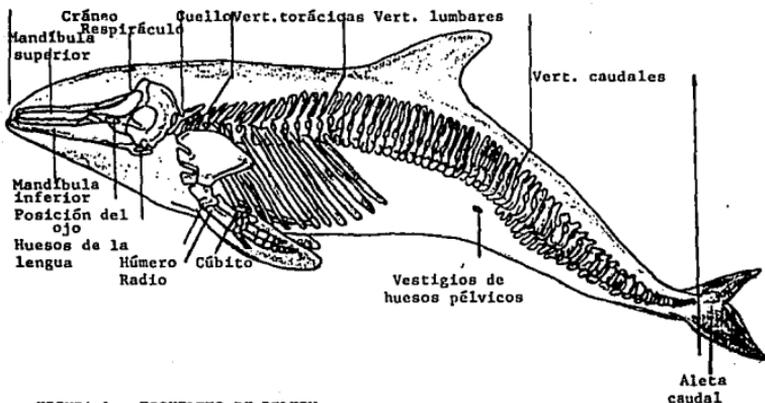


FIGURA 1. ESQUELETO DE DELFIN.

Consideremos en primer lugar las masas musculares que envuelven la cavidad abdominal de los cetáceos. Ventral y lateralmente existen cuatro pares de músculos abdominales, Oblicuo abdominal externo, Oblicuo abdominal interno, transverso abdominal y recto abdominal. En cetáceos estos músculos no tienen como función principal la retención visceral, como en los mamíferos cuadrúpedos terrestres, ya que esa función la realiza la gruesa y fuerte piel que poseen, con sus bien desarrollados músculos cutáneos, asistidos por el agua que los rodea y ejerce una presión sobre ellos. Otro factor que influye en el arreglo

muscular es el muy reducido cinturón pelviano. Existen ciertos músculos abdominales que se extienden más caudalmente que en otros mamíferos y no dejan espacio para la región inguinal, en particular el oblicuo abdominal interno (54).

Dorsal y laterodorsalmente una fuerte masa muscular cubre la parte posterior de la cavidad abdominal; este complejo está compuesto por el músculo hypaxialis lumborum y el músculo flexor caudae que se divide caudalmente en dos partes (Slijper, 1936, 1939) y tiene una función muy importante en los fuertes movimientos que realiza el delfín con la cola para nadar a grandes velocidades. Dicha masa muscular será llamada de aquí en adelante músculo hypaxial. Tiene su origen en los cuerpos y procesos transversos de las vértebras lumbares y en las últimas costillas. Su parte anterior se extiende desde las últimas costillas, sobre la parte dorsolateral de la cavidad abdominal, parcialmente oculto por los músculos abdominales (54).

Ventrocaudalmente la cavidad abdominal está limitada por algunos músculos de la región perineal. En machos el músculo isquiocavernoso es bastante abultado. Cada músculo par proviene del cuerpo del respectivo hueso pelviano de cada lado y se extiende hacia la túnica albugínea del pene. El volumen del músculo puede causar alguna intrusión en la cavidad abdominal. También está bien desarrollado en cetáceos el músculo elevador del ano. En su porción no par craneal que envuelve la parte

terminal de las vísceras y de esa manera limita la porción más posterior de la cavidad abdominal (54).

El espacio disponible en la parte posterior de la cavidad abdominal (pos-umbilical) está ocupada por dos grandes ríñones, la parte terminal de los intestinos, la vejiga urinaria y, ya sean los testículos, sus ductos y estructuras uretrales, o los dos grandes cuernos uterinos, los tubos uterinos y los ovarios, el cuerpo del útero, la vagina y las estructuras uretrales. Pliegues peritoneales fijan esos órganos a la pared abdominal. En hembras los anchos ligamentos del útero y el útero mismo, dividen la parte posterior de la cavidad abdominal en compartimentos definidos. En machos muchos órganos están ubicados en pliegues peritoneales, siendo de particular interés un par de bolsas formadas por dichos pliegues en donde se encuentran los testículos. Los testículos de los cetáceos son normalmente elongado y su volumen varía radicalmente con la edad y la actividad sexual (54).

2.2 Anatomía del sistema urogenital.

Los ríñones de los cetáceos están localizados sobre la pared dorsal de la cavidad abdominal, laterales a las vértebras lumbares. Son mantenidos en su lugar por el peritoneo que es reflejado desde la pared dorsal del cuerpo para formar el

mesenterio longitudinal medial, que soporta el intestino distal (23).

Los dos riñones son aproximadamente iguales en tamaño y mantienen la forma de frijol característica de la mayoría de los mamíferos. El riñón izquierdo es normalmente más caudal que el derecho (23).

Los riñones son completamente lobulados, debido a que están divididos en pequeñas unidades o rículos. Cada lóbulo contiene su propia corteza, médula, pelvicilla, calyx e irrigación. Cada cuatro a cinco lóbulos comparten un ducto común que desemboca al uréter proximal (23).

Los vasos sanguíneos renales se conectan al riñón sobre la superficie medial, cerca del polo craneal, no mostrando depresión o hileo presentes. Cada uréter sale de la parte posterior de su riñón caudalmente hacia la vejiga urinaria. Los uréteres corren entre el peritoneo y la fascia que cubre los músculos lumbares dorsales. Antes de llegar a la vejiga urinaria, cada uréter pasa ventral a la arteria hipogástrica. Los uréteres pasan entonces a través de las paredes laterales de la vejiga, abriendo hacia la cavidad a corta distancia anterior de la salida del órgano (23).

La vejiga urinaria se localiza medioventralmente en la cavidad pelviana. La superficie dorsal es cubierta con peritoneo, que

se extiende para formar débiles ligamentos de los márgenes apical y lateral. La superficie ventral del polo caudal de la vejiga descansa sobre una membrana fibrosa que se extiende entre los huesos pelvianos (23).

El uraco obliterado persiste como una estructura cilíndrica, con forma de cordón, que se proyecta hacia delante de el apéndice (ápex) de la vejiga a unos pocos centímetros hacia el ombligo (Figura #3) (23).

2.3 Apariencia externa.

Durante su adaptación para la vida en el agua, los cetáceos en general han adquirido una forma corporal particular, que ha involucrado cambios en la apariencia de sus órganos genitales internos. En general es difícil distinguir entre macho y hembra en delfines nariz de botella, debido a que no presentan caracteres sexuales secundarios marcados. En el macho el pene se encuentra dentro de un prepucio, excepto cuando está erecto, cuya abertura es una hendidura (hendidura genital), similar en apariencia a la abertura genital o vulva de la hembra (22 y 23).

La única diferencia aparente entre sexos es la distancia que existe entre el ano y la hendidura genital, en el macho es de aproximadamente 10% de la longitud del cuerpo y en la hembra la

hendidura genital y el ano parecen ser una misma abertura. Aún las glándulas mamarias de la hembra son difíciles de distinguir en delfines. Cada pezón, uno a cada lado de la hendidura genital, son mantenidos dentro de una pequeña hendidura mamaria, que a menudo es difícil de ver. El pezón protruye únicamente durante el amamantamiento, y la glándula en sí se encuentra bajo la gruesa piel del delfín, siendo sólo aparente en algunas hembras en lactación (Figura #2)(4, 8, 18, 19, 35, 43, 50, 54 y 58).

2.4 Anatomía reproductiva del macho.

En el macho, la uretra pasa posteriormente a una corta distancia antes de atravesar la glándula prostática. Los elongados y cilíndricos testículos son intrabdominales de por vida, y se encuentran fijos a la pared dorsal de la cavidad abdominal, lateral y caudales a los riñones (18 y 19).

La túnica vaginal es de color blanco grisáceo y, además de cubrir los testículos, cubre también gran parte del epididimo. La túnica albugínea es una membrana gruesa y resistente. Aparentemente no existe cavidad de la túnica vaginal estando las dos membranas fusionadas (18 y 19).

Cuando se remueve la túnica vaginal, se ve que el órgano está formado por lóbulos de forma irregular, cada uno dividido por

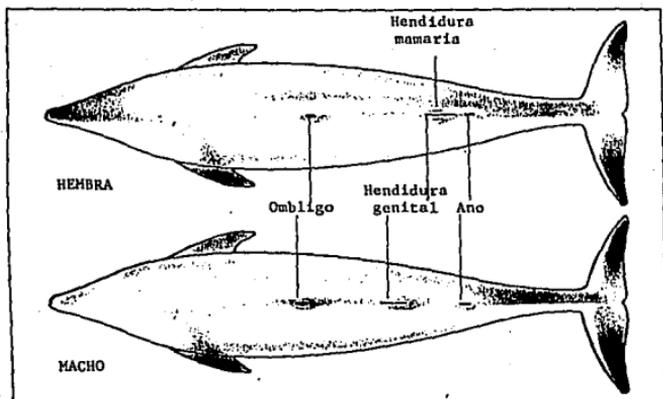


FIGURA 2. Diferencias externas entre delfín hembra y macho.

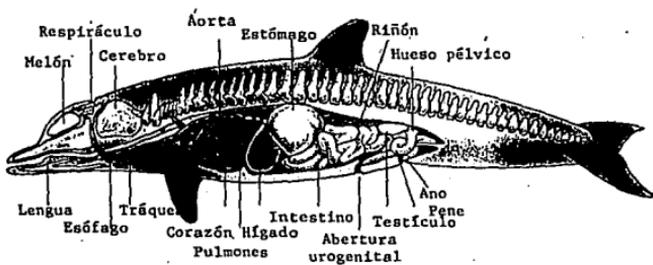


FIGURA 3. Anatomía interna de delfín nariz de botella *Tursiops truncatus*.

delicadas membranas septales. Al parecer no existe un mediastino testicular diferente, pero numerosos pequeños canales en el septum forman una rete testis. Estos canales se llegan a unir para formar un corto y aplanado conducto eferente que se introduce en el epidídimo que es extensamente sinuoso. Este órgano se diferencia en cabeza, cuerpo y cola. Distalmente la cola crece para convertirse en el conducto deferente, que también es muy sinuoso. Ping (1926) reportó que los conductos deferentes crecen distalmente en Neophocoena, para formar los ductos eyaculatorios, que entran por separado a la uretra (18 y 19).

Meek (1918) describió otro par de orificios que desembocan en un tubo ciego que descansa entre y a través de la parte distal del conducto deferente. Por su posición este tubo podría ser el útero masculino (sinus pocularis) o bien podría ser el saco medial que Ping (1926) llamó vesícula seminal. En el resto de la literatura sólo se describe como órgano reproductivo accesorio en cetáceos machos, la glándula prostática (18 y 19). El pene en los delfines es fibroelástico, similar al pene de los ruminantes con su origen en la superficie media de los vestigios de huesos pélvicos (50). Los dos brazos se fusionan en un simple cuerpo cavernoso, que se extiende casi hasta el final del pene. Existe también una uretra del cuerpo cavernoso moderadamente desarrollada. No existe os peneana. De la región pélvica el pene corre anteriormente, con su fin distal proyectándose dentro del saco peneal (18 y 19).

La piel que recubre el saco peneal se refleja hacia adelante para cubrir el primer tercio anterior del pene. Esta parte distal es llamada el cono terminal. Cuando el pene está erecto, el recubrimiento invaginado del saco peneal es estirado hacia afuera para cubrir el tercio medio del pene. Inmediatamente posterior al cono terminal, el pene relajado forma una curvatura en forma de "S". Esta curvatura es mantenida en el pene flácido por los músculos retractores del pene, que se originan en la pared rectal anterior y se insertan en la porción ventral del pene inmediatamente atrás del cono terminal. La erección del pene se debe parcialmente a la estructura fibroelástica del órgano, parcialmente a la turgencia causada por la infiltración de sangre en el tejido cavernoso, y parcialmente a la relajación de los músculos retractores del pene (Figura #4) (18 y 19).

Existe un músculo iguocavernoso bien desarrollado que corre desde el hueso pélvico, ventral y medialmente, ligado a la curvatura medial y a la funda del cuerpo cavernoso. El músculo bulbocavernoso, que también se presenta bien desarrollado, rodea la próstata y la base de la uretra del cuerpo cavernoso (18 y 19).

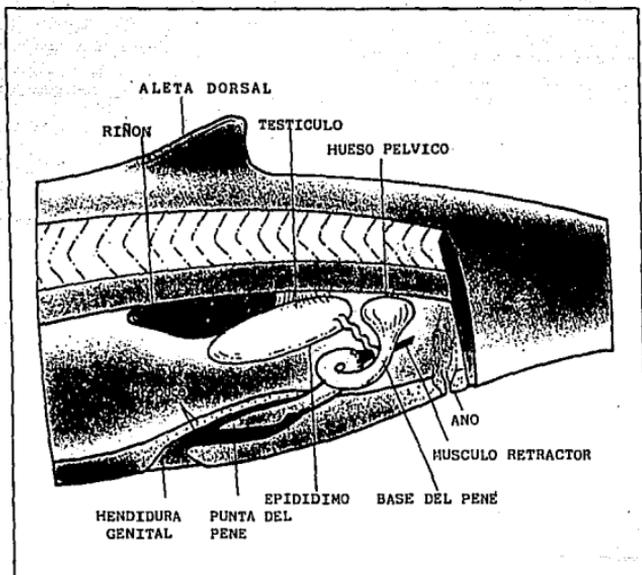


FIGURA 4# Anatomía del Sistema Urogenital del delfín macho.

2.5 Anatomía reproductiva de la hembra.

Los órganos reproductivos externos de la hembra *T. truncatus*, consisten en una vulva en forma de hendidura, con labios menor y mayor. Existe una variación extensa en el grado de desarrollo de los labios vulvares, probablemente como producto de la edad. El clítoris se proyecta posteriormente dentro de la hendidura genital, desde una masa de tejido conectivo fibroso duro. Hay una gruesa túnica albugínea, un cuerpo cavernoso del clítoris, y en algunas especies de delfines, una uretra del cuerpo cavernoso. Los músculos en esta zona son el isquiocavernoso, esfínter vaginal y retractor del clítoris (18 y 19).

Inmediatamente después de pasar el orificio vaginal, la vagina expande completamente su diámetro de 3 a 4 veces el tamaño del orificio. La superficie de la pared vaginal es marcada por numerosos surcos longitudinales y pliegues circulares. Los pliegues son más prominentes anteriormente, mientras que los surcos son más prominentes en la vagina posterior. Existe un surco más profundo que se extiende a lo largo de la pared posterior medioventral de la vagina (18 y 19).

En *Tursiops* existe un gran pliegue de 2 a 3 cm. anterior al final de la vagina. Este pliegue, llamado pseudocérvix, parece realmente el cérvix normal, y fácilmente puede ser confundido con él. La abertura en el pseudocérvix es normalmente aplanada como lo es el pliegue en sí. Existe un espacio llamado cavidad

o descanso espermatecal, formado por la pared posterior del pseudocervix y la cara del cérvix verdadero. En una hembra adulta *Tursiops* esta cavidad puede fácilmente mantener de 6 a 10 ml. de fluido en su interior (18 y 19).

Se ha sugerido que la entrada a la vagina, extremadamente angosta, y el descanso espermatecal, son modificaciones que ayudan a prevenir el lavado de semen en la vagina por agua de mar después de que ha ocurrido la cópula (18 y 19).

El útero es bicornio con cuerpo corto y cuernos uterinos largos. Los cuernos pasan anteriormente por aproximadamente la mitad de su longitud antes de voltear lateralmente, terminando a lo largo de la pared lateral del cuerpo. Los ovarios se localizan inmediatamente posterior y lateralmente a los ríñones, fijados a esa posición por un amplio ligamento. Cada ovario es cubierto parcialmente por un infundíbulo grande y bien desarrollado, que se continúa con el corto y robusto tubo uterino. Existe una fimbria también desarrollada que se proyecta desde la abertura del tubo uterino a lo largo de la pared interna del infundíbulo (Figura #5) (18 y 19).

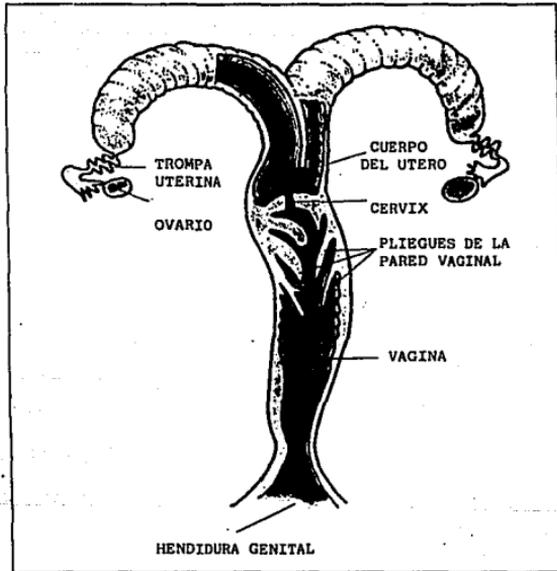


FIGURA 5. Utero de delfín hembra madura.

CAPITULO 3. Parámetros reproductivos en los cetáceos.

En los cetáceos en general, y en los delfines en particular, existe cierta confusión acerca de los parámetros reproductivos que prevalecen para cada especie. Lo anterior es debido a que los primeros intentos por establecer dichos parámetros, se realizaron con estimaciones en base a observaciones de estos animales en vida libre o a la necropsia. A partir de que se mantuvo en cautiverio a ejemplares de estos animales, las observaciones fueron siendo más metódicas a este respecto. Sin embargo, para la gran mayoría de los parques marinos en los primeros años, era más fácil capturar delfines que iniciar un programa de reproducción con sus animales. El Acta de Protección de los Mamíferos Marinos de 1972, y algunos otros cambios particulares de cada parque, hicieron deseable mantener, o al menos mantener parcialmente a la colonia de delfines en cautiverio por medio de la reproducción en el (34).

Los principales parámetros reproductivos son:

Periodo de gestación y rango de crecimiento fetal: La estimación del periodo de gestación es importante para la evaluación y el manejo de la población porque comprende un segmento del intervalo entre partos. Las estimaciones en Tursiops truncatus son por observación directa. Las fechas de concepción y nacimiento fueron observadas en individuos

mantenidos en estanques. El periodo de gestación es de 12 meses (4, 34 y 37).

Tamaño al nacer: Se han reportado diferentes tamaños al nacer tanto en delfines en cautiverio como en estimaciones hechas en vida libre. El promedio aceptado para delfines Tursiops truncatus del Atlántico, que son los que se encuentran en mayor cantidad en los delfinarios, es de 95 a 115 cms. (34, 37 y 41).*

Edad y tamaño al alcanzar la madurez sexual: A pesar que los delfines nariz de botella (Tursiops truncatus) es la especie mejor conocida de los delfines en cautiverio, poco se sabe de su vida libre, incluyendo edad y crecimiento. Colecciones de animales que han sido mantenidas en cautiverio por muchos años, reportando incluso animales nacidos en cautiverio sobre los cuales se tiene completo control sobre su desarrollo, como es el caso de Marineland of Florida y Sea World, han dado la pauta para el mejor conocimiento de la especie. (8, 34, 48 y 53).

Se ha confirmado que una capa de crecimiento que consiste en una zona translúcida y una opaca, se deposita anualmente en la dentina de los dientes de los delfines nariz de botella, permitiendo con ello una determinación confiable de edad, a pesar de que la secuencia estacional de depósito de dentina

*Comunicación personal: MVZ José Luis Solórzano.

aún no está clara. Aunado a esto se ha hecho una comparación de la edad con el tamaño de los animales. La longitud del cuerpo del delfín se ha medido en línea recta de la punta de la boca a la unión de las aletas caudales. (8, 34, 36, 41, 45 53 y 58).

Para la hembras la definición más aceptada de madurez sexual es cuando el animal ha ovulado cuando menos una vez, evidenciado por la presencia de al menos un cuerpo lúteo o cuerpo albicans en los ovarios (a la necropsia). Se asume que las cicatrices de la ovulación (seguida o no de preñez) permanecen visibles en los ovarios indefinidamente.. En machos la cuestión de qué constituye madurez sexual es más compleja. Muchos criterios se han usado en estudios de población. La presencia de espermatozoides en el centro del testículo fué usado por Kasuya, Miyazaki y Dawbin (1974). Miyazaki (1977) definió machos inmaduros, púberes y maduros a aquellos que tuvieran respectivamente, sin espermatozoides, espermatogonias y espermaticitos, y espermatozoides en el centro del testículo. Perrin *et al.* (1976) definió pubertad y madurez basado en la presencia de espermatogénesis en el centro del testículo, rápido cambio en el diámetro de los túbulos seminíferos, y presencia de espermatozoides en el epidídimo. Perrin *et al.* (1977) y Perrin y Henderson (1984) definieron algunos niveles de madurez sexual basados en la presencia de espermatogénesis y una cantidad de esperma en el epidídimo (41).

Se asume , con el uso de presencia de esperma en el epidídimo como criterio de madurez sexual, que el macho produce esperma constantemente. Esto no es válido ya que se ha demostrado que que los machos pueden entrar en una fase de descanso en la que los testículos disminuyen su tamaño y no se encuentra esperma en el epidídimo (41).

El tamaño promedio al que alcanzan la madurez sexual los delfines machos Tursiops truncatus del Atlántico es de 245 a 260 cms. y las hembras de 220 a 235 cms. La edad promedio a la que alcanzan la madurez sexual es de 11 años en los machos y de 12 años en la hembra. El animal de mayor edad reportado como inmaduro es de 20 años en machos y de 14 años en hembras. El animal más joven reportado como maduro es de 12 años en machos y de 9 años en hembras. (8, 41, 45, 48, 50 y 53).

La lactación dura 19 meses en promedio, aunque se han reportado cambios en la conducta de animales en cautiverio que los hacen amamantar hasta más de 30 meses. La edad a la que consumen su primer alimento sólido es de 4 a 11 meses (41).

Intervalo entre partos: También varía conforme a la actitud de los animales en cautiverio. En Marineworld of Florida, el intervalo entre partos naciendo vivas las crías fué de 1.9

años. En promedio el intervalo entre partos para estos animales en cautiverio fue de 3.3 años (34 y 58).

CAPITULO 4. FISILOGIA REPRODUCTIVA.**4.1 Ciclo estral en la hembra Tursiops truncatus.**

Los ovarios en cetáceos y pinnípedos son típicos de los mamíferos, con una región vascular medular y una más grande región cortical, donde ocurre la esteroidogénesis y la gametogénesis. En misticetos o ballenas verdaderas no parece haber diferencia entre el ovario derecho y el izquierdo al ovular, sin embargo en odontocetos o cetáceos con dientes, incluidos los delfines, puede haber una marcada predilección para ovular predominantemente en alguno de ellos. El desarrollo folicular en cetáceos y pinnípedos normalmente resulta en un solo folículo de Graaf que produce una sola ovulación. Sin embargo, cuerpos lúteos (CL) accesorios han sido descritos en la Beluga y el Narval. La presencia de cuerpos lúteos accesorios en otras especies de cetáceos son raros y no existentes en pinnípedo. Los diferentes estadios de regresión del cuerpo lúteo han sido estudiados extensamente, porque esta información permite la estimación de periodos de ovulación para modelar la reproducción en cetáceos. Cuerpos albicans persisten a lo largo de la vida de la hembra de mamíferos marinos y pueden ser contados para determinar los periodos de ovulación de la hembra. El cuerpo lúteo de preñez no puede ser distinguido del cuerpo lúteo de ovulación. Se ha sugerido que la placenta no participa en la esteroidogénesis durante la gestación, ya que el cuerpo

lúteo es activo hasta el final de la misma en todas las especies de mamíferos marinos que han sido estudiados (31).

Actualmente se sabe que la hembra Tursiops truncatus es poliéstrica estacional, presentando ovulación espontánea, en un patrón cíclico sin estimulación por actividad reproductiva. Se presentan ciclos estrales en grupos o colecciones de delfines una o dos veces al año, dependiendo de la localización geográfica, ovulando cada hembra de una a seis veces al año, lo más común observado en hembras T. truncatus en cautiverio es de 2 a tres veces al año (31, 32, 42, 49 y 50).

En México se ha observado un incremento en la actividad reproductiva de los delfines que existen en cautiverio en dos periodos al año, el primero durante los meses de marzo, abril y mediados de mayo y el segundo de julio, agosto y mediados de septiembre.*

A pesar de que no se ha podido determinar con exactitud la duración del estro en esta especie (Ridgway afirma que el ha observado que el periodo de duración aparente de estro en T. truncatus es de 36 hrs.), se ha determinado que el rango de duración del ciclo estral es de 29 a 42 días, pasando el resto del periodo en anestro hasta la presentación del siguiente ciclo (32, 42, y 50).

* MVZ José Luis Solórzano Velasco. Comunicación personal.

Al ser un animal acuático, la hendidura genital de la hembra se encuentra casi todo el tiempo bajo el agua, de esta manera los signos comunes de estro que se observan fácilmente en mamíferos terrestres, se encuentran ausentes o son difíciles de observar en ella. No se han podido relacionar los niveles de progesterona sérica con los signos de estro. Algunos de los signos de estro que se pueden encontrar son: La región ventral cercana a la región genital de la hembra se vuelve más rosa de lo normal, la hembra que está ovulando nada más cerca de lo normal, ya sea de otro macho o hembra del estanque, excesiva interacción táctil entre dos delfines, inflamación de los genitales externos, secreciones vaginales, inapetencia periódica. Cualquiera o todos estos signos puede indicar estro, pero no se han encontrado repetibles las correlaciones objetivas entre estos eventos y los niveles de progesterona sérica, siendo estos últimos los únicos que pueden predecir el estro confiablemente, teniendo el inconveniente de tener que sangrar al animal periódicamente. Sólo por ovulación inducida exógenamente, o por medición de los niveles de estrógenos urinarios, puede el tiempo de la ovulación ser determinado precisamente en delfines (8, 31, 32, 33, 42, 46, 50 y 57)

El inicio y la duración del estro son los componentes más importantes en los sistemas de registro de los programas reproductivos de animales terrestres, ya sea por medio de acceso controlado o Inseminación Artificial. Un monitoreo

semanal de los niveles de progesterona durante el periodo reproductivo de hembras terrestres nos da una excelente estimación del momento de inicio del estro. Actualmente la relación del estro con la ovulación no es muy conocida en delfines, ni siquiera la duración de la receptividad de la hembra al macho (50).

4.1.1 Monitoreo del ciclo estral en la hembra *Tursiops truncatus*.

4.1.1.1 En sangre.

Desde que se sabe que los eventos reproductivos son mediados hormonalmente, un monitoreo de hormonas sexuales circulantes en humanos y otras especies ha aclarado los ciclos ovulatorios. Con el advenimiento de las sensibles y específicas pruebas de radioinmunoanálisis (RIA), se han realizado estudios en delfines en cautiverio, reportándose la valiosa contribución de la medición de niveles de hormonas reproductivas en sangre y en orina, para monitoreo de ovulación y diagnóstico de gestación. (8, 31, 32, 33, 46, 49, 50, 51, 52 y 57).

Anterior a 1975, el manejo hormonal en delfines nariz de botella hembras había sido escaso, con muestreos con un intervalo de 3 a 12 semanas. Richkind (42) reportó datos preliminares en cinco delfines, notando tan sólo que dos

hembras gestantes tenían un más alto nivel de progesterona y estrógenos que las hembras no gestantes, concluyendo que los niveles de progesterona fluctuaban sin consistencia. Sawyer-Steffan y Kirby (46) validaron RIA para delfines y correlacionaron niveles hormonales con funciones reproductivas en delfines nariz de botella en cautiverio, monitoreando niveles por un periodo de dos años. Progesterona basal en plasma y total de estrógenos inmunoreactivos en hembras que no estaban ciclando fue de 0.3 ± 0.03 ng/ml y 20 ± 1 pg/ml, respectivamente. No se observaron variaciones estacionales en esteroides gonadales, con la excepción de lo que al parecer fueron dos picos de progesterona por ovulación. La ovulación no fue probada, sin embargo la gestación puede ser diagnosticada exitosamente por niveles de progesterona sérica. Hembras gestantes tuvieron niveles circulantes de progesterona mayores a 4 ng/ml mantenidos por largos periodos. Los niveles de progesterona durante la gestación fluctuaron entre 4 y 35 ng/ml y el total de estrógenos inmunoreactivos fluctuó entre 23 y 90 pg/ml. Dos hembras ovariectomizadas tuvieron niveles de esteroides gonadales similares a los de hembras intactas, lo que sugiere producción de esteroides adrenales. Pruebas de supresión de dexametasona (de la corteza adrenal) en estos animales demostró que al menos el 50% de los niveles de progesterona basal y de estrógenos pueden ser de origen adrenal: por lo tanto el estrés asociado a los procedimientos de sangrado puede potencialmente elevar las hormonas reproductivas en

hembras. Mientras que estos incrementos hormonales presumiblemente no son relativamente significativos a cambios hormonales asociados al estro u ovulación, los cambios pueden potencialmente causar problemas en las pruebas de RIA en las muestras de las hembras en descanso (que no están ciclando), donde los niveles de progesterona sérica son de menos de 0.4 ng/ml. Judd y Ridgway (29) también sugirieron que el confinamiento en caja para delfines macho, cuando éstos son transportados, es muy estresante, como lo evidencia la elevación en los niveles de andrógenos y progesterona plasmáticos, ellos concluyeron que entrenar a los animales para los procedimientos de colección sanguínea es necesario (12, 17, 29, 31, 32, 33 y 42).

Kirby (31) ha sumariado los datos obtenidos en pruebas de RIA de progesterona para seis especies de cetáceos en cautiverio. Las muestras (n=1025) fueron colectadas de animales en cautiverio en el Sea Life Park, de Hawaii, el Sea World, de California, el Sea World de Australia, el Ocean Park de Hong Kong, en Naval Ocean Systems Center de California y de Hawaii y Marineland of the Pacific de California (31).

Cabe aclarar que Kirby (31) agrupó tres especies de Tursiops, T. truncatus, T. gilli, y T. aduncus, en Tursiops spp. debido a que virtualmente no existían diferencias en sus datos. Hay otros autores, entre ellos, Cornell, L.H., Asper, E.D.,

Antrim, J.E., Searles, S.S., Young, W.G. y Goff, T. (8), que consideran, para efectos de clasificación taxonómica, que la especie es Tursiops truncatus y sus subespecies son Tursiops truncatus gilli y Tursiops truncatus aduncus dependiendo de si son delfines nariz de botella del Atlántico o del Pacífico(8 y 31).

La progesterona plasmática ha sido sumariada por Kirby (31) para las siguientes especies de cetáceos: Tursiops spp., Delphinus delphis, Stenella longirostris, Leagenorhynchus obliquidens, Globicephala macrorhynchus y Orcinus orca. Las muestras fueron colectadas tanto esporádicamente como periódicamente en estudios longitudinales consistentes de una a cuatro muestras al año. Las muestras plasmáticas son clasificadas tanto como basales, de ovulación y de gestación. El criterio en cuanto a niveles de progesterona usado para esta clasificación son:

1. Niveles basales son menores de 1 ng/ml.
2. Niveles de ovulación muestran fluctuaciones episódicas de progesterona mayores a 1 ng/ml.
3. Niveles de progesterona de gestación son mayores de 3 ng/ml (durante periodos largos) con confirmación por nacimiento de crías.

Kirby ha enlistado los niveles basales de progesterona en hembras en anestro. Con excepción de los datos de Yoshioka et

al., virtualmente todas las muestras que revisó y realizó, fueron corridas con el mismo sistema de RIA en San Diego Zoological Society. Todos los niveles de progesterona basal para todas las especies fluctuó de 0.1 a 0.6 ng/ml. No existen diferencias estadísticas entre los niveles basales de cada especie. De 10 delfines nariz de botella muestreados dos veces por semana, 3 estuvieron en anestro por periodos de un año (31).

Eventos ovulatorios han sido observados en todas las especies estudiadas. Los datos de progesterona han sido sumariados con respecto al número de ciclos observados y los máximos niveles de progesterona medidos para cada especie. A pesar de que los niveles de progesterona normalmente no exceden de 20 ng/ml, niveles máximos de progesterona de ovulación son de 34 ng/ml (*Tursiops*) y de 33 ng/ml (*Stenella*). Las fluctuaciones episódicas de progesterona son todas caracterizadas por regresar a los niveles basales (Figura #6) entre 21 a 28 días (31).

Las ovulaciones han sido observadas de marzo a diciembre en delfines nariz de botella. Ya que muchas hembras después de una prueba negativa de gestación en primavera u otoño no fueron sangradas otra vez esa estación, los datos en número de ciclos secuenciales está incompleta. Para 10 delfines nariz de botella monitoreados dos veces a la semana por periodos de uno a cuatro años, el número total de ciclos

No Hay

Hoja

No. 44.

fluctuó de cero a cinco por año. Muchas de estas hembras no estuvieron en contacto directo con delfines machos y pudieron haber tenido más ciclos de los que podrían ser observados en hembras con acceso a machos maduros durante la época de apareamiento. Todas las hembras con cuatro a seis ciclos ovulatorios o no tuvieron contacto directo con machos maduros sexualmente o estuvieron cautivas con machos de otras especies. Normalmente las hembras con acceso a machos durante temporada de apareamiento, quedaban gestantes a la primera o segunda ovulación. En delfines nariz de botella, se notó también que las hembras que ovulaban en primavera no lo hacían en otoño, o viceversa. Las pocas excepciones fueron una hembra lactante que terminó su periodo de lactación demasiado tarde para aparearse en su temporada preferida, y hembras usadas en pruebas de fármacos para la fertilidad sin acceso directo a los delfines macho (31).

En los datos analizados por Kirby, 34 animales fueron diagnosticados como gestantes. Dos delfines nariz de botella y una *Stenella* exhibieron también niveles elevados de progesterona durante un periodo de 3 a 5 meses. Sin embargo ninguno de estos animales fue muestreado posteriormente, así que no pudo ser determinado si estos animales abortaron o tenían cuerpo lúteo ovárico persistente.. Yoshioka *et al.* a documentado "pseudogestación" en una hembra nariz de botella; los niveles de progesterona fueron elevados durante por lo menos cinco meses en 1982 y también en 1984. Delfines hembra

hiperestimuladas con FSH y LH exógenas en pruebas farmacológicas de fertilidad, también han mantenido fases lutéicas largas (31).

En general, una vez que la hembra ha sido diagnosticada como gestante, sus niveles de progesterona no bajan de 5 ng/ml, a pesar que los niveles de progesterona fluctúan durante la gestación (Figura #6). Una excepción fue una Orca con un nivel de progesterona de 3.8 ng/ml 13 días antes del parto. El máximo nivel de progesterona observado durante la gestación fue en un delfín nariz de botella con 58 ng/ml. Existe una diferencia significativa entre niveles de progesterona de ovulación (9.8 ± 2.6 ng/ml.) y de gestación (18.6 ± 3.6 ng/ml). Sin embargo, el rango de niveles de progesterona de gestación se superpone al rango completo de los niveles de progesterona de ovulación (Figura 7), así que la gestación no puede ser diferenciada de la ovulación con la base de un sola muestra. Posiblemente muestras aisladas con niveles de progesterona fluctuando de 40 a 60 ng/ml pudieran ser indicativas de gestación, pero la gestación es mejor diagnosticada por una serie de muestras en un periodo de 6 a 8 semanas. El tiempo exacto de la gestación no puede ser determinado por niveles absolutos de progesterona debido a las fluctuaciones de ésta a lo largo de la gestación. En una extensa revisión de colonias de crianza de delfines nariz de botella en cautiverio, las hembras tuvieron niveles consistentemente bajos de progesterona en su primera

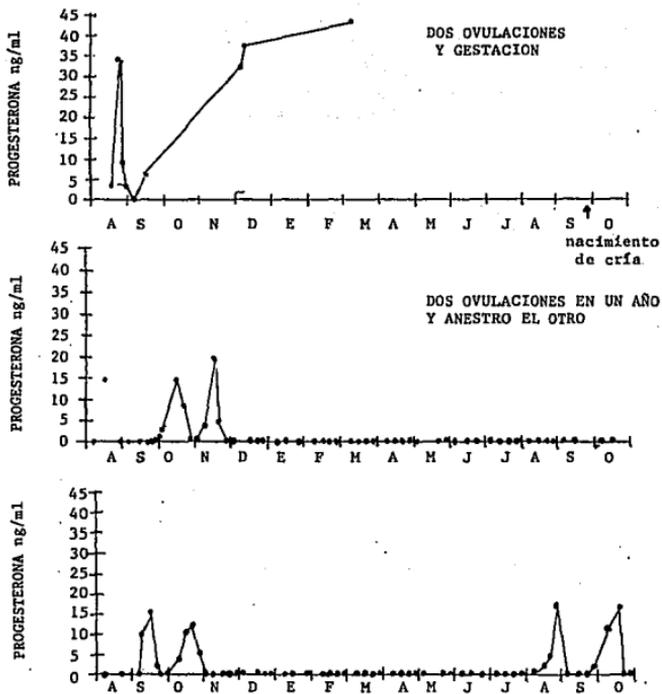


FIGURA 6. Perfiles de progesterona de anestro, ovulación y gestación de delfines nariz de botella sangrados dos veces por semana. Los ciclos estrales variaron de 17 a 28 d, y el periodo de gestación fué entre 344 y 358 d.

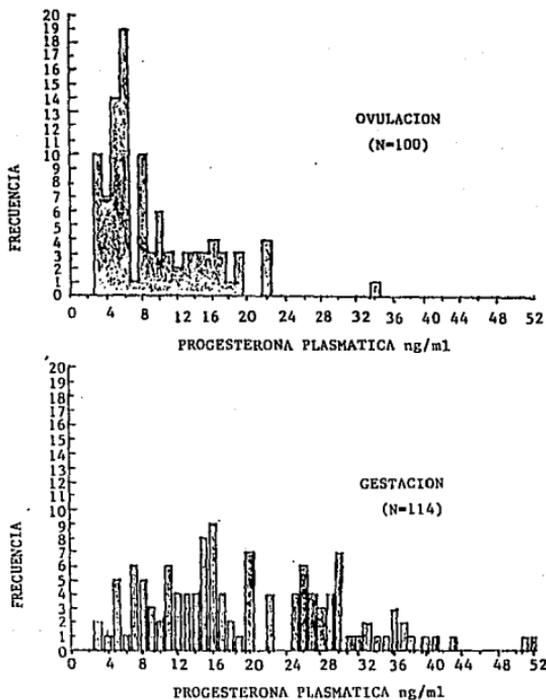


FIGURA 7. Comparación de los niveles de progesterona plasmática entre 64 ovulaciones y 38 gestaciones en delfines nariz de botella del Atlántico. Los valores de gestación incluyen la ovulación en que las hembras fueron preñadas.

gestación en relación a subsecuentes gestaciones; el monitoreo de progesterona durante el último tercio de la gestación es también útil para el monitoreo del estado general del feto. A pesar de que la literatura histológica sugiere que las funciones del cuerpo lúteo permanecen durante toda la gestación, Cornell *et al.* (8) reporta que una disminución en los niveles de progesterona sérica a los cuatro meses de gestación puede ser indicativo de un cambio en la esteroidogénesis del cuerpo lúteo a la placenta. En la figura 3 se sugiere una disminución en los niveles de progesterona cerca del día 240 antes del parto, pero algunos de los niveles de progesterona más altos también ocurren en este momento (8, 31).

Los niveles de estrógenos también han sido reportados para Tursiops y Stenella. Yoshioka *et al.* observaron que los niveles de estradiol (E₂) fluctúan ampliamente en delfines nariz de botella. A pesar de que los niveles basales de anestro no fueron reportados, sólo graficados, parece ser que los niveles de estradiol varían de 20 a 70 pg/ml con dos oleadas preovulatorias de aproximadamente 125 y 200 pg/ml. Sin embargo la mayoría de las oleadas estrogénicas no son seguidas por ovulación, e incrementos periódicos han sido vistos en cada mes del año para las tres hembras. O los eventos foliculares en Tursiops son frecuentes y no necesariamente asociados al estro, o el RIA pudo haber estado

reaccionando cruzadamente con algo más que simple estradiol (31).

En otros estudios con delfines nariz de botella, el total de estrógenos inmunoreactivos varían de 5 a 45 pg/ml. De las 1025 muestras analizadas por Kirby (31), menos de una docena de ciclos estrales fueron observados (55 a 120 pg/ml). Se ha usado también cromatografía para validar el RIA de estrógenos. Estradiol es el estrógeno predominantemente libre (bioactivo) en delfines nariz de botella. También se encuentra presente estrona (E_1), y la proporción de estradiol y estrona es de 10:1 en un delfín hembra en anestro. Subsecuentes análisis de componentes estrogénicos en las hembras estimuladas con FSH exógeno confirman al estradiol como estrógeno predominante. Sin embargo Kirby conjetura que el sulfato de estrona (E_1SO_4) puede ser un indicador de estro más sensible. Comparación de niveles de estrógenos en plasma hidrolizado y no hidrolizado demuestran que los estrógenos conjugados constan principalmente de sulfato de estrona. Anterior a la hidrólisis, la proporción de estradiol y de estrona fue de 10:1. Después de la hidrólisis, la proporción de estradiol a estrona fue de 1:1.5. Desde que el sulfato de estrona es un metabolito del estradiol, los cambios en su concentración deben reflejar cambios en el estro. Sin embargo, sulfato de estrona no ha sido medido en estudios longitudinales en delfines (31).

En México, Solórzano* ha realizado muestreos sanguíneos por venopunción, en casi todas las hembras *T. truncatus* que han requerido ser removidas del agua a partir de julio de 1989, ya sea para transporte o para algún otro tipo de manejo, enviando a analizar las muestras usando RIA a un laboratorio comercial, obteniendo con ello datos de niveles de hormonas reproductivas de estos animales. En la primera maniobra en que se utilizó este tipo de muestreos se obtuvieron los siguientes resultados:

Fecha	Animal	Progesterona	Estradiol
13/06/89	Cometa	1 ng/ml	50 pg/ml
13/06/89	Lucky	1 ng/ml	17 pg/ml
14/06/89	Alfa	1 ng/ml	29 pg/ml

Los niveles, como ya lo mencionamos antes, indican inactividad reproductiva (progesterona 1 ng/ml y 20 ± 1 ng/ml de estradiol), sin embargo se ha comprobado que el estrés provoca un incremento tanto en los niveles de progesterona como en los de estrógenos, ya que una parte de ellos son producidos en las glándulas adrenales (los animales fueron muestreados fuera del agua después de haber sido capturados con red, lo cual es sumamente estresante) (Foto #4) y, por otro lado, las fluctuaciones en dichos niveles llegan a ser tan grandes que una sola muestra no es determinante (salvo excepciones que ya han sido anotadas).

* MVZ José Luis Solórzano Velasco. Comunicación personal.



Foto # 4. Captura con red de Lulú, delfín nariz de botella hembra, en el parque recreativo de Reino Aventura.

4.1.1.2 En orina.

Una de las innovaciones más recientes en el manejo reproductivo de los cetáceos es el análisis de concentraciones urinarias de metabolitos de hormonas esteroides ováricas y FSH bioactiva en Orcinus orca, el mayor de los delfines (Familia Delphinidae) y el carnívoro que se encuentra en la cumbre de la cadena alimenticia marina, durante los ciclos ováricos y la gestación. Walker, et al. (57), reportaron recientemente que la gestación puede ser monitoreada por análisis urinario de glucurónido de

pregnenadiol (PdG) en la orina de las orcas. Se estudiaron perfiles de hormonas reproductivas en seis orcas (killer whales) mantenidas en cautiverio en los acuarios de Sea World por intervalos hasta de dos años. Cada hembra fue entrenada para orinar aproximadamente a la misma hora cada mañana. En respuesta a señales auditivas el animal salía a la superficie, se deslizaba en una plataforma parcialmente sumergida, y giraba hacia uno de sus costados. Los entrenadores presionaban suavemente con la yema de los dedos el área urogenital mientras sostenían un recipiente estéril cerca de la abertura genital. Este procedimiento producía una muestra de orina no contaminada, que era sellada, etiquetada y congelada inmediatamente sin preservativos a -20 grados centígrados, hasta ser evaluada (57).

Las muestras de suero fueron colectadas para evaluación hormonal sobre una base de dos veces al mes. Las muestras sanguíneas fueron colectadas de las venas de la aleta caudal, que eran presentadas a los entrenadores a una orden aproximadamente a la misma hora a la que eran colectadas las muestras de orina. La sangre se dejaba coagular, y los elementos formados eran removidos por centrifugación, y el suero era enviado a un laboratorio comercial para análisis de progesterona, de acuerdo a las políticas oficiales de la administración del parque (31 y 57).

Conjugados de estrona inmunoreactivos, pregnenadiol-3-glucurónido, 20-alfa-hidroxiprogesterona, así como hormona foliculo estimulante (FSH) bioactiva, fueron medidos en muestras de orina e indicadas por concentraciones de creatinina de la misma muestra. En casos selectos, concentraciones de progesterona sérica también fueron medidos (31 y 57).

Tres de los animales en el estudio quedaron gestantes durante el periodo de estudio, y dos de estos animales fueron evaluados durante la concepción y a lo largo de la mayor parte de la gestación. De los datos de los tres animales que quedaron gestantes, perfiles hormonales del ciclo ovárico completo, 1er, 2o y 3er tercios de la gestación fueron descritos. Los tres animales restantes no concibieron y sólo uno de ellos mostró cambios hormonales que indicaban actividad ovárica regular (31 y 57).

El patrón reproductivo de la orca se caracteriza por una gestación de 17 meses y un ciclo ovárico de 6 a 7 semanas de duración. Los cambios hormonales asociados al ciclo ovárico de la orca son similares a los presentados en otras especies de mamíferos. Un patrón bimodal de FSH bioactiva, con un incremento pronunciado de estrógenos, predomina el perfil hormonal preovulatorio. Después de la ovulación, un incremento en la producción de progesterona se observa durante aproximadamente 4 semanas en los ciclos ováricos sin

concepción. Durante la fase lútea y el primer tercio de la gestación, cuando los metabolitos progestagénicos se encuentran elevados, la excreción de los metabolitos estrogénicos permanecen bajos (57).

Estos datos son aplicables para colecciones de orina para estudios longitudinales que abarquen cambios hormonales, particularmente en aquellos que involucren especies no domésticas. Aplicado por primera vez en mamíferos marinos, este acercamiento provee información práctica que puede ser usada en la administración y reproducción de orcas y, con algunas modificaciones, otras especies marinas (57).

4.1.1.3 Por medio de citología vaginal exfoliativa.

El uso de citología vaginal para monitoreo hormonal se basa en el principio de que la actividad hormonal ovárica se refleja en cambios en la apariencia de las células epiteliales de la vagina (1).

Los estrógenos, ya sea producidos endógenamente o administrados parenteralmente, son capaces de estimular a las células de la mucosa hacia una máxima proliferación, diferenciación y exfoliación (16).

De acuerdo con los diferentes niveles de estrógenos, el arreglo celular encontrado en la fase folicular es completamente diferente al que encontramos en la fase luteínica del ciclo estral de la perra, y de otros mamíferos, tanto domésticos como de fauna silvestre (1 y 16).

Los cambios estructurales y funcionales que sufren las células de la mucosa vaginal pueden ser detectados por medio de frotis vaginales, sin embargo, la fase exacta del ciclo estral en donde se encuentra el individuo no puede ser determinada por la evaluación de un solo frotis, siendo necesario hacer el estudio de una serie de frotis que nos den a conocer los diferentes patrones celulares que pueden ocurrir en cada una de las fases del ciclo estral del animal, para poder realizar una evaluación acertada (16).

Los frotis vaginales han sido usados como herramienta diagnóstica y pronóstica en programas reproductivos tanto de animales domésticos como de fauna silvestre. Los cambios celulares son mas claramente definidas en roedores y en carnívoros. En estas especies, durante el estro, el delgado forro escamoso del epitelio de la vagina engrosa a un tejido estratificado múltiple con una superficie keratinizada aumentada. El frotis vaginal es por lo tanto representativo de los cambios efectuados en el ovario y puede ser usado para determinar el tiempo de estro (1)

El frotis vaginal tiene numerosos usos. Utilizando una serie de frotis vaginales se puede hacer una buena correlación entre los hallazgos histológicos y el mejor tiempo posible para cruzar al animal. Entonces los apareamientos pueden ser precisamente medidos en situaciones en donde por alguna razón sólo un limitado número de apareamientos son posibles (agresiones, salud), o cuando alguno de la pareja tiene que ser transportado, como en el caso de las orcas en los acuarios de Sea World en donde se transportó una de las orcas macho adultas, llamada Shamú, a los parques de Florida, San Diego y San Antonio, para que se apareara con las hembras maduras reproductivamente de allí, y de donde nacieron una cría por cada parque (Foto #5). Animales que presentan astros silenciosos y se pensó que estaban en anestro, pueden ser identificados. Estos animales pueden ser expuestos al macho o inseminados artificialmente en el momento adecuado. Tratamientos hormonales pueden ser monitoreados y también el diagnóstico de descargas anormales puede ser realizado (1)

Las técnicas usadas para coleccionar células de frotis vaginales han sido muchas y muy variadas. Lo mas recomendado es usar una técnica que sea aplicable a la especie en particular, y a las condiciones tanto del albergue, en caso de animales silvestres en cautiverio, y a la posibilidad de manejo. Equipo desechable o reesterilizable es lo más recomendado para prevenir la transmisión de enfermedades. La técnica de sujeción del individuo también variará dependiendo de la



Foto # 5. Cría de un año y medio de edad, nacido en el Sea World de San Diego, California (USA). (Orcinus orca)

especie, así como la anatomía de la misma afectará la posición al momento de hacer la colección de los frotis. La mayoría de los citólogos recomiendan prevenir la contaminación que pudiera existir en el vestíbulo vaginal, cuando se preparan frotis vaginales para acción hormonal (1).

Sokolov (1961) ha reportado que los frotis vaginales pueden ser usados para diferenciar los diferentes estadios del ciclo estral en *Delphinus delphis*. El examinó 114 delfines comunes encontrando que sus frotis vaginales revelaban células epiteliales de básicamente los tres siguientes grupos de tamaño:

1. Células pequeñas con núcleos grandes y una pequeña cantidad de citoplasma.
2. Células medianas.
3. Células grandes, aplanadas con núcleos picnóticos.

En hembras inmaduras hubo una predominancia de células epiteliales de tamaño medio, con una estructura nuclear bien desarrollada. En hembras maduras listas para fertilización (comprobado por subsecuente exámen de los ovarios), los frotis vaginales mostraron células de tamaño medio, muchas de las cuales tenían núcleos picnóticos; también había células grandes y aplanadas. Hembras en el primer tercio de la gestación mostraron una predominancia de células epiteliales de tamaño medio, un gran número de núcleos picnóticos, células grandes y aplanadas, leucocitos, y numerosas escamas cornificadas. En hembras lactantes, había células epiteliales pequeñas y medianas con grandes núcleos de una estructura claramente visible. Había también muchos leucocitos y, para el final de la lactación, células epiteliales de tamaño medio fueron las que predominaron (43).

Ridgway (43) menciona que en Tursiops truncatus en cautiverio que aparentemente se encuentran en estro (tanto conductualmente como por la apariencia de la vulva), existe un gran incremento en la producción de moco y un aumento en el número de bacterias visibles en los frotis vaginales. Esto

no ha sido observado por otros autores, ni en los frotis vaginales realizados por este autor con algunas de las hembras *Tursiops truncatus* que existen en cautiverio en nuestro país.

No existe una técnica de obtención de frotis vaginales en delfines reportada en la literatura, sin embargo Ridgway* menciona que ellos entrenan a los delfines hembras para voltearse, con el vientre hacia la superficie, mostrando la zona genital al entrenador y permitiéndole realizar el frotis vaginal e incluso hacer un muestreo sanguíneo de la aleta caudal del animal. Esta facilidad hace que no sea necesario utilizar los frotis vaginales como diagnóstico de estro o incluso de gestación, puesto que utilizan las muestras sanguínea, siendo estas muy confiables para ellos.

Nosotros vimos utilizar la técnica, mencionada por Ridgway, en el parque marino Sea World, de San Antonio, Texas (USA), por los entrenadores del espectáculo conocido como "New Friends". Allí, según nos comentó uno de los entrenadores, acostumbraban a los delfines hembra, entre ellos algunos *Tursiops truncatus*, y algunos *Lagenorhynchus obliquidens*, a permanecer durante algún tiempo considerable flotando con el vientre hacia la superficie junto al entrenador, (Foto No. 6) permitiéndole tomarlo de la aleta caudal y colocarla sobre

* DVM Sam H. Ridgway. Naval Ocean Systems Center (NOSC) en San Diego, California (USA). Comunicación personal en diciembre de 1989.



Foto No. 6. Entrenador del parque marino Sea World, es San Antonio, Texas (USA), sostiene la aleta caudal de un delfín de flancos blancos (Lagenorhynchus obliquidens), mostrando la posición en que lo mantienen para la toma de muestras sanguíneas.

sus muslos (el entrenador se encuentra arrodillado a la orilla del estanque). Posteriores entrenamientos le permiten al entrenador tocar con sus dedos la región genital del animal y luego introducir alguno de sus dedos dentro de la hendidura genital, obviamente se tiene que vigilar la asepsia de las manos para no introducir ningún tipo de infección a la vagina. Una vez que el animal permite el manejo en su zona genital, se procede a introducir un hisopo en la vagina para la obtención del frotis vaginal. Sin embargo en nuestro país no se ha podido desarrollar dicha técnica de entrenamiento

por diversas causas, en su mayoría desconocidas para éste autor ya que los delfines que son mantenidos en cautiverio en México, en su gran mayoría, pertenecen a empresas particulares. En nuestro país, para ser muestreado un animal, necesita ser sacado del estanque con una red, lo que resulta demasiado estresante para los delfines, disminuyendo con ello su eficiencia reproductiva, como lo mencionan Geraci (17) y Dierauf (12), provocando cambios metabólicos en ellos y que los pueden llevar a alterar algunas de sus funciones biológicas como mecanismo de respuesta, a la enfermedad y a la muerte en casos extremos. Si de lo que se trata es de elevar la eficiencia reproductiva en los delfines que existen en cautiverio, para poder mantener poblaciones estables durante un tiempo considerable, y con ello disminuir la dependencia de los parques acuáticos de las capturas de animales en vida libre, lo más importante será implementar medidas diagnósticas que involucren en la medida de lo posible el manejo menos estresante para los animales, para con ello elevar su salud, disminuyendo tanto morbilidad como mortalidad, y elevar la eficiencia reproductiva en parques marinos mexicanos.

En México a algunos animales que han requerido ser manejados, ya sea para transportarlos a otros parques o por alguna otra situación especial, al mismo tiempo que se les han realizado muestreos sanguíneos, se han hecho frotis vaginales para detección de estro, o en su caso para diagnóstico de

gestación. Lamentablemente han tenido que ser muestras aisladas, con lo que no se puede establecer un patrón de niveles hormonales o de tipos celulares, encontrados en las diferentes etapas del ciclo estral de las hembras, como lo mencionan varios autores. (1, 8, 16, 31, 32, 33, 42 y 50).

En cuanto a la técnica de obtención de frotis vaginales realizada en nuestro país por el MVZ. José Luis Solórzano, se realiza con el animal fuera del agua, después de ser capturado con red y sujetado por algunos de los entrenadores y manejadores de los delfines, y se introduce por la hendidura genital un hisopo de algodón largo y muy resistente para evitar que el algodón se quede dentro de la vagina. Se hace diagonalmente, en dirección craneal, y una vez adentro, aproximadamente 8 cms., se gira y se saca. Inmediatamente se realizan los frotis sobre portaobjetos limpios y se fijan las células con alcohol o citospray. Una vez fijadas se tifen, ya sea con tinción de Schorr, o con la técnica de Papanicolau resultando en ambos casos, aparentemente, de muy fácil lectura ya que las células son muy similares a las que se encuentran en perras domésticas.

Sin embargo Kirby* menciona que ellos han intentado realizar frotis vaginales en delfines, pero que realmente ha resultado

* DVM Viky Lee Kirby. San Diego Zoological Society Research Department, San Diego, California (USA). Comunicación personal en visita a la Universidad de Santa Cruz, en California (USA), en diciembre de 1989.

muy difícil. Por una parte la maniobra involucraba un manejo excesivo del animal ya que, por las características anatómicas de la vagina de los delfines, estos presentan un pseudo cérvix, que es en realidad un pliegue de la vagina que se encuentra a la entrada del útero, y que fácilmente puede ser confundido por el cérvix verdadero. Según Kirby, la maniobra consistía en introducir un endoscopio o en su defecto un espejo odontológico modificado, dentro de la vagina, y verificar que el lugar en donde se está tomando el frotis realmente es el cérvix vaginal, ya que de tomarlo del pseudo cérvix, el tipo de células allí presentes son diferentes, y por lo tanto no son representativas de la función de las hormonas ováricas sobre el epitelio vaginal. Por otra parte, al tener en la mayoría de los lugares en donde existen delfines en cautiverio, tanto instalaciones especiales para el manejo como a los delfines entrenados para presentar la aleta caudal para hacer el muestreo sanguíneo por venopunción, les resulta muy adecuado el realizar RIA para medición de progesterona y estradiol séricos principalmente, con muy buenos resultados.

4.2 Ciclo reproductivo en el macho Tursiops truncatus.

En apariencia, los delfines nariz de botella, Tursiops truncatus, desde que nacen se encuentran ya en pubertad. Se han reportado erecciones reflejas en machos Tursiops a las 48

hrs. del nacimiento. A los pocos meses de nacido los delfines machos examinan a todas las hembras que se encuentran cerca de ellos (7 y 50).

La época de apareamiento llega a ser muy estresante para los machos maduros de la mayoría de las especies de mamíferos marinos. Los testículos, la próstata, y los músculos asociados con los órganos reproductivos aumentan de tamaño. Sumado al estrés de las peleas para controlar el territorio y/o las hembras, el consumo de alimento desciende marcadamente (43).

Los testículos son órganos pares, cada uno con dos regiones funcionales que consisten tanto en células intersticiales o en túbulos seminíferos. Los túbulos seminíferos están alineados con células germinales (espermatogonias) y células de Sertoli. Las células de Sertoli secretan andrógenos asociados a proteínas (ABP), , y protege y sustenta a la espermatogonia durante la espermatogénesis. Los ABP concentran testosterona en el lumen de los túbulos seminíferos para asistencia en la maduración de los espermatozoides. La testosterona es sintetizada en las células de Leydig, que se encuentran entremezclados entre el tejido intersticial y los túbulos seminíferos. La testosterona es un esteroide C-19, primariamente convertido a 17-quetoesteroides y luego excretado en la orina. Dos tercios de los 17-quetoesteroides excretados en la orina, son de

origen adrenal y no testicular. En los mamíferos machos, aproximadamente dos tercios de la testosterona corporal es producida en los testículos, y esta testosterona es biológicamente más potente que los andrógenos secretados por las glándulas adrenales. La LH regula la síntesis de testosterona por las células de Leydig. Un incremento en los niveles de testosterona circulante, inhibe la secreción de LH indirectamente, inhibiendo la liberación de GnRH por el hipotálamo. Los andrógenos (DHT/T) tienen acciones anabólicas en el metabolismo, ayudan en la diferenciación sexual, y ayudan en desarrollo de los espermatozoides. La testosterona puede incrementar la síntesis de proteínas o inhibir el derrumbamiento de proteínas en tejidos blanco. Tejidos blanco primarios convierten la testosterona en la, fisiológicamente más activa, DHT. Aproximadamente el 70% del estradiol (E₂) en machos adultos es debido a la aromatización de testosterona y andrógenos circulantes. Los estrógenos también son secretados por las células de Leydig y de Sertoli. La pubertad en los machos es caracterizada por un incremento marcado del peso testicular, tamaño del pene, y aumento en los niveles circulantes de testosterona, LH y FSH. El brote de la pubertad es caracterizado por un rápido crecimiento testicular. La testosterona se mide en nanogramos (ng) por 24 hrs. La testosterona es muy estable en suero o plasma y persiste en refrigeración por 4 días, o congelado por 6 meses (31).

Históricamente, los datos reproductivos en cetáceos y pinnípedos se habían basado en descripciones histológicas y morfológicas del tejido gonadal. La estructura del tracto urogenital, y en particular de los testículos, han sido descritos para misticetos y odontocetos. El tracto reproductivo en el macho, incluyendo los testículos, es morfológicamente similar a los mamíferos típicos, excepto por el gran desarrollo de la próstata, y la ausencia de ampolla y vesículas seminales asociadas a los conductos deferentes (31).

El monitoreo hormonal ha sido usado desde 1970 (43), reportando la primera evaluación hormonal de machos Tursiops truncatus en cautiverio. Exámenes histológicos de los testículos se correlacionaron con registros anteriores de testosterona. Ellos reportaron que cambios estacionales en los niveles de testosterona en plasma en un macho adulto T. truncatus, variaron de 135 a 2400 ng/dl a través de un periodo de 25 meses. Los niveles plasmáticos de testosterona mostraron picos durante septiembre y hasta octubre y en abril hasta mayo. Machos inmaduros (menores de 11 años de edad) tuvieron niveles bajos de testosterona, similares a niveles de humanos machos prepúberes (de 7 a 392 ng/dl). Judd y Ridgway (29), reportaron que un delfín nariz de botella del Pacífico inmaduro tuvo niveles menores a 10 ng/dl, mientras que un nariz de botella del Atlántico adulto, tuvo niveles basales de 520 ng/dl (31).

Recientemente, estudios longitudinales de niveles de testosterona han sido reportados en delfines nariz de botella y delfines tornillo (*Stenella longirostris*) (31, 43, 50, y 52). Los niveles de testosterona se midieron al azar en 28 delfines nariz de botella en cautiverio, con cinco machos bajo monitoreos longitudinales de 6 a 24 meses, con muestreos dos veces por semana. Los delfines macho pueden ser clasificados como inmaduros, púberes y maduros sexualmente, basados en múltiples muestras de testosterona. Todos los machos con menos de 11 años de edad, con una excepción, , tuvieron niveles de testosterona de 26 ± 19 ng/dl y fueron clasificados como inmaduros. Todos los machos mayores de 13 a 15 años de edad fueron maduros sexualmente como se evidenció por niveles de testosterona basales (fuera de la temporada reproductiva) de 200 a 500 ng/dl, o elevaciones estacionales en testosterona arriba de 1000 ng/dl. En un macho de 9 años de edad, los niveles de testosterona empezaron a fluctuar sobre los 100 ng/dl estacionalmente (en primavera), y variaron de 80 a 2400 ng/dl. En un macho adulto, niveles menores a 100 ng/dl se observaron en ataques de enfermedad. Tres machos adultos reportaron variaciones estacionales en los niveles de testosterona (figura 8), similares a los reportados por Harrison y Ridgway. El pico medido más alto fue de 7000 ng/dl en un macho de 23 años de edad en abril. Cada uno de los machos que preñaron a las hembras (n=3) lo hizo antes de su pico estacional de testosterona. En un año, tres machos maduros sexualmente tuvieron niveles de

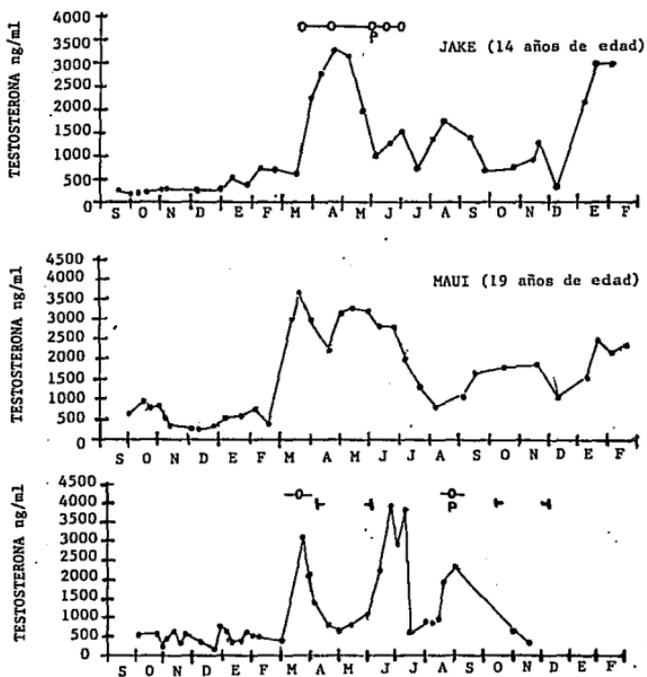


FIGURA 8. Cambios estacionales de testosterona plasmática en 3 del-fines naríz de botella adultos en cautiverio. Cada uno de ellos mantenido junto con una hembra adulta. Los símbolos significan que la hembra ovuló. P se refiere a hembra gestante.

testosterona en plasma elevados simultáneamente, dentro del mismo periodo de dos semanas en febrero, de niveles de descanso de 300 ng/dl a 1500 ng/dl. Un estudio longitudinal de dos años en un macho *Tursiops truncatus* macho en Hawaii sangrado dos veces por semana, mostró fluctuaciones de testosterona similares a los de los delfines en San Diego. (51 y 52). También en el único estudio de su clase realizado por Schroeder, J.P., Keller, K. y Kirby, V.L. (reportado por Kirby, 31), han monitoreado la producción de esperma simultáneamente con la producción de testosterona en un delfín nariz de botella macho. Dicho estudio, diseñado en NOSC, mostró que los niveles de testosterona y la producción de semen fueron estacionales y asincrónicos, en donde el pico de producción de testosterona precedió al pico de producción de semen por 4 a 6 semanas. Su máxima producción y densidad espermática fue registrada de agosto a noviembre, con un pico de producción en cada septiembre de los tres años de estudio. Su máximo nivel de testosterona sérica fue registrado durante cada junio y julio. Cuatro de las seis crías de las que él fue el progenitor, nacieron en septiembre, uno en agosto, y uno en marzo. El análisis de testosterona de éste macho, así como de otros 20 machos de edad conocida, produjeron importante información de crianza usando los niveles de testosterona sérica como un indicador de la madurez reproductiva del macho (31, 51 y 52).

Los siguientes patrones reproductivos del delfín macho están clasificados bajo la base de niveles de testosterona sérica:

	Edad	niveles de testosterona
Inmaduro/púber	1 a 10 años	< 3 ng/ml
Púber	10 a 14 años	de 3 a 5 ng/ml
Reproductivamente maduro	de 15 años	de 5 a 54 ng/ml

Existen dos características que hacen necesario el muestreo múltiple de testosterona para manejo de madurez o estatus reproductivo del delfín macho:

1. Durante su temporada de apareamiento, los niveles de testosterona sérica en el macho maduro pueden ser < 5 ng/ml, pero la testosterona sérica de un macho inmaduro nunca es > 5 ng/ml.
2. Niveles de testosterona sérica son más altos de 4 a 8 semanas antes del pico de densidad espermática (50).

El eyaculado de los delfines nariz de botella ha sido caracterizado por Hill y Gilmartin (27), y por Schroeder (52), como el más concentrado de cualquiera de las especies de mamíferos, con 1 a 3 billones de espermatozoides por mililitro (31).

Los niveles de testosterona en delfines machos son afectados directamente por la salud del animal. Un macho reproductor, 3 semanas antes de su muerte, había bajado sus niveles de testosterona a <100 ng/dl. Un segundo macho durante un ataque de la enfermedad de Lobo, presentó similar descenso en los niveles de testosterona. Sin embargo, aún después de que un macho maduro había bajado sus niveles de testosterona sérica durante brotes de enfermedad, fue aún capaz de preñar una hembra que se encontraba en el mismo estanque con el (31).

A pesar de que la producción espermática puede descender, puede existir esperma viable presentes por 6 a 8 semanas (51 y 52). Los delfines machos parece ser que son capaces de preñar hembras durante 9 a 10 meses del año. Consecuentemente, un grupo de machos, algunos normalmente ciclando un poco fuera de sincronización, pueden ser capaces de preñar a las delfines hembra todo el año (31).

Machos púberes fueron aquellos que tuvieron niveles de testosterona fluctuando de <100 hasta 1000 ng/dl. En 7 delfines nariz de botella machos púberes, la testosterona fue <100 ng/dl en una estación, y luego de 300 a 1000 ng/dl la siguiente estación. En muestreos subsecuentes, en invierno y primavera del año siguiente, exhibieron niveles <100 ng/dl otra vez. Uno de los machos fue sangrado dos veces por semana por 6 meses y presentó niveles de testosterona de 700 ng/dl

en abril, cayendo a niveles basales (30 ng/dl) en mayo, permaneciendo allí hasta el final del estudio en agosto (31).

Los niveles de testosterona también han sido reportados en Stenella spp. La testosterona sérica varió de 10 ng/dl a sobre 6000 ng/dl en un macho sexualmente maduro (de 183 cms). Niveles de descanso parecen ser aproximadamente de 200 a 400 ng/dl entre la mitad de septiembre y febrero. Entonces la testosterona se incrementa por aproximadamente 5 meses antes de regresar a niveles de reposo basales de mitad de agosto hasta septiembre (31).

Capítulo 5. Conducta reproductiva en delfines.

Observaciones recientes de grupos de delfines en vida libre y sobre todo en cautiverio han revelado una estructura social definida en estas especies, que particularmente se hace aparente en época de apareamiento, pero presente a lo largo de todo el año (13).

El ciclo de vida básico en ballenas, delfines y marsopas es el mismo que en los demás mamíferos, ya sean habitantes terrestres, anfibios o meramente acuáticos, esto es, son vivíparos, toman leche de sus madres, viven un periodo de inmadurez, alcanzan la pubertad, se reproducen y subsiguientemente mueren. Obviamente existen considerables variaciones en la historia natural entre individuos de una población y entre poblaciones en general. Además, las características de los individuos y de las poblaciones pueden cambiar en respuesta a los factores externos, como son disponibilidad de alimento y enfermedad. El nombre que recibe el área completa de historia natural de las características de las poblaciones, dinámica de población, refleja el continuo estado de cambio y estudiándola podemos empezar a entender la forma en que funciona una población (35 y 47).

Un reciente estudio sobre la conducta de los cetáceos en cautiverio, hecha por Defran, R.H. y Pryor, K. (11), que incluye Delphinapterus leucas, Delphinus delphis, Globicephala sp., Inia geoffrensis, Lagenorhynchus

obliquidens, Orcinus orca, Pseudorca crassidens, Stenella longirostris, Steno bredanensis, Tursiops gilli y Tursiops truncatus, señalan que las especies más manipulativas, juguetonas y curiosas, de acuerdo a sus resultados, fueron las dos especies de Tursiops, P. crassidens y O. orca. Todas ellas recibieron la misma o muy cercana clasificación en esta área del estudio de comportamiento, que se basó en cuestionario de conducta dirigidos a una selecta lista de personas que tuvieran un mínimo de 5 años de experiencia trabajando con cetáceos, y que estuvieran normalmente en puestos de supervisión. La conducta sexual fue mas evidente en Tursiops truncatus y Stenella longirostris. Sin embargo sólo se reportan amplios estudios de conducta sexual en Tursiops truncatus, para quienes el juego sexual se ha reportado como muy importante (3, 4, 6, 7, 8, 11, 13 y 22).

5.1 Interacción sexual y afectiva.

Despues de numerosas observaciones de los delfines en cautiverio, se ha notado que son casi obsesivamente sexuales (13). Los delfines nariz de botella son con mucho los cetáceos que mas se han reproducido en cautiverio. En Norte América se habian reportado 107 nacimientos hasta 1977 (8). En Marineland of Florida, no menos de 25 delfines nacieron entre 1939 y 1963, de los cuales 6 habian sido concebidos en vida libre y 19 en cautiverio (58). Tres generaciones fueron

criadas en la institución, y proporcionaron información inigualable de conducta en la crianza de delfines (13).

Los estudios en primates, tanto en el campo como en laboratorio, son tan avanzados y los estudios en cetáceos tan rudimentarios en algunos aspectos, que las comparaciones pueden resultar peligrosas. Sin embargo en estudios con primates algunos autores han encontrado un área tras otra en las que las comparaciones conductuales son adecuadas, puesto que se tiene que trabajar tratando de encontrar significado de la conducta en relación con otros grupos. Es posible que un periodo de tiempo largo para el desarrollo de la madurez física y sexual en ambos grupos se preste a efectos más análogos, particularmente en el área de comportamientos adquiridos (7).

Caldwell y Caldwell (7), prefieren la síntesis de los Harlow* sobre patrones afectivos en primates no humanos, un proceso que involucra una progresión natural de experiencias sociales que son reconfortantes, comenzando con recompensas infantiles primarias de interacción madre-cría, normalmente seguida de una etapa de juego con sus compañeros juveniles de grupo, luego las relaciones heterosexuales que involucran copulación efectiva, y por último el rol familiar desde el

* Harlow, H.F. and Harlow, M.K.: The affectional systems. In Schrier, A.M. et al. Eds.: Behavior of Nonhuman Primates; Modern Research Trends. New York, Academic Press, 1965, pp. 287-334.

cual la madre debe recibir fuertes recompensas para neutralizar su acortamiento de libertad (7).

Como en los primates, erecciones reflejas del pene ocurren en machos Tursiops en un periodo de 48 horas después de nacer. A diferencia de las crías de los primates a quienes su inadecuada postura hace la intromisión imposible o extremadamente inverosímil, las crías de delfín poseen necesariamente un control físico altamente desarrollado, y los jóvenes machos intentan la cópula (normalmente con la madre) a las pocas semanas de nacidos. Las glándulas mamarias se localizan una a cada lado de la hendidura genital (Cap. 2) y sin duda sirve para dirigir la atención de la cría en esa área, lo que provoca una erección. El joven macho entonces, continúa sus intentos para copular conforme se desarrolla, y puede alcanzar lo que parece un patrón copulatorio efectivo en un periodo de pocos meses. Esto es muy significativo en animales como Tursiops, quienes no alcanzan la madurez sexual sino hasta después de los siete años, lo que permite un largo periodo de aprendizaje para patrones sexuales (7 y 50).

Los machos en cautiverio no solo entablan frecuentes copulaciones con hembras de la misma o diferente especie, sino que también se masturban, especialmente los juveniles. Esto puede ir acompañado de roces del área genital contra la aleta dorsal, la punta de las aletas caudales o la aleta

pectoral de una hembra, dando generalmente como resultado una eracción. Hasta los apéndices de un animal muerto de cualquier sexo en el fondo del estanque ha sido usado. Algunas veces se les ha visto usando el borde del caparazón de una tortuga, con el delfín macho insertando su pene erecto bajo el borde del caparazón de la tortuga mientras nadaban ambos lentamente alrededor del estanque (7). En Marineland of the Pacific, un macho juvenil usó el borde de una de las ventanas de observación como fuente de estimulación por varios días, y la administración del parque respiró aliviada cuando se le vió encontrar otra fuente de estimulación y descontinuó esa práctica. (Esta forma de comportamiento puede ser una gran fuente de apuros a la administración de una exhibición pública, además puede presentar problemas de crianza.) Hay también alguna evidencia de que la erección peneana se lleva a cabo, cuando menos en parte, bajo control voluntario en delfines (se ha sabido de machos que usan su pene como un órgano manipulador). Como una broma interna, un entrenador de Marineland of Florida enseñó a un delfín a tener una erección a una señal y entonces llevar un aro por todas partes con su pene (7 y 13).

Como las hembras no demuestran erección peneana, los índices de despertar sexual son mas difíciles para una interpretación precisa. El delfín hembra tiene un clitoris bien desarrol y, a diferencia de otros mamíferos, copula poniendo en contacto su superficie ventral con la superficie ventral del macho. La

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

79

estimulación táctil de la cópula, con normal estimulación clitorídea, puede esperarse que sea estimulante para la hembra. La frecuente manifestación de lo que parecen ser juegos sexuales de tanto hembras adolescentes como adultas con otros delfines de ambos sexos y de todas las edades parecen confirmar esto (7).

La masturbación es frecuente en hembras de cualquier edad (37), y existe mucha estimulación practicada entre hembras en las que se usa la trompa, las aletas dorsales, pectorales y caudales de los delfines del mismo estanque. Como los roles de los participantes son cambiados a intervalos, la probabilidad de que esta conducta se involucre con comportamiento de sumisión está casi descartada. Una hembra puede también masturbarse activamente con las aletas de un macho. Ya que la hembra inicia y solicita la mayoría de las interacciones sexuales de cualquier tipo, se puede especular que es también receptiva la mayor parte del tiempo (7).

5.2 Hibridación en delfines.

Delfines macho de diferentes especies en cautiverio, algunas veces han intentado copular con otros delfines, macho o hembra, de especie, género, o hasta familia diferentes. Algunas hibridaciones han resultado en épocas de

apareamiento, aún cuando los padres sean de diferente Familia (4).

Por razones desconocidas -tal vez se deba a su casi obsesiva sexualidad o tal vez no- todos los casos conocidos (y uno se sospecha) de hibridación en cetáceos han involucrado a los delfines nariz de botella. En junio de 1933 tres delfines fueron encontrados varados juntos en Blacksod Bay, en Irlanda. Cuando F.C. Fraser, el experto en pequeños cetáceos del Museo Británico, examinó los restos no pudo identificarlos. Eran oscuros en la parte superior y claros en la inferior; dos de ellos presentaban picos cortos y el tercero no tenía pico. Para Fraser, uno con el pico mas largo parecía delfín nariz de botella, pero, como escribió en 1940, "los otros dos no se encuentran en el rango de variación de cualquier forma conocida de delfín. Fraser realizó un examen completo de los tres, que se habían varado juntos y concluyó que mantenían un parecido tanto a delfín Risso y al nariz de botella. En el Enoshima Aquarium de Japón, tres diferentes hembras *Tursiops* parieron crías que probablemente fueron preñadas por un macho Risso que había sido mantenido en cautiverio en el mismo estanque. La primer cría, una hembra, nació el 29 de septiembre de 1978, y vivió hasta marzo de 1981. Los otros dos, un macho y una hembra, vivieron menos de un año cada uno. El 3 de mayo de 1981, en el Kemogawa Sea World en Japón, una hembra nariz de botella parió una cría cuyo padre era una falsa orca, con quien había vivido por

nueve años en el mismo estanque (en años anteriores la hembra había abortado dos veces). La cría, una hembra, era de color casi negro como su padre, pero presentaba las líneas claras de los "pliegues fetales" que se encuentran presentes a menudo en delfinidos recién nacidos, y tenía una trompa blanquesina (13).

5.3 Actividad reproductiva.

Como ya mencionamos, la hembra Tursiops truncatus es poliestrónica estacional, presentando sus picos de actividad sexual en uno o dos periodos del año. En la literatura se reporta que generalmente se presenta actividad reproductiva durante la primavera y durante el otoño, aunque esto puede variar dependiendo de la región geográfica donde habitan, o en su caso donde fueron capturados. También se mencionó que los delfines alcanzan la madurez sexual a diferentes edades, siendo de las más aceptadas de 6 a 8 años en hembras y alrededor de 12 años en machos (3, 4, 8, 13, 31, 32, 33, 35, 41, 43, 48, 50, 51 y 58).

Una vez que alcanzan la madurez sexual las hembras parece que son sexualmente receptivas durante gran parte del año, y son generalmente responsables de iniciar el cortejo y la conducta sexual (7, 11 y 13).

Después de un cortejo de entrelazamientos, caricias y olisqueos, la cópula dura de 10 a 30 segundos*.

Durante el apareamiento, los delfines pueden rascarse o arañarse uno a otro con sus dientes, dejando laceraciones superficiales en la piel, que sanan rápidamente. Huellas claras y paralelas de cicatrices permanecen en la piel del delfín. Estas marcas han sido vistas en virtualmente todas las especies de delfines.

*Bottlenose Dolphin. Fact Sheet. A Sea World Education Department Publication. 1986 Sea World Inc.

Capítulo 6. Gestación, parto y lactancia en delfines.

El periodo de gestación de los delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) es de 12 meses (\pm 2 semanas). En NOSC (Naval Ocean System Center) de Hawaii, el peso de la hembra gestante es monitoreado una vez al mes. Para seis hembras pariendo crías de 30 a 35 libras, el promedio de ganancia de peso fué de 96.7 libras (de 68 a 133 lbs.). Parece ser que la muerte de los neonatos de menos de 24 horas, se asocia a bajas ganancias de peso durante la gestación (de 68 a 79 lbs.). Las hembras que paren crías que llegan a vivir más de 2 años, ganan de 39 a 61% de su peso en el último tercio de la gestación, mientras que hembras que paren crías que sobreviven < 24 hrs. ganan sólo de 10 a 27% durante el mismo periodo (50).

Los mamíferos que son bien cuidados en cautiverio, casi siempre son mas pesados que su contraparte en vida libre. Aún así es muy sencillo distinguir, en algunos casos, a un delfín en la segunda mitad de la gestación de uno que simplemente está bien alimentado (37). El abdomen llega a estar altamente distendido, y el "paso" abrupto, donde el perfil pasa posteriormente a través de la región inguinal a la inserción del pedúnculo caudal se vuelve mas prominente que en las hembras no gestantes. En el delfín macho este "paso" o rompimiento del perfil no existe. La vulva de la hembra gestante se hincha y se arruga mientras se acerca a término. El abdomen, cuando es visto por la parte posterior,

desarrolla una protuberancia desproporcionada en el lado izquierdo. En gestaciones avanzadas se han visto incluso movimientos fetales, que a demás se sienten fácilmente a la palpación cuando la hembra permite dicho manejo, sin embargo, todo esto sólo es posible percibirlo en algunos casos (37).

6.1 Diagnóstico de gestación.

La detección temprana de la gestación en delfines puede ser una herramienta muy valiosa si consideramos que uno de los principales objetivos de los parques en donde se tiene colecciones de animales en cautiverio, debiera ser la reproducción de estos, para evitar al máximo el obtenerlos de las poblaciones en vida silvestre.

Por ejemplo, el diagnóstico de gestación temprana permite realizar cambios nutricionales lo antes posibles. En NOSC, Hawaii, Las hembras gestantes son alimentadas ad libitum, con una mezcla de 10% macarela (mackerel), 70% smelt y 20% herring cuando menos tres veces al día. El suplemento usual multivitamínico-mineral es también ajustado para que provea calcio y fósforo a una relación 1.25:1 (50).

Existen diversos métodos que se han utilizado para diagnóstico y monitoreo de la gestación, siendo los más comunmente usados el análisis de los niveles de progesterona

sérica, el ultrasonido, y la detección de los latidos cardiacos fatales con estetoscopio Doppler, y observación de los cambios en la apariencia física de la hembra. Una temprana detección es sustentada por monitoreo de cambios en la progesterona sérica y ultrasonido (8, 31, 32, 42, 46, 50, 51, 55 y 56).

6.1.1 Monitoreo de los niveles de hormonas reproductivas en sangre.

El desarrollo de las técnicas de radio inmuno análisis (RIA) ha brindado la oportunidad de medir hormonas en pequeñas cantidades de sangre de animales sensible, precisa y específicamente (8, 31, 32, 42, 44, 49, 50 y 51).

Como ya se mencionó (cap. 4), el RIA se ha utilizado para monitorear los niveles de progesterona en sangre, tanto para medir niveles basales (<1 ng/ml), niveles de ovulación (fluctuaciones episódicas de progesterona >1 ng/ml), niveles de gestación (>3 ng/ml por periodos prolongados de tiempo) (8, 31, 32, 44, 49, 50 y 51).

En general, una vez que una hembra ha sido diagnosticada como gestante, sus niveles de progesterona sérica no descienden de 5 ng/ml, aunque estos fluctúen durante toda la gestación. El nivel de progesterona mas alto de los que fueron observados fué de 58 ng/ml en un delfín nariz de botella hembra. Aunque

existe una diferencia significativa entre los niveles promedio de ovulación (9.8 ± 2.6 ng/ml) y de gestación ($18.6 + 3.6$ ng/ml), las fluctuaciones en los niveles de progesterona de gestación cubren completamente las fluctuaciones de los niveles de ovulación, por lo tanto la gestación no puede ser diagnosticada con una sola muestra sanguínea. La gestación es muy bien diagnosticada con una serie de muestreos en un periodo de 6 a 8 semanas, sin embargo el tiempo exacto de gestación no puede ser diagnosticado por medición de los niveles absolutos de progesterona debido a las grandes fluctuaciones que presenta durante la misma (31 y 32).

6.1.2 Ultrasonido.

La revolución tecnológica en medicina humana puede brindar a los clínicos de mamíferos marinos, el instrumental y la experiencia necesarios para implementar procedimientos que eran imposibles o incosteables unos años atrás. Obviamente la anatomía, fisiología y requerimientos medioambientales específicos de los mamíferos marinos pone ciertas limitaciones sobre nuestras opciones diagnósticas y terapéuticas. Sin perder el contacto con la realidad de estas constantes, se debe hacer un esfuerzo por ensanchar los horizontes diagnósticos y ampliar las capacidades médicas en el campo de la clínica de mamíferos marinos en particular, y de fauna silvestre en general (55).

El valor del ultrasonido como método diagnóstico en medicina humana es incuestionable. Un sonograma ofrece riqueza informativa, no es invasivo, usa radiaciones no ionizantes y no causa incomodidad en el paciente (55).

Como puede presumirse, el ultrasonido es una herramienta muy útil en el diagnóstico de cualquier tipo de alteración en los cetáceos, como lo es en otras especies, no siendo el propósito del presente trabajo enumerarlos, ni tampoco ser un manual en el uso del ultrasonido. Simplemente se aplica aquí como método para la detección y monitoreo de la gestación de los delfines.

Existen sin embargo algunos principios básicos que habría que mencionar. Aunque el ultrasonido provee de una herramienta ideal para examinar muchos órganos internos, el examen no es sencillo de aplicar o interpretar. Es esencial producir una imagen de calidad diagnóstica y ser capaz de diferenciar un artefacto e información real. El sonógrafo debe tener un buen conocimiento de la física del ultrasonido, estar familiarizado con el instrumental de la máquina de ultrasonido, y ser conocedor de la anatomía del sujeto que está siendo examinado. Las ondas de ultrasonido no penetran huesos o aire, así que se requiere de una "ventana" o trayectoria, a través de la cual el rayo de sonido debe ser dirigido para localizar el área de interés (55).

Durante los exámenes, el transductor es colocado en contacto con la piel. Este produce una onda de sonido de corta duración y alta frecuencia que se mueve en una dirección determinada por un ángulo del transductor. La onda de sonido es producida dentro del transductor por un cristal que posee propiedades piezoeléctricas. Esta propiedad le permite al cristal convertir energía eléctrica en energía mecánica o sonido. El cristal también actúa como un receptor, percibiendo ondas de sonido reflejadas cuando un cambio en la impedancia acústica es encontrada en cada interfase de tejido. El cristal convierte estas ondas de sonido rebotadas en impulsos eléctricos que son proyectados en un monitor. Este ultrasonido bi-dimensional en tiempo real, da una imagen dinámica de gruesa arquitectura de tejidos suaves y muestra relaciones espaciales de unos órganos con otros y con la pared corporal (55).

Sin un verdadero entendimiento de la física del ultrasonido, es muy fácil ser engañado por la tecnología y tomar una decisión clínica equivocada (55).

Una de las más ampliamente conocidas aplicaciones del ultrasonido en humanos es la detección de gestación y evaluación fetal in utero . Aplicaciones similares son hoy muy desarrolladas en la medicina de animales domésticos. Con el incremento en la presión de mantener poblaciones que se sustenten a sí mismas en cautiverio, y la necesidad de un

mejor entendimiento de los eventos reproductivos, los clínicos de mamíferos marinos han empezado a reconocer en el ultrasonido a una importante herramienta en el manejo reproductivo (8, 37, 50, 51, 55, 56 y 58).

En los parques marinos Sea World (USA) utilizan el ultrasonido como complemento en el diagnóstico de gestación, además de monitoreo de progesterona sérica, detección del latido del corazón del feto con estetoscopio Doppler y observación de cambios en la apariencia física de las hembras (8).

La visualización del delfín feto se lleva a cabo con ultrasonido de tiempo-real (Beamo). Este método de determinación de la gestación puede detectar a los fetos desde el primer mes de embarazo y es ampliamente usado en animales domésticos. Las hembras son entrenadas para presentar su región abdominal, y un transductor de ultrasonido es colocado inmediatamente craneal a la hendidura genital. El ultrasonido es usado tanto para la detección de gestación como para monitoreo del desarrollo del feto (8).

6.1.3 Sonografía Doppler.

Con el avance que ha tenido en años recientes la medicina humana en materia de diagnóstico y monitoreo de la gestación, han podido aplicarse algunas prácticas clínicas al campo de

la fauna silvestre, y en particular de la medicina de mamíferos marinos. La sonografía Doppler (Ultrasonido de Energía Acústica Continua) es otra de esas prácticas.

El estetoscopio Doppler* es utilizado para monitoreo del latido del corazón del feto, siempre que se requiera hacer de algún manejo de hembras gestantes, así como para diagnóstico de gestación (8).

El diagnóstico de gestación puede ser confirmado con Doppler a los 4 o 5 meses de gestación. El rango cardíaco de la hembra adulta, medido aproximadamente a la mitad del ciclo respiratorio, varía de 60-74 latidos por minuto (60 a 80, según Swaney), comparado con el rango cardíaco fetal que va de 130 a 140 latidos por minuto. Este examen puede ser aplicado si existe alguna duda de la viabilidad fetal durante la gestación (8, 56).

El estetoscopio Doppler obstétrico opera a una frecuencia de alrededor de 2.25 MHz. Un haz ultrasónico es transmitido y el sonido de regreso es recibido por cristales separados dentro de un transductor. La frecuencia del sonido cuando es rebotado desde un objeto en movimiento, por ejemplo glóbulos rojos, varía con la velocidad del objeto, produciendo una respuesta audible en la unidad Doppler. Cuando el haz es

* Medsonics Ultrasound Stethoscope, Model FP3A, Mt. View, CA (USA); Ultrasound Transmission Gel, Aquasonics 100, Parker Lab, Orange, NJ (USA).

dirigido hacia el corazón fetal o alguna gran arteria, el sonido producido refleja el latido del corazón (56).

Ya que las hembras Tursiops exhiben mas frecuentemente gestaciones en el cuerno uterino izquierdo, el exámen se realiza con el animal recostado sobre su costado derecho. El transductor Doppler es colocado sobre el área medio-ventral. Dirigiendo el haz sónico en diferentes direcciones, el latido del corazón fetal puede ser detectado si es que se encuentra presente (56).

La técnica de ultrasonido ha estado libre de efectos colaterales. El procedimiento requiere sólo de unos minutos, efectuando un mínimo de estrés en el animal. La unidad Doppler tiene la ventaja de ser compacto y portable. Usando sonografía Doppler. muchas gestaciones en Tursiops se han diagnosticado al inicio del segundo tercio de gestación (56).

6.1.4 Radiografía.

Usando técnicas radiográficas usuales, puede ser detectada la osificación de la columna vertebral y el cráneo fatales al principio del segundo tercio de gestación (56).

Sin embargo, el uso de rayos-x acarrea peligro de radiación-x al tejido, particularmente aquéllos órganos que manifiestan una producción celular acelerada, especialmente en el desarrollo del feto. La técnica requiere de equipo no muy portátil y además muy caro. También es necesario un tiempo considerable sujetando y manejando al animal (56).

6.2 Determinación de viabilidad fetal.

Una vez que ha sido confirmada la gestación, es muy importante determinar la viabilidad fetal, particularmente en el último tercio del embarazo. La mayoría de las muertes fetales ocurren en esta etapa, y la presencia de un feto vivo juega un rol primordial en el parto. Si una hembra gestante en el último tercio de la gestación manifiesta signos de enfermedad, es imperativo determinar la presencia de un feto muerto antes de que se establezca cualquier procedimiento clínico (56).

Senografía Doppler: La ausencia del sonido de los latidos del corazón audible con Doppler siguiendo un examen completo de ambos costados de la hembra gestante, es diagnóstico de muerte fetal. Con animales muy grandes, como *Tursiops gilli* o pequeñas ballenas, una señal Doppler negativa debe ser comparada con referencia a la facilidad con que las señales acústicas de la madre son escuchados (56).

Ultrasonido: La ausencia de movimiento fetal a la exploración es diagnóstico de muerte fetal. También es necesario un examen completo del abdomen de la madre. En animales grandes, una reducción de la frecuencia de sonido puede ser necesaria para brindar la profundidad de penetración necesaria para alcanzar el corazón fetal (56).

Electrocardiografía: Electrodo colocados sobre o en la hembra gestante no reciben el ECG del feto. Si uno desea obtener el ECG fetal, los electrodos deben ser insertados en el feto en sí. Largas agujas con los conductores del ECG ajustados dentro del lumen de las mismas, pueden ser dirigidas a través de la pared abdominal izquierda de la madre hacia el feto. Debido al gran riesgo de daño al feto y por que existen mejores métodos en delfines, esta técnica debe ser reservada a cetáceos más grandes y sólo ser usada cuando los otros métodos han fallado (56).

Movimiento fetal: La ausencia de movimiento fetal es sugestiva, mas no diagnóstica de muerte fetal. Un feto anormalmente quieto en el último tercio de gestación, puede ser indicativo de enfermedad fetal (56).

Análisis de líquido amniótico: El líquido amniótico puede ser obtenido de hembras gestantes *Tursiops* en el último tercio de gestación por aminocentesis, ya sea por punción de la pared abdominal izquierda de la madre, o através de una aguja

dirigida vaginalmente por el cérvix. Debido a problemas en la sujeción del animal y a la probable irritación del cérvix y del tapón de moco cervical, no se recomienda este último método.

1. Color: El líquido amniótico normal es claro, no viscoso, y no fétido. Posterior a la muerte fetal, el líquido se vuelve café y, si existe contaminación bacteriana, fétido y viscoso.

2. Citología: El líquido amniótico normal de Tursiops no contiene leucocitos o eritrocitos. Con muerte fetal, tanto leucocitos como eritrocitos penetran el líquido mientras el feto padece autólisis y descomposición. Los leucocitos son visibles en un frotis húmedo de líquido amniótico teñido con una gota de tinción de azul de metileno*, a una ampliación de 400x.

3. pH: El líquido amniótico normal del mono rhesus tiene un pH ligeramente alcalino (aproximadamente 7.4). Cuando muere el feto, el líquido amniótico pCO_2 se incrementa, baja el bicarbonato y baja el pH. Si el líquido amniótico cambia a un pH ácido, es fuertemente sugestivo de muerte fetal.

4. Estríol: Los monos rhesus poseen niveles cuantificables de hormonas estrogénicas (sobre todo estríol) en el líquido amniótico normal. Las hormonas incrementan su concentración mientras el parto se aproxima. La presencia de un feto vivo juega un papel muy importante de retroalimentación en la manutención de este incremento de estrógenos de los ovarios y

* New Methylene Blue Stain, Medical Chemical Inc., Santa Mónica, CA 20404 (USA).

del feto. Si el feto muere, la retroalimentación se rompe y las hormonas estrogénicas rápidamente desaparecen del líquido amniótico. La ausencia de estas hormonas es indicativo de muerte fetal, siempre y cuando la aminocentesis se haya realizado en el último tercio de la gestación (56).

6.3 Placentación en *Tursiops truncatus*.

La placenta en *Tursiops truncatus* es difusa, epiteliocorial, con crestas vellosas conformando los pliegues endometriales. La placenta del delfín nariz de botella se reporta como "desnuda" en el cérvix y las extremidades tubulares de los cuernos uterinos, similar a la placenta de la orca, *Orcinus orca*, como reportan Benirschke y Cornell, y Schroeder (2 y 50).

El cordón umbilical no presenta torsión y posee cuatro grandes vasos y un ducto amniótico localizado centralmente. Como en otros cetáceos y ungulados, muchos vasos alantoideos pequeños se encuentran también presentes y se originan de los grandes vasos umbilicales. En la superficie del cordón existen numerosas pústulas y placas negras y pocas blancas, algunas de las cuales pueden ser desprendidas fácilmente. La mayoría son planas aunque se observan algunas ligeramente pedunculadas. Histológicamente consisten en áreas de

metaplasia escamosa y queratinización, en los individuos estudiados. La melanina se encuentra presente tanto en el epitelio basal como en los melanocitos del tejido conectivo de la mayoría de las placas pedunculadas. Las placas se extienden sobre la superficie amniótica, en donde se encuentran mucho más dispersadas que en el cordón umbilical (se han reportado estas placas en cetáceos, artiodáctilos y proboscídeos, entre otros). Varían en tamaño y número considerablemente. Muy probablemente se relacionan a la derivación del amnion desde el ectodermo embrional con su capacidad de sufrir metaplasia escamosa (2).

La forma de la placenta corresponde a un útero bicornuado, con la inserción del cordón mesometrialmente en el cuerno uterino más grande (algunos autores señalan que el izquierdo, generalmente). Una cavidad alantoidea no llena completamente el saco coriónico, como afirman Wisloky y Enders (1941)*. Se encuentra unida al amniocorion en el lado mesometrial y con amnion en el resto de su superficie, donde las membranas son translúcidas (2).

Existe una descripción de las membranas fetales en *Orcinus* hecha por Turner (1872)**. El espécimen que se analizó

* Wisloky, G.B. and Enders, R.K.: The placentalation of the bottle-nosed porpoise (*Tursiops truncatus*). *American Journal of Anatomy*, 68: 97-125 (1941).

** Turner, W.: On the gravid uterus and on the arrangement of the foetal membrane in the Cetacea. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 26: 467-504 (1872).

presentaba una gestación avanzada, con el útero y el feto intactos. El feto se encontraba en el cuerno uterino izquierdo en posición para nacer cefálicamente y, sorprendentemente, el cuerpo lúteo se encontró en el ovario derecho. El saco coriónico se extendía hasta el cuerno uterino derecho, y el cérvix era ocluido por un fuerte tapón de moco cervical, como es normal en cetáceos. En general las observaciones de Benirschke, K. y Cornell, L.H. (2) coinciden con las de Turner (1872), con algunas excepciones. En primer lugar no encontraron las puntas corionicas desnudas que corresponderían a las terminaciones tubulares de los cuernos uterinos, la parte cervical, por supuesto, había sido rota durante el parto (ellos analizaron las placentas de dos orcas después del parto). En cambio, encontraron algunas crestas lisas que pudieron ser ocasionadas por la labor de parto. En segundo lugar, la estructura del cordón umbilical difiere de la descrita por Turner, que tuvo un ducto alantoideo colocado excéntricamente y las arterias enroscadas alrededor de las venas. El cordón descrito por ellos (2) tenía un ducto alantoideo ubicado en el centro y mostraba una remarcable ausencia de torsión de las arterias alrededor de las venas. Ellos creen que los giros encontrados en los cordones umbilicales se deben a movimientos fetales, por lo tanto se puede esperar ausencia de torsión en fetos orientados longitudinalmente (2).

6.4 El parto en delfines.

El proceso del nacimiento de cualquier mamífero es estresante, pero debe serlo particularmente en cetáceos ya que el feto es expulsado del útero directamente al agua, en donde puede ahogarse o perder calor rápidamente. Se han reportado nacimientos en cautiverio pero rara vez se ha reportado alguno en vida libre (4, 8, 13, 14, 20, 24, 26, 34, 35, 37, 50 y 58).

Un parto inminente se muestra por cambios observables en la conducta de la hembra. El consumo de alimento se interrumpe aproximadamente 24 horas antes del nacimiento, y se observan cambios en su patrón de nado. Movimientos de encorbar y arquear la espalda, y fuertes, cortas y forzadas exhalaciones aumentan en frecuencia cuando la hembra se aproxima a término. La hembra normalmente nada sola, lejos de los demás delfines mantenidos en el mismo estanque. Hembras con la cola de la cría visible, se han observado asumiendo una posición de cabeza, con la parte posterior del cuerpo y aletas caudales fuera del agua verticalmente, mostrando la región genital. En esta posición la hembra arquea y flexiona la cola y la región abdominal repetidamente. El nacimiento, desde que se observa dilatación con aparición de las aletas caudales de la cría hasta el nacimiento en sí, normalmente dura de 30 a 40 minutos, aunque algunos partos exitosos se han reportado

•

hasta de dos horas. La placenta es expulsada de 8 a 12 horas después del parto (8).

También se ha observado falsa labor de parto en delfines. En particular, este fenómeno se observó repetidamente en un periodo de varios días, cerca de 7 semanas antes de que realmente se presentara el parto. Se caracterizó por estiramiento y distensión de la vulva, exactamente de la misma forma en que se presenta durante el parto (37).

Se ha observado que el comportamiento de la madre no puede ser distinguido del de los demás individuos del estanque, sino hasta después de la mitad de la gestación (37).

Inmediatamente después del nacimiento de la cría, la madre gira hacia ella, en una actitud que había sido interpretada como un intento de la madre por cortar el cordón umbilical de una mordida, como lo hacen muchos mamíferos terrestres (13 y 14). Sin embargo es posible que sea una apreciación incorrecta ya que en todos los casos el cordón umbilical es cortado a unas 4 pulgadas del cuerpo de la cría, cuando no mas de 3 pulgadas del final de la placenta ha protruido de la vagina. Además el delfín adulto no puede flexionar su cuerpo lo suficiente como para llevar la trompa a su región genital. Una mejor explicación es que la hembra gira inmediatamente para estar en posición de asistir al recién nacido para llegar a la superficie a respirar, en caso necesario. En

muchos abortos, se ha observado de hecho a las madres llevar a sus crías muertas a la superficie (37).

En muchos de los casos de partos en cautiverio, una o dos hembras acompañan a la madre durante y después del parto. Sobre todo hembras más experimentadas (13 y 50). En algunos lugares colocan a hembras primerizas gestantes, en estanques con hembras que están a término o son lactantes. Aunque no existe una base científica, para algunos autores la observación de nacimientos y crianza, ayuda a las madres primerizas a atender mejor a sus crías (50).

El delfín nariz de botella recién nacido, se parece mucho a un adulto en muchos sentidos. Su cabeza, como normalmente sucede con la mayoría de las crías de mamíferos, es desproporcionadamente grande. El cuello muestra claramente una especie de constricción, la cual se encuentra ausente en adultos bien alimentados, y sólo se observa en adultos en estado de inanición. La aleta dorsal de la cría es suave y, en todos los casos observados por McBride y Kritzler (37), doblada hacia el lado derecho. Las aletas caudales son también suaves y curvadas hacia abajo. Tanto las aletas caudales como la dorsal, se observan flácidas al nadar, y se enderezan y endurecen durante las dos primeras semanas de desarrollo de la cría. Su suavidad inicial, sin embargo, no parece impedir que la cría nade tan rápido como su madre,

incluso antes de haber tomado por primera vez leche materna (Foto No. 7) (37).

Particularmente notoria es la presencia, en ambos lados del tronco, de seis marcas verticales acomodadas simétricamente. Las marcas carecen de pigmento en el recién nacido. Se cree que son producidas por ordenamiento de las arrugas de la piel pues el feto permanece doblado en el útero. Como ocurren en ambos lados, se considera evidencia de que el feto cambia esta flexión de lado a lado. Una hilera sencilla de siete u ocho vellos curvados se encuentra presente a cada lado de la porción maxilar de la trompa. Estos se pierden cuando la cría tiene un mes de edad, pero los folículos son evidentes a lo largo de toda la vida. Los ojos están abiertos al nacimiento, y la visión parece ser buena. Los dientes aun no brotan en el delfín recién nacido, pero se encuentran presentes en las prominencias de las encías, separados por profundas hendiduras transversas. Los dientes surgen de cada una de estas a la edad de seis semanas. El delfín nariz de botella recién nacido, puede ser de 36 a 40 pulgadas (93 a 104 cms., aprox.) de largo, y pesar cerca de 25 libras (11 kgs. aprox.) (8, 13, 20, 24, 26, 37, 50 y 58).

Partos que duren más de 2 horas son causa de preocupación, pero es posible en algunos casos asistir a la hembra. La presentación normal de nacimiento es con la aleta caudal de la cría primero, y una fuerte tracción de la misma puede

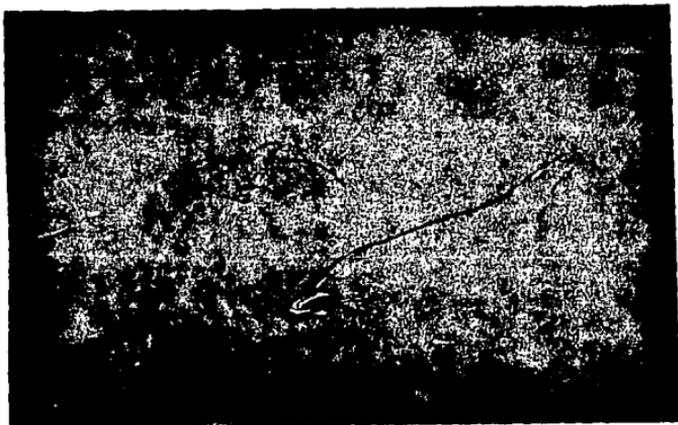


Foto No. 7. Cometa, hembra *Tursiops truncatus* madura, y su cría de 10 días de edad en "Jungla Mágica", Cuernavaca Mor., México.

ayudar (si es que se puede acercarse a la hembra). El Dr. David Mackay, del NOSC de Oahu, Hawaii, atendió el nacimiento de un delfín en el que el feto se presentó con la cabeza primero y murió después de 4 a 5 horas de labor de parto. Él fue capaz, después de varar a la hembra, de insertar un instrumento obstétrico en el respiráculo del feto y sacarlo lentamente. La intervención del Dr. Mackay hizo posible que la delfín madre sobreviviera (50).

6.5 Período de lactación.

Algunos autores afirman que, inmediatamente después del parto, la hembra gira sobre uno de sus costados para permitir a la cría mamar, tomando su posición normal solo cuando la cría es diestra en este procedimiento. Durante la lactancia presiona con la trompa la región abdominal en donde se encuentran los pezones (Cap. 2), a un lado de la hendidura genital y forma un recipiente con su paladar y su lengua, a través del cual la leche pasa de la madre a la cría. La lactancia dura normalmente de 12 a 18 meses* y se realiza completamente bajo el agua, aunque puede empezar a consumir pequeñas cantidades de pescado a los 3 o 4 meses de edad, que es cuando le empiezan a brotar los dientes. Cada toma dura normalmente menos de un minuto. Una cría se amamanta de dos a tres veces por hora, a lo largo del día y de la noche.

La leche de la delfín madre es muy rica, contiene de 20 a 30% de grasa y de 10 a 16% de proteína, así la cría desarrolla rápidamente una gruesa capa de de grasa aislante.

Es condiciones normales, el delfín recién nacido nada hacia la superficie para su primera respiración, sin ayuda. Durante las primeras semanas, cuando sale a la superficie del agua para respirar, lo hace con la cabeza en un ángulo de 45

* Bottlenose Dolphin. Fact Sheet. A Sea World Education Department Publication. Sea World Inc., 1986.

grados en relación a la misma, para salpicar un poco de agua al volver a entrar. No es sino hasta después de un par de meses, que adquiere el patrón suave que caracteriza la salida a respirar de los adultos. Si por alguna razón la madre tiene que nadar a mayor velocidad, la cría puede mantenerse a ese ritmo de nado, incluso a los pocas horas de haber nacido. Debido a su pequeño tamaño, la cría es forzada a mover sus aletas caudales más rápidamente que los adultos y, aunado a que pierde calor más fácilmente, su frecuencia respiratoria es casi el doble de la de un delfín adulto (37).

Las madres son extremadamente protectoras con sus crías. Las mantienen muy cerca de sus costados quitándolas o epujándolas lejos de objetos nuevos o desconocidos. Las alejan de otros animales que caen al agua después de un salto o a mitad de una pelea, y en general no permiten que se alejen demasiado (13).

La cría está en constante comunicación con su madre casi desde el momento del nacimiento, usando débiles silbidos como señales, que pueden ser escuchados con hidrófonos y que a menudo pueden ser vistos como columnas de burbujas saliendo de su respiráculo (6 y 13).

Los primeros sonidos emitidos por el delfín recién nacido son "trémulos y temblorosos", indicando que la cría aprenderá poco a poco a controlar sus comunicaciones (13). Actualmente

se ha demostrado que cada uno de los delfines tiene su propio y particular silbido, "signature whistle"(6), y se cree que la madre es capaz de reconocer a su propia cría por el tono y calidad de su silbido (13 y 58).

Caldwell y Caldwell (6), reportan que las crías que son retiradas de sus madres, a menudo producen estos silbidos constantemente, por horas y hasta días, comportamiento que sugiere inestabilidad emocional (6).

6.6 Algunos problemas que se presentan pre durante y post-parto.

Como se mencionó en 6.4, un parto que dura más de dos horas se considera como preocupante y de ser posible, se debe de actuar lo antes posible para tratar de salvar a la madre, y a la cría en caso de que aún esté viva (50).

Con pocas excepciones, los partos anormales observados en *Tursiops*, y en algunas otras especies, fueron muy prolongados, variando de dos hasta más de nueve horas. En cinco casos reportados por McBride y Kritzler (37), las madres nadaron mucho alrededor del estanque, e hicieron esfuerzos por evitar a otros delfines mientras avanzaba el parto. Durante el nacimiento más largo, la madre hasta comió, a pesar de que el feto se encontraba parcialmente afuera. En

un caso de *Stenella*, el nacimiento avanzó rápidamente, la madre nadando no más de lo necesario para mantener su posición en la corriente. No fue sino hasta que el parto fue intrrumpido y se dió lugar a una aparente estrangulación, que la madre empezó a nadar rápidamente alrededor del estanque. Durante este periodo, que duró 29 minutos, el feto pareció estar colgado de su aleta pectoral izquierda. Cuando se liberó la aleta, el nacimiento siguió retrasado, mientras que la madre continuaba nadando muy excitada, el feto seguía sostenido por la cabeza y el cordón umbilical. Cuando el feto fué finalmente expulsado, un buzo lo recogió rápidamente y, a pesar de que nunca se movió, se detectó el latido de su corazón por algunos minutos (37).

6.6.1 Algunos agentes etiológicos reportados.

Mientras que la lactancia dura 18 meses, se ha observado que las crías comienzan a consumir alimento sólido cerca de los seis meses de edad, y a la edad de 12 meses, con buenos cuidados y atención, una cría nacida en cautiverio debe tener una muy buena oportunidad de sobrevivir aún perdiendo a su madre. Sin embargo, la gran mortalidad de crías capturadas a una edad estimada de uno a dos años, sugiere que la separación forzada de la madre y su introducción a un medio extraño, con extrañas compañías, no puede ser tolerado, aún

cuando el animal ya sea capaz de sobrevivir con una dieta de pescado (58).

Wood (58) menciona que la mayor parte de las crías que nacieron vivas y murieron en un periodo de menos de un año, en Marineland de Florida, de 1939 a 1969, fueron víctimas de erisipela.

Cornell, et al. (8), reportan que de 36 delfines nariz de botella nacidos en el Sea World de California y el Sea World de Florida, de 1978 a 1985, siete murieron en menos de un año de edad: dos de las crías, una de dos meses y una de nueve meses, murieron como resultado de interacciones sociales agresivas dentro de la colonia; dos crías, una de cuatro y una de once meses, murieron debido a problemas respiratorios causados durante un manejo que fué necesario realizar; dos crías (ambas eran la primera cría nacida de sus respectivas madres), murieron durante la primera o segunda semana de nacidas, tanto por que la madre no produjo leche, como por que se reusó a amamantarla; una de las crías tuvo un defecto cardíaco congénito (persistencia de foramen oval), y murió a las dos semanas de edad (8).

Se han reportado también abortos, sobre todo en hembras que han concebido en vida libre y que posteriormente fueron capturadas, debido a lo estresante del manejo, o en hembras primerizas. Algunas de estas hembras, en las que su primer

cría fué abortada, nunca pudieron parir una cría viva, después de subsecuentes gestaciones (8 y 58).

Recientes hallazgos incluyen *Toxoplasmosis* en una hembra *Tursiops truncatus* y su cría. Ambos fueron encontrados en Picnic Island en Tampa Bay, Florida (USA) y se llevaron a un parque marino. A pesar de la terapia los animales murieron. La necropsia reveló neumonía severa linfadenopatía en la madre y en la cría, úlceras gástricas e infección con *Braunina cordiformis* en la madre, y marcada palidez hepática en la cría. Se identificó *Toxoplasma gondii* por medio de microscopía luminosa y microscopía electrónica, y por inmunocitoquímica en los tejidos de ambos animales. El *Toxoplasma gondii* se asoció a *pneumonía intersticial*, *adrenalitis necrotizante* y *mionecrosis cardiaca* en la madre, y con *necrosis linfoide* en ambos delfines. La fuente de infección y su relación con varamientos recientes de delfines, son desconocidas. Este es el primer caso reportado de *toxoplasmosis* en *catáceos* (9 y 28). También se ha reportado *toxoplasmosis* en *Stenella* (38).

Dentro de las enfermedades parasitarias Dailey, et al. (10) menciona que fueron colectados nemátodos pulmonares adultos, identificados como *Haloceros lagenorhynchi*, de los pulmones de cuatro crías *Tursiops truncatus*. Las crías variaban desde recién nacidas hasta tres semanas de edad, y fueron encontradas en las costas de Florida (USA). Estos hallazgos

sugieren la posibilidad de una distribución más cosmopolita de las infecciones prenatales con nemátodos pulmonares en cetáceos que las que se sospechaban anteriormente (10).

Se pueden llegar a presentar cálculos vaginales en delfines, algunos de ellos, se ha especulado, parecen ser vestigios de huesos fetales. Una de las hipótesis menciona que los cálculos representan abortos espontáneos incompletos, con retención de parte o de todo el feto en la parte distal del tracto reproductivo (59).

CAPITULO 7. Otras estrategias usadas en la crianza de delfines en cautiverio.

Muchos métodos se han usado en la crianza de delfines en cautiverio desde 1939. El método más sencillo coloca un macho y una hembra en un gran estanque y permite a la naturaleza seguir su curso. Sin embargo, en algunos lugares, esta práctica no ha dado ningún resultado, y se menciona que lo más importante parece ser el tratar de establecer un grupo social estable, de uno a dos machos maduros, colocados con cuatro a siete hembras también sexualmente maduras (8, 50 y 58).

En las instalaciones de NOSC (Naval Ocean Systems Center), los delfines son mantenidos juntos con propósitos reproductivos cuando el nivel de progesterona sérica de la hembra indica que está en época de apareamiento o en su ciclo reproductivo. Se coloca un macho maduro en el estanque de una hembra sexualmente madura (o viceversa), cuando no han sido puestos juntos con anterioridad en un mismo estanque, dando como resultado cinco gestaciones de cinco intentos, usando como criterio los niveles de progesterona sérica. La novedad de copular con un delfín "nuevo", puede incrementar la eficiencia reproductiva (50). Obviamente esto está limitado al número de animales que se posee y a la facilidad de manejo que se tenga.

7.1 Inducción de la ovulación.

La inducción de la ovulación a través de inyecciones intramusculares de gonadotropina de suero de yegua gestante (PMSG*), seguida de gonadotropina coriónica humana (HCG**) es un procedimiento experimental que puede ser ventajoso en programas reproductivos de delfines en cautiverio, permitiendo la regulación del ciclo estral (46, 49, 50 y 51). La ovulación fué inducida en 14 de 20 intentos. La dosis e intervalos óptimos 1600 UI de PMSG inyectados por vía intramuscular (IM), seguida en 48 horas de una segunda inyección de 800 a 1000 UI de , seguida en 120 días de una inyección IM de 3000 UI de HCG, causando ovulación de el óvulo desarrollado. El desarrollo de este procedimiento en delfinarios es factible si se entrena a los delfines a presentar su aleta caudal para obtención de muestras sanguíneas por venopunción, a no ser que se cuenta con una angosta área de confinamiento, que permita manejar al delfín con la mayor seguridad y con el menor estrés posible para el animal (49 y 50).

1. Para empezar un estudio de inducción de la ovulación, una muestra de suero fresca es enviada a un laboratorio comercial confiable para RIA muy temprano por la mañana, y se espera que el resultado sea entregado en un lapso de pocas horas; un

* Gestyl, Organon Pharmaceuticals.

** Pregnyl, Organon Pharmaceuticals.

nivel de progesterona sérica menor de 1 ng/ml indica una hembra no gestante en anestro, y condiciones apropiadas para poder empezar el estudio.

2. Si el nivel de progesterona es menor de 1 ng/ml de suero, la primera inyección será puesta a las 9:00 a.m. del "día 1". Lo antes posible después del resultado positivo de la muestra de suero.

- Día 1 (lun) - Muestra sanguínea, inyección de PMSG a las 9:00 a.m..
- 2 (mar) - Observación de la conducta de la hembra.
- 3 (mie) - Muestra sanguínea, inyección de segunda dosis de PMSG a las 9:00 a.m..
- 4 (jue) - Observación de la conducta de la hembra.
- 5 (vie) - Observación de la conducta de la hembra.
- 6 (sab) - Observación de la conducta de la hembra.
- 7 (dom) - Observación de la conducta de la hembra.
- 8 (lun) - Muestra sanguínea, Inyección IM de HCG a las 9:00 a.m.; a las 4:00 p.m. muestra sanguínea y si se planea la reproducción, aplicar IA*, o introducir al macho semental.
- 9 (mar) - Muestra sanguínea y repetir IA si se realizó el día 8.
- 15 (lun) - Tomar otra muestra sanguínea.
- 29 (lun) - Tomar otra muestra sanguínea.

* Inseminación Artificial.

Resultados: Niveles de progesterona de 1 ng/ml indican que no hubo ovulación.

Niveles de progesterona de 3 a 56 ng/ml indican ovulación o gestación.

Cada muestra sanguínea debe totalizar cuando menos 40 ml, colectados parcialmente en un tubo de 2 ml heparinizado para hematología, y el resto colocado por separado en 16 tubos Vacutainer SST. Los tubos SST deben ser centrifugados, y el suero separado, etiquetado, y congelado para almacenamiento en frascos de 3 ml. Uno de los frascos debe ir al laboratorio para análisis de progesterona sérica con RIA, y el resto deberá ser almacenado para análisis adicionales. Es muy importante que los delfines estén habituados a los procedimientos de muestreo sanguíneo antes de empezar la prueba. La técnica de muestreo sanguíneo que se prefiere, es por venopunción de las aletas caudales, presentadas al entrenador o en su caso al Veterinario, mientras el delfín permanece dentro del agua (49 y 50).

7.2 Inseminación Artificial (IA).

La Inseminación Artificial en delfines nariz de botella es un procedimiento experimental desarrollado en NOSC, Hawaii Laboratory. Como se menciona en capítulos anteriores, la reproducción natural de delfines en cautiverio ofrece muchas

ventajas sobre la captura de individuos en vida libre. Aunado a que existen beneficios económicos, y que ayuda a conservar la Fauna Silvestre, existen otras ventajas. Animales enfermos no son introducidos a instalaciones libres de enfermedad y el contacto humano puede realizarse en las primeras etapas del desarrollo del animal, facilitando su posterior manejo y entrenamiento.

La aplicación de las técnicas de IA en delfines en cautiverio puede brindar beneficios adicionales.

1. La facilidad de enviar semen congelado de un deseable delfín macho en cautiverio, ahorrando el gasto de transportación del animal de una instalación a otra para reproducción.
2. La mejora en la selección genética de delfines en cautiverio.
3. Eliminar las agresiones de algunos machos sobre las hembras en época de apareamiento.
4. Permitir la reproducción de hembras muy dominantes con las que machos más jóvenes no pueden copular.
5. El establecimiento de una colonia de delfines en cautiverio autosuficiente.
6. Intercambio de material genético con otros delfinarios, sin necesidad de mover a los animales de sus instalaciones.

Ventajas adicionales pueden ser la aplicación de IA, usando el modelo de los delfines nariz de botella, con otras

especies de odontocetos amenazadas de extinción, como son el beiji (delfín de río Chino) *Lipotes vexillifer* o la Vaquita (el delfín más pequeño del mundo y que es endémico de México). Su potencial aplicación en belugas (*Delphinapterus leucas*), orcas (*Orcinus orca*), y falsas orcas (*Pseudorca crassidens*) en cautiverio también debe ser considerado (50 y 51).

7.2.1 Técnica de Inseminación Artificial (IA).

Usando semen descongelado o recién colectado, la IA en la hembra nariz de botella u otros cetáceos, debe realizarse sólo después de que su perfil reproductivo ha sido determinado (como ha sido indicado con anterioridad). Debe ser entrenada a contención suave fuera del agua, y manipulación de su área genital (en una camilla con un corte que permite el acceso a la hendidura genital). La inducción de la ovulación, provee de un método para estimar la ovulación y el tiempo de apareamiento. Un método alternativo es entrenar a la hembra para colección de orina. Análisis de laboratorio de muestras diarias de orina para reportar incremento en los niveles de estrógenos son indicativos de ovulación (Cap. 4) (50 y 57).

Anterior a la IA, el área genital se prepara con Betadine frotado. Todos los instrumentos son esterilizados en frío con solución Novalsan, y bañados con Solución Salina Fisiológica

estéril inmediatamente antes de usarse. Después de que es colocado en la vagina un tubo endotraqueal modificado (acortado) de 16 mm (hasta el pseudocérvix), una punta a control remoto de un laringoscopio** flexible de 50 cms se coloca en el espacio espermatecal, y 2 ml de semen recién descongelado es inyectado a través del puerto de aspiración del laringoscópio. Las claves para el éxito de la IA son la visualización del pseudocérvix y la manipulación de la punta del laringoscópio a través del pseudocérvix. Se eligió no entrar al útero con la punta del laringoscópio para evitar el riesgo de introducir alguna infección. Para asegurar la asepsia y la adecuada colocación del semen, el laringoscopio es retirado (después de que se ha depositado el semen), y se hace un cultivo bacteriano de su punta, y el tubo endotraqueal es examinado con con la mira fibro-óptica para buscar restos de semen; la ausencia de semen indica su exitosa entrada dentro del espacio espermatecal. La concepción puede ocurrir si la hembra ovula, el momento de la IA en relación a la ovulación es correcto, y la capacitación espermática y la reacción acrosómica se realizan (50).

Inmediatamente después de concluido el procedimiento de IA, la hembra es elevada a un ángulo de 30°, con la cabeza hacia abajo, para aprovechar la gravedad, y ayudar a los espermatozoides a pasar a través del cérvix hacia el útero.

**AO Scientific Instruments Fiber Optics.

El semen descongelado remanente es evaluado para determinar el número de espermatozoides introducidos. Schroeder reporta 5 procedimientos de IA realizados usando de 2 a 3 ml de semen conteniendo de 710.1×10^6 espermatozoides por mililitro (50).

7.2.2 Evaluación de la Inseminación Artificial (IA).

El procedimiento de IA fue técnicamente exitoso, según Schroeder (50), y bien tolerado cinco veces por tres hembras *Tursiops truncatus*. El equipo de fibra óptica flexible es esencial para permitir la visibilidad del pseudocérvix. En su primer intento de IA, Schroeder utilizó un laringoscópio recto de equino, que no permitió una apropiada visualización, para prevenir que el semen fuera colocado en el espacio espenatecal del cérvix. De cinco intentos de IA, el segundo (usando ya un laringoscopio de fibra óptica flexible) y el quinto, dieron como resultado un incremento en los niveles de progesterona indicando gestación por 10 y 14 semanas. Aun no hay nacimientos como resultado de la IA en delfines nariz de botella, pero el número de muestras es aún pequeño (50).

7.3 Colección y almacenamiento del semen.

En 1952 Poge describió algunas técnicas para congelar semen de toro manteniendo su capacidad de fertilización. El encontró que el agua celular es reemplazada por glicerina, la célula puede ser sometida a temperaturas bajo cero y permanecer en "animación suspendida"* por largos periodos de tiempo. Esta técnica impresionante de preservar la célula germinal del macho, *ad infinitum*, con su información genética intacta, vino a beneficiar inmesurablemente las ciencias de la reproducción, la genética y la biología celular en todo el mundo (27).

Los espermatozoides pueden ser extraídos por medio de algunas técnicas: permitiendo la cópula natural, seguida de la extracción del semen de la cavidad vaginal; por masaje del pene y/o los órganos sexuales secundarios; por medio del uso de una vagina artificial; por aplicación de impulsos eléctricos controlados, tanto en animales vivos como muertos; y por paracentesis de los reservorios de células espermáticas (27).

En delfines se ha usado la electroeyaculación con ningún resultado positivo (27). El método más utilizado actualmente es acostumar en primer lugar al delfín macho para permitir

* Poge, C.: Fertilization capacity of bull spermatozoa after freezing at -79°C . *Nature*, 169:626-627 (1952).

la colección de semen, que incluye entrenarlo para permanecer en posición horizontal, con su vientre hacia la superficie del agua. Esto lo realiza muy cerca de la orilla del estanque, permitiendo al entrenador tener fácil acceso al área de su hendidura genital. Después de que el delfín aprende a adoptar dicha posición, empieza el entrenamiento de la erección peneana a la señal. Los pasos iniciales son: la manipulación de la hendidura genital y exposición de la punta del pene. Erecciones parciales son reforzadas inmediatamente. La etapa final del entrenamiento de erección del pene y colección de semen es condicionar al delfín a aceptar una funda de plástico clara de 40 ml, unido a un tubo de ensayo estéril de 15 ml, sobre la punta del pene completamente erecto. Con presión y masaje suaves, sobre la porción distal del pene, se realiza la eyaculación y el semen es colectado en el tubo de ensayo. Este proceso de entrenamiento lleva de 50 a 60 días, con una o dos sesiones de 15 a 20 minutos diariamente. Este entrenamiento, junto con el de presentar la aleta caudal para muestreo sanguíneo por venopunción, permite tomar muestras de semen dos veces por semana, y de sangre dos veces al mes sin ningún problema, para monitoreo del estado de salud del animal y para el análisis de testosterona (50).

7.4 Evaluación del semen.

La evaluación del semen sigue inmediatamente después de su colección, para volumen, cuenta total espermática (con hemocitómetro), apariencia, porcentaje de motilidad, y motilidad progresiva (movimientos rápidos hacia el frente). La densidad espermática (expresada como el número de esperma $\times 10^6$ /ml de eyaculado) proporciona la forma para evaluar el número de espermias por mililitro de eyaculado. Es aceptado generalmente que eyaculado conteniendo el mayor número de espermias por mililitro es el esperma más rico y eficiente para la reproducción. Hasta 12 eyaculados pueden ser colectados durante una sesión de 23 a 30 minutos. Los volúmenes de eyaculado individuales pueden variar de 0.1 a 39.5 ml. La cuenta espermática total varía de 0 a 54.46×10^9 . La densidad espermática de esperma obtenido diariamente varía de <1 a 1587×10^6 /ml.

El semen de los delfines fue congelado por el método de pilet. El método utiliza un diluyente ctyoprotector de lactosa (11% (w/v), 20% (v/v) yema de huevo, 6% (v/v), adicionado a agua desionizada, para hacer 100 ml de solución que incluyen 1000 UI de penicilina G/ml y 1.25 mg de sulfato de estreptomina por mililitro) (50).

CAPITULO 8. Conclusiones.

En base a la información antes citada se llegan a algunas conclusiones básicas:

- Es una necesidad imperiosa el establecer programas reproductivos con todas las colecciones de Fauna Silvestre que se posean en cautiverio, para poder mantener poblaciones estables sin tener que recurrir a su captura en vida libre. Con los delfines en particular existe una iniciativa del Gobierno Federal mexicano, para incluir en la Ley de Pesca elementos más rigurosos que sancionen, incluso con la privación de la libertad, a quienes realicen actos que atenten contra la ecología y la protección de las especies. En el Diario Oficial del 30 de diciembre de 1991 se publicó un Decreto que adiciona el artículo 254 bis al Código Penal para el D.F. en materia de fuero federal que indica que "quienes de manera intencional capturen, dañen gravemente, o priven de la vida a quelonios o mamíferos marinos, recolecten o comercialicen en cualquier forma sus productos sin autorización, en su caso, de la autoridad competente, se les impondrá pena de seis meses a tres años de prisión". Aunado a los esfuerzos que el gobierno mexicano realiza en materia de conservación de las especies, en particular de mamíferos marinos, se han de realizar investigaciones en cuanto a la posibilidad de criar delfines nariz de botella en cautiverio en nuestro país, (una especie que desde los primeros años de

vida en cautiverio en otros países como los Estados Unidos de Norteamérica en los años 40s, han reportado una gran éxito reproductivo debido a la facilidad de manejo de esta especie, y que sin embargo en nuestro país, con más de 10 años manteniendo delfines en cautiverio, no se ha alcanzado) para en su momento poder traspolar las mismas técnicas con especies con un alto riesgo de extinción, como la vaquita, que es el más pequeño de los cetáceos y es endémico de México.

- Uno de los principales puntos a atacar es sin duda el entrenamiento de los animales. Debido a que son animales que se presentan como espectáculo al público, existe la facilidad de entrenarlos también para poder obtener ya sea muestras sanguíneas por venopunción o frotis vaginales como se describe en el capítulo 4, sin estresarlos. Como se menciona en el mismo, sólomente de esa manera es posible obtener muestras confiables, en primer lugar acerca de la salud del animal, ya que son animales que no manifiestan signos de enfermedad sino hasta que ya es sumamente difícil hacer algo para tratar de salvarlos, esto hace que los animales puedan enfermar y sanar sin que nosotros nos demos cuenta disminuyendo con ello su eficiencia reproductiva, para ello es necesario tener que muestrearlos constantemente; y en segundo lugar acerca de su estado reproductivo, pues sólo un monitoreo constante de los niveles de hormonas reproductivas, ya sea en sangre, en orina o por medio de citología vaginal exfoliativa, nos indicará si son maduros sexualmente o no, y

si son maduros en que fase del ciclo reproductivo se encuentran. En el caso de las hembras ver si están gestantes para poder tomar las medidas pertinentes, o si a lo largo de todo el año las hembras ovulan o no, para poder también actuar en consecuencia. Si estas muestras son obtenidas sólo de vez en cuando y de algunos animales, no se podrá establecer un patrón de niveles de hormonas reproductivas porque, como también se menciona en el trabajo, con una muestra aislada no se puede distinguir entre un aumento en los niveles de progesterona en las hembras debido a ovulación o a una gestación, por ejemplo. Además, si se obtienen las muestras capturando al animal con red y sacándolo del agua, el resultado de los mismos serán falsos debido a que, como se ha comprobado en algunos estudios, el estrés provoca un incremento en los niveles tanto de estrógenos y progesterona, como de andrógenos en los machos, ya que parte de ellos son producidos en las glándulas adrenales.

Este entrenamiento, creemos, es fundamental para poder arrancar un programa reproductivo en forma, obteniendo los perfiles de hormonas sexuales de todos los animales, cuando menos por un año, para poder determinar en primer lugar alguna enfermedad desde sus primeras etapas para poder establecer el tratamiento adecuado con ellos, y si existe algún problema reproductivo o no en nuestros animales, si son maduros reproductivamente o no, para poder plantear la estrategia reproductiva que ha de seguirse con ellos.

La experiencia mexicana en el manejo de Fauna Silvestre en cautiverio es alentadora ya que, independientemente de toda la problemática que involucra la administración de Parques Zoológicos, y las quejas de grupos ecologistas en cuanto a el trato que reciben los animales que se mantienen en cautiverio allí, se ha logrado reproducir con éxito especies que se encuentran en peligro de extinción, y que en ninguna otra parte del mundo lo han logrado tan rotundamente. Baste mencionar el caso de el Panda Gigante y de el Cóndor, reproducidos en el Zoológico de Chapultepec, como ejemplo. Pero aún queda mucho por investigar y por hacer, sobre todo en el área de Fauna Silvestre que en muchos aspectos resulta ser una incógnita para nosotros.

LITERATURA CITADA:

- 1.- Balke, J.M.E.: The Use of Vaginal Cytology in a Breeding Program. AAZFA Regional Proceedings, 513-516. (1988).
- 2.- Benirschke, K. and Cornell, L.H.: The Placenta of the Killer Whale *Orcinus orca*. Mar. Mamm. Sci., vol. 3, no. 1, 82-86. (1987).
- 3.- Brown, D.H. and Norris, K.S.: Observations of Captive and Wild Cetaceans. J. Mamm., 37(3): 311-326 (1956).
- 4.- Bryden, M.M.: Reproduction and Development. Whales, Dolphins and Porpoises. Edited by Harrison, R.J. and Bryden, M.M., 134-145, International Publishing Corporation, Singapore, Hong-Kong, 1988.
- 5.- Bryden, M.M. and Corkeron, P.: Intelligence. Whales, Dolphins and Porpoises. Ed. by Harrison, R.J. and Bryden, M.M., 160-165, International Publishing Corporation, Singapore, Hong-Kong, 1988.
- 6.- Caldwell, D.K. and Caldwell, M.C.: Senses and Communication. Mammals of the Sea. Biology and Medicine. Edited by Ridgway, S.H., 466-502, Charles C. Thomas publisher, Springfield, Illinois (USA), 1972.
- 7.- Caldwell, M.C. and Caldwell, D.K.: Behavior of Marine Mammals. Mammals of the Sea. Biology and Medicine. Edited by Ridgway, S.H., 419-465, Charles C. Thomas publisher, Springfield, Illinois (USA), 1972.
- 8.- Cornell, L.H., Asper, E.D., Antrim, J.E., Searles, S.S., Young, W.G. and Goff, T.: Progress Report: Results of a Long-range Captive Breeding Program of the Bottlenosed Dolphin, *Tursiops truncatus gilli*. Zoo Biology, 6: 41-53 (1987).
- 9.- Cruickshank, J.J., Haines, D.M., Palmer, N.C. and St. Aubin, D.J.: Cyst of a *Toxoplasma*-like organism in an Atlantic bottlenose dolphin. Can. Vet. J., 31: 213-215 (1990).
- 10.- Dailey, M., Walsh, M., Odell, D. and Campbell, T.: Evidence of Prenatal Infection in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) with the Lungworm *Halocercus lagenorhynchi* (Nematoda: Pseudalidae). J Wild. Dis., 27(1): 164-165, (1991).
- 11.- Defran, R.H. and Pryor, K.: The Behavior and Training of Cetaceans in Captivity. Cetacean Behavior. Mechanisms and Functions. Edited by Herman, L.M., University of Honolulu, Hawaii (USA) 1980.

- 12.- Dierauf, L.A.: Stress in Marine Mammals. CRC Handbook of Marine Mammals Medicine: Health, Disease and Rehabilitation. Edited by Dierauf, L.A., 353-369.
- 13.- Ellis, R.: Dolphins and Porpoises. Published by Alfred A. Knopf, Inc., Ny (USA), 1989.
- 14.- Essapian, F.S.: Observations on abnormalities of parturition in captive bottlenosed dolphins, *Tursiops truncatus*, and concurrent behavior of other porpoises. J. Mamm., 44(3): 405-414, (1963).
- 15.- Fordyce, R.E.: Evolution. Whales, Dolphins and Porpoises. Edited by Harrison, R.J. and Bryden, M.M., 14-23, International Publishing Corporation, Singapore, Hong-kong, 1988.
- 16.- García, R.J.: Citología vaginal exfoliativa en perras. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista, Fac. Med. Vet. Zoot., U.N.A.M., México 1973.
- 17.- Geraci, J.R.: Influence of Stress and Disease on Reproductive Success in Cetaceans. Reproduction in Whales, Dolphins and Porpoises. Proceedings of the Conference Cetacean Reproduction: Estimating Parameters for Stock Assessment and Management, La Jolla, CA (USA) 28 nov.-7 dec., 1981. Edited by Ferrin, W.F., Brownell, R.L., Jr. and DeMaster, D.P., 477, Rep. Int. Whaling Comn., Washington, D.C. (USA), 1977.
- 18.- Green, R.F.: Gross Anatomy of the Reproductive Organs in Dolphins. Breeding Dolphins; present status, suggestions for the Future. Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 185-194, Rep. to Mar. Mamm. Commn., Washington, D.C. (USA), 1977.
- 19.- Green, R.F.: Observations of the Anatomy of Some Odontocetes and Pinnipeds. Mammals of the Sea. Biology and Medicine. Edited by Ridgway, S.H., 247-297, Charles Thomas publisher. Springfield, Illinois (USA), 1977.
- 20.- Gurevich, V.S.: Post-natal Behavior of an Atlantic Bottlenosed Calf (*Tursiops truncatus*, montagu) Born at Sea World. Breeding Dolphins; present status, suggestions for the Future. Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 168-184, Rep. to Mar. Mamm. Commn., Washington, D.C. (USA), 1977.
- 21.- Harrison, R.J.: Ovarian Appearances and Histology in *Tursiops truncatus*. Breeding Dolphins; present status, suggestions for the Future. Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 195-204, Rep. to Mar. Mamm. Commn., Washington, D.C. (USA).

- 22.- Harrison, J.R., Boice, R.C. and Brownell, R.L., Jr.: Reproduction in Wild and Captive Dolphins. *Nature*, 222: 1143-1147 (1969).
- 23.- Harrison, J.R., Brownell, R.L., Jr. and Boice, R.C.: Reproduction and Gonadal Appearances yn Some Odontocetes. *Functional Anatomy of Marine Mammals*. Edited by Harrison, R.J., 362-451, vol. 1. Accademic Press, New York (USA), 19
- 24.- Hecker, N.F.: Observations of Pregnancies of three *Tursiops truncatus* at the New England Aquarium. Proceedings of the International Marine Animal Trainers Association Conference. October 27-30, 1981. Edited by Barry, J. and Brill, R., 20-26, IMATA, Cambridge, Mass. (USA), 1981.
- 25.-Herman, L.M. and Tavolga, W.N.: The Communication Systems of Cetaceans. *Cetacean Behavior. Mechanisms and Functions*. Edited by Herman, L.M., 164, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii (USA), 1980.
- 26.- Hester, J.: Behavior of the First *Tursiops truncatus* Calf Born at the New England Aquarium. Proceedings of the International Marine Animal Trainers Association Conference. October 27-30, 1981. Edited by Barry, J. and Brill, R., 27-41, IMATA, Cambridge, Mass. (USA), 1981.
- 27.- Hill, H.J. and Gilmartin, W.G.: Collection and Storage of Semen from Dolphins. Breeding Dolphins; present status, suggestions for the Future, Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 205-210, Rép. to Mar. Mamm. Comm. Washington, D.C. (USA), 1977.
- 28.- Inskoop, W., Gardiner, C.H., Harris, R.K., Dubey, J.P. and Goldstan, R.T.: Toxoplasmosis in Atlantic Bottlenosed Dolphins. *J. Wildl. Dis.*, 26(3): 377-392, (1990),
- 29.- Judd. H.L. and Ridgway, S.H.: Twenty-four hour pattern of circulating Androgens and Cortisol in Male Dolphins. Breeding Dolphins; present status, suggestions of the Future. Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 269-277, Rep. To Mar. Mamm. Comm., Washington, D.C. (USA), 1977.
- 30.- Kanwisher, J.W. and Ridgway, S.H.: The Physiological Ecology of Whales and Porpoises, *Scientific American*, 248(5): 110-120 (1983).
- 31.- Kirby, V.L.: Endocrinology of Marine Mammals. *CrC Handbook of Marine Mammal Medicine. Health, Disease and Rehabilitation*. Edited by Dierauf, L.A.,
- 32.- Kirby, V.L.: Hormonal Evaluation of Ovulations and Pregnancy in Captive *Tursiops truncatus*. Reproduction in Whales, Dolphins and Porpoises, Proceedings of the Conference Cetacean Reproduction: Estimating Parameters for

- Stock Assessment and Management, La Jolla, CA (USA) 28 nov. - 7 dec. 1981. Edited by Perrin, W.F., Brownell, R.L., Jr. and DeMaster, D.P., 479, Rep. Int. Whaling Comm. (Special Issue no. 6), Cambridge (UK), 1984.
- 33- Kirby, V.L. and Ridgway, S.H.: Hormonal Evidence of Spontaneous Ovulation in Captive Dolphins, *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis*. Reproduction in Whales, Dolphins and Porpoises, Proceedings of the Conference Cetacean Reproduction: Estimating Parameters for Stock Assessment and Management, La Jolla, CA (USA), 28 nov. -7 dec. 1981. Edited by Perrin, W.F., Brownell, R.L. and DeMaster, D.P., 459-464, Rep. Int. Whaling Comm. (Special Issue no. 6) Cambridge (UK) 1984.
- 34.- Lowenstein-Whaley, J. and Cardeihal, P.: Reproductive Parameters for the captive Colony of Dolphins (*Tursiops truncatus*) at Marineland of Florida. Proceedings of the 17th Annual Conference and Workshop of the International Association for Aquatic Animal Medicine, Monterey Bay, CA (USA), may 22-25, 1988.
- 35.- Martin, A.R.: Whales and Dolphins, Salamander Books, Ltd., York Way (UK) 1990.
- 36.- Master, de, D.P.: Review of Techniques Used to Estimate the Average Age at Attainment of Sexual Maturity in Marine Mammals. Reproduction in Whales, Dolphin and Porpoises, Proceedings of the Conference Cetacean Reproduction: Estimating Parameters for Stock Assessment and Management, La Jolla, CA (USA), 28 nov. -7 dec. 1981. Edited by Perrin, W.F., Brownell, R.L., Jr. and Master, de, D.P., 175-179. Rep. Int. Whaling Comm. (Special Issue no. 6) Cambridge (UK), 1984.
- 37.- McBride, A.F. and Kritzler, H.: Observations on Pregnancy, Parturition and post-natal Behavior in the Bottlenose Dolphin. *J. Mamm.*, 32(3): 251-266, (1951).
- 38.- Miyaki, G., Sawa, T.R. and Dubey, J.P.: Fatal disseminated Toxoplasmosis in a Spinner Dolphin (*Stenella longirostris*). *Vet. Pathol.*, 27: 463-464, (1990).
- 39.- Morris, R.: The World of Senses. Whales, Dolphins and Porpoises. Edited by Harrison, R.J. and Bryden, M.M., 121-133, International Publishing Corporation, Singapore, Hong-Kong, 1988.
- 40.- Owen, S.J.: Use of an Enzyme Immunoassay to Determine Progesterone status in the Bottlenosed Dolphin (*Tursiops truncatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 21(1): 70-72, (1990).

- 41.-Perrin, W.F. and Reilly, S.S.: Reproductive Parameters of Dolphins and Small Whales of the Family Delphinidae. Reproduction in Whales, Dolphins and Porpoises, Proceedings of the Conference Cetacean Reproduction: Estimating Parameters for Stock Assessment and Management, La Jolla, CA (USA), 28 nov. -7 dec. 1981. Edited by Perrin, W.F., Brewnell, R.L., Jr. and Master, de, D.P., 97-133, Rep. Int. Whaling Comm. (Special Issue no. 6) Cambridge (UK), 1984.
- 42.- Richkind, M.: Steroid Hormone Studies in Pregnant and Nonpregnant Bottlenosed Dolphins, *Tursiops truncatus*. Breeding Dolphins; present status, suggestions of the Future. Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 261-268, Rep. to Mar. Mamm. Comm., Washington, D.C. (USA), 1977.
- 43.- Ridgway, S.H.: Homeostasis in Aquatic Environment. Mammals of the Sea. Biology and Medicine. Edited by Ridgway, S.H., 590-747, Charles Thomas Publisher, Springfield, Illinois (USA), 1972.
- 44.- Ridgway, S.H. and Carder, D.A.: Nasal Pressure and Sound Production in an Echolocating White Whale, *Delphinapterus leucas*. Sonar. Edited by Nachtigal, P.E. and Moore, P.W.E.; Prenum Publishing Corporation, 1988.
- 45.- Ridgway, S.H. and Fenner, C.A.: Weight-length relationship in Wild-Caught and Captive Atlantic Bottlenose Dolphins. JAVMA, 181(11): 1310-1315, 1982.
- 46.- Sawyer-Stefan, J.E., Kirby, V.L. and Gilmartin, W.G.: Progesterone and Strogens in Pregnant and Nonpregnant Dolphin and the Effects of Induced Ovulation. Biology of Reproduction, 28: 897-901, (1983).
- 47.- Scott, M.D., Perryman, W.L. and Hammond, P.: OBTENCION DE INFORMACION SOBRE LA REPRODUCCION DE DELFINES, MAGNITUD Y ESTRUCTURA DE LOS GRUPOS SEGUN FOTOGRAFIAS AEREAS. Memorias de la X Reunión Internacional sobre los Mamíferos Marinos, 24-27 de marzo de 1986, p. 127-136, Secretaría de Pesca, México, 1987.
- 48.- Sergeant, D.E., Caldwell, D.K. and Caldwell, M.C.: Age, Growth and maturity of Bottlenosed Dolphin, (*Tursiops truncatus*) from Northeast Florida. J. Fish. Res. Can., 30(7): 1009-1011, 1973.
- 49.- Schroeder J.P.: Induced Reproductive-Cycle Events in *Tursiops truncatus*. Reproduction in Whales, Dolphins and Porpoises, Proceedings of the Conference Cetacean Reproduction: Estimating Parameters for Stock Assessment and Management, La Jolla, CA (USA), 28 nov. -7 dec. 1981. Edited by Perrin, W.F., Brownell, R.L., Jr. and Master, de, D.P., 483, Rep. Int. Whaling Comm. (Special Issue no. 6), Cambridge (UK), 1984.

- 50.- Schroeder, J.P.: Reproductive Aspects of Marine Mammals. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease and Rehabilitation. Edited by Dierauf, L.A., 353-369,
- 51.- Schroeder, J.P.: Techniques for Improving Reproductive Efficiency in Tursiops. Proceedings of the 14th Annual Conference and Workshop of the International Association for Aquatic Animal Medicine. Long Beach, CA (USA), may 1-4, 1983.
- 52.- Schroeder, J.P., Keller, K.V. and Kirby, V.L.: Seasonal Testosterone Levels, Sperm Density and Evaluation of Semen Extenders in Tursiops truncatus. Proceedings of the 15th Annual Conference and Workshop of the International Association for Aquatic Animal Medicine. Tampa, Fla. (USA), april 20 - may 2, 1984.
- 53.- Sergeant, D.E., Caldwell, D.K. and Caldwell, M.C.: Age, Growth, and Maturity Of Bottlenosed Dolphin (Tursiops truncatus) from Northeast Florida. J. Fish. Res. Board Can., vol. 30(7): 1009-1011, July 1973.
- 54.- Smet, de , W.M.: The Position of Testes in Cetaceans. Functional Anatomy of Marine Mammals. Edited by Harrison, R.J., 361-386, vol. 3, Accademic Press, 1973.
- 55.- Stone, R.L.: Diagnostic Ultrasound in Marine Mammals. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease and Rehabilitation. Edited by Dierauf, L.A., 235-264...
- 56.- Sweeney, J.C.: Diagnosis of Pregnancy in Small Cetaceans with Doppler Sonography and other Techniques. Breeding Dolphins, present status, suggestions for the future. Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 211-216, Rep. to Mar. Mamm. Comn., Washington, D.C. (USA), 1977.
- 57.- Walker, L.A., Cornell, L.H., Dahl, K., Czevala, N.M., Dargen, C.M., Joseph, B., Hsuen, A.J.W. and Lasley, B.L.: Urinary Concentrations of Ovarian Steroid Hormone Metabolites and Bioactive in Killer Whales Orcinus orca during Ovarian Cycles and Pregnancy. Biol. Reprod., vol. 39(5): 1013-1020, (1988).
- 58.- Wood, F.G.: Birth of Porpoises at Marineland, Florida, 1939 to 1969, and comments involved in Captive Breedings of Small Cetacea. Breeding Dolphins; present status, suggestions for the future. Edited by Ridgway, S.H. and Benirschke, K., 47-60, Rep. to Mar. Mamm. Comn., Washington, D.C. (USA), 1977.
- 59.- Woodhouse, C.D. and Rennie, C.J.: Observations of Vaginal calculi in dolphins. J. Wild. Dis., 27 (3): 421-427, (1991).