

Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón

Monografías do IBADER - Serie Pecuaria

Ana María Bravo Moral



Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón

Autora:

Ana María Bravo Moral

A efectos bibliográficos a obra debe citarse:

Bravo Moral, A.M. (2019). Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón. Monografías do Ibader - Serie Pecuaria. Ibader. Universidade de Santiago de Compostela. Lugo.

Esta publicación foi sometida a un proceso de revisión por pares

Deseño e maquetación: Transmedia Comunicación e Prensa S.L.
www.transmedia.com

ISSN edición dixital: 1988-8341

Depósito Legal: C 173-2008

Edita: IBADER. Instituto de de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural. Universidade de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n, E-27002 Lugo, Galicia

Copyright: Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural (IBADER).

Editado coa colaboración da deputación de Lugo :



DEPUTACIÓN DE LUGO

Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón

Ana María Bravo Moral

Departamento de Anatomía, Producción Animal e
Ciencias Clínicas Veterinarias. Facultade de Veterinaria.
Universidade de Santiago de Compostela



IBADER
Instituto de Biodiversidade
Agraria e Desenvolvemento Rural

Monografías do IBADER - Serie Pecuaria
Lugo 2019

Monografías do IBADER

Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural

Temática e alcance

O Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural (IBADER) é un instituto mixto universitario, situado na cidade de Lugo e conformado pola Universidade de Santiago de Compostela, as Consellerías da Xunta de Galicia con competencias en Medio Ambiente e Medio Rural e a Deputación de Lugo.

Unha das actividades do IBADER é a publicación e difusión de información científica e técnica sobre o medio rural desde unha perspectiva pluridisciplinar. Con este obxectivo publícanse a revista Recursos Rurais e as Monografías do IBADER, espazos orientados a fortalecer as sinerxías entre colectivos vinculados ao I+D+I no ámbito da conservación e xestión da Biodiversidade e do Medio Ambiente nos espazos rurais e nas áreas protexidas, os Sistemas de Produción Agrícola, Gandeira, Forestal e a Planificación do Territorio, tendentes a protexer o Desenvolvemento Sostible dos recursos naturais.

A Revista científico-técnica Recursos Rurais publica artigos, revisións, notas de investigación e reseñas bibliográficas. A revista inclúe unha Serie Cursos, que publica os resultados de reunións, seminarios e xornadas técnicas ou de divulgación. As Monografías do IBADER divulgan traballos de investigación de maior entidade, manuais e textos de apoio a docencia ou investigación e obras de divulgación científico-técnica.

A revista Recursos Rurais atópase incluída na publicación dixital Unerevistas da UNE (Unión de Editoriales Universitarias Españolas) e na actualidade inclúese nas seguintes bases de datos especializadas: CIRBIC, Dialnet, ICYT (CSISC), Latindex, Rebiun e REDIB.

Política de revisión

Todos os traballos publicados polo IBADER deben ser orixinais. Os traballos presentados serán sometidos á avaliación confidencial de dous expertos anónimos designados polo Comité Editorial, que poderá considerar tamén a elección de revisores suxeridos polo propio autor. Nos casos de discrepancia recorrerase á intervención dun terceiro avaliador. Finalmente corresponderá ao Comité Editorial a decisión sobre a aceptación do traballo. Caso dos avaliadores propoñeren modificacións na redacción do orixinal, será de responsabilidade do equipo editorial —unha vez informado o autor— o seguimento do proceso de reelaboración do traballo. Caso de non ser aceptado para a súa edición, o orixinal será devolto ao seu autor, xunto cos ditames emitidos polos avaliadores. En calquera caso, os orixinais que non se suxeiten ás seguintes normas técnicas serán devoltos aos seus autores para a súa corrección, antes do seu envío aos avaliadores.

IBADER
Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural
Universidade de Santiago de Compostela
Campus Universitario s/n
E 27002 Lugo, Galicia (España)
Tfno 982 824500
Fax 982 824501
<http://www.ibader.gal>
info@ibader.gal

Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón

Resumen: La necropsia en animales es un procedimiento diagnóstico rutinario equivalente a la autopsia en humanos. El libro describe de manera pormenorizada una de las posibles técnicas de necropsia en la rata y el ratón, utilizada en Anatomía Patológica Veterinaria, ampliamente contrastada por la autora, con experiencia en su realización durante más de 3 décadas. La técnica que se describe garantiza el examen de los principales órganos y tejidos, de forma rutinaria y sencilla, resultando muy práctica en su aplicación por las fotografías que ilustran cada apartado de su desarrollo. Antes del abordaje de la técnica de necropsia, el libro revisa las reglas generales a considerar durante su realización para garantizar la utilidad de la técnica y evitar artefactos, y describe los materiales e instrumental necesarios para llevarla a cabo, así como los riesgos físicos, químicos y biológicos relacionados con su aplicación. El libro también propone un modelo de informe de necropsia y explica la toma de muestras para llevar a cabo estudios histopatológicos, toxicológicos, microbiológicos y parasitológicos.

Palabras clave: Técnica de necropsia, Toma de muestras, Rata, Ratón.

Necropsy Procedure and Sampling in Rats and Mice

Abstract: Necropsy in animals is a routine diagnostic procedure equivalent to autopsy in humans. The book describes in detail one of the possible necropsy techniques in rats and mice used by veterinary pathologists, widely contrasted by the author's experience on its application for more than 3 decades. The necropsy procedure described guarantees the routine and simple examination of the major organs and tissues; photographs in every chapter help to its practical application. Before the explanation of the technique, the book revises the general rules to take care of in order to ensure its utility and to avoid artifacts and describes the necessary materials and equipment as well as the physical, chemical and biological risks related to its development. The book also proposes a template for the necropsy report and explains the basic sampling for further histopathological, toxicological, microbiological and parasitological studies.

Keywords: Necropsy procedure, Sampling, Rats, Mice.

Índice

I. Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón	7
1. Introducción	7
2. Reglas generales	8
3. Materiales e instrumental necesarios	8
4. Riesgos físicos, químicos y biológicos	12
4.1. Riesgos físicos	12
4.2. Riesgos químicos	12
4.3. Riesgos biológicos	13
5. Informe de necropsia	14
6. Toma de muestras	17
6.1. Muestras para estudio histopatológico	17
6.2. Muestras para toxicología	19
6.3. Muestras para microbiología	20
6.4. Muestras para parasitología	21
7. Examen externo	22
7.1. Estado general del animal	22
7.2. Piel y anejos	22
7.3. Aberturas naturales	23
8. Inspección interna	23
8.1. Desollado	23
8.2. Apertura de la cavidad abdominal	24
8.3. Apertura de la cavidad torácica	28
8.4. Apertura de la cabeza	44
9. Bibliografía	48



Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón

Prof. Ana M^a Bravo Moral, DVM, PhD

Anatomía Patológica Veterinaria. Departamento de Anatomía, Producción Animal y Ciencias Clínicas Veterinarias. Facultad de Veterinaria, Campus de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela. Certificado de capacitación por la Xunta de Galicia en materia de protección de animales de experimentación conforme a la Orden ECC/566/2015 en las categorías B, C, D, E y F.

7

1. Introducción

La necropsia y toma de muestras en animales de experimentación es un procedimiento rutinario llevado a cabo por el personal responsable de la vigilancia sanitaria del animalario con el fin de diagnosticar el estado de salud de los animales; además, la necropsia es un método imprescindible en patología experimental que permite asociar las lesiones macroscópicas con la evolución clínica de una enfermedad, o para conocer los resultados de un protocolo experimental, no solo desde un punto de vista cualitativo (presencia o ausencia de lesiones), sino también cuantitativo (frecuencia o incidencia de una patología concreta). La necropsia es también fundamental para identificar el mecanismo patogénico de una enfermedad. Aunque se observen hallazgos en la necropsia que no se relacionen con el experimento objeto de estudio, su observación y diagnóstico debe remitirse a los responsables de la vigilancia sanitaria del animalario, criadores o suministradores, ya que pueden tener un interés potencial en la mejora de las condiciones sanitarias de los roedores suministrados para estudios de experimentación animal.

Para llegar a conocer la causa de la muerte de un animal se hace necesario conjuntar los hallazgos de la necropsia con los síntomas de la enfermedad y los resultados de laboratorio llevados a cabo antes, o inmediatamente después de la muerte (histopatológicos, bioquímicos, microbiológicos, etc). Lo recomendable es que en laboratorios de experimentación animal, cada investigador o técnico conozca y ensaye repetidamente la necropsia rutinaria de forma correcta.

Para que una necropsia y toma de muestras resulte útil es indispensable la realización de una técnica correcta, mediante su aplicación sistemática y siguiendo un protocolo completo que nos permita garantizar el examen de todas las partes del animal en las mejores condiciones, incluso aunque no se observen lesiones macroscópicas. La necropsia desordenada, o incompleta, puede llevar a un diagnóstico equivocado y la toma de muestras inadecuada afecta negativamente a la calidad de los resultados experimentales.

2. Reglas generales

Para evitar la progresión de los procesos degenerativos *postmortem*, autolisis y putrefacción, debemos realizar la necropsia lo antes posible después de la muerte del animal para impedir que un manejo inadecuado del cadáver pueda dar lugar a artefactos que alteren los resultados del trabajo experimental, o del diagnóstico de la patología observada en la vigilancia sanitaria. La autolisis comienza con la instauración de la rigidez cadavérica, especialmente rápida en rata y ratón. Las adrenales, epitelio intestinal y médula ósea son los primeros tejidos afectados por la autolisis y putrefacción, seguidos del hígado, bazo y riñones; los más resistentes son el corazón, músculos esqueléticos, tejido conjuntivo fibroso, piel y hueso.

8

La temperatura ambiental puede modificar la velocidad de aparición de los procesos degenerativos *postmortem*. La temperatura fría retrasa en varias horas el inicio de la autolisis y putrefacción, mientras que el ambiente cálido adelanta el proceso en varias horas; por ello se recomienda mantener el cadáver en un frigorífico a 2-4 °C justo después de la muerte, si no podemos realizar la necropsia inmediatamente.

3. Materiales e instrumental necesarios

Para llevar a cabo las necropsias de forma rutinaria, es necesario disponer de instalaciones y materiales adecuados.

La habitación debe contar con ventilación apropiada para proteger al personal de los gases tóxicos eliminados por los fijadores y solventes, en especial del formaldehído, y ha de tener unas dimensiones suficientes para permitir almacenar el instrumental y equipamiento necesarios. Es recomendable disponer de un armario de bioseguridad mixto, con una parte destinada al almacenamiento de reactivos inflamables (como etanol, acetona, etc) y otra para ácidos-bases y material corrosivo y tóxico (formaldehído...) en el que se pueden almacenar las muestras fijadas pendientes de procesado.

El área de trabajo debe tener una iluminación adecuada, preferentemente mediante una o dos lámparas quirúrgicas de luz fría, para evitar que suba la temperatura del cadáver y se promueva el deterioro de las muestras; es recomendable que las lámparas sean móviles (a modo de "cuernos" o mangueras flexibles) para adaptarlas a las distintas necesidades

(Figura 1). Debido al pequeño tamaño de algunos órganos y lesiones, es recomendable disponer de una lupa o estereomicroscopio con cámara digital incorporada, que nos permita hacer fotografías de los hallazgos de interés, e iluminación propia, a la que se pueden adaptar las lámparas quirúrgicas para disponer de iluminación extra en caso necesario (Figura 1).

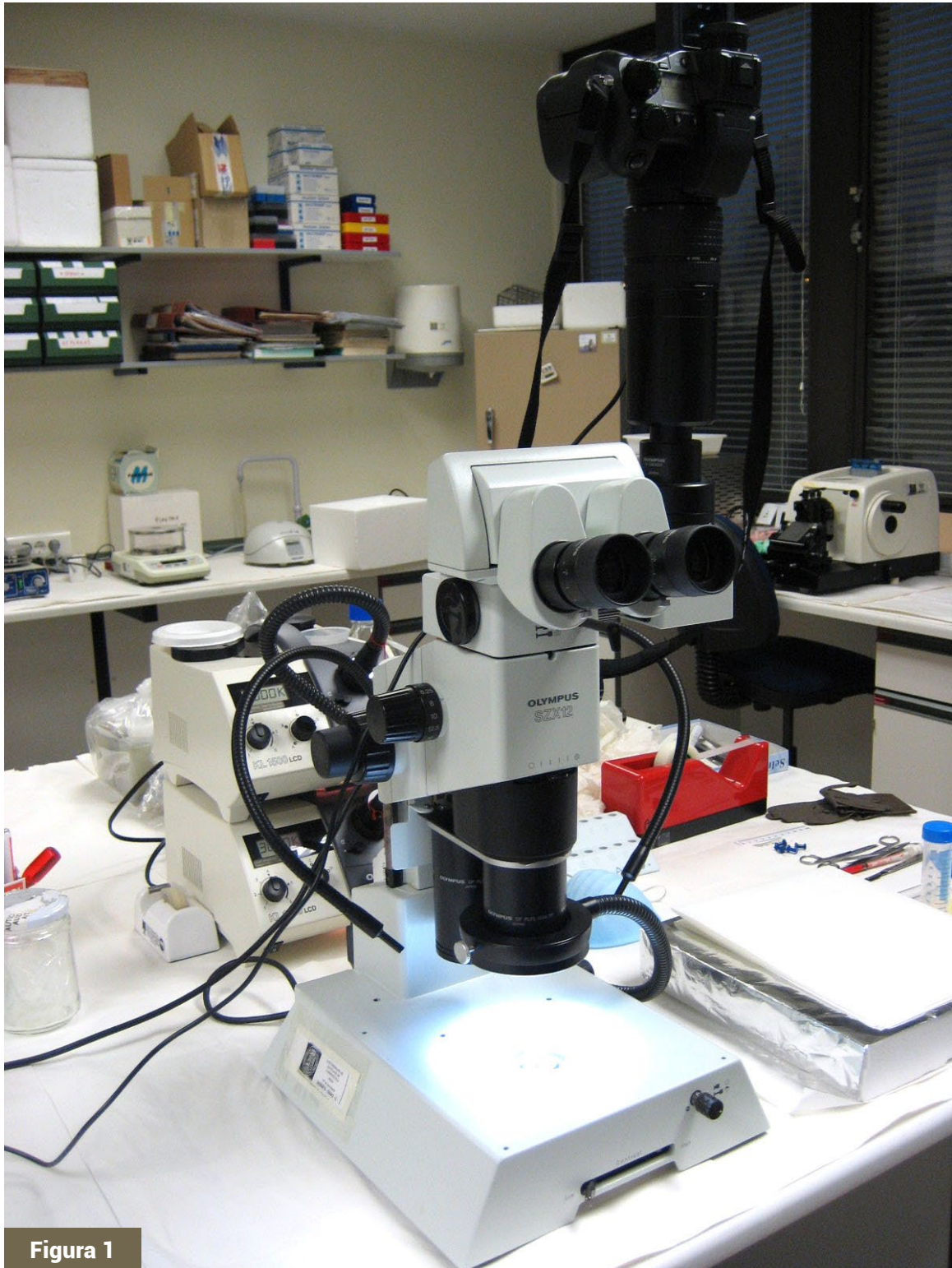


Figura 1

Se debe reservar una parte de la mesa de trabajo limpia para rellenar el informe de necropsia.

Para la realización de la necropsia, siempre recomiendo fabricarse uno mismo la mesa de trabajo, para lo cual utilizaremos una base plana de poliestireno expandido de máximo 20 x 30 cm y 2 a 4 cm de espesor, que podemos obtener a partir de la tapa de una caja de transporte. Cubrimos la base con papel de aluminio y, a continuación, colocamos varias capas de papel de filtro por encima para poder reutilizarla; entre un cadáver y otro debemos sustituir el papel de filtro manchado (**Figura 2**).

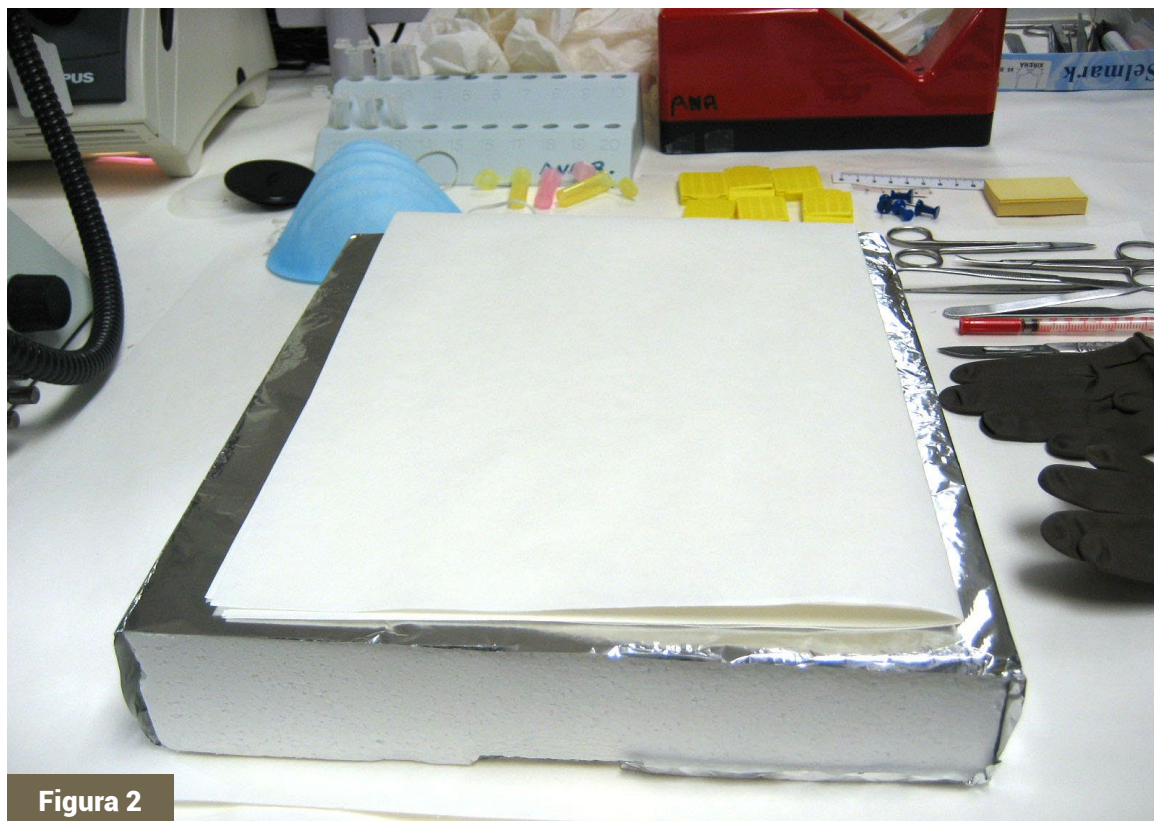


Figura 2

El personal que va a realizar necropsias de forma rutinaria debe utilizar equipos de protección individual adecuados para evitar los riesgos biológicos, físicos y químicos (ver a continuación). Se recomienda como equipos mínimos de protección, una bata de laboratorio de algodón, totalmente abrochada, de manga larga y con puño elástico, guantes de protección de látex o nitrilo de la talla adecuada y gafas de seguridad.

Para la realización de la necropsia necesitaremos disponer de suficiente cantidad de guantes, tijeras y pinzas de pequeño tamaño, un mango de bisturí con hojas desechables (**Figura 3**), papel, un frasco lavador con suero fisiológico, 1 frasco lavador con etanol 70°, bolsas de plástico, agujas hipodérmicas y jeringuillas de 1, 5, 10 y 20 ml, regla y calibrador.

Para la toma de muestras es necesario disponer de tubos eppendorf y tubos de plástico de pequeño tamaño (50 ml) y boca ancha, con solución fijadora, o bien colocaremos directamente las muestras en cassetes de inclusión que dispondremos en un recipiente con fijador (**Figura 4**).



Figura 3

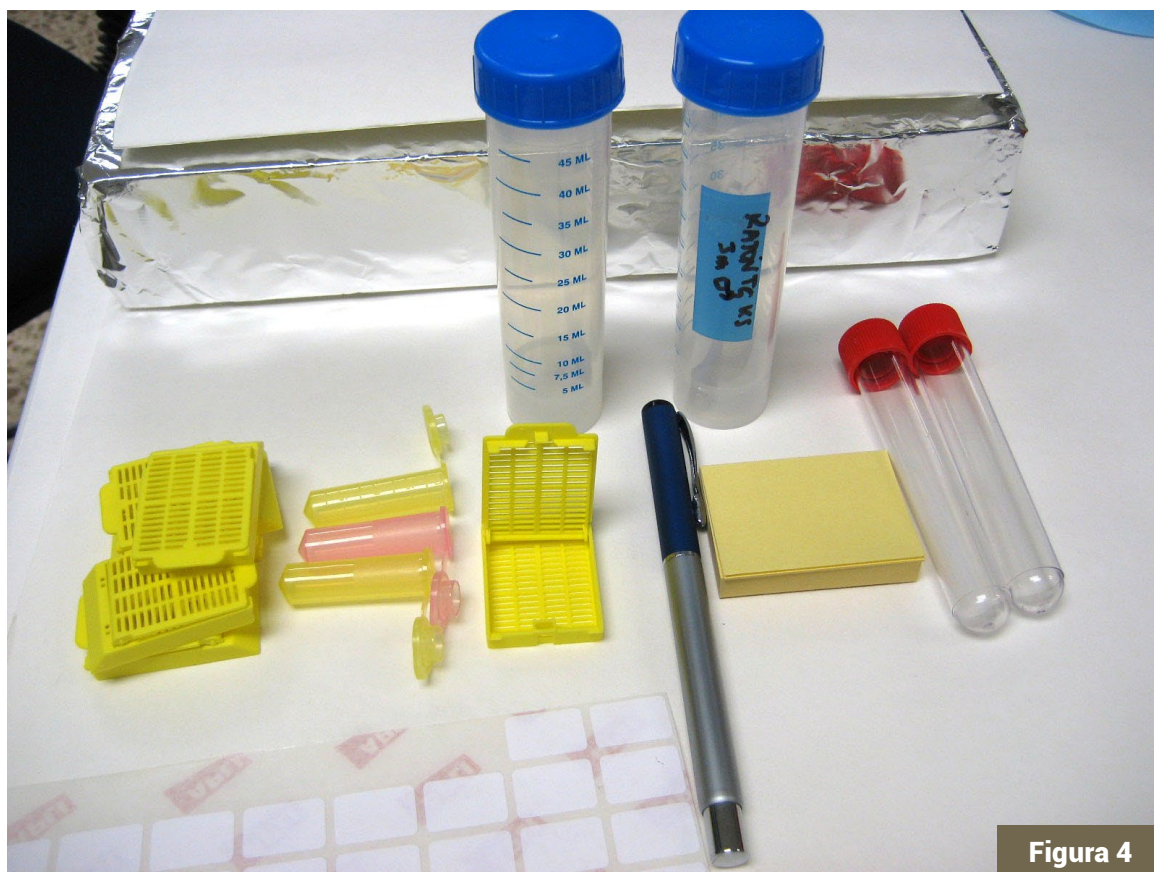


Figura 4

Los tubos con las muestras fijadas deben rotularse con lápiz sobre etiquetas adhesivas, o directamente sobre el tubo con rotulador indeleble, identificando el animal. Los cassetes de inclusión deben rotularse con lápiz, identificando el animal y órgano/s muestreados.

4. Riesgos físicos, químicos y biológicos

Durante la realización de la necropsia debemos conocer los riesgos que señalamos a continuación con el fin de evitarlos en lo posible y/o minimizar sus consecuencias.

4.1. Riesgos físicos

- Heridas (cortes, arañazos, pinchazos) durante la apertura del cadáver y toma de muestras al emplear instrumental cortante y/o punzante propio de la técnica de necropsia: bisturíes, agujas, vidrios, tijeras, etc.
- Mordeduras de incisivos por el manejo, transporte o inmovilización inadecuados de ratas o ratones vivos antes de practicar la eutanasia.
- Incendio: uso frecuente de productos químicos inflamables (etanol, solventes orgánicos, etc.).

12

Para evitar o minimizar estos riesgos se recomienda:

- Realizar los procedimientos con la ropa y equipos de protección individual adecuados.
- Tener un buen conocimiento y práctica en el manejo, transporte e inmovilización de la rata y ratón.
- Extremar el cuidado al cortar con el bisturí o tijeras para evitar cortes.
- Si se produce un corte o mordedura, lavar, desinfectar y proteger la herida adecuadamente antes de colocarse guantes nuevos y continuar el procedimiento.
- Evitar volver a encapuchar las agujas hipodérmicas después de su uso ya que este acto es el que se relaciona con un mayor riesgo de pincharse.
- Prestar especial atención al poner y quitar la hoja del mango de bisturí. Para evitar cortarse en estos dos procesos, manipular la punta de la hoja del bisturí con varias capas de papel poroso.
- Al finalizar los procedimientos desechar los objetos punzantes (hojas de bisturí, agujas hipodérmicas) directamente en el contenedor específico.
- Almacenar los líquidos inflamables en armarios adecuados y manejarlos siempre lejos de llamas o fuego.
- Realizar los procedimientos con la ropa y equipos de protección individual adecuados, siguiendo las buenas prácticas recomendadas para evitar o minimizar los riesgos físicos.

4.2. Riesgos químicos

- Exposición a quemaduras por, ácidos fuertes y bases, así como productos de limpieza y desinfección de las instalaciones.
 - Exposición a reactivos químicos con efectos irritantes y/o cancerígenos utilizados en la fijación (formaldehído, etanol).
-

Para evitar o minimizar estos riesgos se recomienda:

- Manejar con precaución el formaldehído, manteniéndolo en recipientes herméticamente cerrados que se abrirán únicamente para añadir una muestra, cerrándolo inmediatamente entre muestra y muestra.
- Guardar las muestras fijadas en formol exclusivamente en el almacén equipado con un sistema de extracción forzada de aire, en botes de plástico con doble cierre y debidamente identificadas.
- Todos los residuos peligrosos (de material fijado, fijadores, ácidos, bases, disolventes orgánicos, colorantes) se separarán, depositarán y almacenarán hasta su recogida final siguiendo las normas de bioseguridad del Laboratorio.
- Realizar los procedimientos con la ropa y equipos de protección individual adecuados, siguiendo las buenas prácticas recomendadas para evitar o minimizar los riesgos químicos.

4.3. Riesgos biológicos

- Desarrollo de alergias tras el contacto repetido con ratas o ratones. La orina de rata y ratón y las proteínas de las descamaciones cutáneas (caspa) están entre los alérgenos más probables.
- Transmisión de agentes biológicos zoonóticos por el manejo, transporte e inmovilización de ratas y ratones vivos, o por la manipulación de sus cadáveres o muestras biológicas. Las zoonosis son enfermedades transmitidas por los animales a los humanos. En general, la transmisión de enfermedades zoonóticas de los animales de laboratorio al personal es rara, ya que los suministradores y el personal de los animalarios cada vez garantizan más el estado sanitario de ratas y ratones y llevan a cabo un buen programa de control sanitario. Los animales infectados experimentalmente y sus tejidos si pueden ser fuente de transmisión de zoonosis al personal. En experimentos de campo, el manejo de ratas y ratones silvestres también puede ser fuente de zoonosis.

A continuación señalamos los principales agentes infecciosos en los que ratas y ratones pueden actuar de reservorio y potencial fuente de contagio para el personal:

- Virus: Hantavirus (rata y ratón), Virus de la Coriomeningitis Linfocítica (rata y ratón).
- Bacterias: *Leptospira* spp (rata y ratón), *Salmonella* spp (rata y ratón); *Streptobacillus moniliformis* (rata), *Spirillum minus* (rata).
- Hongos: *Sporothrix schenckii* (rata), *Microsporum* spp (ratón), *Trichophyton* spp (rata y ratón).
- Parásitos: *Rodentolepis nana* (también llamada *Hymenolepis nana*) o tenia de la rata y ratón.

Para evitar, o minimizar, estos riesgos se recomienda:

- Formación adecuada del personal sobre protección frente a alérgenos animales para minimizar el riesgo de desarrollar alergias.
-

- Evaluación regular y periódica de las personas alérgicas por el servicio médico.
- Llevar equipos de protección individual específicos para personas con alergia a animales, incluida mascarilla con filtros especiales e interrumpir su contacto con ratas o ratones si se desarrollan síntomas agudos de alergia tras una exposición.
- Utilizar animales que sigan un programa de control sanitario.
- No comer o mascar chicle durante los procedimientos.
- Evitar la formación e inhalación de aerosoles durante la manipulación del cadáver.
- Evitar el contacto directo de las manos desnudas con secreciones y orina del cadáver.
- Utilizar lápiz o bolígrafos del Servicio que se deberán lavar y desinfectar antes de dejarlos de nuevo en la habitación de trabajo. No sacar nunca los lápices o bolígrafos, ni morderlos o chuparlos.
- Si los guantes están rotos o picados, lavar y desinfectar las manos y poner otros guantes nuevos antes de continuar el procedimiento.
- Lavar y desinfectar adecuadamente el material utilizado antes de usarlo de nuevo.
- Envolver los cadáveres procesados en bolsas de plástico con cierre zip, de forma individual y debidamente identificados que se mantendrán congelados hasta su eliminación.
- Realizar los procedimientos con la ropa y equipos de protección individual adecuados, siguiendo las buenas prácticas recomendadas para evitar o minimizar los riesgos biológicos.

5. Informe de necropsia

El informe de necropsia debe reflejar todos los hallazgos de la necropsia además de la identificación del animal. Las lesiones macroscópicas se deben describir de la forma más objetiva y precisa posible, detallando las características de un órgano o lesión: tamaño, forma, color, consistencia, superficie de corte, número y distribución de lesiones, contenidos anormales, etc., evitando añadir interpretaciones subjetivas o clasificar el proceso patológico.

Se debe llevar un registro anual de todas las necropsias realizadas, junto con una copia del informe de necropsia. En el registro e informe, las necropsias se numerarán de forma creciente a lo largo del año, por ejemplo 35/2018 indica la necropsia 35 realizada en 2018. Tras la realización de la necropsia rutinaria, es muy recomendable guardar el cadáver congelado en una bolsa de plástico transparente, lo más ajustada posible al tamaño del animal, con cierre zip, que debe numerarse con rotulador indeleble en la bolsa, con el número correspondiente del informe de necropsia. Una vez estamos seguros de no necesitar ampliar la toma de muestras, o revisar la necropsia realizada, podremos desechar los cadáveres congelados poniéndonos en contacto con el gestor de residuos orgánicos correspondiente.

A continuación se propone un modelo de informe de necropsia.

INFORME DE NECROPSIA				
NÚMERO	<input type="checkbox"/> Macho <input type="checkbox"/> Hembra	Especie Estirpe	Fecha de nacimiento	
Fecha muerte	<input type="checkbox"/> Muerte natural <input type="checkbox"/> Eutanasia Tipo eutanasia	Experimento		
HISTORIA CLÍNICA				
ÓRGANO		PESO	MUESTRA	LESIONES MACROSCÓPICAS
INSPECCIÓN EXTERNA				
Piel				
Pelos				
Vibrisas				
Orejas				
Cola				
Plantar				
Uñas				
Ojos				
Incisivos				
Molares				
Lengua				
Paladar				
Mamas				
CAVIDAD ABDOMINAL				
Bazo				
Hígado				
Estómago				
Intestino				

Linfonodos mesentéricos			
Riñón			
Adrenales			
Vejiga			
Genital femenino – Ovarios – Útero – Vagina – Vulva			
Genital masculino – Testículos – Gl. prepucciales – Gl. coagulantes – Vesículas seminales			
CUELLO Y CAVIDAD TORÁCICA			
Gl. salivares			
Timo			
Pulmón			
Linfonodos mediastínicos			
Corazón			
Esófago			
Tráquea			
Tiroides			
CABEZA			
Gl. lacrimales			
Gl. hardeniana			
SNC			
NOTAS			

6. Toma de muestras

La toma de muestras varía según el tipo de análisis posterior que nos interese llevar a cabo.

6.1. Muestras para estudio histopatológico

Se deben tomar muestras de cadáveres lo más recientes posible tras la muerte, a temperatura ambiente o previamente refrigerados, pero nunca congelados, ya que la congelación provoca artefactos por la rotura de la arquitectura celular como consecuencia de los cristales que se forman durante la congelación de los líquidos tisulares.

Para el estudio histopatológico se debe tomar muestra de todos los órganos principales (pulmón, corazón, SNC, riñón, hígado, bazo) de forma sistemática, aunque no presenten lesiones, y de todos aquellos órganos o tejidos en los cuales observamos lesiones durante la necropsia.

Se pueden fijar todos los órganos del mismo animal en un tubo o envase único debidamente etiquetado con la fecha de la muerte y de la toma de muestras, la especie y estirpe, el sexo y la edad. No se debe lavar ningún órgano antes de la fijación, aunque para evitar que el contenido intestinal "ensucie" el fijador, la muestra de intestino se introduce en una placa de Petri y se lava con una jeringuilla sin aguja con solución salina; una vez lavado, el fragmento de intestino se añade al envase de plástico con fijador que contenga el resto de muestras del mismo animal.

17

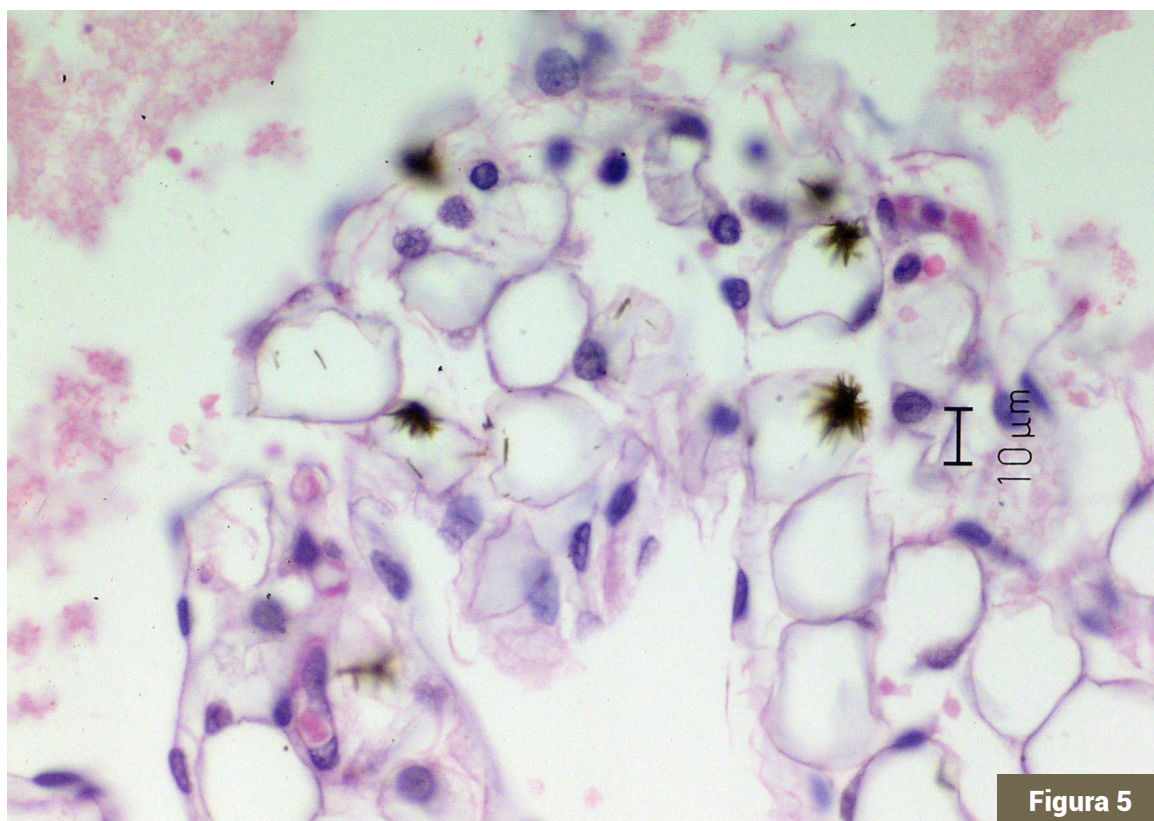
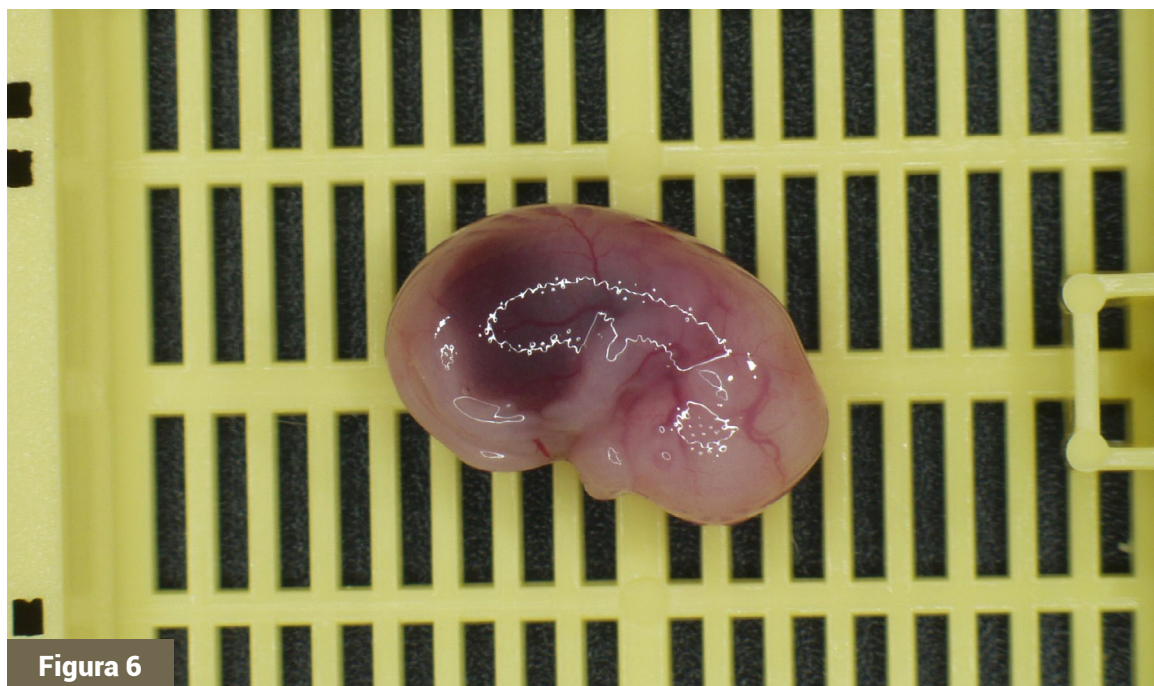


Figura 5

Para evitar al máximo la autólisis y putrefacción, cada muestra que se toma del cadáver debe fijarse inmediatamente en la solución de fijador. Los fijadores recomendados son formaldehído al 10% solución de Zenker o fijador de Bouin. Para que la fijación sea correcta, la proporción de volumen de la muestra: volumen de fijador ha de ser 1:9. Se recomienda utilizar siempre la solución tamponada de formaldehído para evitar la formación de artefactos o "pigmentos del formol" (**Figura 5**, precipitados cristalinos de color negruzco en el interior de adipocitos, ratón). La fijación en soluciones con formaldehído debe durar un mínimo de 24 horas, pero no debe prolongarse más allá de 48 h, por lo cual, transcurridos dos días, se retira el fijador y se sustituye por etanol al 70 % a la espera de su inclusión.

Los órganos pequeños como tiroides e hipófisis se fijan enteros, los medianos como riñón o corazón se seccionan a la mitad, y los órganos grandes se filetean en fragmentos de 0,5 cm de espesor, antes de introducirlos en el fijador, o se toma una muestra que incluya tejido lesionado y sano. Los fetos pequeños se pueden fijar enteros dentro del cassette de inclusión que rotularemos con lápiz, ya que los rotuladores se disuelven en los líquidos de inclusión (**Figura 6**, feto de ratón 15,5 dpc).



La sección de las vísceras se realiza con bisturí, haciendo un corte lo más limpio posible. Los órganos tubulares (estómago, intestino, útero) se seccionan con tijera, separando el tramo de interés mediante dos cortes transversales y uno longitudinal para exponer la mucosa interna, procurando no lesionarla con la punta de las tijeras.

Para evitar artefactos por la toma de muestras defectuosa, se debe evitar aplastar los órganos o tejidos frescos con los dedos o las pinzas o retorcerlos durante su extracción; lo ideal es la extracción fijando las pinzas en el tejido conjuntivo alrededor de la zona a muestrear. Para evitar artefactos por lavado con agua, que provoca shock osmótico, lavar siempre los órganos y tejidos con suero fisiológico sin presionar en exceso el frasco lavador para evitar traumatismos en la muestra.

Los órganos que contienen mucha grasa (por ejemplo la glándula mamaria) o aire como el pulmón, flotan por encima de la superficie del líquido fijador, por lo que su fijación va a ser insuficiente; para evitar la fijación defectuosa debemos colocar papel poroso antes de cerrar el bote, en cantidad suficiente, como para hundir bien las muestras que flotan en la solución fijadora.

Las muestras de epitelios externos (piel, cola, plantar, hocico) se toman con tijera y se "pegan" sobre un trozo de papel de filtro, colocando la dermis conjuntiva sobre el papel y presionando levemente con el dedo durante unos segundos; a continuación se coloca la muestra adherida al papel dentro del fijador cuidando de que no se desprege (**Figuras 7 y 8**, ratón). Este procedimiento evita artefactos por retracción de la muestra y facilita su orientación antes de la inclusión.



Figura 7

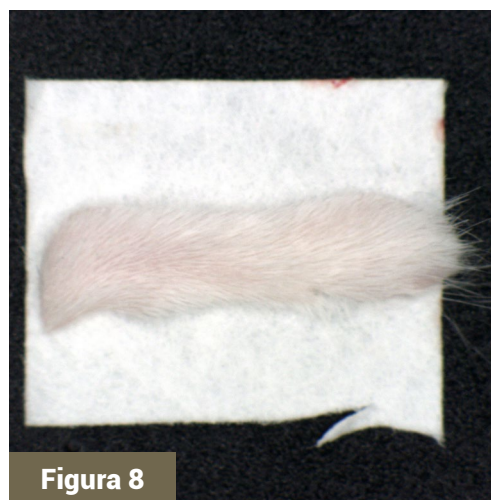


Figura 8

6.2. Muestras para Toxicología

La rata y el ratón son animales de laboratorio esenciales en el estudio de los posibles efectos tóxicos de drogas y productos químicos con el fin de determinar su toxicidad y carcinogenicidad.

En los estudios toxicológicos se deben documentar todas las lesiones observadas durante la vida del animal, de las cuales se deberán tomar muestras durante la necropsia. También se recomienda pesar y tomar muestras para estudio histopatológico (ver 5.1) y muestras refrigeradas o congeladas para estudios bioquímicos, de los siguientes órganos: hígado, corazón, riñón, pulmón, linfonodos, tracto gastrointestinal, páncreas, glándulas salivares, bazo, timo, cerebro, útero, ovarios, vesículas seminales y testículos en animales que han alcanzado la madurez sexual, glándulas adrenales, tiroides e hipófisis. En estudios carcinogénicos de larga duración, no se considera fiable el peso de los órganos, ya que puede variar mucho con las complicaciones o síndrome paraneoplásico que desarrolle cada individuo.

Siempre que sea posible se recomienda también tomar muestras de hígado para estudios de Microscopía Electrónica de Transmisión.

6.3. Muestras para Microbiología

La identificación de agentes infecciosos en las muestras obtenidas de la necropsia en rata y ratón puede ser muy útil para establecer medidas preventivas que protejan al resto de animales de la colonia. En los programas de control sanitario de los animalarios se debe hacer la necropsia y toma de muestras de forma rutinaria para la detección de virus patógenos, bacterias, hongos, protozoos, ectoparásitos y parásitos intestinales.

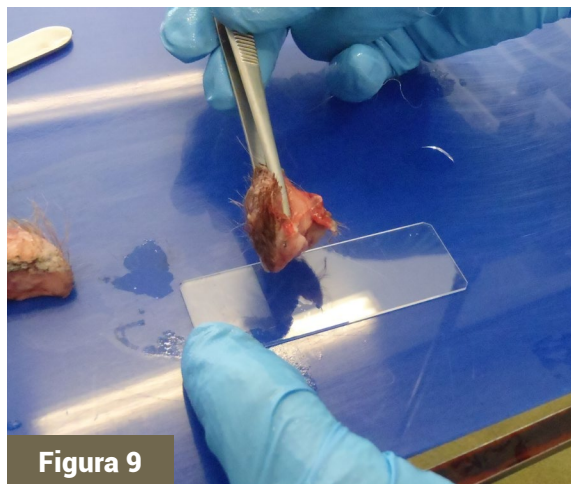
Para la identificación de microorganismos, el material utilizado es muy básico, normalmente una hoja de bisturí y pinzas, que se deben esterilizar previamente mediante flambado a la llama después de rociarlos con etanol 96°; la toma de muestras de los órganos también ha de ser aséptica, por lo que se flambea una espátula que se coloca caliente, justo al salir de la llama, sobre el órgano a muestrear.

Evitar tocar con la hoja de bisturí, o con las pinzas, cualquier tejido fuera de la zona quemada por la espátula para evitar contaminación superficial de la muestra. Se recomienda incidir el órgano y tomar muestras de los bordes de la lesión con un hisopo estéril que se guarda en su vial con medio húmedo de transporte para virus, bacterias u hongos.

Las muestras frescas se pueden mantener refrigeradas un máximo de 2 días hasta la determinación microbiológica; si ésta va a realizarse superando las 48 horas, se recomienda congelar las muestras frescas, aunque algunos virus pueden reducir su viabilidad con la congelación.

Para determinación de microorganismos intestinales lo más recomendable es tomar muestras de heces frescas de forma aséptica a partir del recto, en tubos estériles.

También es útil la realización de tinción Gram en portaobjetos con extensiones de exudados o de improntas de secciones de órganos recién cogidas, sin lavar, secadas al aire (**Figuras 9 y 10**).



6.4. Muestras para Parasitología

Los ectoparásitos (ácaros, garrapatas, piojos, pulgas) se pueden identificar macroscópicamente o bajo la lupa, aunque los ácaros pueden ser difíciles de ver por su pequeño tamaño, o por localizarse en el interior de folículos pilosos como *Demodex* spp. En estos casos conviene hacer raspado cutáneo y extensión en un portaobjetos con aceite, cubriendo con cubreobjetos para su examen al microscopio (**Figura 11**, *Demodex* en raspado cutáneo).



Para la observación de ectoparásitos en general, puede ser útil colocar el cadáver sobre un papel o cartulina de color negro, en una placa de Petri que se coloca en la nevera durante unas horas; los parásitos abandonan la piel y se pueden ver con una lupa en la cartulina.

Algunos parásitos intestinales son tan pequeños que no se observan a simple vista. La flotación de heces y observación microscópica de secciones de intestino, o de contenido intestinal, o de improntas de heces frescas pueden ser útiles para la detección de parásitos adultos, huevos de parásitos y protozoos.

Para el diagnóstico de huevos de nematodos, o lombrices intestinales, el método de elección es la prueba del celo adhesivo, que se presiona con la superficie adhesiva sobre el ano y se observa sobre un portaobjetos en el microscopio.

Para la toma de muestras de parásitos internos o externos, se recomienda su fijación en etanol 70°.

7. Examen externo

7.1. Estado general del animal

Para la realización de la necropsia es necesario colocar y fijar el cadáver de la rata o ratón de forma que no se mueva y dificulte la apertura de las cavidades y la toma de muestras. Colocamos la rata o el ratón sobre la base de poliestireno en decúbito supino sobre su espalda, extendiendo cada una de las extremidades en oblicuo, que clavaremos con alfileres, o agujas entomológicas, pinchando en las cuatro plantas (**Figura 12**, rata) o en la piel de la región carpal y tarsal si necesitamos analizar la región plantar (**Figura 13**, ratón).

Examinar el estado de nutrición (obeso, normal, delgado, caquéctico) y el desarrollo de la musculatura esquelética; anotar las posibles alteraciones en la piel, pelos, vibrisas (pelos largos del hocico con función sensitiva táctil), orejas, ojos, dedos, uñas, etc.

22

7.2. Piel y anejos

Señalar la presencia de heridas, úlceras, nódulos, tumores, en piel o glándula mamaria. Observar si existe alopecia difusa o focal y el aspecto general del pelaje, presencia de escamas de queratina, engrosamientos de la piel, hiperqueratosis, etc.



7.3. Aberturas naturales

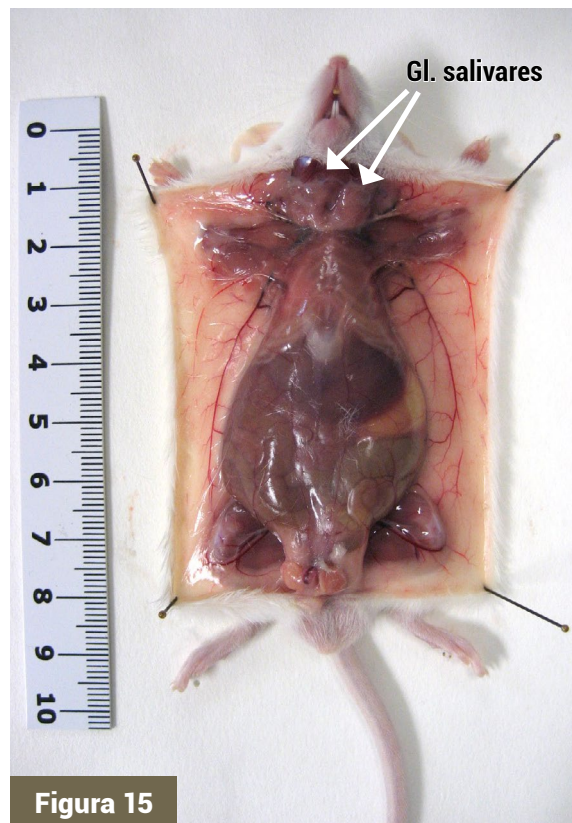
Observar el estado de la boca, nariz, oídos, vulva, prepucio y ano para completar la inspección externa.

8. Inspección interna

Mediante disección podemos llevar a cabo la inspección interna del cadáver. No se debe realizar la necropsia parcial para la observación de un área u órgano específico, sin observar el resto.

8.1. Desollado

Con el cadáver fijado a la base de disección, realizamos un pequeño corte de la piel en la region pelviana que nos permita seguir cortando con tijeras, siguiendo la línea media longitudinal, hasta llegar a la barbilla (**Figura 14**, rata). Separamos la piel de la musculatura subyacente, traccionando el tejido subcutáneo a ambos lados de la incisión y aprovechamos para cambiar los alfileres que sujetaban las 4 extremidades para pincharlos en la piel extendida (**Figura 15**, ratón). Observamos el aspecto del tejido subcutáneo, linfonodos superficiales, glándulas mamarias, glándulas salivares y músculos esqueléticos.



Linfonodos superficiales

Son numerosos y de pequeño tamaño, bilaterales, de color ligeramente amarillento. Los cervicales se sitúan bajo las glándulas salivares (flechas, **Figura 16**, ratón), los parotídeos y mandibulares se localizan al lado de las glándulas salivares parótida y mandibular, respectivamente; los axilares se localizan en la fosa axilar, los inguinales en la bifurcación de la vena superficial epigástrica. Los ilíacos externos se observan en la región inguinal. Los poplíteos en la región caudal del muslo. Estudiar su forma, volumen, consistencia y localización. Los linfonodos próximos a un órgano con inflamación suelen aparecer aumentados de tamaño y, en ocasiones, hemorrágicos.



Figura 16

Glándula mamaria

En rata y ratón hay cinco glándulas mamarias bilaterales: 3 torácicas y 2 abdominales. En hembras completamente desarrolladas y gestantes, se extienden por casi todo el tejido subcutáneo ventrolateral con aspecto nodular y color blanquecino (flechas en **Figura 17**, ratón)

Esqueleto y musculatura

Para el examen completo del esqueleto es necesaria la realización de radiografías. Examinar la simetría en el desarrollo de los músculos, que deben presentar un color homogéneo rojo-marrón; la decoloración blanquecina de los músculos puede indicar atrofia, infiltración grasa,

procesos degenerativos, miositis, neoplasias,... Si es necesario inspeccionar los nervios periféricos, el mejor momento es justo tras el desollado. Por ejemplo, si necesitamos tomar muestras del nervio ciático en animales con rigidez o cojera en una extremidad, debemos localizarlo en la cara interna del muslo, por debajo del músculo aductor largo de la pierna (Figura 18, rata).

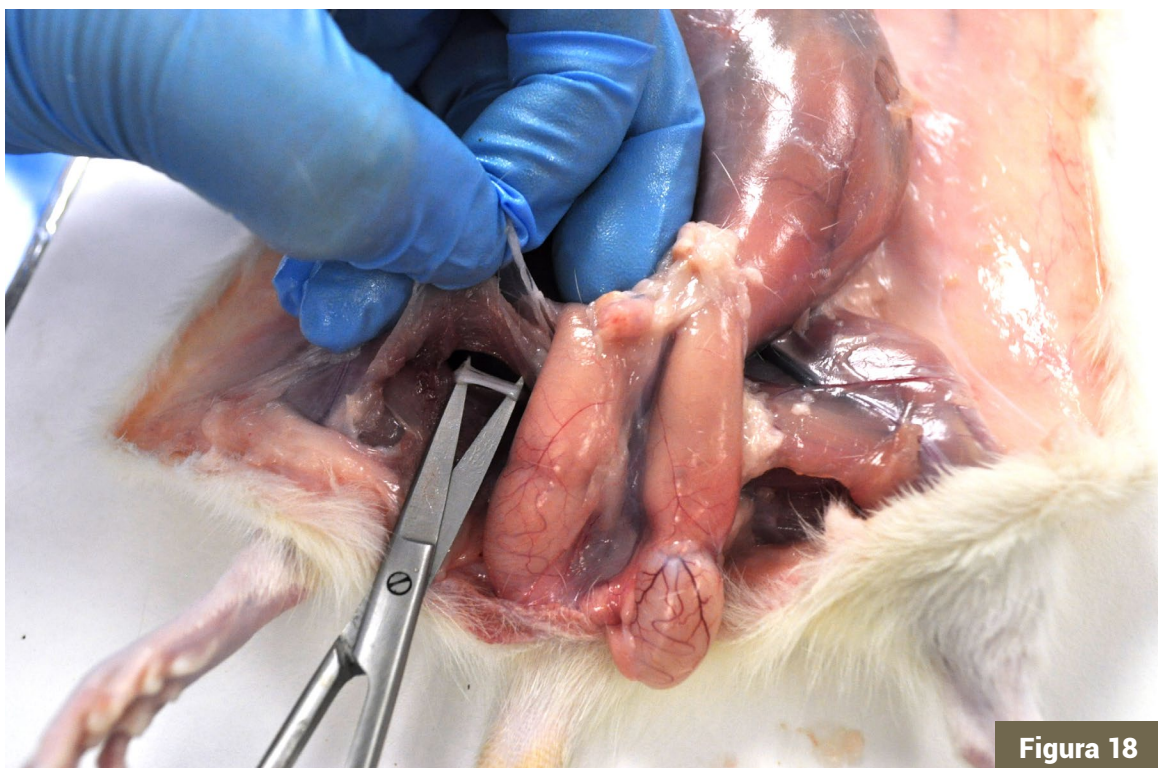
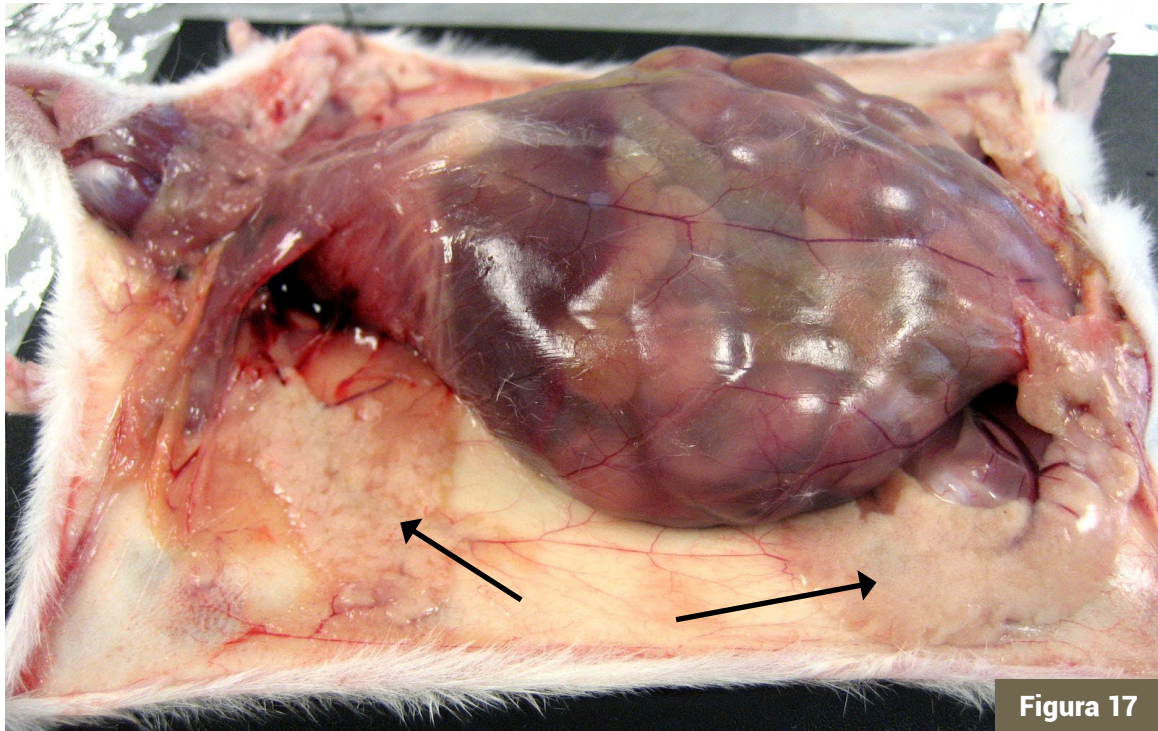
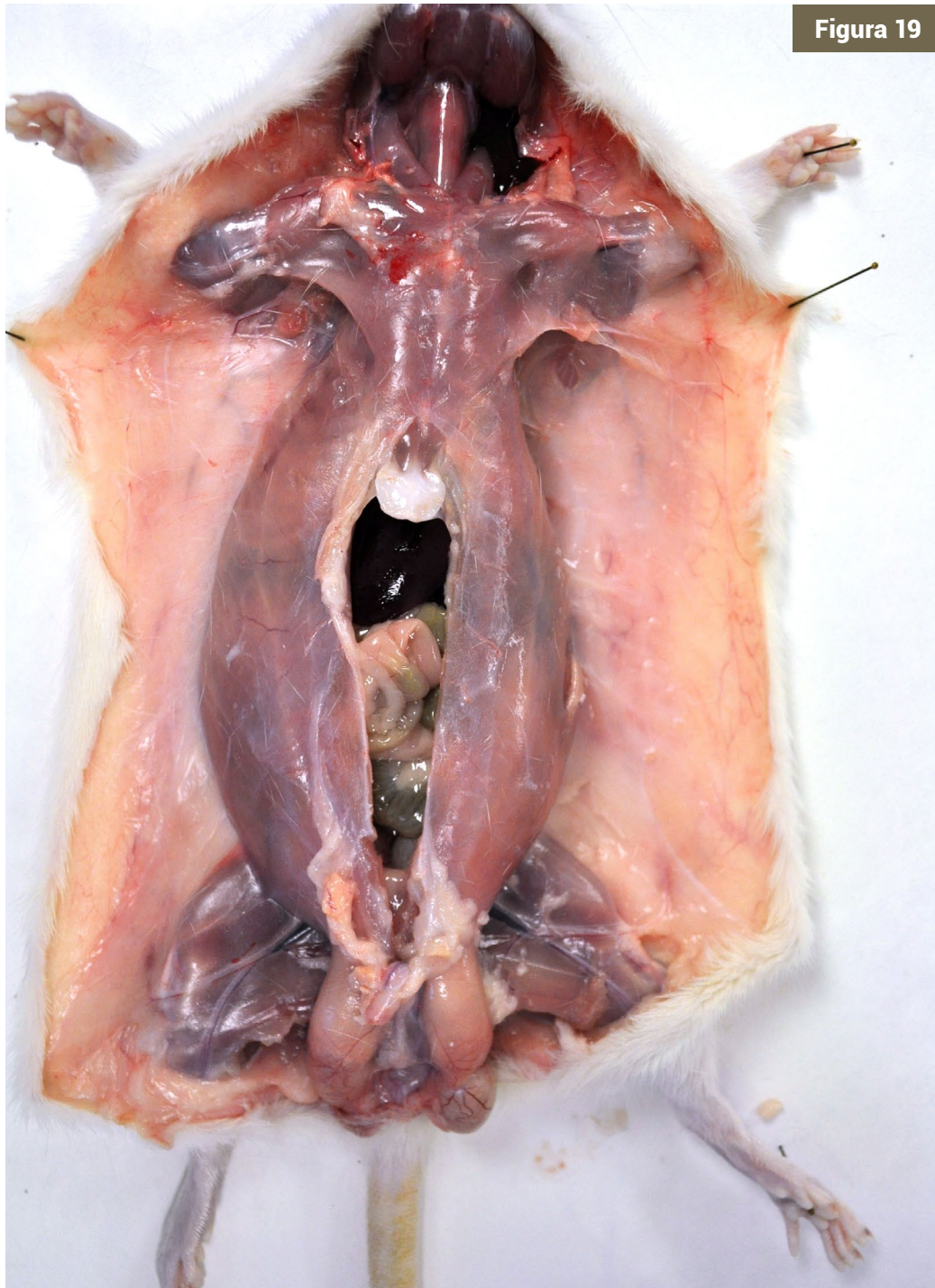


Figura 18

8.2. Apertura de la cavidad abdominal

Cortar los músculos abdominales con la tijera, siguiendo la línea media ventral desde el pubis hasta el apéndice xifoides del esternón (**Figura 19**, rata) y después seccionar a ambos lados siguiendo la línea de la última costilla para tener la cavidad abdominal completamente abierta (**Figura 20**, ratón). Observar la posición de los órganos abdominales, la integridad del diafragma, presencia de adherencias, líquidos o exudados en la cavidad, etc.



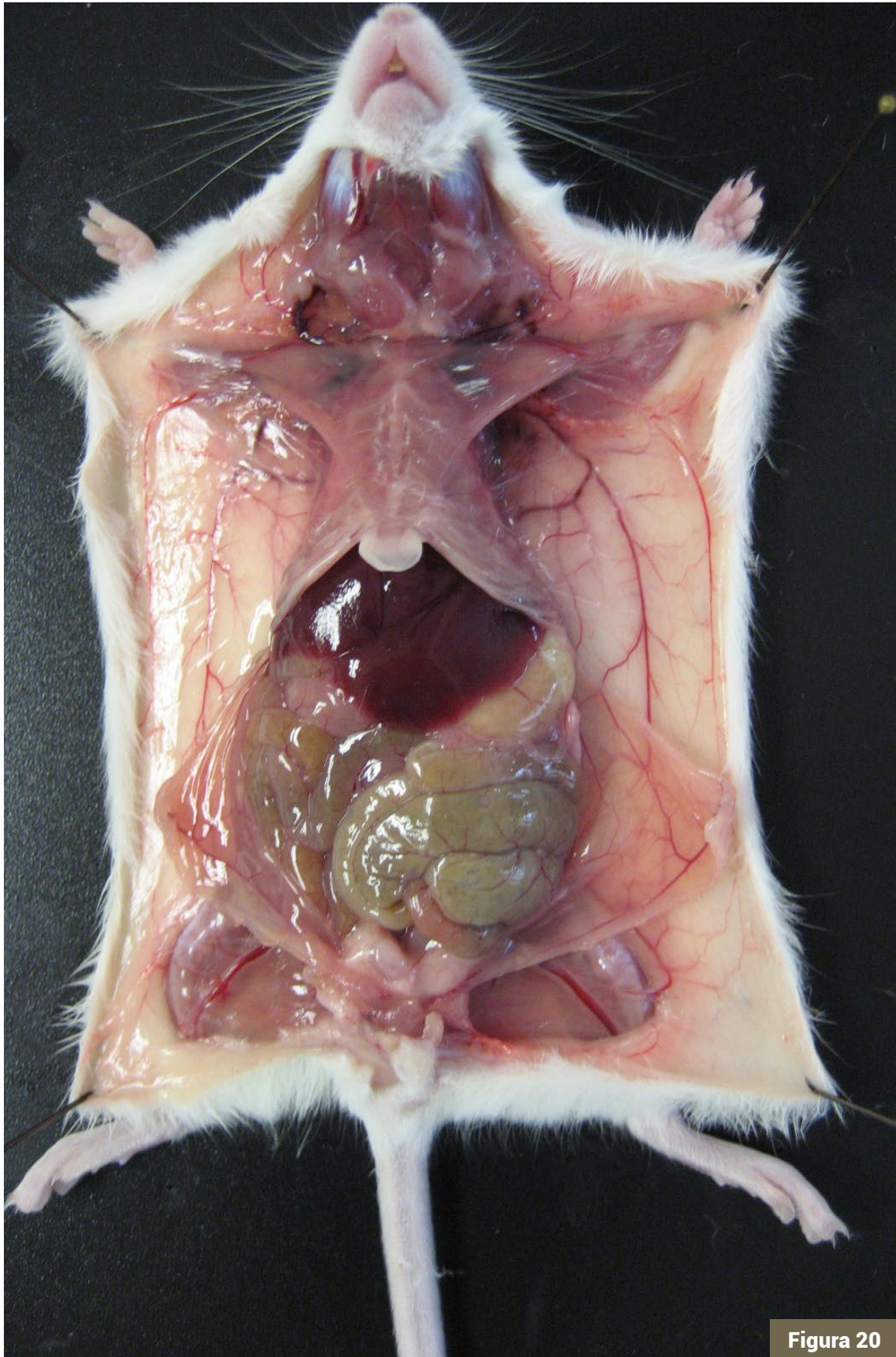
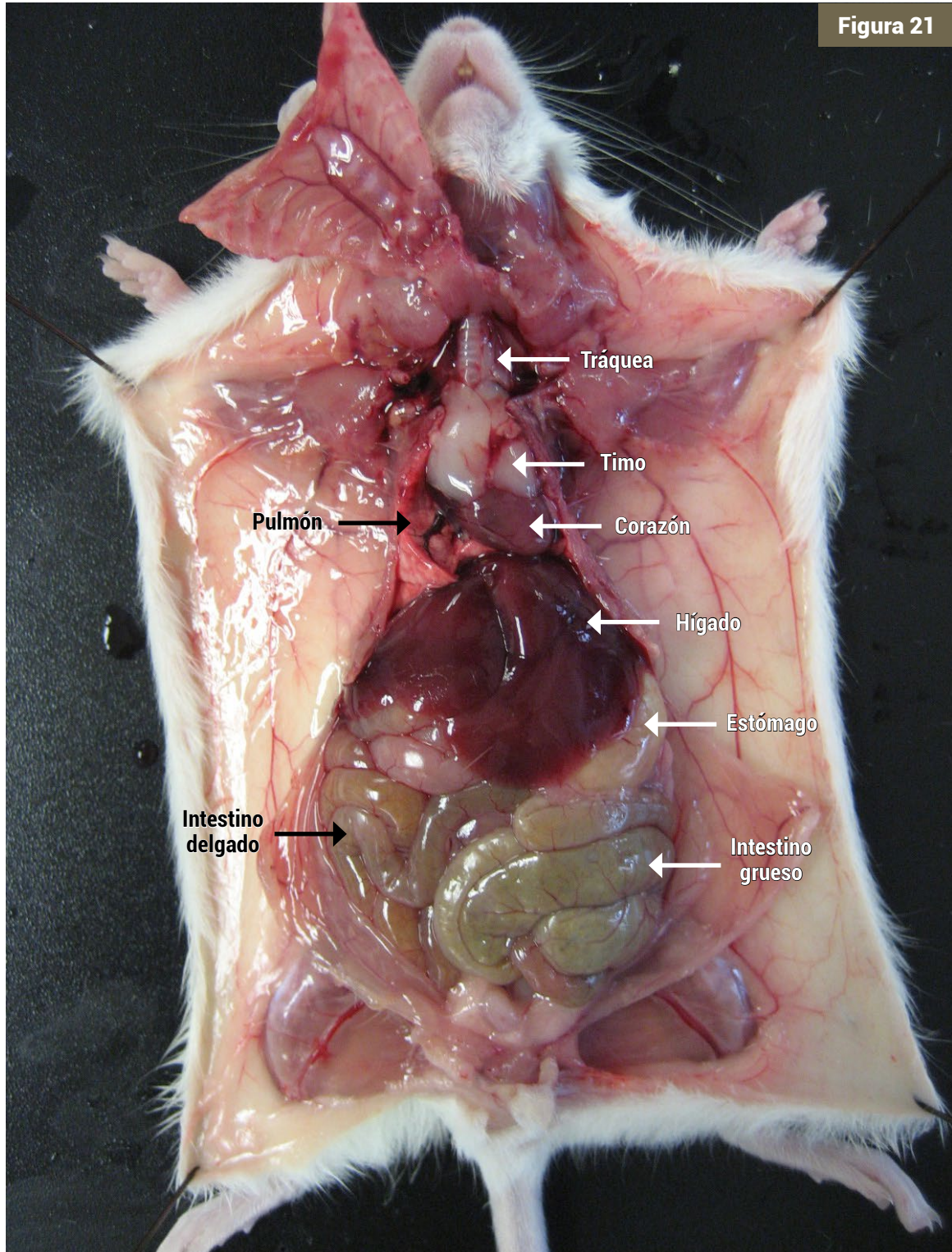


Figura 20

8.3. Apertura de la cavidad torácica

Seccionar las costillas a ambos lados del esternón desde las últimas costillas hasta la entrada del cuello, retirando el triángulo de la caja torácica hacia atrás para ver los órganos (Figura 21, ratón).

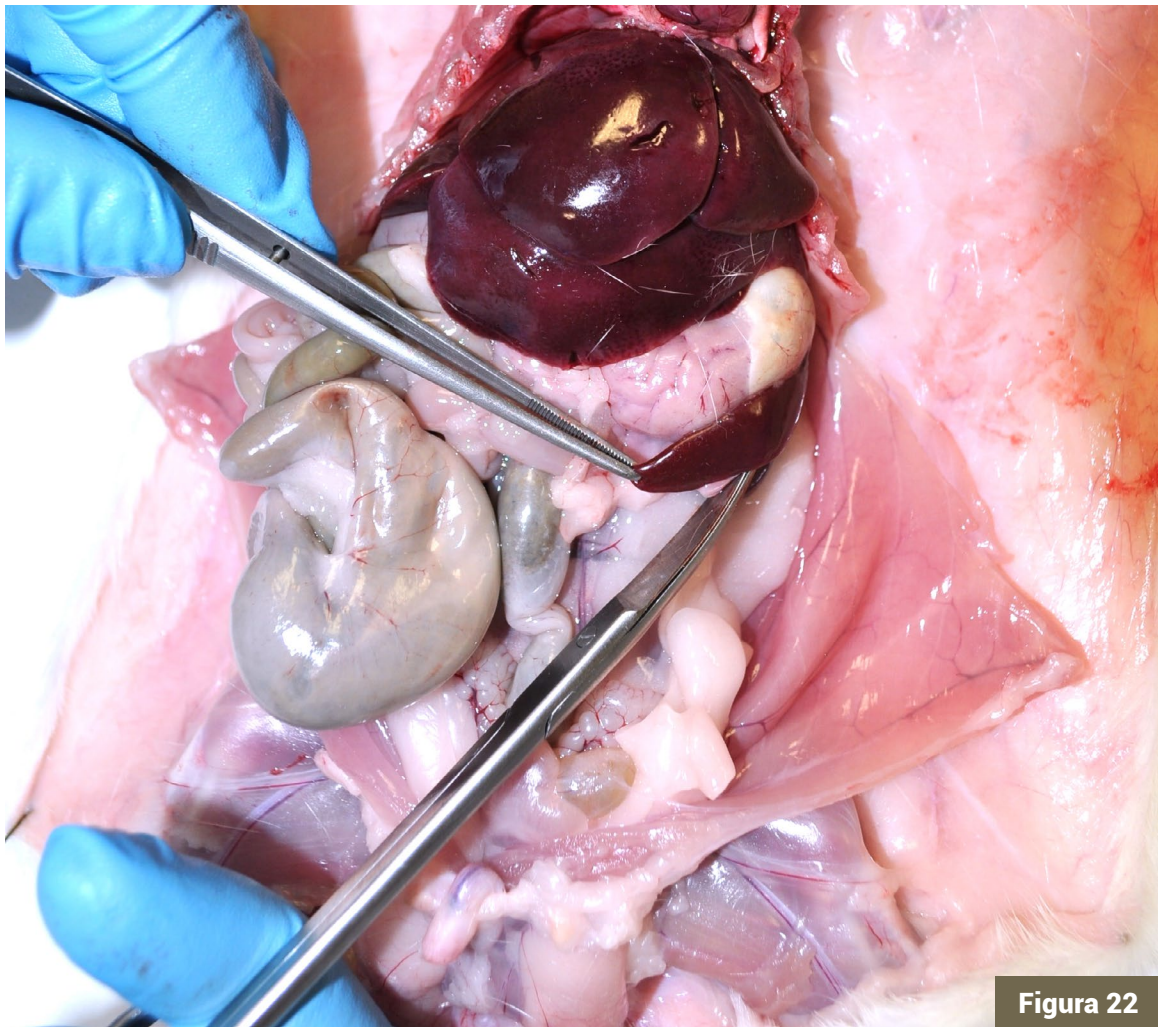


Observar el tamaño de los dos lóbulos tímicos y la situación de los órganos, presencia de líquidos en la cavidad torácica, adherencias y lesiones.

Tras la apertura de la cavidad abdominal y torácica, se extraen y observan los órganos individualmente de forma más detallada.

Bazo

Es un órgano predominantemente linfoeritropoyético en rata y ratón. Se sitúa en el cuadrante superior izquierdo, de forma alargada y ligeramente curvado. Se extrae el bazo sujetando la grasa del borde caudal con la pinza, traccionando ligeramente (**Figura 22**, rata), para seccionar con la tijera el hilo y ligamento gastroesplénico. Observar su tamaño, consistencia, color, márgenes y presencia de lesiones.



La cara dorsal es ligeramente cóncava (**Figura 23**, ratón) y la ventral es lisa y convexa, unida al estómago por el ligamento gastroesplénico, del cual suelen quedar restos de grasa en el órgano (**Figura 24**, ratón).



Figura 23



Figura 24

En el ratón adulto joven, el bazo mide aproximadamente 15 mm de longitud, 3 mm de anchura y 2 mm de espesor, con un peso medio de 100 mg, si bien es un dato muy variable, por la influencia en el peso del órgano de la cantidad de sangre acumulada en el momento del sacrificio. En condiciones normales es un órgano friable y blando, de color rojo oscuro y cápsula lisa, fina y transparente. En la estirpe C57 Bl se observa, en ocasiones, la presencia de moteado negruzco (melanosis esplénica).

30

En rata su peso medio oscila de 400 a 600 mg en hembras y 400 a 900 mg en machos.

Hígado

Ocupa gran parte de la cavidad abdominal en la rata y el ratón. La porción dorsal, convexa, está limitando con el diafragma y la ventral, cóncava, rodea al estómago y duodeno (**Figura 21**, ratón).

Para extraer el hígado, seccionar con tijeras los ligamentos falciforme y coronario que lo unen al diafragma. Observar su tamaño, consistencia, color y superficie externa y de corte, seccionando los grandes lóbulos.

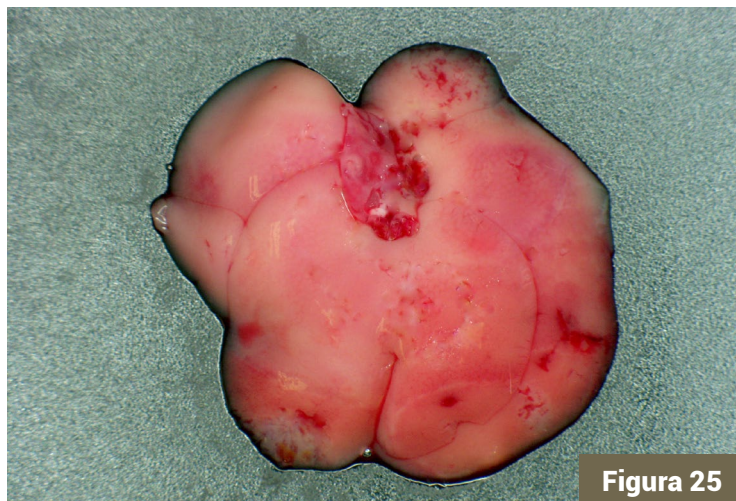
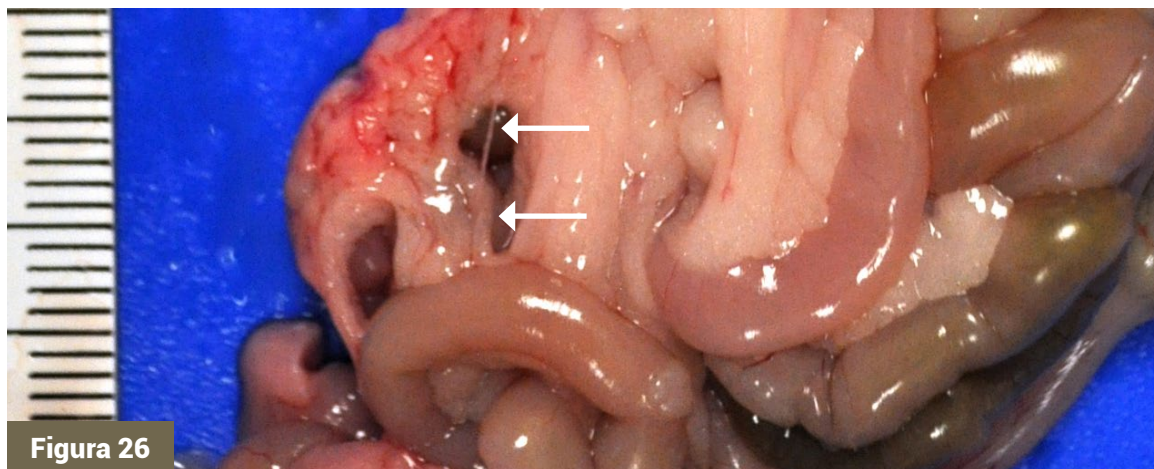


Figura 25



El hígado tiene 3 lóbulos: dos laterales (derecho e izquierdo) subdivididos, y uno central, dividido en dos porciones, una dorsal al hilio, denominada lóbulo caudado y otra ventral, el lóbulo cuadrado (**Figura 25**, ratón, cara diafragmática).

31

De color rojo-marrón oscuro, está cubierto por la cápsula de Glisson, fina y transparente. La superficie de corte presenta aspecto granular por reflejar la estructura lobulillar típica. Su consistencia es firme pero friable (se desmenuza a la presión).

Su peso medio en ratón es de 1,34 g en un adulto joven (3 meses). En la rata su peso oscila de 4 a 8 g en hembras y de 8 a 12 g en machos.

En ratones, la vesícula se observa en la cara ventral, en forma de bolsa de color amarillo-naranja, de pocos mm de longitud. En la rata no hay vesícula biliar y el hígado drena la bilis directamente desde el colédoco, que es un conducto blanquecino que cruza por encima del páncreas, desde el hígado hasta el duodeno y se forma por fusión de varios conductos hepáticos (flechas en **Figura 26**, rata).

Anotar la forma, tamaño y peso del hígado y el contenido de la vesícula biliar en el ratón tras su apertura con tijera, así como el aspecto de la mucosa.

Genital femenino

Formado por los ovarios, oviductos, útero, vagina y vulva (**Figura 27**, ratón).

El útero no gestante tiene un cuerpo corto, tubular situado por delante de la vejiga, y dos cuernos uterinos largos y rectos, de color blanquecino. Los ovarios se localizan caudalmente a ambos riñones; los ovarios activos presentan una superficie nodular por la presencia de folículos y cuerpos lúteos. Los oviductos normalmente están ocultos en la grasa que rodea a la bursa ovárica.

En hembras gestantes, los cuernos uterinos ocupan gran parte de la cavidad abdominal y aparecen dilatados de forma nodular, al adaptarse al perfil de cada uno de los embriones, con la pared muy fina, transparente (**Figura 28**, ratón).

Para extraer el genital entero, seccionar con tijera un rectángulo de pelvis y disecar alrededor de la vulva, separando la vagina del recto y disecando los ligamentos uterinos y ováricos.

Observar la forma de los órganos, tamaño, consistencia y lesiones.

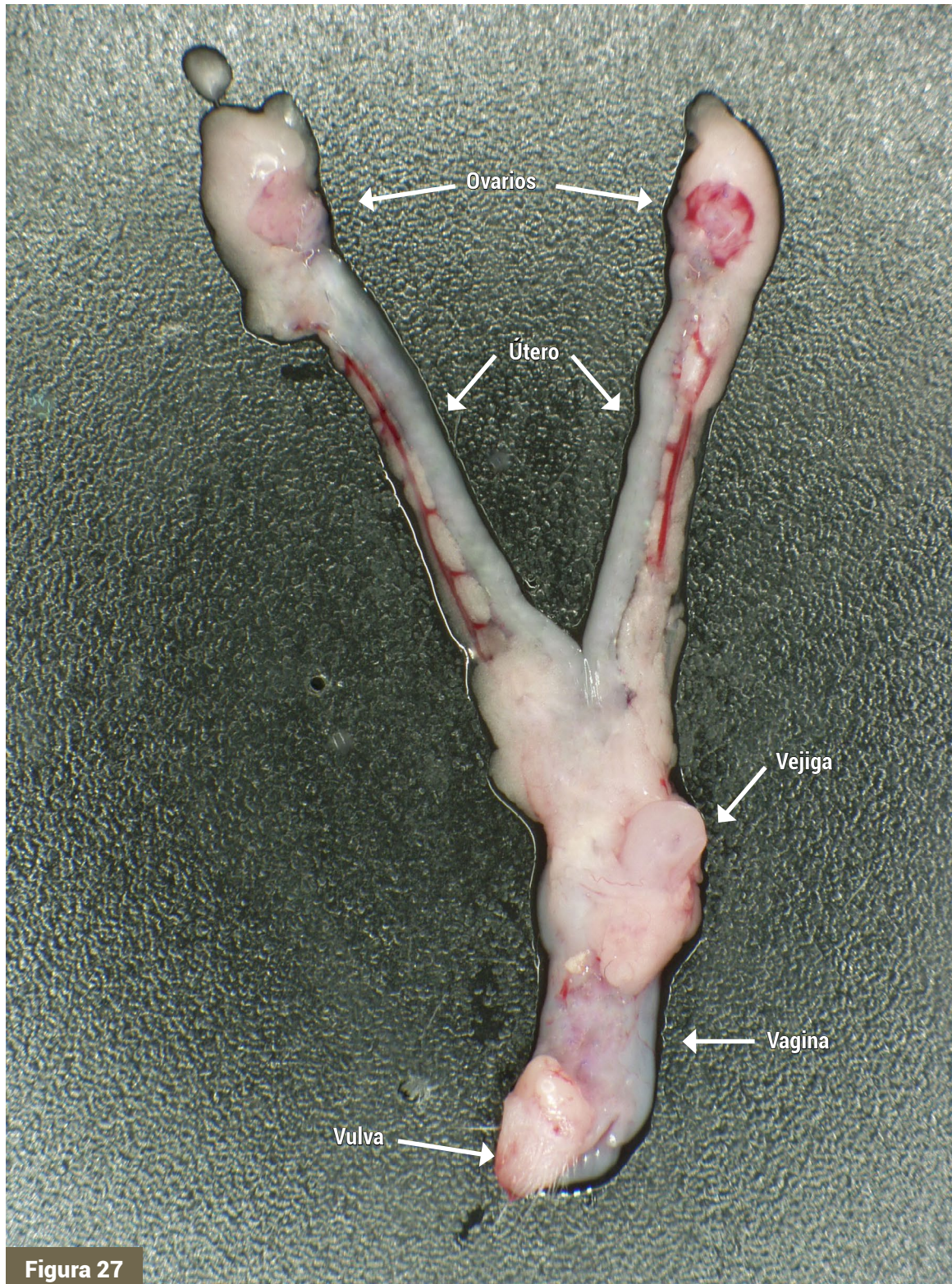
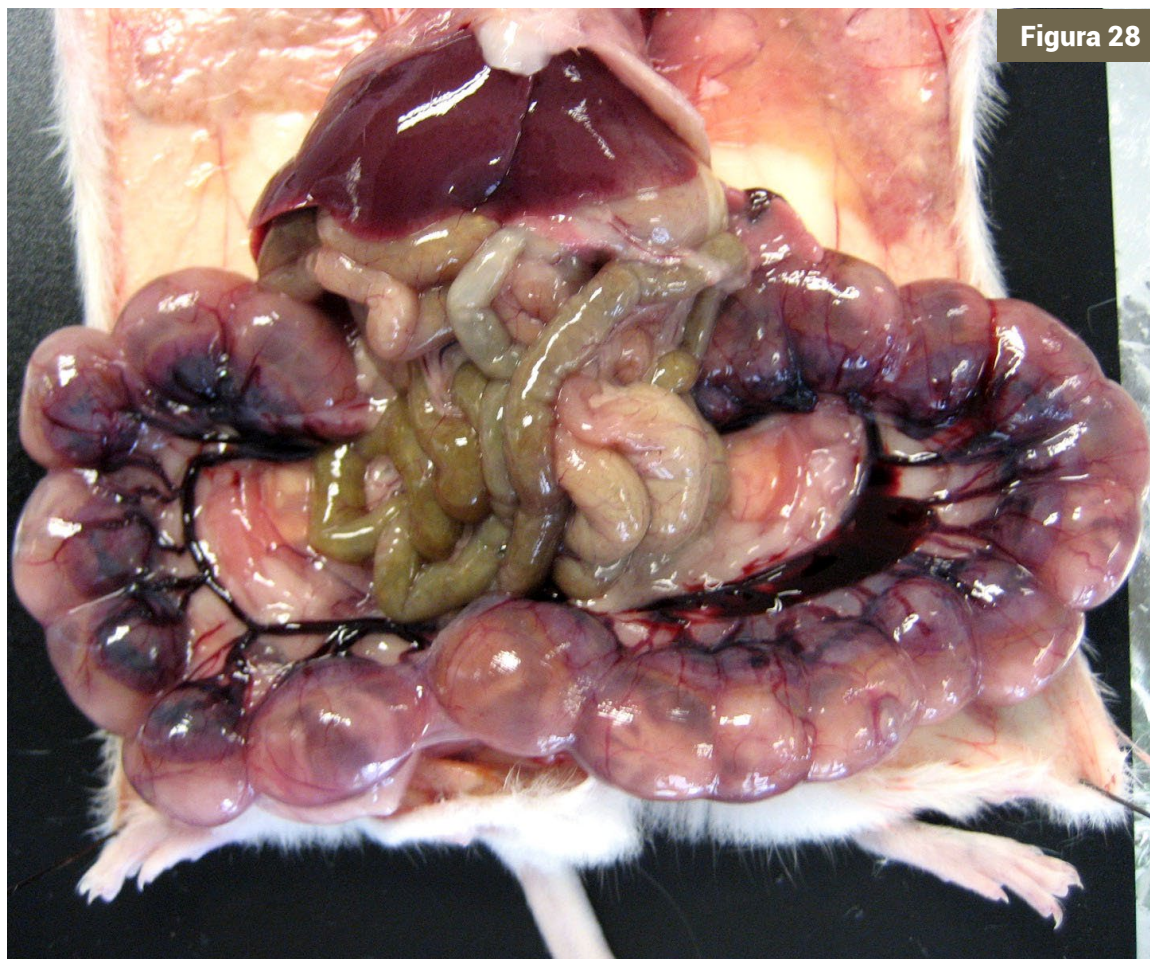


Figura 27



Genital masculino

Formado por los testículos, epidídimo, conductos deferentes, vesículas seminales, próstata, glándulas coagulantes, pene y glándulas prepuciales (**Figura 29**, rata).

Los testículos son ovalados, rodeados del epidídimo (**Figura 30**, rata). La túnica albugínea mantiene el parénquima del testículo a presión y cuando se secciona tiende a desbordarse.

Las vesículas seminales se localizan a ambos lados de la vejiga, en forma de cuernos de carnero, de color gris claro o blanquecino, con la superficie abollonada; en la curvatura interna de las vesículas seminales se localizan las glándulas coagulantes que producen el tapón vaginal en las hembras tras la cópula (**Figura 29**, rata). Las glándulas prepuciales se localizan entre la piel y la musculatura abdominal de la región pelviana, a ambos lados del pene (flechas, **Figura 31**, ratón). La próstata ventral y dorsal rodea al cuello de la vejiga.

Para extraer el genital se evaginan ambos testículos del escroto y se separa todo el conjunto, junto con la vejiga.

En la inspección debemos anotar las características de los distintos órganos.

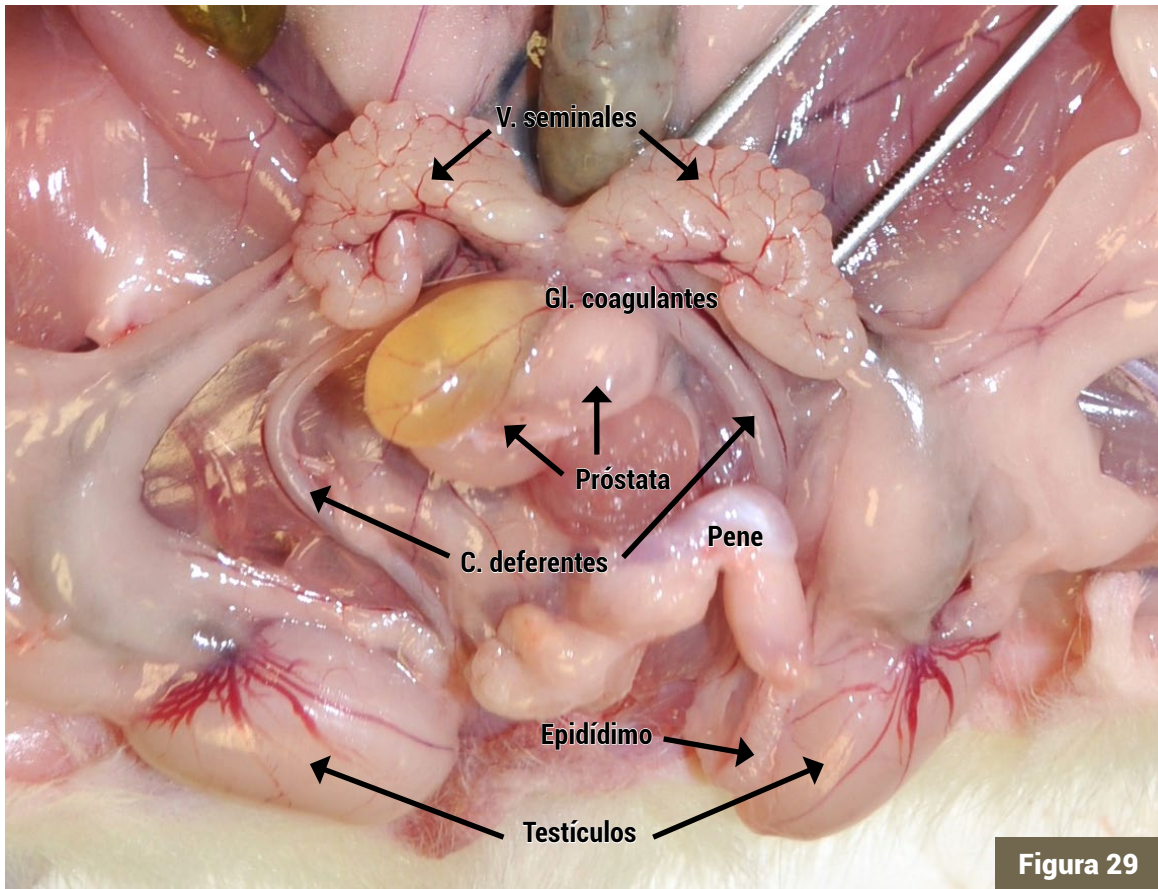
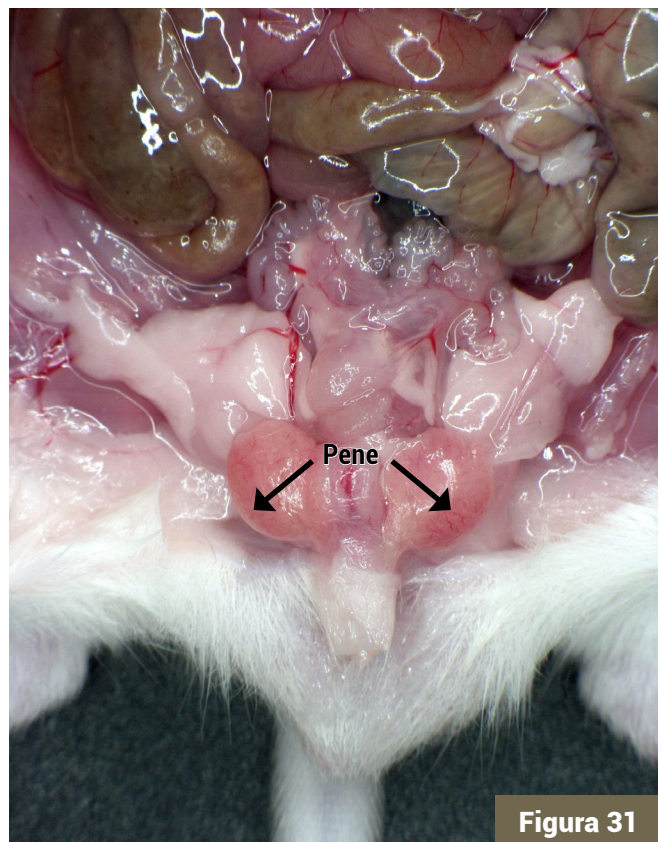
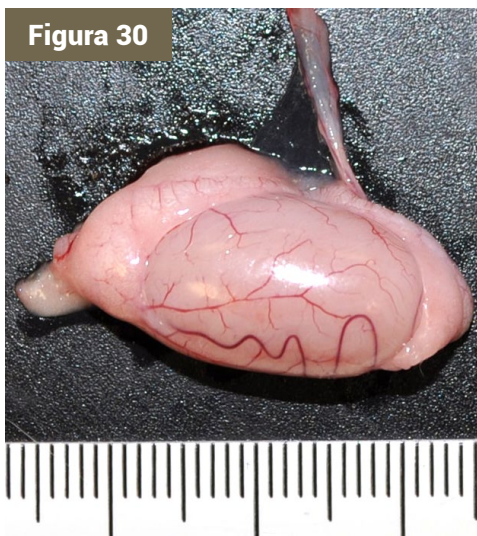
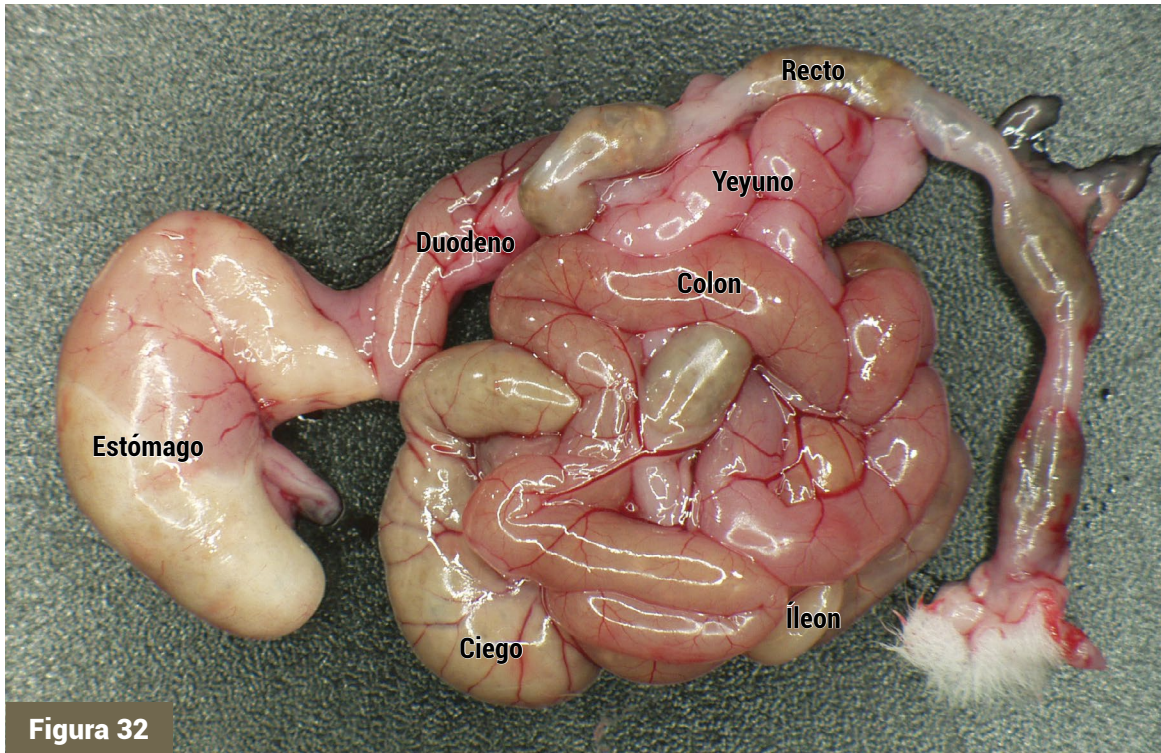


Figura 29



Tubo digestivo

Para extraer todo el paquete digestivo seccionamos el techo de la pelvis con tijera y recortamos alrededor del ano y cortamos el esófago abdominal (**Figura 32**, ratón).



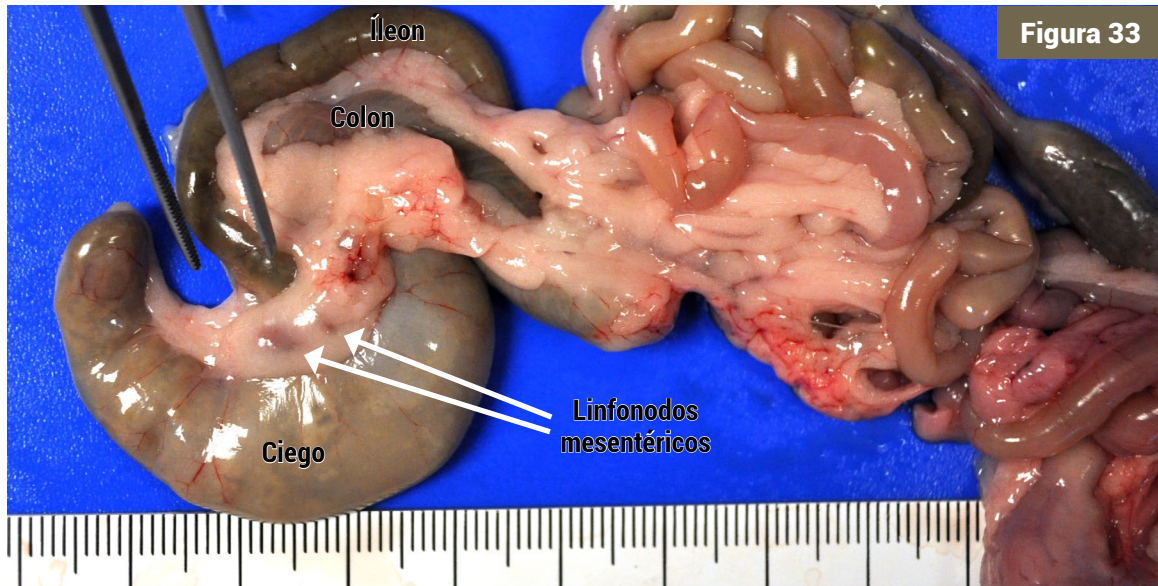
Conviene comenzar el examen de los *linfonodos mesentéricos*, los cuales presentan forma alargada, localizados entre la grasa del mesenterio, entre el ciego y la porción ascendente del colon (**Figura 33**, rata).

A continuación podemos separar las porciones del tubo digestivo desde ano hasta estómago, seccionando la inserción con el mesenterio.

El *esófago* es un tubo fino y recto que va desde la faringe hasta el estómago (2/3 de su longitud en la cavidad torácica, unido a la tráquea y el tercio restante en la abdominal).

El *estómago* tiene forma de bolsa, localizado en el cuadrante superior izquierdo, cubierto parcialmente por el hígado (**Figura 21**, ratón). En rata y ratón tiene una mitad cardial, aglandular, de color blanquecino, y una fúndica y pilórica glandular, de color rosado (**Figura 34**, ratón). El estómago se abre con tijera siguiendo la curvatura mayor; tras limpiar su contenido con solución salina, se puede observar la plica, o borde prominente, blanquecino que separa ambas porciones del estómago (flechas en **Figura 34**, ratón).

El *intestino* se divide en intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) e intestino grueso (ciego, colon y recto). El duodeno comienza en el píloro y tiene forma de herradura, rodeando al páncreas (**Figura 35**, ratón). El yeyuno es la porción más larga y sinuosa. El íleon finaliza en



el ciego (**Figura 33**, rata). El ciego tiene forma de bolsa alargada, localizado en el cuadrante inferior derecho del abdomen, en la fosa ilíaca, terminando en un apéndice ciego; el colon presenta una parte ascendente, transversa y, finalmente, descendente. El recto es corto y recto y desemboca en el ano (**Figura 32**, ratón).

Las *placas de Peyer* intestinales aparecen en forma de placas prominentes, ovaladas, o redondeadas, de color blanquecino, en el borde no mesentérico (flechas en **Figura 36**, ratón).

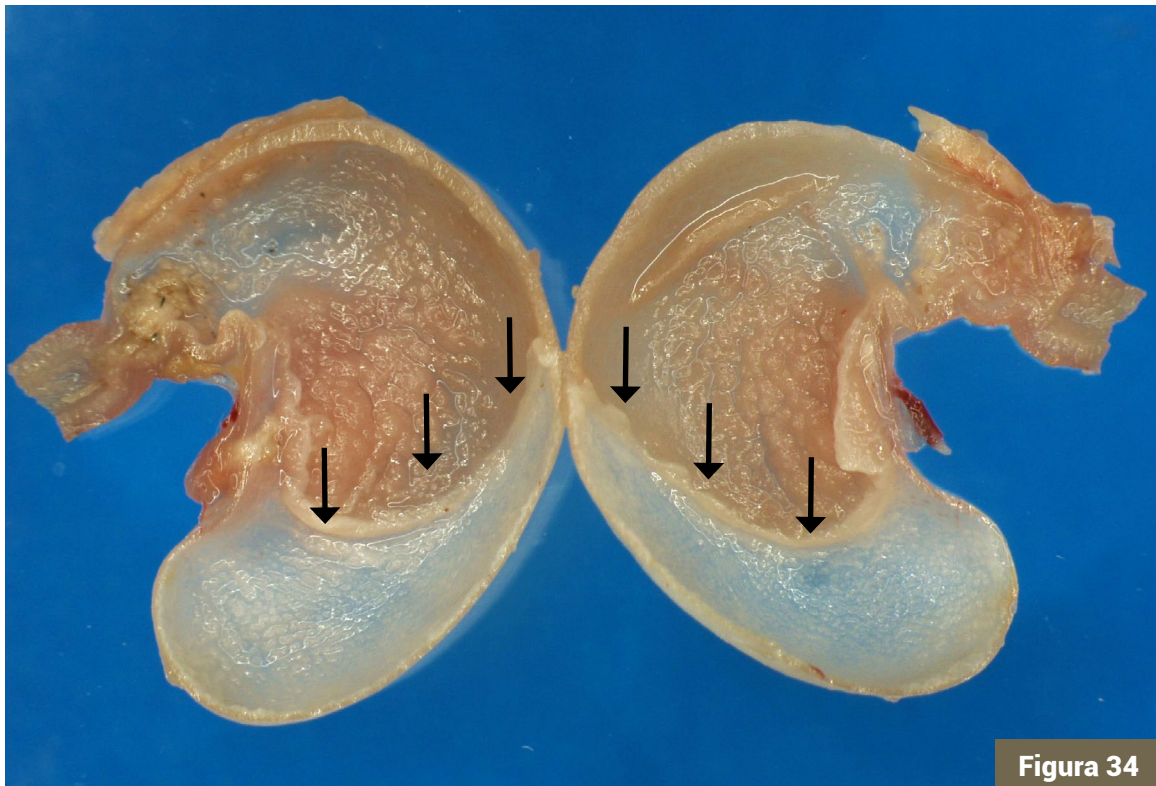


Figura 34

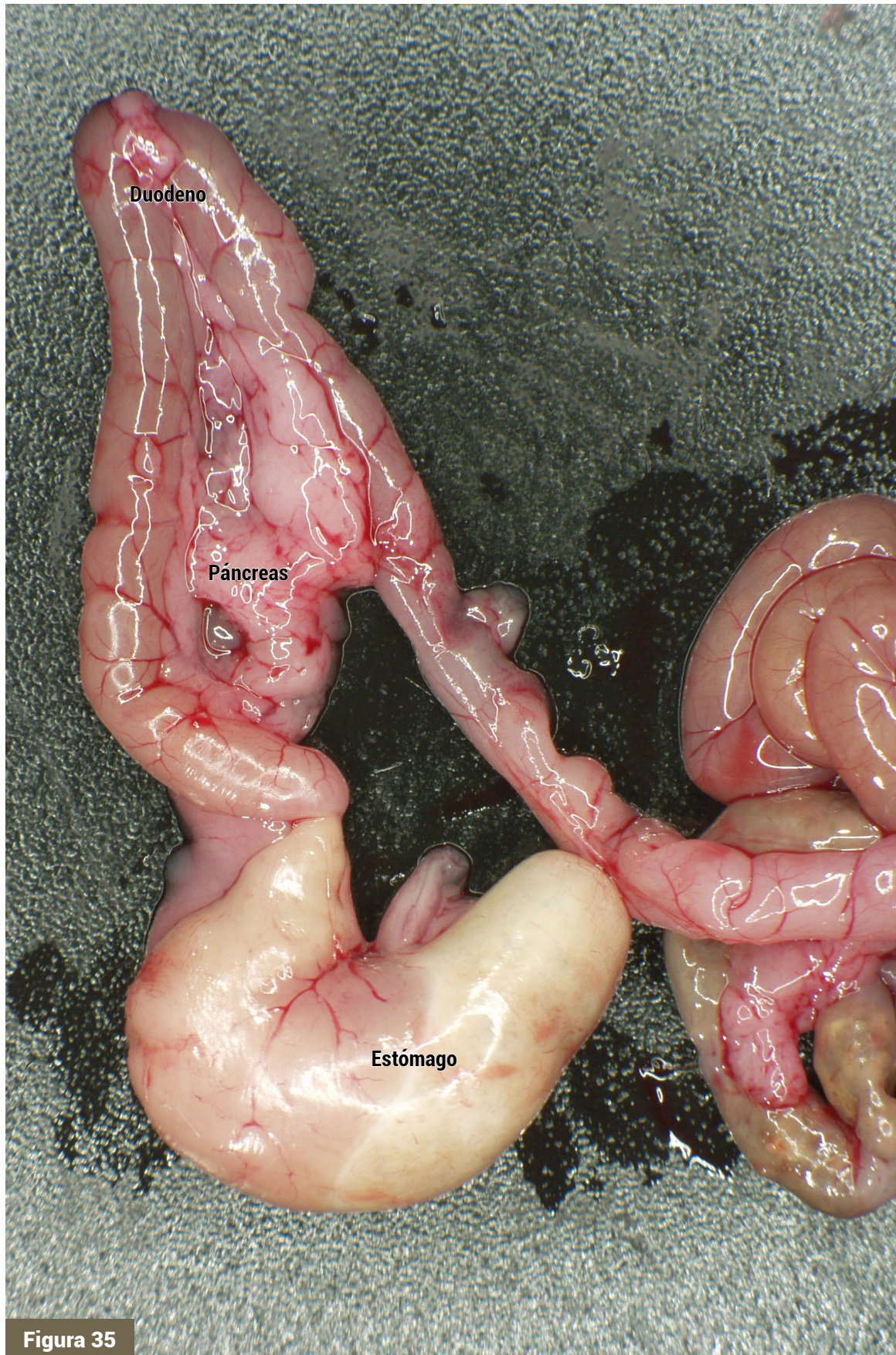
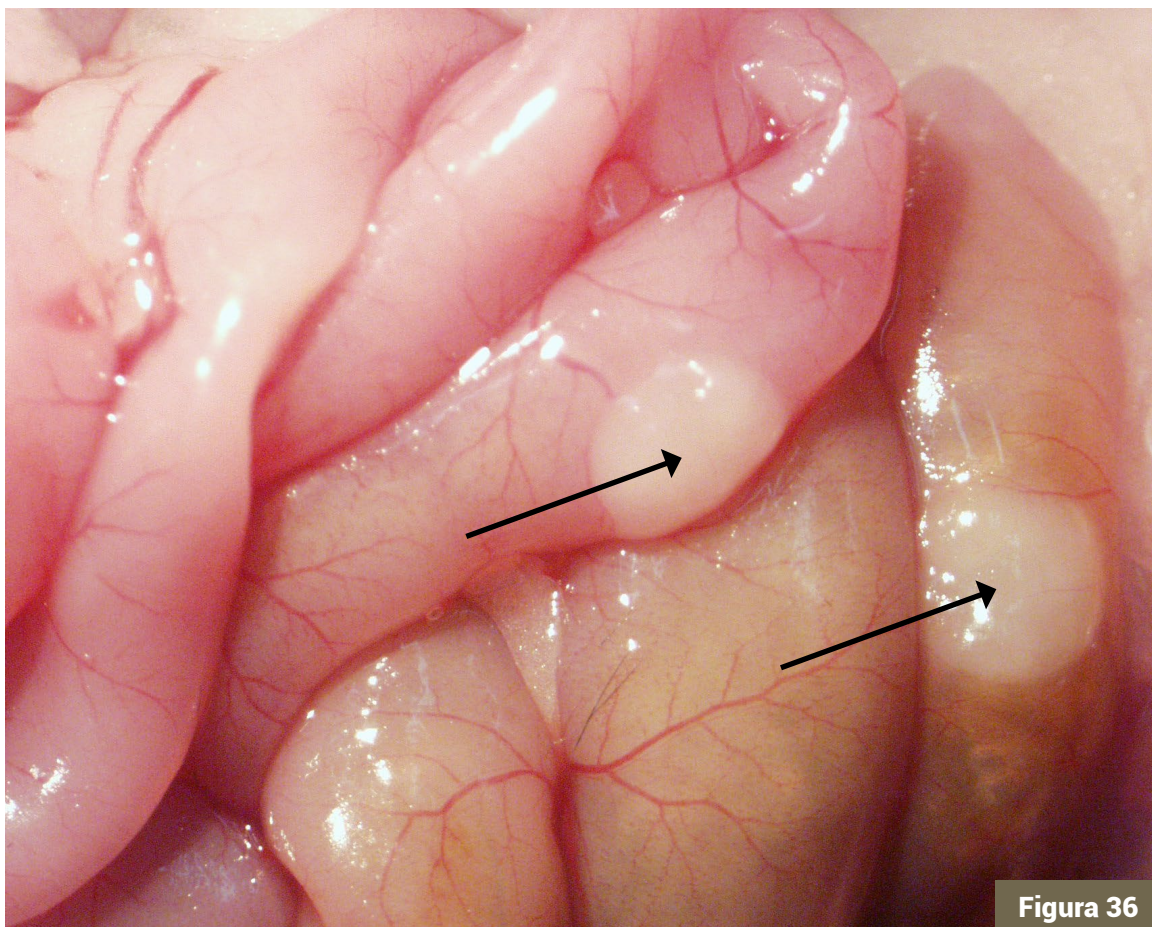


Figura 35

Abrir una porción de cada tramo de intestino. Observar el contenido, grosor de la pared, color, aspecto de la mucosa y presencia de lesiones.



Páncreas

En rata y ratón el páncreas aparece de color rosado, íntimamente asociado al tejido adiposo mesentérico de color blanquecino, que va atrofiándose con la edad del animal (**Figura 35**, ratón). Los linfonodos pilórico o pancreático aparecen en los márgenes del páncreas.

Aparato urinario

Tras la extracción del paquete digestivo, se pueden observar *in situ* las distintas partes del aparato urinario: riñones, uréteres, vejiga y uretra (**Figura 37**, rata).

Los riñones tienen forma de alubia. Comparar el tamaño de ambos (el derecho es ligeramente más grande y ocupa una posición más craneal). Su consistencia es firme y su color rojo marrón (**Figura 38**, ratón). Las glándulas adrenales se localizan cranealmente a cada riñón, del tamaño de una cabeza de alfiler, de color pálido en las hembras y rosado en los machos (**Figura 38**, ratón).

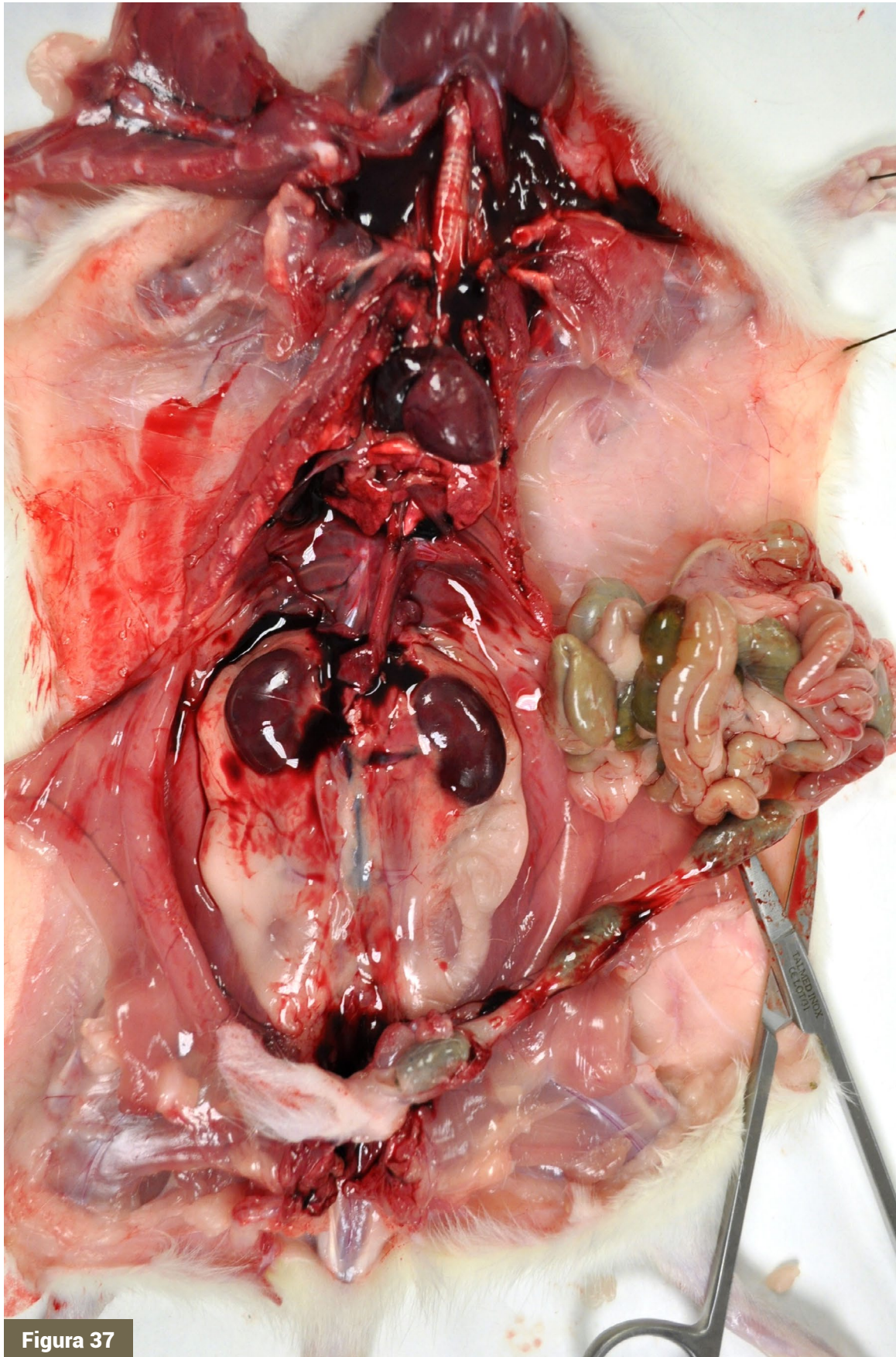


Figura 37

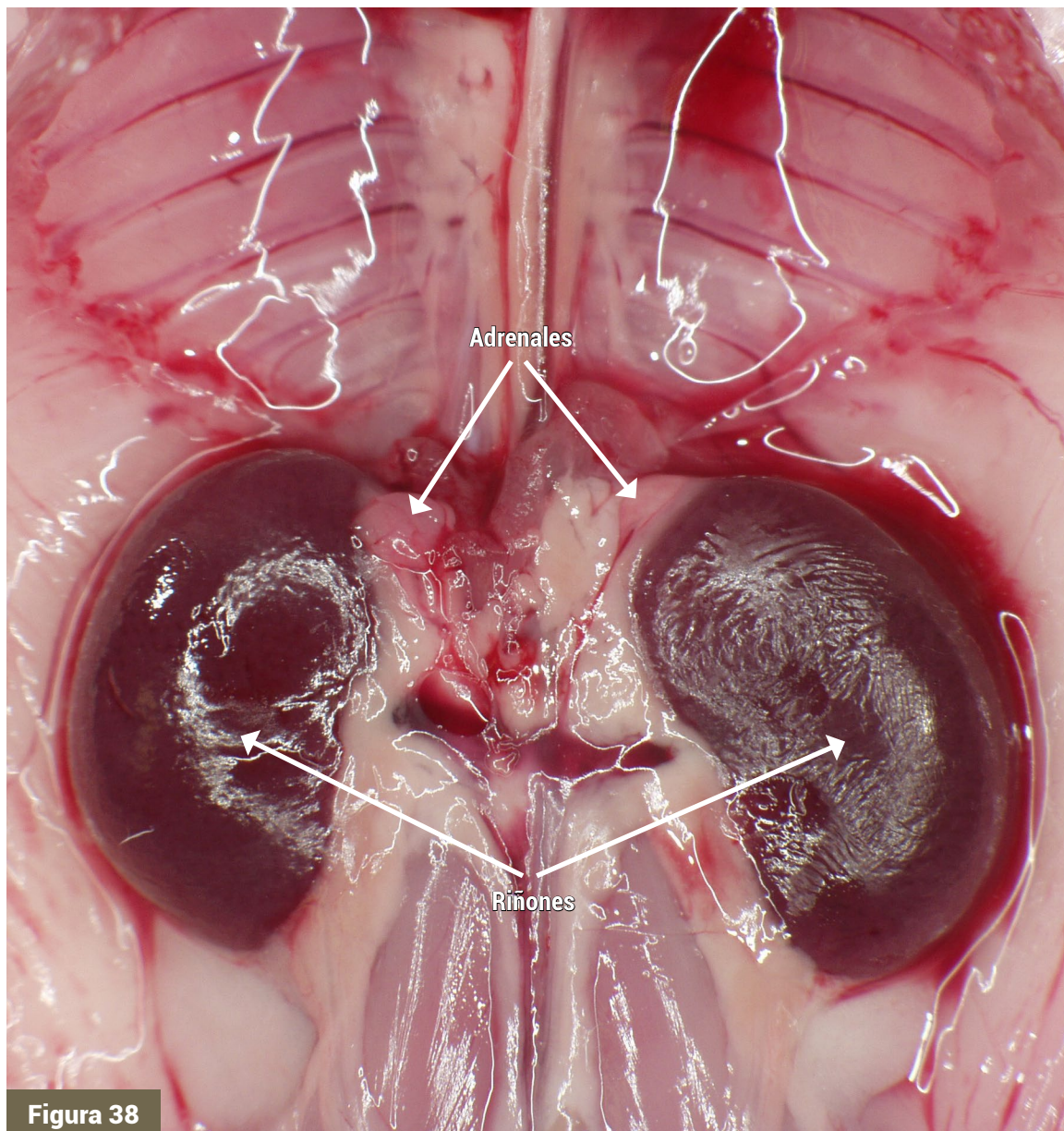


Figura 38

La vejiga se abre longitudinalmente y se observa el contenido. Los linfonodos lumbar y caudal se localizan en la bifurcación de la aorta en ilíacas.

Tras el estudio de todos los órganos de la cavidad abdominal, extraer todos los órganos torácicos juntos seccionando a la entrada del tórax la tráquea y esófago.

Timo

El timo tiene dos lóbulos y se localiza sobre la base del corazón, de color blanquecino (**Figura 39**, ratón). Su tamaño depende de la edad del animal: bien desarrollado en animales jóvenes, y atrófico en adultos.

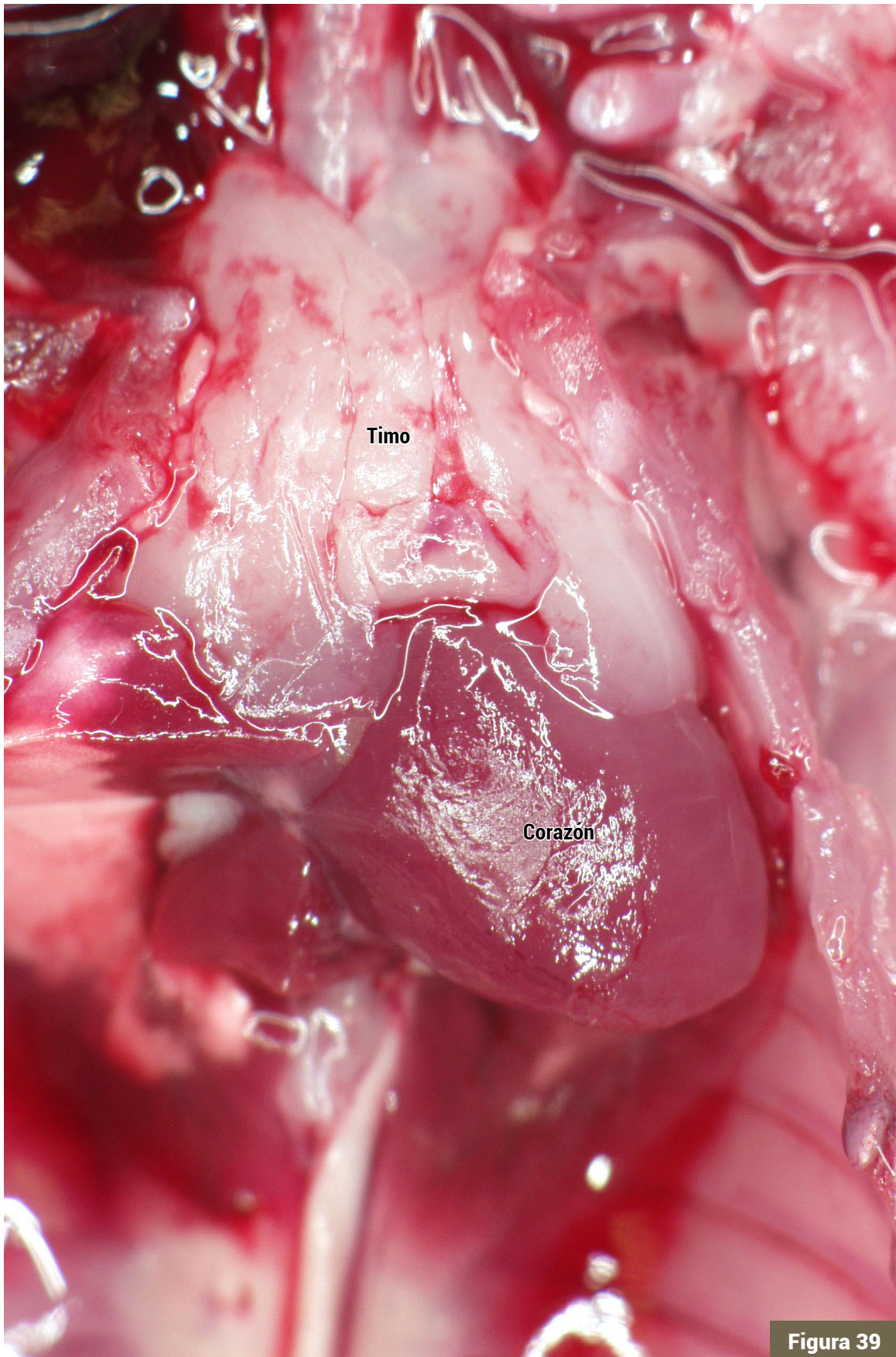
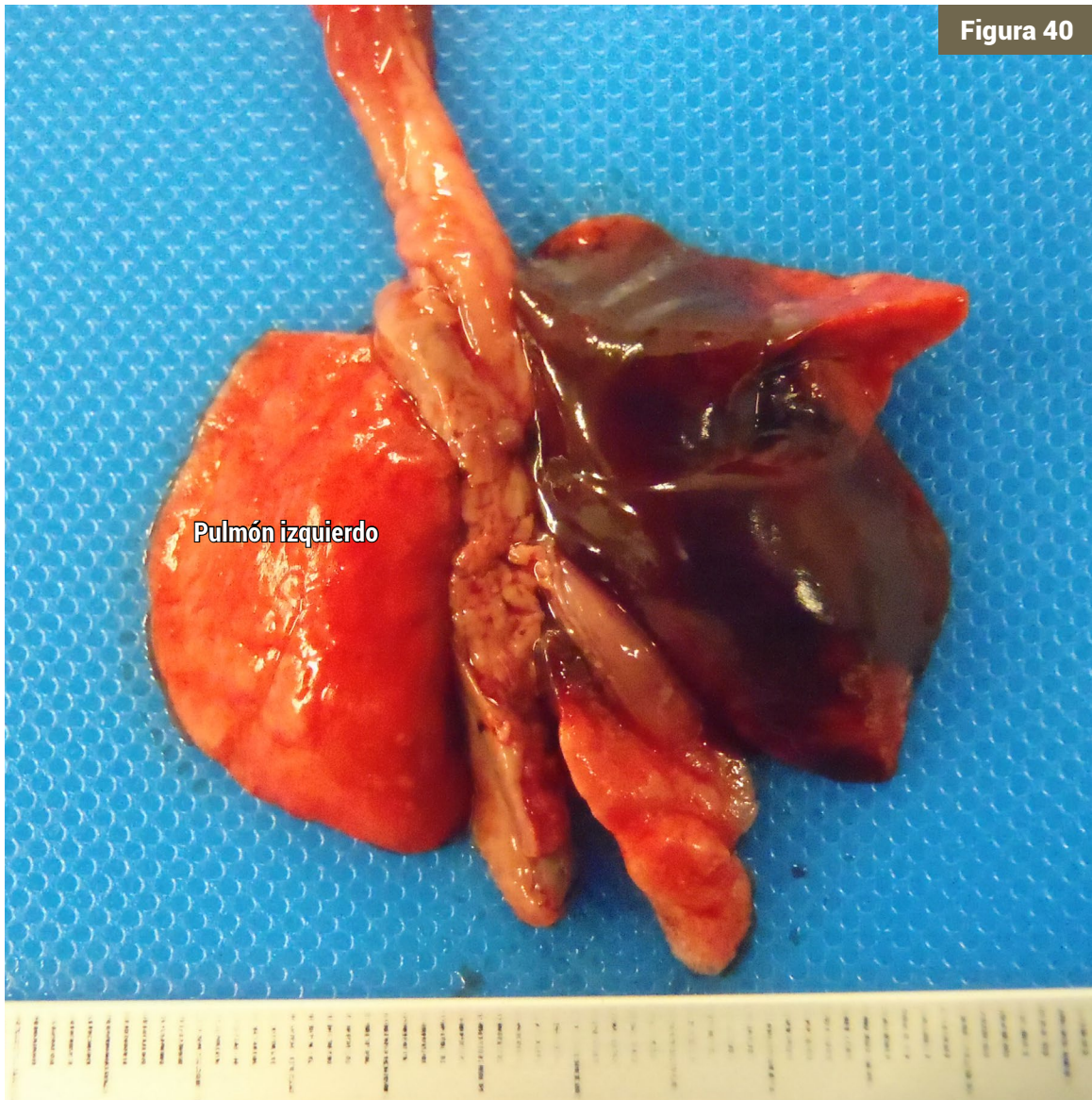


Figura 39

Pulmón y corazón

Los pulmones están lobulados. El pulmón derecho es más grande que el izquierdo. El derecho tiene cuatro lóbulos: craneal, medio, caudal y accesorio y el izquierdo un solo lóbulo (**Figura 40**, rata, el pulmón derecho presenta hipostasia cadavérica, bastante común en roedores cuya necropsia se realiza pocas horas después de la muerte o sacrificio). Su color depende de la cantidad de sangre y método de sacrificio del animal; normalmente es rosa-rojo, con consistencia elástica y esponjosa. Examinar su forma, tamaño, color y consistencia y describir posibles lesiones.



El corazón tiene forma de pirámide triangular (**Figura 39**, ratón) con atrio y ventrículo comunicados en cada lado pero sin comunicación derecha-izquierda. Observar su tamaño y seccionar longitudinalmente para la toma de muestras (es muy difícil observar macroscópicamente las lesiones del endocardio, válvulas, etc.).

Tiroides

Son dos pequeños lóbulos ovalados, adheridos a la cara dorso lateral de la tráquea (aproximadamente con 2x1 mm cada uno en ratón), de color rosado-rojizo (**Figura 41**, ratón)

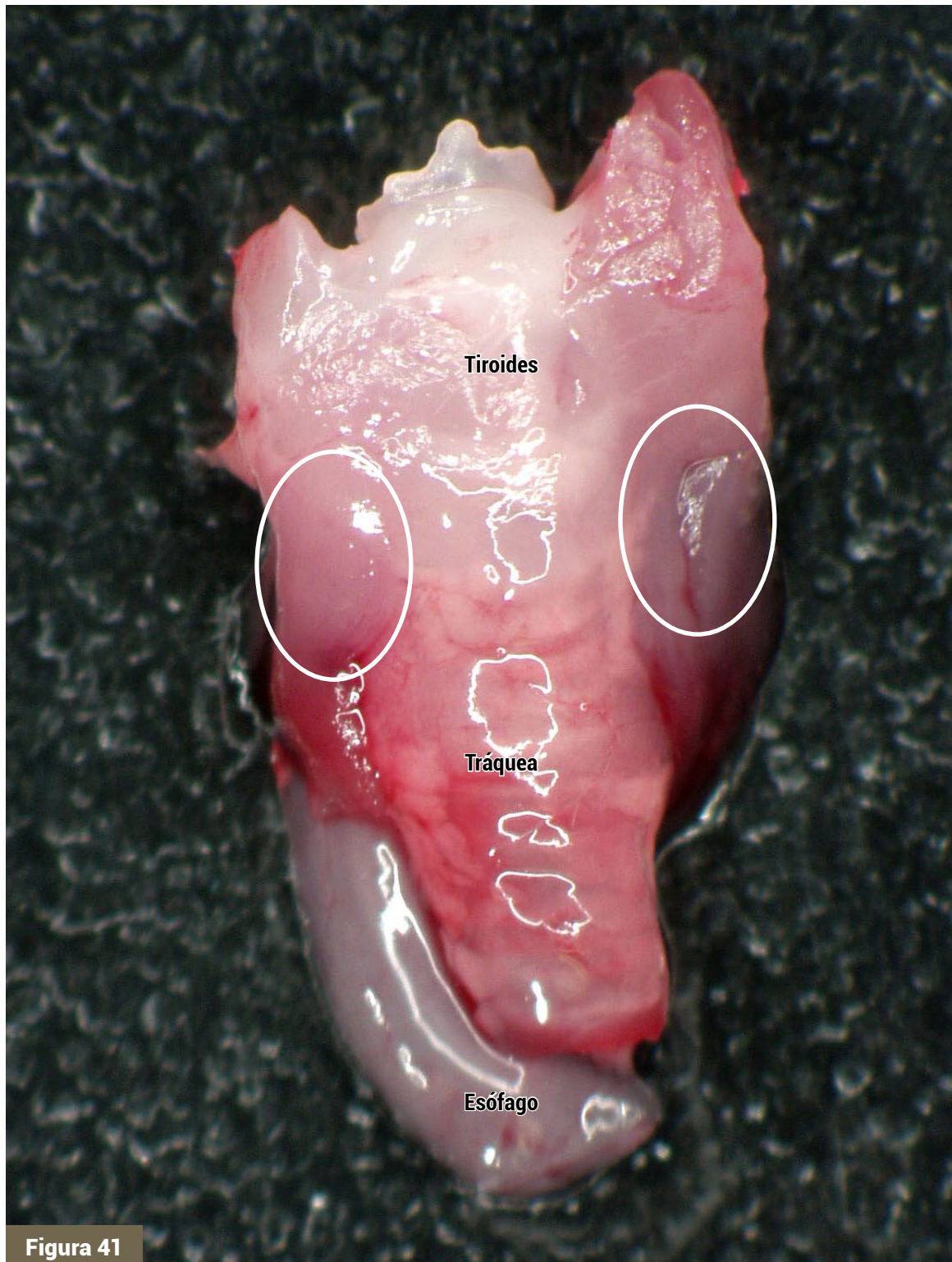
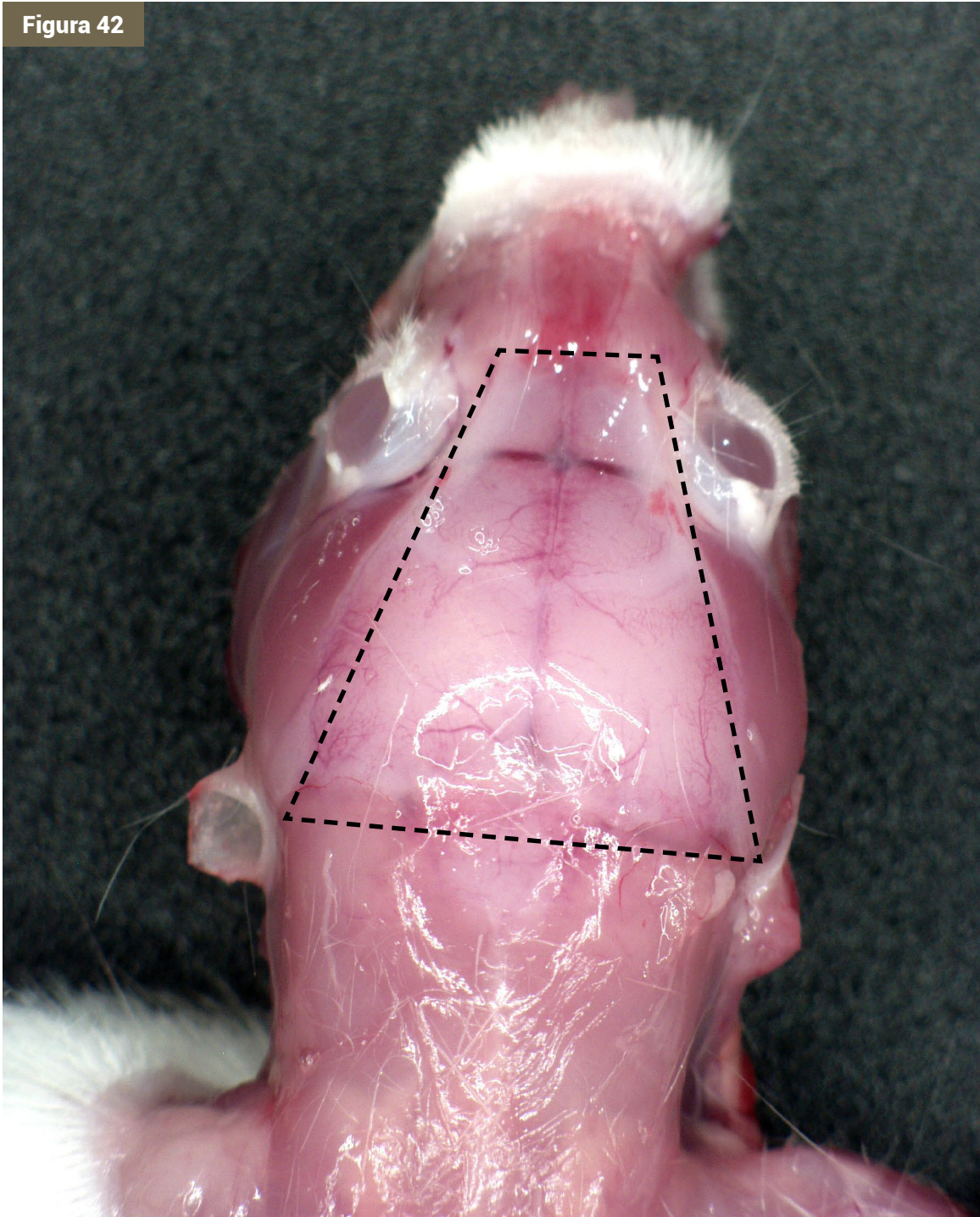


Figura 41

8.4. Apertura de la cabeza

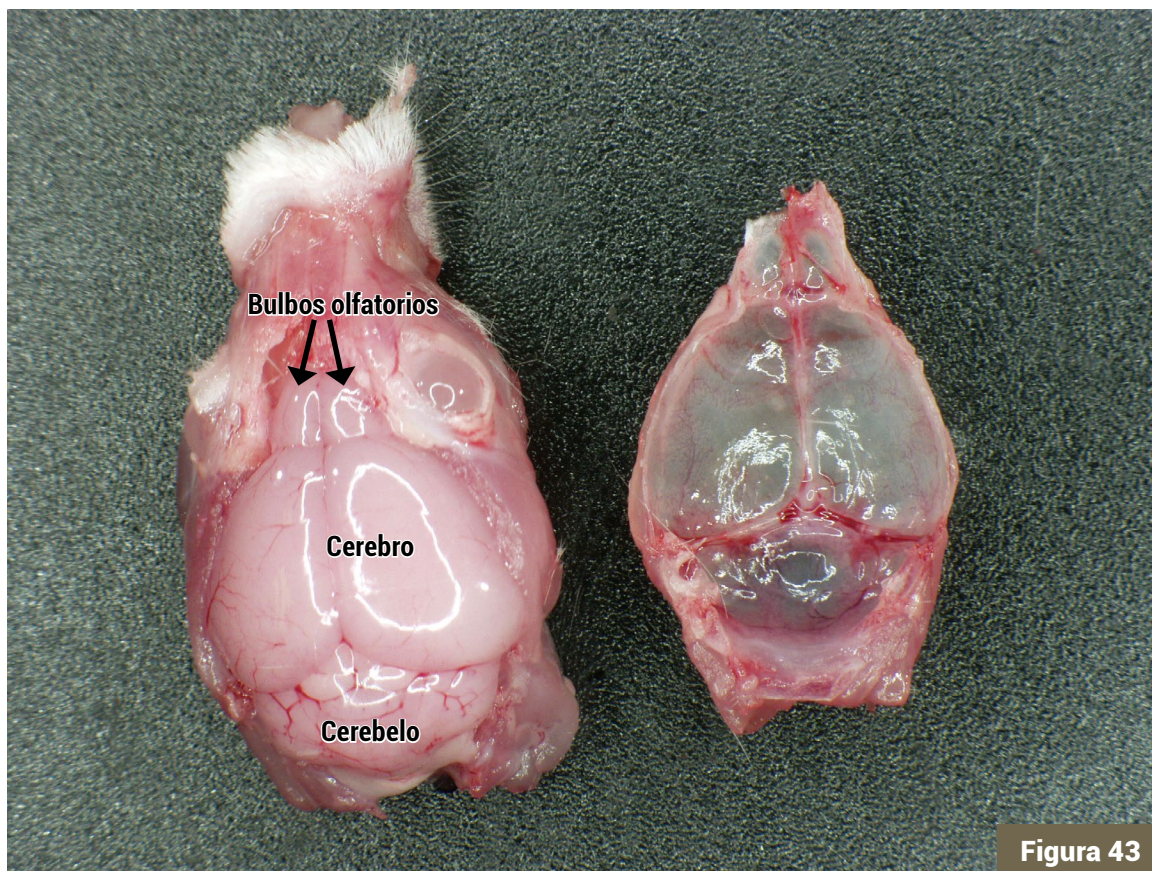
Retirar la piel de la cabeza seccionando la base de las orejas. Separar la cabeza del cuello cortando la union occípito-atloidea. Entrar con la tijera en el agujero magno y seccionar un triángulo truncado rodeando el cerebro hasta la confluencia de ambos ojos (**Figura 42**, ratón); retirar el cráneo (y la duramadre que suele quedarse adherida a él) para observar el sistema nervioso central (**Figura 43**, ratón).

Figura 42



SNC

El encéfalo es la parte principal, dividido en dos hemisferios cerebrales de forma ovalada, con dos lóbulos olfatorios alargados que se adentran hacia la cavidad nasal y están bastante desarrollados en rata y ratón (**Figura 43**, ratón). El cerebelo, proporcionalmente, es bastante grande, situado caudalmente a ambos hemisferios cerebrales. Lo recomendable es extraer todo el encéfalo, cerebelo y bulbo raquídeo y fijarlo entero, para no provocar artefactos en su manipulación.



La hipófisis, de color rosado, normalmente se queda adherida a la silla turca de la base del cráneo entre ambos nervios ópticos, de color blanquecino (**Figura 44**, ratón).

Ojos

En rata y ratón el tamaño de los ojos es grande y están rodeados por la glándula lagrimal y Hardeniana. La glándula Hardeniana es más grande, en forma de U alrededor del ojo, de color ligeramente amarillento (**Figura 44**, ratón).

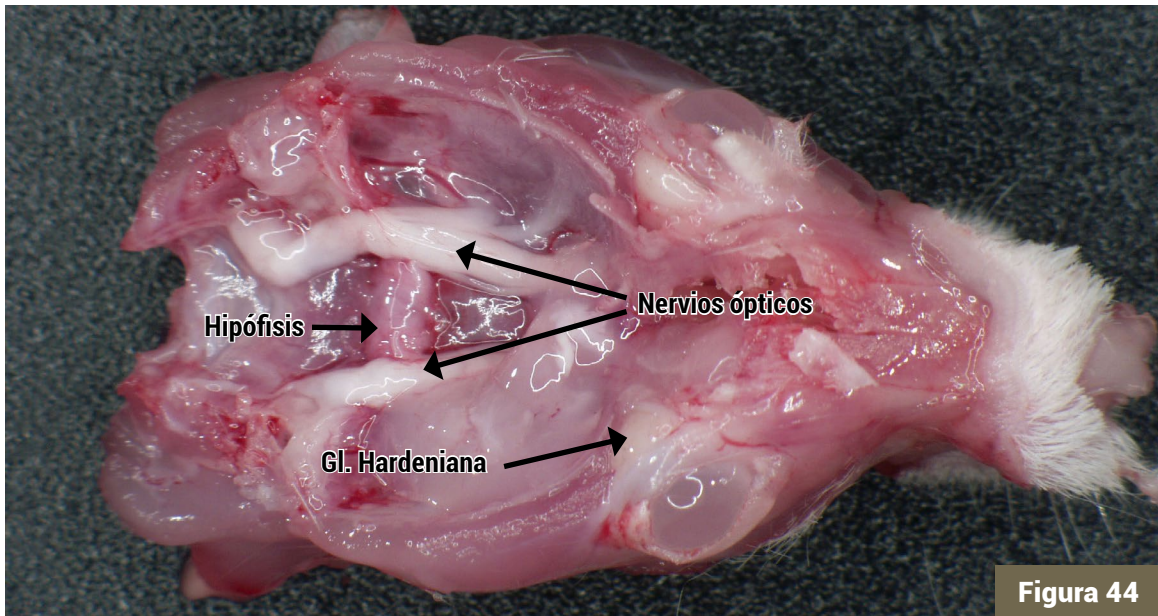


Figura 44

Boca

Para abrir la boca seccionar el músculo masétero de uno de los lados y la unión máxilo-mandibular traccionando la mandíbula para abrir la cavidad bucal y observar la lengua, esófago cervical, faringe, laringe, tráquea, paladar y dientes (Figura 45, ratón).

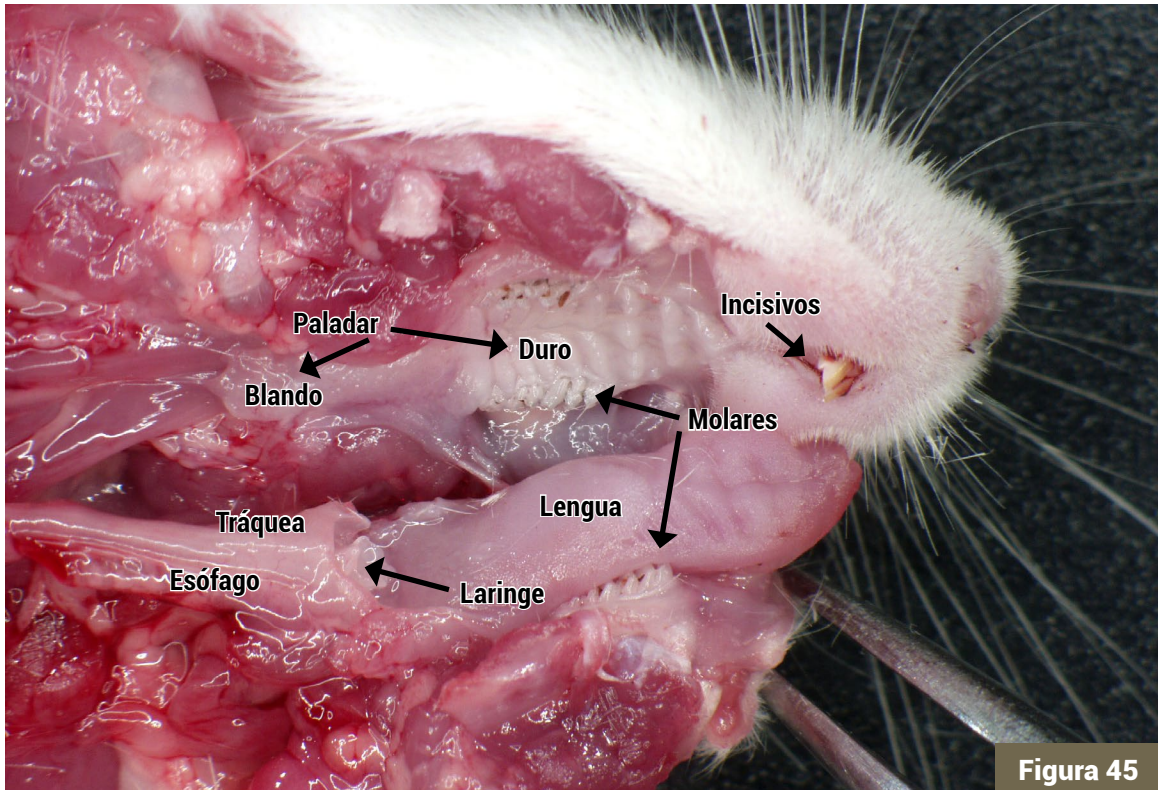
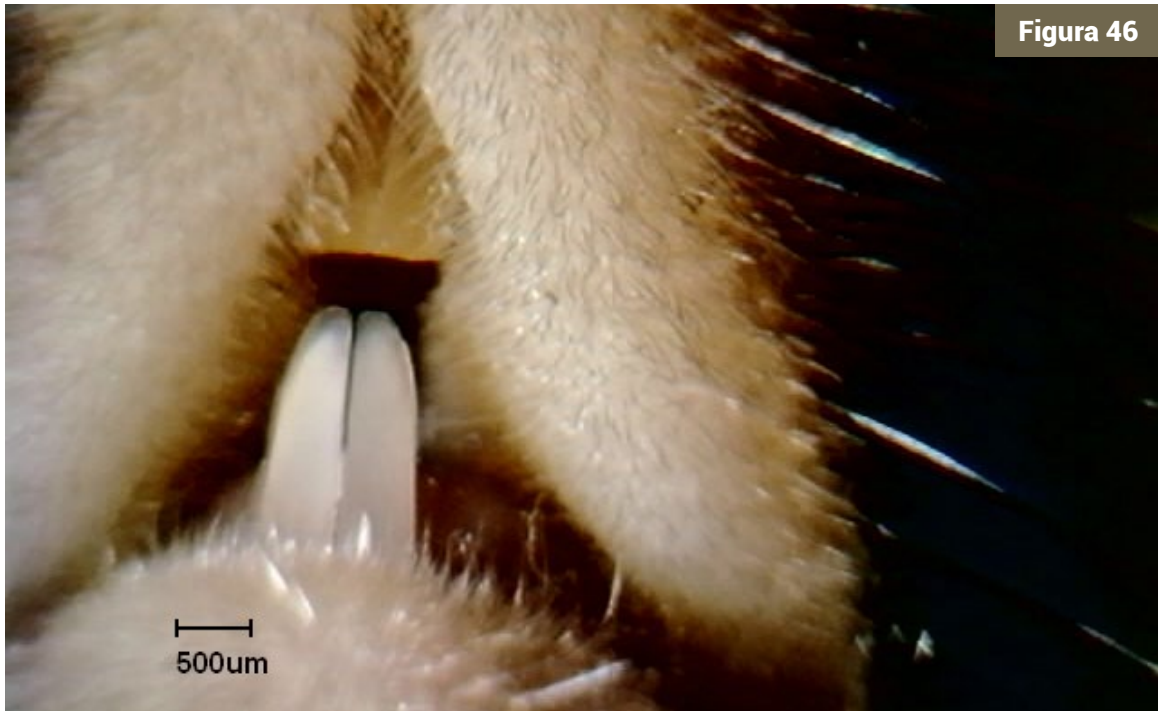


Figura 45

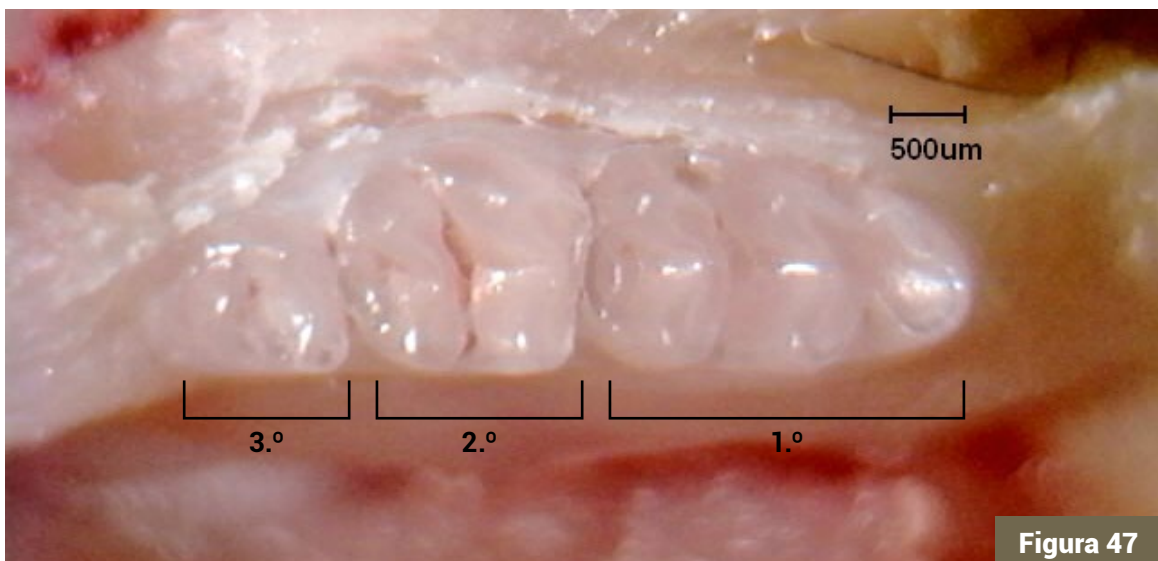
Dientes

En rata y ratón hay 4 incisivos, 2 incisivos superiores de color ligeramente amarillento con los bordes rectos, cortantes y 2 incisivos inferiores de color blanquecino con los bordes puntiagudos, afilados (**Figura 46**, ratón).



47

La fórmula dentaria se completa con 12 molares, 3 a cada lado del maxilar y de la mandíbula; los molares van disminuyendo su tamaño progresivamente, siendo los primeros molares los más grandes, con tres cúspides, seguidos del 2º con 2 y del 3º con una sola cúspide (**Figura 47**, ratón).



9. Bibliografía

- Beccari N & Mazzi V (1966). *Manuale di tecnica microscopica*, Societa Editrice Libreria 6ª Ed.
- Cook MI (1965). *The Anatomy of the Laboratory Mouse*, Academic Press, London.
- Department of Health and Human Services. Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention. National Institutes of Health, U.S. (2009). <https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/BMBL.pdf>
- Dunn TB (1954). The Importance of Differences in Morphology in Inbred Strains. *J. Nat. Cancer Inst.*, vol. 15, 573-85.
- Feldman, DB & Seely JC (1988). *Necropsy Guide: Rodents and the Rabbit*. CRC Press, Florida.
- Gude, WD; Cosgrove GE; Hirsch GP (1982). *Histological Atlas of the Laboratory Mouse*. Plenum Press, New York.
- Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories Recommendations of a CDC-convened, Biosafety Blue Ribbon Panel. Morbidity and Mortality Weekly Report. Supplement / Vol. 61 January 6, 2012. U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention (https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/su6101a1_ensp.htm)
- Gur E & Waner T (1993). The variability of organ weight background data in rats. *Laboratory Animals*, 27: 65-72.
- Hedrich H & Bullock G, Eds (2004). *The Laboratory Mouse*. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Hollander A, Van Run P, Spithoven J, Heederik D, Doekes G (1997). Exposure of laboratory animal workers to airborne rat and mouse urinary allergens. *Clin Exp Allergy* Jun; 27(6): 617-26.
- Hummel KP, Richardson FL, Fekete E (1966). *Anatomy* (chapter 13). En Green EL (edited by) *Biology of the Laboratory Mouse*, McGraw-Hill, New York.
- Jones TC & Gleiser CA (1954), Eds, *Veterinary Necropsy Procedures*, B. Lippincott Co, Philadelphia.
- Long GG, Symanowski, JT, Roback K (1998). Precision in Data Acquisition and Reporting of Organ Weights in Rats and Mice. *Toxicologic Pathology*, 26 (3): 316-318.
- NASPHV Compendium of Veterinary Standard Precautions for Zoonotic Disease Prevention in Veterinary Personnel. National Association of State Public Health Veterinarians. Veterinary Infection Control Committee (2010). *JAVMA*, Vol 237, No. 12. <http://nasphv.org/Documents/VeterinaryStandardPrecautions.pdf>
- Parkinson CM, O'Brien A, Albers TM, Simon MA, Clifford CB, Pritchett-Corning KR (2011). Diagnostic Necropsy and Selected Tissue and Sample Collection in Rats and Mice. *J. Vis. Exp.* (54), e2966, doi:10.3791/2966.
- Pritchett KR & Corning BF (2004). *Biology and Medicine of Rats*. En *Laboratory Animal Medicine and Management*, Reuter JD and Suckow MA Eds, International Veterinary Information Service (IVIS), Ithaca, New York.
- Sakaguchi M, Inouye S, Miyazawa H, Kamimura H, Kimura M, Yamazaki S (1989). Particle size of airborne mouse crude and defined allergens. *Lab Anim Sci* May, 39(3): 234-6.

Sellers, RS, Morton D, Michael B, Roome N, Johnson JK, Yano BL, Perry E, Schafer K (2007). Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendations for Toxicology Studies. *Toxicol. Pathol.*, 35: 751-755.

Scudamore, CL (2014). *A Practical Guide to the Histology of the Mouse*. Wiley Blackwell Ed, 248 pgs.

Walker, WF & Homberger DG (1997). *Anatomy & Dissection of the Rat*. Ed. Freeman and Company, New York.

Zeman W and Innes JRM. *Craigie's Neuroanatomy of the Rat*, Academic Press, New York, 1963 pp. 41-46.

Páginas web de interés:

Necropsia en ratón: Vincenzo Covelli - Guide to the Necropsy of the Mouse http://eulep.anat.cam.ac.uk/Necropsy_of_the_Mouse/

Necropsia: <https://norecopa.no/prepare/15-necropsy>

Recursos Rurais

Revista do Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural (IBADER)

Proceso de selección e avaliación de orixinais

Recursos Rurais publica artigos, revisións, notas de investigación e reseñas bibliográficas. Os artigos, revisións e notas deben ser orixinais, sendo avaliados previamente polo Comité Editorial e o Comité Científico Asesor. Os traballos presentados a Recursos Rurais serán sometidos á avaliación confidencial de dous expertos alleos ao equipo editorial, seguindo criterios internacionais. Caso dos avaliadores propoñeren modificacións na redacción do orixinal, será de responsabilidade do equipo editorial —unha vez informado o autor— o seguimento do proceso de reelaboración do traballo. Caso de non ser aceptado para a súa edición, o orixinal será devolto ao seu autor, xunto cos ditames emitidos polos avaliadores. En calquera caso, os orixinais que non se suxeiten ás seguintes normas técnicas serán devoltos aos seus autores para a súa corrección, antes do seu envío aos avaliadores.

NORMAS PARA A PRESENTACIÓN DE ORIXINAIS

Procedemento editorial

A Revista Recursos Rurais aceptará para a súa revisión artigos, revisións e notas vinculados á investigación e desenvolvemento tecnolóxico no ámbito da conservación e xestión da biodiversidade e do medio ambiente, dos sistemas de produción agrícola, gandeira, forestal e referidos á planificación do territorio, tendentes a propiciar o desenvolvemento sostible dos recursos naturais do espazo rural. Os artigos que non se axusten ás normas da revista, serán devoltos aos seus autores.

Preparación do manuscrito

Comentarios xerais

Os manuscritos non deben exceder de 20 páxinas impresas en tamaño A4, incluíndo figuras, táboas, ilustracións e a lista de referencias. Todas as páxinas deberán ir numeradas, aínda que no texto non se incluírán referencias ao número de páxina. Os artigos poden presentarse nos seguintes idiomas: galego, castelán, portugués, francés ou inglés. Os orixinais deben prepararse nun procesador compatible con Microsoft Word®, a dobre espazo nunha cara e con 2,5 cm de marxe. Empregarase a fonte tipográfica "arial" a tamaño 11 e non se incluírán tabulacións nin sangrías, tanto no texto como na lista de referencias bibliográficas. Os parágrafos non deben ir separados por espazos. Non se admitiran notas ao pé. Os nomes de xéneros e especies deben escribirse en cursiva e non abreviados a primeira vez que se mencionen. Posteriormente o epíteto xenérico poderá abreviarse a unha soa letra. Debe utilizarse o Sistema Internacional (SI) de unidades. Para o uso correcto dos símbolos e observacións máis comúns pode consultarse a última edición do CBE (Council of Biology Editors) Style manual.

Páxina de título

A páxina de título incluírá un título conciso e informativo (na lingua orixinal e en inglés), o nome(s) do autor(es), a afiliación(s) e a dirección(s) do autor(es), así como a dirección de correo electrónico, número de teléfono e de fax do autor co que se manterá a comunicación.

Resumo

Cada artigo debe estar precedido por un resumo que presente os principais resultados e as conclusións máis importantes, cunha extensión máxima de 200 palabras. Ademais do idioma orixinal no que se escriba o artigo, presentarase tamén un resumo en inglés.

Palabras clave

Deben incluírse ata 5 palabras clave situadas despois de cada resumo distintas das incluídas no título.

Organización do texto

A estrutura do artigo debe axustarse na medida do posible á seguinte distribución de apartados: Introducción, Material e métodos, Resultados e discusión, Agradecementos e Bibliografía.

Os apartados irán resaltados en negriña e tamaño de letra 12. Se se necesita a inclusión de subapartados estes non estarán numerados e tipografiarase en tamaño de letra 11.

Introdución

A introdución debe indicar o propósito da investigación e prover unha revisión curta da literatura pertinente.

Material e métodos

Este apartado debe ser breve, pero proporcionar suficiente información como para poder reproducir o traballo experimental ou entender a metodoloxía empregada no traballo.

Resultados e discusión

Neste apartado expóranse os resultados obtidos. Os datos deben presentarse tan claros e concisos como sexa posible, se é apropiado na forma de táboas ou de figuras, aínda que as táboas moi grandes deben evitarse. Os datos non deben repetirse en táboas e figuras. A discusión debe consistir na interpretación dos resultados e da súa significación en relación ao traballo doutros autores. Pode incluírse unha conclusión curta, no caso de que os resultados e a discusión o propicien.

Agradecementos

Deben ser tan breves como sexa posible. Calquera concesión que requira o agradecemento debe ser mencionada. Os nomes de organizacións financiadoras deben escribirse de forma completa.

Bibliografía

A lista de referencias debe incluír unicamente os traballos que se citan no texto e que se publicaron ou que foron aceptados para a súa publicación. As comunicacións persoais deben mencionarse soamente no texto. No texto, as referencias deben citarse polo autor e o ano e enumerar en orde alfabética na lista de referencias bibliográficas.

Exemplos de citación no texto:

Descricións similares danse noutros traballos (Fernández 2005a, b; Rodrigo et al. 1992).

Andrade (1949) indica como...

Segundo Mario & Tinetti (1989) os factores principais están... Moore et al. (1991) suxiren iso...

Exemplos de lista de referencias bibliográficas:

Artigo de revista:

Mahaney, W.M.M., Wardrop, D.H. & Brooks, P. (2005). Impacts of sedimentation and nitrogen enrichment on wetland plant community development. *Plant Ecology*. 175, 2: 227-243.

Capítulo nun libro:

Campbell, J.G. (1981). The use of Landsat MSS data for ecological mapping. En: Campbell J.G. (Ed.) *Matching Remote Sensing Technologies and Their Applications*. Remote Sensing Society. London.

Lowel, E.M. & Nelson, J. (2003). Structure and morphology of Grasses. En: R.F. Barnes et al. (Eds.). *Forrages. An introduction to grassland agriculture*. Iowa State University Press. Vol. 1. 25-50

Libro completo:

Jensen, W (1996). *Remote Sensing of the Environment: An Earth Resource Perspective*. Prentice-Hall, Inc. Saddle River, New Jersey.

Unha serie estándar:

Tutin, T.G. et al. (1964-80). *Flora Europaea*, Vol. 1 (1964); Vol. 2 (1968); Vol. 3 (1972); Vol. 4 (1976); Vol. 5 (1980). Cambridge University Press, Cambridge.

Obra institucional:

MAPYA (2000). Anuario de estadística agraria. Servicio de Publicaciones del MAPYA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación), Madrid, España.

Documentos legais:

BOE (2004). Real Decreto 1310/2004, de 15 de enero, que modifica la Ley de aprovechamiento de residuos ganaderos. BOE (Boletín Oficial del Estado), nº 8, 15/1/04. Madrid, España.

Publicacións electrónicas:

Collins, D.C. (2005). Scientific style and format. Disponível en: <http://www.councilscience.org/publications.cfm> [5 xaneiro, 2005]

Os artigos que fosen aceptados para a súa publicación incluíranse na lista de referencias bibliográficas co nome da revista e o epíteto "en prensa" en lugar do ano de publicación.

Ilustracións e táboas

Todas as figuras (fotografías, gráficos ou diagramas) e as táboas deben citarse no texto, e cada unha deberá ir numerada consecutivamente. As figuras e táboas deben incluírse

ao final do artigo, cada unha nunha folla separada na que se indicará o número de táboa ou figura, para a súa identificación. Para o envío de figuras en forma electrónica vexa máis adiante.

Debuxos lineais. Por favor envíe impresións de boa calidade. As inscricións deben ser claramente lexíbeis. O mínimo grosor de liña será de 0,2 mm en relación co tamaño final. No caso de ilustracións en tons medios (escala de grises): Envíe por favor as impresións ben contrastadas. A ampliación débese indicar por barras de escala. Aceptanse figuras en cores.

Tamaño das figuras

As figuras deben axustarse á anchura da columna (8,5 centímetros) ou ter 17,5 centímetros de ancho. A lonxitude máxima é 23 centímetros. Diseñe as súas ilustracións pensando no tamaño final, procurando non deixar grandes espazos en branco. Todas as táboas e figuras deberán ir acompañadas dunha lenda. As lendas deben consistir en explicacións breves, suficientes para a comprensión das ilustracións por si mesmas.

Nas mesmas incluírase unha explicación de cada unha das abreviaturas incluídas na figura ou táboa. As lendas débense incluír ao final do texto, tras as referencias bibliográficas e deben estar identificadas (ex: Táboa 1 Características...). Os mapas incluírán sempre o Norte, a latitude e a lonxitude.

Preparación do manuscrito para o seu envío

Texto

Grave o seu arquivo de texto nun formato compatible con Microsoft Word.

Táboas e figuras

Cada táboa e figura gardarase nun arquivo distinto co número da táboa e/ou figura. Os formatos preferidos para os gráficos son: Para os vectores, formato EPS, exportados desde o programa de debuxo empregado (en todo caso, incluírán unha cabeceira da figura en formato TIFF) e para as ilustracións en tons de grises ou fotografías, formato TIFF, sen comprimir cunha resolución mínima de 300 ppp. En caso de enviar os gráficos nos seus arquivos orixinais (Excel, Corel Draw, Adobe Illustrator, etc.) estes acompañaranse das fontes utilizadas. O nome do arquivo da figura (un arquivo diferente por cada figura) incluírá o número da ilustración. En ningún caso se incluírá no arquivo da táboa ou figura a lenda, que debe figurar correctamente identificada ao final do texto. O material gráfico escaneado deberá aterse aos seguintes parámetros: Debuxos de liñas: o escaneado realizarase en liña ou mapa de bits (nunca escala de grises) cunha resolución mínima de 800 ppp e recomendada de entre 1200 e 1600 ppp. Figuras de medios tons e fotografías: escanearanse en escala de grises cunha resolución mínima de 300 ppp e recomendada entre 600 e 1200 ppp.

Recepción do manuscrito

Os autores enviarán un orixinal e dúas copias do artigo completo ao comité editorial, xunto cunha copia dixital, acompañados dunha carta de presentación na que ademais dos datos do autor, figuren a súa dirección de correo electrónico e o seu número de fax, á seguinte dirección:

IBADER

Comité Editorial da revista Recursos Rurais

Universidade de Santiago

Campus Universitario s/n

E-27002 LUGO - Spain

Enviar o texto e cada unha das ilustracións en arquivos diferentes, nalgún dos seguintes soportes: CD-ROM ou DVD para Windows, que irán convenientemente rotulados indicando o seu contido. Os nomes dos arquivos non superarán os 8 caracteres e non incluírán acentos ou caracteres especiais. O arquivo de texto denominarase polo nome do autor.

Ou ben enviar unha copia dixital dos arquivos convenientemente preparados á dirección de e-mail:

ibader@usc.es

Cos arquivos inclúase sempre información sobre o sistema operativo, o procesador de texto, así como sobre os programas de debuxo empregados nas figuras.

Copyright

Unha vez aceptado o artigo para a publicación na revista, o autor(es) debe asinar o copyright correspondente.

Decembro 2015

Recursos Rurais

Revista do Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvimento Rural (IBADER)

Proceso de selección y evaluación de originales

Recursos Rurais publica artículos, revisiones, notas de investigación y reseñas bibliográficas. Los artículos, revisiones y notas deben ser originales, siendo evaluados previamente por el Comité Editorial y el Comité Científico Asesor. Los trabajos presentados a Recursos Rurais serán sometidos a la evaluación confidencial de dos expertos ajenos al equipo editorial, siguiendo criterios internacionales. En el caso de que los evaluadores propongan modificaciones en la redacción del original, será responsabilidad del equipo editorial —una vez informado el autor— el seguimiento del proceso de reelaboración del trabajo. Caso de no ser aceptado para su edición, el original será devuelto a su autor, junto con los dictámenes emitidos por los evaluadores. En cualquier caso, los originales que no se ajusten a las siguientes normas técnicas serán devueltos a sus autores para su corrección, antes de su envío a los evaluadores.

NORMAS PARA LA PRESENTACIÓN DE ORIGINALES

Procedimiento editorial

La Revista Recursos Rurais aceptará para a su revisión artículos, revisiones y notas vinculados a la investigación y desenvolvimiento tecnológico en el ámbito de la conservación y gestión de la biodiversidad y del medio ambiente, de los sistemas de producción agrícola, ganadera, forestal y referidos a la planificación del territorio, tendientes a propiciar el desarrollo sostenible de los recursos naturales del espacio rural y de las áreas protegidas. Los artículos que no se ajusten a las normas de la revista, serán devueltos a sus autores.

Preparación del manuscrito

Comentarios generales

Los manuscritos no deben exceder de 20 páginas impresas en tamaño A4, incluyendo figuras, tablas, ilustraciones y la lista de referencias. Todas las páginas deberán ir numeradas, aunque en el texto no se incluirán referencias al número de página. Los artículos pueden presentarse en los siguientes idiomas: galego, castellano, portugués, francés o inglés. Los originales deben prepararse en un procesador compatible con Microsoft Word®, a doble espacio en una cara y con 2,5 cm de margen. Se empleará la fuente tipográfica «arial» a tamaño 11 y no se incluirán tabulaciones ni sangrías, tanto en el texto como en la lista de referencias bibliográficas. Los párrafos no deben ir separados por espacios. No se admitirán notas al pie. Los nombres de géneros y especies deben escribirse en cursiva y no abreviados la primera vez que se mencionen. Posteriormente el epíteto genérico podrá abreviarse a una sola letra. Debe utilizarse el Sistema Internacional (SI) de unidades. Para el uso correcto de los símbolos y observaciones más comunes puede consultarse la última edición de CBE (Council of Biology Editors) Style manual.

Página de título

La página de título incluirá un título conciso e informativo (en la lengua original y en inglés), el nombre(s) de los autor(es), la afiliación(s) y la dirección(s) de los autor(es), así como la dirección de correo electrónico, número de teléfono y de fax del autor con que se mantendrá la comunicación.

Resumen

Cada artículo debe estar precedido por un resumen que presente los principales resultados y las conclusiones más importantes, con una extensión máxima de 200 palabras. Además del idioma original en el que se escriba el artículo, se presentará también un resumen en inglés.

Palabras clave

Deben incluirse hasta 5 palabras clave situadas después de cada resumen, distintas de las incluidas en el título.

Organización del texto

La estructura del artículo debe ajustarse en la medida de lo posible a la siguiente distribución de apartados: Introducción, Material y métodos, Resultados y discusión, Agradecimientos y Bibliografía. Los apartados irán resaltados en negrita y tamaño de letra 12. Si se necesita la inclusión de subapartados estos no estarán numerados y se tipografiarán en tamaño de letra 11.

Introducción

La introducción debe indicar el propósito de la investigación y proveer una revisión corta de la literatura pertinente.

Material y métodos

Este apartado debe ser breve, pero proporcionar suficiente información como para poder reproducir el trabajo experimental o entender la metodología empleada en el trabajo.

Resultados y discusión

En este apartado se expondrán los resultados obtenidos. Los datos deben presentarse tan claros y concisos como sea posible, si es apropiado en forma de tablas o de figuras, aunque las tablas muy grandes deben evitarse. Los datos no deben repetirse en tablas y figuras. La discusión debe consistir en la interpretación de los resultados y de su significación en relación al trabajo de otros autores. Puede incluirse una conclusión corta, en el caso de que los resultados y la discusión lo propicien.

Agradecimientos

Deben ser tan breves como sea posible. Cualquier concesión que requiera el agradecimiento debe ser mencionada. Los nombres de organizaciones financiadoras deben escribirse de forma completa.

Bibliografía

La lista de referencias debe incluir únicamente los trabajos que se citan en el texto y que estén publicados o que hayan sido aceptados para su publicación. Las comunicaciones personales deben mencionarse solamente en el texto. En el texto, las referencias deben citarse por el autor y el año y enumerar en orden alfabético en la lista de referencias bibliográficas.

Exemplos de citación en el texto:

Descripciones similares se dan en otros trabajos (Fernández 2005a, b; Rodrigo et al. 1992).

Andrade (1949) indica como...

Según Mario & Tinetti (1989) los factores principales están...

Moore et al. (1991) sugieren eso...

Exemplos de lista de referencias bibliográficas:

Artículo de revista:

Mahaney, W.M.M., Wardrop, D.H. & Brooks, P. (2005). Impacts of sedimentation and nitrogen enrichment on wetland plant community development. *Plant Ecology*. 175, 2: 227-243.

Capítulo en un libro:

Campbell, J.G. (1981). The use of Landsat MSS data for ecological mapping. En: Campbell J.G. (Ed.) *Matching Remote Sensing Technologies and Their Applications*. Remote Sensing Society. London.

Lowel, E.M. & Nelson, J. (2003). Structure and morphology of Grasses. En: R.F. Barnes et al. (Eds.). *Forages. An introduction to grassland agriculture*. Iowa State University Press. Vol. 1. 25-50

Libro completo:

Jensen, W (1996). *Remote Sensing of the Environment: An Earth Resource Perspective*. Prentice-Hall, Inc. Saddle River, New Jersey.

Una serie estándar:

Tutin, T.G. et al. (1964-80). *Flora Europaea*, Vol. 1 (1964); Vol. 2 (1968); Vol. 3 (1972); Vol. 4 (1976); Vol. 5 (1980). Cambridge University Press, Cambridge.

Obra institucional:

MAPYA (2000). *Anuario de estadística agraria*. Servicio de Publicaciones del MAPYA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación), Madrid, España.

Documentos legales:

BOE (2004). Real Decreto 1310/2004, de 15 de enero, que modifica la Ley de aprovechamiento de residuos ganaderos. BOE (Boletín Oficial del Estado), nº 8, 15/1/04. Madrid, España.

Publicaciones electrónicas:

Collins, D.C. (2005). Scientific style and format. Disponible en: <http://www.councilscience.org/publications.cfm> [5 enero, 2005]

Los artículos que fuesen aceptados para su publicación se incluirán en la lista de referencias bibliográficas con el nombre de la revista y el epíteto «en prensa» en lugar del año de publicación.

Ilustraciones y tablas

Todas las figuras (fotografías, gráficos o diagramas) y las tablas deben citarse en el texto, y cada una deberá ir nume-

rada consecutivamente. Las figuras y tablas deben incluirse al final del artículo, cada una en una hoja separada en la que se indicará el número de tabla o figura, para su identificación. Para el envío de figuras en forma electrónica vea más adelante. Dibujos lineales. Por favor envíe impresiones de buena calidad. Las inscripciones deben ser claramente legibles. El mínimo grosor de línea será de 0,2 mm en relación con el tamaño final. En el caso de ilustraciones en tonos medios (escala de grises): Envíe por favor las impresiones bien contrastadas. La ampliación se debe indicar mediante barras de escala. Se aceptan figuras en color.

Tamaño de las figuras

Las figuras deben ajustarse a la anchura de la columna (8,5 centímetros) o tener 17,5 centímetros de ancho. La longitud máxima es de 23 centímetros. Diseñe sus ilustraciones pensando en el tamaño final, procurando no dejar grandes espacios en blanco. Todas las tablas y figuras deberán ir acompañadas de una leyenda. Las leyendas deben consistir en explicaciones breves, suficientes para la comprensión de las ilustraciones por sí mismas. En las mismas se incluirá una explicación de cada una de las abreviaturas incluidas en la figura o tabla. Las leyendas se deben incluir al final del texto, tras las referencias bibliográficas y deben estar identificadas (ej: Tabla 1 Características...). Los mapas incluirán siempre el Norte, la latitud y la longitud.

Preparación del manuscrito para su envío

Texto

Grave su archivo de texto en un formato compatible con Microsoft Word.

Tablas y figuras

Cada tabla y figura se guardará en un archivo distinto con número de tabla y/o figura. Los formatos preferidos para los gráficos son: Para los vectores, formato EPS, exportados desde el programa de dibujo empleado (en todo caso, incluirán una cabecera de la figura en formato TIFF) y para las ilustraciones en tonos de grises o fotografías, formato TIFF, sin comprimir con una resolución mínima de 300 ppp. En caso de enviar los gráficos en sus archivos originales (Excel, Corel Draw, Adobe Illustrator, etc.) estos se acompañarán de las fuentes utilizadas. El nombre de archivo de la figura (un archivo diferente por cada figura) incluirá el número de la ilustración. En ningún caso se incluirá en el archivo de la tabla o figura la leyenda, que debe figurar correctamente identificada al final del texto. El material gráfico escaneado deberá atenderse a los siguientes parámetros: Dibujos de líneas: el escaneado se realizará en línea o mapa de bits (nunca escala de grises) con una resolución mínima de 800 ppp y recomendada de entre 1200 y 1600 ppp. Figuras de medios tonos y fotografías: se escanearán en escala de grises con una resolución mínima de 300 ppp y recomendada entre 600 y 1200 ppp.

Recepción del manuscrito

Los autores enviarán un original y dos copias del artículo completo al comité editorial junto con una copia digital, acompañados de una carta de presentación en la que además de los datos del autor, figuren su dirección de correo electrónico y su número de fax, a la siguiente dirección:

IBADER

Comité Editorial da revista Recursos Rurais

Universidade de Santiago

Campus Universitario s/n

E-27002 LUGO - Spain

Enviar el texto y cada una de las ilustraciones en archivos diferentes, en alguno de los siguientes soportes: CD-ROM o DVD para Windows, que irán convenientemente rotulados indicando su contenido. Los nombres de los archivos no superarán los 8 caracteres y no incluirán acentos o caracteres especiales. El archivo de texto se denominará por el nombre del autor.

O bien enviar una copia digital de los archivos convenientemente preparados la dirección de e-mail:

ibader@usc.es

Con los archivos incluya siempre información sobre el sistema operativo, el procesador de texto, así como sobre los programas de dibujo empleados en las figuras.

Copyright

Una vez aceptado el artículo para su publicación en la revista, el autor(es) debe firmar el copyright correspondiente.

Diciembre 2015

Recursos Rurais

Revista do Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvimento Rural (IBADER)

Selection process and manuscript evaluation

The articles, reviews and notes must be original, and will be previously evaluated by the Editorial Board and the Scientific Advisory Committee. Manuscripts submitted to Recursos Rurais will be subject to confidential review by two experts appointed by the Editorial Committee, which may also consider choosing reviewers suggested by the author. In cases of dispute the intervention of a third evaluator will be required. Finally it is for the Editorial Committee's decision on acceptance of work. In cases in which the reviewers suggest modifications to the submitted text, it will be the responsibility of the Editorial Team to inform the authors of the suggested modifications and to oversee the revision process. In cases in which the submitted manuscript is not accepted for publication, it will be returned to the authors together with the reviewers' comments. Please note that any manuscript that does not adhere strictly to the instructions detailed in what follows will be returned to the authors for correction before being sent out for review.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Editorial procedure

Recursos Rurais will consider for publication original research articles, notes and reviews relating to research and technological developments in the area of sustainable development of natural resources in the rural and conservation areas contexts, in the fields of conservation, biodiversity and environmental management, management of agricultural, livestock and forestry production systems, and land-use planning.

Manuscript preparation

General remarks

Articles may be submitted in Galician, Spanish, Portuguese, French or English.

Manuscripts should be typed on A4 paper, and should not exceed 15 pages including tables, figures and the references list. All pages should be numbered (though references to page numbers should not be included in the text). The manuscript should be written with Microsoft Word or a Word-compatible program, on one side of each sheet, with double line-spacing, 2.5 cm margins on the left and right sides, Arial font or similar, and font size 11. Neither tabs nor indents should be used, in either the text or the references list. Paragraphs should not be separated by blank lines. Species and genus names should be written in italics. Genus names may be abbreviated (e.g. *Q. robur* for *Quercus robur*), but must be written in full at first mention. SI (Système International) units should be used. Technical nomenclatures and style should follow the most recent edition of the CBE (Council of Biology Editors) Style Manual.

Title page

The title page should include a concise and informative title (in the language of the text and in English), the name(s) of the author(s), the institutional affiliation and address of each author, and the e-mail address, telephone number, fax number, and postal address of the author for correspondence.

Abstract

Each article should be preceded by an abstract of no more than 200 words, summarizing the most important results and conclusions. In the case of articles not written in English, the authors should supply two abstracts, one in the language of the text, the other in English.

Key words

Five key words, not included in the title, should be listed after the Abstract.

Article structure

This should where possible be as follows: Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Acknowledgements, References. Section headings should be written in bold with font size 12. If subsection headings are required, these should be written in italics with font size 11, and should not be numbered.

Introduction

This section should briefly review the relevant literature and clearly state the aims of the study.

Material and methods

This section should be brief, but should provide sufficient information to allow replication of the study's procedures.

Results and discussion

This section should present the results obtained as clearly and concisely as possible, where appropriate in the form of tables and/or figures. Very large tables should be avoided. Data in tables should not repeat data in figures, and vice versa. The discussion should consist of interpretation of the results and of their significance in relation to previous studies. A short conclusion subsection may be included if the authors consider this helpful.

Acknowledgements

These should be as brief as possible. Grants and other funding should be recognized. The names of funding organizations should be written in full.

References

The references list should include only articles that are cited in the text, and which have been published or accepted for publication. Personal communications should be mentioned only in the text. The citation in the text should include both author and year. In the references list, articles should be ordered alphabetically by first author's name, then by date.

Examples of citation in the text:

Similar results have been obtained previously (Fernández 2005a, b; Rodrigo et al. 1992
Andrade (1949) reported that...
According to Mario & Tinetti (1989), the principal factors are...
Moore et al. (1991) suggest that...

Examples of listings in References:

Journal article:

Mahaney, W.M.M., Wardrop, D.H. & Brooks, P. (2005). Impacts of sedimentation and nitrogen enrichment on wetland plant community development. *Plant Ecology*. 175, 2: 227-243.

Book chapter:

Campbell, J.G. (1981). The use of Landsat MSS data for ecological mapping. En: Campbell J.G. (Ed.) *Matching Remote Sensing Technologies and Their Applications*. Remote Sensing Society. London.

Lowel, E.M. & Nelson, J. (2003). Structure and morphology of Grasses. En: R.F. Barnes et al. (Eds.). *Forrages*. An introduction to grassland agriculture. Iowa State University Press. Vol. 1. 25-50

Complete book:

Jensen, W (1996). *Remote Sensing of the Environment: An Earth Resource Perspective*. Prentice-Hall, Inc. Saddle River, New Jersey.

Standard series:

Tutin, T.G. et al. (1964-80). *Flora Europaea*, Vol. 1 (1964); Vol. 2 (1968); Vol. 3 (1972); Vol. 4 (1976); Vol. 5 (1980). Cambridge University Press, Cambridge.

Institutional publications:

MAPYA (2000). *Anuario de estadística agraria*. Servicio de Publicaciones del MAPYA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación), Madrid, España.

Legislative documents:

BOE (2004). Real Decreto 1310/2004, de 15 de enero, que modifica la Ley de aprovechamiento de residuos ganaderos. BOE (Boletín Oficial del Estado), nº 8, 15/1/04. Madrid, España.

Electronic publications:

Collins, D.C. (2005). *Scientific style and format*. Available at: <http://www.counckjnec.org/publications.cfm> [5 January 2005]

Articles not published but accepted for publication:

Such articles should be listed in References with the name of the journal and other details, but with "in press" in place of the year of publication.

Figures and tables

Numbering:

All figures (data plots and graphs, photographs, diagrams, etc.) and all tables should be cited in the text, and should be numbered consecutively.

Figure quality.

Please send high-quality copies. Line thickness in the publication-size figure should be no less than 0.2 mm. In the case of greyscale figures, please ensure that the different tones are clearly distinguishable. Labels and other text should be clearly legible. Scale should be indicated by scale bars. Maps should always include indication of North, and of latitude and longitude. Colour figures can be published.

Figure size:

Figures should be no more than 17.5 cm in width, or no more than 8.5 cm in width if intended to fit in a single column. Length should be no more than 23 cm. When designing figures, please take into account the eventual publication size, and avoid excessively white space.

Figure and table legends:

All figures and tables require a legend. The legend should be a brief statement of the content of the figure or table, sufficient for comprehension without consultation of the text. All abbreviations used in the figure or table should be defined in the legend. In the submitted manuscript, the legends should be placed at the end of the text, after the references list.

Preparing the manuscript for submission

Text

The text should be submitted as a text file in Microsoft Word or a Word-compatible format.

Tables and figures

Each table and each figure should be submitted as a separate file, with the file name including the name of the table or figure (e.g. Table-1.DOC). The preferred format for data plots and graphs is EPS for vector graphics (though all EPS files must include a TIFF preview), and TIFF for greyscale figures and photographs (minimum resolution 300 dpi). If graphics files are submitted in the format of the original program (Excel, CorelDRAW, Adobe Illustrator, etc.), please ensure that you also include all fonts used. The figure or table legend should not be included in the file containing the figure or table itself; rather, the legends should be included (and clearly numbered) in the text file, as noted above. Scanned line drawings should meet the following requirements: line or bit-map scan (not greyscale scan), minimum resolution 800 dpi, recommended resolution 1200-1600 dpi. Scanned half-tone drawings and photographs should meet the following requirements: greyscale scan, minimum resolution 300 dpi, recommended resolution 600-1200 dpi.

Manuscript submission

Please submit a digital copy of the files properly prepared to the e-mail address:

ibader@usc.es

Or send a) the original and two copies of the manuscript, b) copies of the corresponding files on CD-ROM or DVD for Windows, and c) a cover letter with author details (including e-mail address and fax number), to the following address:

IBADER
Comité Editorial da revista Recursos Rurais
Universidade de Santiago
Campus Terra s/n
E-27002 LUGO - Spain

As noted above, the text and each figure and table should be submitted as separate files, with names indicating content, and in the case of the text file corresponding to the first author's name (e.g. Alvarez.DOC, Table-1.DOC, Fig-1.EPS). File names should not exceed 8 characters, and must not include accents or special characters. In all cases the program used to create the file must be clearly identifiable.

Copyright

Once the article is accepted for publication in the journal, the authors will be required to sign a copyright transfer statement.

December 2015

