

- Piña C, Larriera A. 2002. *Caiman latirostris* growth: the effect of a management technique on the supplied temperature. *Aquaculture* 211: 387-392.
- Pough FH, Janis CM, Heiser JB. 1999. *Vertebrate Life*, 5th ed., Prentice Hall, New Jersey, 733 p.
- Schoeb TR, Heaton-Jones TG, Clemmons RM, Carbonneau DA, Woodward AR, Shelton D, Poppenga RH. 2002. Clinical and necropsy findings associated with increased mortality among american alligators of Lake Griffin, Florida. *J Wildl Dis* 38: 320-337.
- Stacy BA, Whitaker N. 2000. Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). *J Zoo Wildl Med* 31: 339-347.
- Stein G. 1996. Hematologic and blood chemistry values in reptiles. In: *Reptile Medicine and Surgery* (Mader DR Ed.), Saunders, Philadelphia, p. 248-257.
- Troiano JC, Althaus R. 1994. Hallazgos hematológicos en *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) en condiciones de cautiverio. *Memorias del IV Workshop sobre Conservación y Manejo del Yacaré Overo*, Santo Tomé (Santa Fe, Argentina), p. 12-24.
- Uhart M, Prado W, Beldoménico P, Rossetti C, Ferreyra Armas MC, Martínez A, Bardón JC, Avilés G, Karesh W. 2001. Estudios sanitarios comparativos de yacaré (*Caiman latirostris* y *Caiman yacare*) silvestres y cautivos. *Boletín Técnico de la Fundación Vida Silvestre Argentina* N° 55: 39-50.
- Watson PA. 1990. Effects of blasting on Nile crocodiles, *Crocodylus niloticus*. *Proceedings of the 10th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group IUCN*, Gainesville, Florida, p. 240-252.
- Ziswiler V. 1988. *Zoología Especial: Vertebrados*, tomo II, Omega, Barcelona, 715 p.

FRACCIONES ELECTROFORÉTICAS SEROPROTEICAS DE CAIMAN LATIROSTRIS Y CAIMAN YACARE EN CAUTIVERIO

Barboza NN¹, Mussart NB¹, Coppo JA¹, Leiva LC², Prado WS³

¹ Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

² Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas, UNNE

³ Refugio "El Cachapé" (Chaco), supervisado por Fundación Vida Silvestre Argentina

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue establecer el intervalo de referencia para las fracciones electroforéticas seroproteicas de caimanes autóctonos del nordeste argentino mantenidos en cautiverio, así como establecer eventuales variaciones atribuibles a la especie, sexo, edad, alimentación y época del año. Se obtuvo suero sanguíneo de 223 ejemplares sub-adultos sanos (2-7 kg de peso y 80-130 cm de

longitud total), de ambos sexos, de las especies *Caiman latirostris* (n = 109) y *Caiman yacare* (n = 114). Por espectrofotometría se determinaron las proteínas totales ($4,01 \pm 0,61$ g/dl) y por electroforesis en soporte de acetato de celulosa, con ulterior valoración densitométrica, se cuantificaron las albúminas ($0,96 \pm 0,20$ g/dl) y globulinas alfa ($0,74 \pm 0,16$ g/dl), beta ($0,87 \pm 0,18$ g/dl) y gamma ($1,39 \pm 0,27$ g/dl), resultando una relación albúminas / globulinas de $0,31 \pm 0,06$. La electroforesis en gel de poliacrilamida no detectó grandes diferencias entre ambas especies y evidenció la existencia de pre-albúminas, que migraron en la banda comprendida entre 20 y 66 kDa. Las albúminas de los reptiles registraron una masa molecular semejante a la reportada en el ser humano, de 69 kDa. Los machos revelaron más altos valores que las hembras, significativamente ($p < 0,05$) para gamma globulinas. Todos los parámetros estudiados fueron más bajos en *C. latirostris* que en *C. yacare*, significativamente para proteínas totales, beta y gamma globulinas. El crecimiento (aumento de peso y longitud) se tradujo en elevaciones significativas de proteínas totales, albúminas y relación albúminas / globulinas. Dichos parámetros fueron más bajos en invierno. Los sistemas de manejo y alimentación practicados en un criadero privado coincidieron con valores más altos de proteínas totales y albúminas que los registrados en un zoológico. Los datos obtenidos son aplicables al control nutricional, así como al diagnóstico y prevención de las enfermedades de estos reptiles.

SUMMARY

The purpose of this study was to establish the reference interval for electrophoretical protein fractions in serum from captive autochthonous Argentina northeastern caymen, as well as to detect eventual variations attributable to species, sex, age, feeding and year season. Blood sera from 223 healthy sub-adults specimens (2-7 kg liveweight and 80-130 cm total longitude) of *Caiman latirostris* (n = 109) and *Caiman yacare* (n = 114), both sexes, were obtained. Total protein (4.01 ± 0.61 g/dl) was determined by spectrophotometry. Values from albumin (0.96 ± 0.20 g/dl) and globulins alpha (0.74 ± 0.16 g/dl), beta (0.87 ± 0.18 g/dl) and gamma (1.39 ± 0.27 g/dl), were obtained by electrophoresis on cellulose acetate support, and ulterior densitometric valuation. Albumin / globulin ratio was 0.31 ± 0.06 . Not great differences between species, as well as pre-albumin presence in the band comprised between 20 and 66 kDa, were detected by electrophoresis on polyacrilamide gel support. Reptile albumins registered molecular masses similar to those reported in human beings, from 69 kDa. Proteic values were higher in males than in females, significantly ($p < 0.05$) for gamma globulin. All studied parameters were lower in *C. latirostris* than in *C. yacare*, significantly for total protein and beta and gamma globulins. Growth (increase of liveweight and longitude) produced significant elevations of total protein, albumin, and albumin / globulin ratio. Last parameters were lower in winter. Handling and feeding systems practiced in a private farm coincided with total protein and albumin values higher than those registered in zoo specimens. Obtained data are applicable to caymen nutritional control, as well as to diagnosis and illness prevention.

INTRODUCCIÓN

La concentración de proteínas plasmáticas varía ampliamente entre especies, siendo de 6-8 g/dl en mamíferos, 4-5 g/dl en anfibios, 3-4 g/dl en aves, 5 g/dl en peces, 15 g/dl en cefalópodos y 0,1 g/dl en moluscos. Por electroforesis las

proteínas plasmáticas pueden separarse en distintas fracciones, principalmente pre-albúmina, albúminas y globulinas alfa, beta y gamma; algunas especies poseen concentraciones de albúminas superiores a las de globulinas, y viceversa (Coppo, 2001). Para los caimanes autóctonos del nordeste argentino existen datos sobre valores plasmáticos de proteínas totales y albúminas, obtenidos con técnicas distintas a las empleadas en el presente trabajo, así como niveles de globulinas logrados en base a cálculos (Troiano y Althaus, 1994; Ferreyra y Uhart, 2001; Uhart *et al.*, 2001).

La correcta interpretación de los fenómenos fisiológicos de los reptiles, así como el adecuado diagnóstico de sus enfermedades y control nutricional, demanda un conocimiento más profundo de las proteínas plasmáticas, desde el momento que ellas son responsables de importantes funciones como mantenimiento de la presión coloidosmótica y la viscosidad del medio interno, regulación del equilibrio acidobase, coagulación, inmunidad humoral, nutrición tisular y transporte de sustancias, entre ellas bilirrubina, ácidos grasos, calcio, lípidos, hemoglobina libre, hormonas, vitaminas y metales pesados como hierro, cobre y cinc. Algunas proteínas poseen actividad enzimática u operan como "reactores de fase aguda", modificando sus concentraciones en los procesos inflamatorios (transferrina, albúminas, pre-albúmina fijadora de tiroxina, antitripsina, proteína C reactiva, antitrombina III, orosomucoide, ceruloplasmina, haptoglobina y fracción C₃ del complemento). Un grupo de 9 lipoproteínas (C₁ a C₉) constituye el sistema del complemento, desarrollando funciones defensivas como inmunoadherencia, opsonización, quimiotaxis, degranulación de fagocitos y lisis osmótica de células extrañas. Otras proteínas desempeñan el rol de inhibidoras de enzimas proteolíticas, a manera de protección contra el ataque de proteasas, especialmente fibrinolíticas (alfa-1 antitripsina, anti-trombina III, alfa-2 macroglobulina). Cada una de ellas tiene una velocidad específica de migración en la corrida electroforética (Coppo, 2001).

El objetivo del estudio fue obtener el intervalo de referencia para cada una de las fracciones electroforéticas seroproteicas de *Caiman latirostris* y *Caiman yacare* mantenidos en cautiverio, así como establecer eventuales diferencias atribuibles a la especie, sexo, edad, alimentación y época del año.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos experimentales. A lo largo de 2 años de estudios, se utilizaron en total 223 ejemplares clínicamente sanos de *C. latirostris* (n = 109) y *C. yacare* (n = 114), aproximadamente 50% de cada sexo (104 machos y 119 hembras). Se trató de animales "sub-adultos" (Waller y Micucci, 1993), de aproximadamente 1-5 años de edad, pesos de 2-7 kg y longitudes de 80-130 cm. En su gran mayoría (n = 194), los caimanes estaban alojados en el criadero "El Cachapé", Provincia de Chaco (establecimiento privado incorporado al Programa de Refugios de la Fundación Vida Silvestre Argentina), en piletas techadas con cinc, cuyo piso estaba cubierto de agua de napa en un 40%, la cual se renovaba día por medio. Cada pileta albergaba unos 120 ejemplares. Tres veces por semana eran alimentados *ad libitum* con harina de carne suplementada con vitaminas y minerales; esporádicamente recibían vísceras bovinas. En invierno estos reptiles dispusieron de calefacción (estufas a gas y paneles solares). Los restantes (n = 29) eran reptiles del Zoológico de la Ciudad de Corrientes y permanecieron en predios cercados por alambre tejido, sin techo, cuyo piso estaba cubierto en un 50% por

agua corriente circulante. Estos caimanes fueron alimentados con vísceras de pollo, pescado y -ocasionalmente- carne de vacuno.

Toma de muestras. Los estudios morfométricos y las extracciones de sangre se efectuaron 4 veces por año, en cada una de las estaciones, en horario matutino (8-9 AM) y bajo ayuno de 12 horas, sin emplear anestésicos ni tranquilizantes. Tras ser capturados con lazo, las mandíbulas de los reptiles fueron maniatadas por seguridad. El peso vivo se obtuvo en una balanza romana colgante y las dimensiones corporales se midieron con cinta métrica metálica. La extracción de sangre se realizó con jeringa y aguja, a partir del seno venoso post-occipital (5 ml por animal). La sangre fue centrifugada para separar el coágulo y obtener suero, el cual se mantuvo refrigerado a 5°C hasta su procesamiento en el laboratorio, realizado antes de las 3 horas de la extracción.

Determinaciones de laboratorio. En un espectrofotómetro L.Mannheim 4010 UV-visible, con cubeta semimicro de cuarzo (1 cm de paso de luz) termostata a 37°C, se realizó la determinación de proteínas totales (método del biuret, lecturas a 540 nm, reactivos Wiener Lab). Mediante electroforesis en soporte de acetato de celulosa (con buffer de veronal y coloración amidoschwartz, reactivos Biopur) se separaron las fracciones seroproteicas (albúminas y globulinas alfa, beta y gamma), que fueron luego cuantificadas en un densitómetro Citocon CT-440 automático, provisto de impresora de curvas y valores. También se realizaron electroforesis en placas de gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (para que todas las fracciones proteicas se comporten como aniones); algunos sueros de reptiles fueron tratados con 2-mercapto-etanol (para separar puentes disulfuro). Las determinaciones bioquímicas se efectuaron bajo control de calidad intralaboratorial, utilizando patrones de referencia y marcadores de masa molecular.

Diseño experimental y análisis estadístico. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, donde las variables independientes fueron la especie, sexo, clima (época del año) y lugar de origen. En base al peso vivo y longitud de los reptiles se partitionaron 3 grupos etéreos. Las variables dependientes (cuantitativas continuas) fueron los valores del proteinograma. La normalidad distributiva fue verificada mediante el test de Wilk-Shapiro (WS). Las estadísticas paramétricas incluyeron medidas de tendencia central (media aritmética, \bar{x}) y dispersión (desvío estándar, DE). La probabilidad fiducial fue evaluada mediante intervalos de confianza (IC±95%). El análisis de la variancia (ANOVA) se efectuó por modelo lineal a una vía, previa constatación de la homogeneidad de la variancia mediante test de Bartlett. En los casos en que el ANOVA resultó significativo ($p < 0,05$), se aplicó la prueba de comparación de medias (Tukey). El grado de asociación lineal se estableció por correlación (test de Pearson). Los análisis estadísticos se efectuaron con el auxilio de un programa informático (*Statistix 1996*). Para todas las inferencias se estipuló un $\alpha = 5\%$, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

RESULTADOS

Tabla 1. Valores globales obtenidos en ambas especies (n = 223).

parámetro	$\bar{x} \pm DE$	WS	IC±95%	rango
proteínas totales (g/dl)	4,01 ± 0,61	0,995	3,91 - 4,08	2,30 - 5,84
albúminas (g/dl)	0,96 ± 0,20	0,981	0,93 - 0,99	0,50 - 1,65

alfa globulinas (g/dl)	0,74 ± 0,16	0,985	0,72 - 0,77	0,34 - 1,29
beta globulinas (g/dl)	0,87 ± 0,18	0,988	0,84 - 0,90	0,42 - 1,41
gamma globulinas (g/dl)	1,39 ± 0,27	0,988	1,34 - 1,44	0,50 - 2,50
globulinas totales (g/dl)	3,02 ± 0,22	0,987	2,89 - 3,14	1,97 - 4,16
relación albúm./globul.	0,31 ± 0,06	0,986	0,30 - 0,32	0,14 - 0,51

ξ: media aritmética, DE: desvío estándar, WS: test de normalidad distributiva de Wilk-Shapiro (valor en Tabla W: 0,947 para $\alpha = 0,05$), IC±95%: intervalo de confianza del 95%.

La Tabla 1 muestra los valores globales de ambas especies de reptiles, indicando que el desvío estándar de cada media no excedió el límite aconsejable por la estadística paramétrica. Los altos coeficientes alcanzados por el test WS revelan que la distribución fue gaussiana. Los intervalos de confianza se ciñeron en torno a la media aritmética, pero los rangos individuales fueron muy amplios.

La Figura 1 muestra ferogramas obtenidos en *C. latirostris* y *C. yacare* sobre soporte de acetato de celulosa, donde se aprecia la presencia de albúminas y globulinas alfa, beta y gamma, con ligeras diferencias en las longitudes de migración de cada especie. En ningún animal se constató la presencia de pre-albúmina en cantidades densitométricamente cuantificables. En la Figura 2 se comparan las fracciones seroproteicas de ambas especies de cocodrilos con las del ser humano, obtenidas por electroforesis en gel de poliacrilamida. De la confrontación simultánea con marcadores de masa ("peso") molecular surgen diferencias entre el ser humano y los reptiles, pero no de estos últimos entre sí, además de evidenciarse la presencia de pre-albúminas.

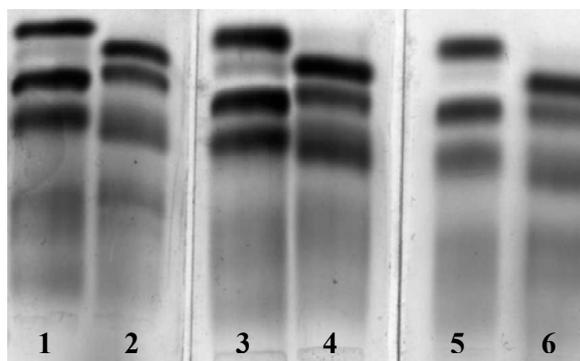


Figura 1. Ferogramas en acetato de celulosa de tres ejemplares de *C. latirostris* (1, 3, 5) y tres ejemplares de *C. yacare* (2, 4, 6). Nótese que entre ambas especies existen ligeras diferencias en la velocidad de migración de las fracciones proteicas.

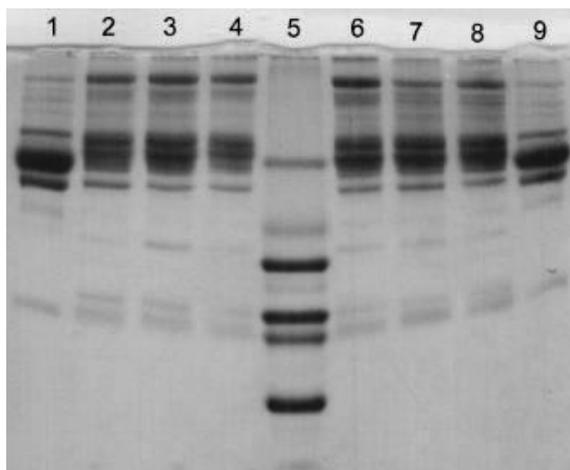


Figura 2. Electroforesis en gel de poliacrilamida efectuada con sueros de *C. latirostris* (2, 3, 4), *C. yacare* (6, 7, 8) y seres humanos (1, 9). En el canal 5 corrió un patrón de referencia que, desde arriba hacia abajo, incluyó marcadores de 66, 45, 36, 29, 24, 20 y 14,2 kDa. Nótese la presencia de pre-albúminas en todos los casos.

Tabla 2. Valores obtenidos según especie.

parámetro	<i>C. latirostris</i> (n = 109)		<i>C. yacare</i> (n = 114)	
	$\xi \pm DE$	IC \pm 95%	$\xi \pm DE$	IC \pm 95%
proteínas totales (g/dl)	3,88 \pm 0,62 ^a	3,76 - 3,99	4,10 \pm 0,59 ^b	3,99 - 4,22
albúminas (g/dl)	0,98 \pm 0,19	0,92 - 1,01	0,95 \pm 0,20	0,91 - 0,99
alfa globulinas (g/dl)	0,75 \pm 0,14	0,71 - 0,79	0,73 \pm 0,15	0,70 - 0,76
beta globulinas (g/dl)	0,82 \pm 0,18 ^a	0,77 - 0,86	0,93 \pm 0,18 ^b	0,89 - 0,96
gamma globulinas (g/dl)	1,33 \pm 0,25 ^a	1,26 - 1,39	1,46 \pm 0,27 ^b	1,38 - 1,54
globulinas totales (g/dl)	2,92 \pm 0,23 ^a	2,83 - 3,04	3,13 \pm 0,25 ^b	3,02 - 3,24
relación albúm./globul.	0,32 \pm 0,07	0,31 - 0,34	0,30 \pm 0,05	0,28 - 0,31

ξ : media aritmética, DE: desvío estándar, IC \pm 95%: intervalo de confianza. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, p < 0,05).

En la Tabla 2 se desagregan los valores obtenidos en cada una de las especies estudiadas, pudiendo constatarse que los valores de proteínas totales y globulinas fueron significativamente más altos en *C. yacare*. De la Tabla 3 surge que en el conjunto de ambas especies la única diferencia significativa entre sexos correspondió a las gamma globulinas, que resultaron mayores en machos. A medida que avanzó la edad (pesos y dimensiones) aumentaron las concentraciones de proteínas totales, albúminas y relación albúminas / globulinas. En la Tabla 4 se aprecia que los niveles significativamente más altos de proteínas totales y albúminas se registraron en primavera-verano, disminuyendo en otoño y alcanzando los valores más bajos en invierno. Comparando los sistemas de

alimentación del zoológico y del criadero, se evidencia que los nutrientes suministrados en este último se reflejaron en más elevadas tasas de proteínas totales, albúminas y relación albúminas / globulinas.

Tabla 3. Variaciones según sexo, peso y longitud en ambas especies (ξ).

parámetro	sexo		peso (kg)			longitud (cm)		
	macho	hembra	hasta 3,5	3,6-5,0	más de 5	hasta 99	100-110	más de 110
proteínas totales (g/dl)	4,03	3,98	3,90 ^a	3,96 ^a	4,18 ^b	3,92 ^a	3,94 ^a	4,15 ^b
albúminas (g/dl)	0,97	0,95	0,90 ^a	0,92 ^a	1,16 ^b	0,94 ^a	0,92 ^a	1,13 ^b
alfa globulinas (g/dl)	0,75	0,77	0,78	0,76	0,71	0,74	0,73	0,73
beta globulinas (g/dl)	0,84	0,88	0,84	0,89	0,88	0,87	0,88	0,85
gamma globul. (g/dl)	1,44 ^a	1,36 ^b	1,38	1,37	1,41	1,36	1,39	1,41
globulinas tot. (g/dl)	3,04	3,02	2,99	3,03	3,00	2,96	3,01	2,98
relación alb./globul.	0,33	0,30	0,30 ^a	0,30 ^a	0,37 ^b	0,30 ^a	0,29 ^a	0,36 ^b

ξ : media aritmética. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$).

El test de Pearson reveló alto grado de asociación lineal ($p < 0,05$) entre el peso y variables como longitud total ($r = 0,90$), longitud hocico-cola ($r = 0,83$), longitud de cabeza ($r = 0,79$), ancho de cabeza ($r = 0,86$) y perímetro torácico ($r = 0,88$). Al considerar los grupos etéreos, el peso correlacionó con las proteínas totales ($r = 0,92$; $p = 0,01$), albúminas ($r = 0,89$; $p = 0,03$) y relación albúminas / globulinas ($r = 0,94$; $p = 0,001$). El aumento de longitud total también se asoció linealmente con las elevaciones de dichas variables proteicas.

Tabla 4. Variaciones según época del año y alimentación en ambas especies (ξ).

parámetro	estación del año				alimentación	
	primavera	verano	otoño	invierno	criadero	zoo
proteínas totales (g/dl)	4,19 ^a	4,15 ^a	3,88 ^b	3,71 ^c	4,12 ^a	3,93 ^b
albúminas (g/dl)	1,17 ^a	1,13 ^a	0,82 ^b	0,69 ^c	1,08 ^a	0,88 ^b
alfa globulinas (g/dl)	0,73	0,77	0,74	0,75	0,80	0,78
beta globulinas (g/dl)	0,87	0,88	0,84	0,88	0,83	0,84
gamma globulinas (g/dl)	1,37	1,33	1,45	1,42	1,38	1,41
globulinas totales (g/dl)	2,98	2,99	3,02	3,04	3,00	3,02
relación albúm./globul.	0,37 ^a	0,36 ^a	0,28 ^b	0,24 ^b	0,35 ^a	0,29 ^b

ξ : media aritmética. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Las variaciones debidas al ritmo circadiano y al efecto post-prandial fueron soslayadas por el horario matutino uniforme y el ayuno previo; la falta de ayuno provoca hiperlipemia en los cocodrilos, interfiriendo las determinaciones fotométricas (Millan *et al.*, 1997). Los amplios rangos individuales verificados para las proteínas plasmáticas coinciden con la aseveración que los valores hemáticos de los reptiles fluctúan considerablemente debido al sistema de alimentación, ambiente, clima y sexo (Uhart *et al.*, 2001).

La electroforesis en acetato de celulosa permitió discriminar albúminas y globulinas alfa, beta y gamma, pero no pre-albúminas. Estas últimas se evidenciaron por electroforesis en gel de poliacrilamida, técnica que permitió conocer que las albúminas de *C. latirostris* y *C. yacare*, por ubicarse en cercanías al marcador de 66 kDa, poseen una masa molecular semejante a la reportada para la albúmina humana, de 69 kDa (Neremberg, 1975). Las pre-albúminas de los reptiles se situaron entre las bandas de 20 y 66 kDa, en consonancia con las del ser humano, que migran por debajo 61 kDa (Neremberg, 1975). Entre las pre-albúminas humanas se encuentran importantes proteínas como la fijadora de tiroxina (T₄), antitripsina, glicoproteína ácida y otras; su incremento sérico es raro, ocurriendo en ciertas nefrosis; su disminución indica insuficiencia hepática o destrucciones hísticas (Kalinov, 1984).

Los valores medios obtenidos en el presente estudio, son inferiores a los reportados en ejemplares juveniles y adultos de *C. latirostris* en cautiverio por Troiano y Althaus (1994), tanto para proteínas totales (5,01±1,14 g/dl) como para albúminas (2,42±2,33 g/dl) y globulinas (3,1±3,1 g/dl). Los autores no detallan el número muestral ni la técnica utilizada y es llamativo el alto grado de dispersión consignado, que revelaría ausencia de distribución gaussiana de los valores. También resultan más altas las concentraciones plasmáticas comunicados por Uhart *et al.* (2001) en 12 ejemplares juveniles de la misma especie en cautiverio (72 cm de longitud, 0,54-0,78 kg de peso), quienes obtienen, para los mismos parámetros, valores de 5,06±0,87 g/dl, 1,66±0,30 g/dl, 3,37±0,85 g/dl y 0,53±0,21, sin mencionar la metodología usada. Los mismos autores hallan valores algo menores en 13 ejemplares de *C. latirostris* silvestres capturados en el nordeste argentino. En cambio, en 5 especímenes de *C. yacare* cautivos, obtienen valores de proteínas totales (4,28±0,29 g/dl), albúminas (0,95±0,22 g/dl), globulinas (3,33±0,24 g/dl) y relación albúminas / globulinas (0,29±0,07) semejantes a las halladas en el presente estudio.

Ferreya y Uhart (2001), mediante técnicas de "bioquímica seca" (tiras reactivas), sobre 65 ejemplares de *C. latirostris* cautivos, obtienen concentraciones de proteínas totales (3,80±0,14 g/dl) similares a las aquí determinados para la misma especie, aunque los valores restantes son dispares, tanto para albúminas (1,52±0,04 g/dl) como para globulinas (2,31±0,14 g/dl) y relación albúminas / globulinas (0,61±0,06). En 33 animales de la especie *C. yacare* en cautiverio, los mismos autores obtienen valores de proteínas totales (4,48±0,20 g/dl), albúminas (1,43±0,05 g/dl) y relación albúminas /globulinas (0,50±0,07) que fueron más altos a los aquí hallados para la misma especie, en tanto que los niveles de globulinas resultaron semejantes (3,08±0,19 g/dl).

En 120 cocodrilos australianos de agua salada (*Crocodylus porosus*) de un año de edad (95 cm, 2,7 kg), clínicamente sanos, alojados en criaderos, Millan *et al.* (1997) reportan valores de proteínas totales (4,1-7,0 g/dl), albúminas (1,4-2,3 g/dl),

globulinas (2,7-5,0 g/dl) y relación albúminas / globulinas (0,3-0,7) que resultan considerablemente mayores a los aquí obtenidos. A similar conclusión se llega comparando los datos publicados por Schoeb *et al.* (2002) para *Alligator mississippiensis*, cuyos valores, en la misma secuencia, fueron de 6,2±1,1 g/dl, 1,8±0,3 g/dl, 4,4±0,9 g/dl y 0,42±0,08 respectivamente. En la misma especie, Stein (1996) reporta una proteinemia de 5,1 g/dl, que asciende a 6,5 g/dl en *Crocodylus acutus*. Para *Crocodylus niloticus* se comunican valores de proteínas totales de 5,3 g/dl (Foggin, 1987) y 5,0 g/dl (Watson, 1990), así como concentraciones de albúminas de 1,9 g/dl y de globulinas en el orden de 3,1 g/dl (Foggin, 1987).

Ante metodologías diferentes y escasamente aconsejables, tales como utilizar tiras reactivas u obtener por cálculo el valor de las globulinas, resulta complicada la tarea de comparar datos, máxime cuando los animales no se particionan por sexo, edad ni estación del año. Sabido es que la técnica fotocolorimétrica para albúminas arroja valores no siempre coincidentes con la concentración de albúminas obtenida por densitometría a partir del ferograma electroforético, siendo esta última más recomendable porque la sumatoria de fracciones se ajusta exactamente al valor de la proteinemia total (Kalinov, 1984). El uso de heparina y el sitio de abordaje venoso para la extracción de sangre, no siempre consignado en la bibliografía consultada, podrían constituir otra fuente de variación de los valores (Jacobson, 1984).

En el presente estudio los valores de proteínas totales fueron más bajos en *C. latirostris* que en *C. yacare*, a la inversa de lo reportado por Uhart *et al.* (2001). La ausencia de diferencias intersexuales aquí registrada (con excepción de las gamma globulinas) se contrapone a la afirmación que en los cocodrilos el sexo condiciona marcadas diferencias en ciertos parámetros hemáticos, aunque está referida a ejemplares adultos y de diferente género (Stacy y Whitaker, 2000). En anfibios de vida acuática (*Rana catesbeiana*), filogenéticamente cercanos a los reptiles, el plasma de los machos registró mayores niveles proteicos que el de las hembras, significativamente para proteínas totales (4,41 versus 4,32 g/dl, $p < 0,05$) y no significativamente para albúminas y gamma globulinas (Coppo *et al.*, 2004).

Nuestros hallazgos son coincidentes con las aseveraciones de Millan *et al.* (1997), quienes al comparar datos propios obtenidos en *C. porosus* de 1 año de edad, con valores reportados por Canfield (1985) para ejemplares de 2-4 años, comprueban que el crecimiento cursa con significativas variaciones de ciertos parámetros sanguíneos. Los resultados aquí obtenidos avalan esta aseveración, por las altas correlaciones verificadas entre el avance de la edad (grupos etáreos) y el aumento de las proteínas totales, albúminas y relación albúminas / globulinas. Dado que en el presente estudio las globulinas alfa y beta registraron oscilaciones pequeñas e irregulares, el aumento de la proteinemia necesariamente debe atribuirse a los incrementos de albúminas (significativos) y globulinas gamma (no significativos). En el último caso los aumentos quizás respondan a la adquisición de anticuerpos a medida que avanzó la maduración del sistema inmunológico, tal como ocurriría en otras especies (Coppo, 2001). La progresiva elevación de las albúminas, paralela al desarrollo de los caimanes, podría homologarse al aumento que ontogénicamente ocurre en los anfibios; en los renacuajos (vida acuática) las albúminas son casi inexistentes, pero ellas aparecen en el sapo adulto ante la necesidad de retener el agua intravascular durante la vida terrestre (Hoar, 1983). En 300 ejemplares de *R. catesbeiana* controlados desde los 9 a los 21 meses de edad, el crecimiento correlacionó con significativos aumentos de proteínas totales (9 meses: 3,81 g/dl versus 21 meses: 4,90 g/dl), albúminas (1,38 versus 1,80 g/dl), beta globulinas

(0,65 versus 0,89 g/dl) y gamma globulinas (1,17 versus 1,52 g/dl)(Coppo *et al.*, 2004).

Ferreya y Uhart (2001) obtuvieron, en general, valores hemáticos más altos en caimanes en cautiverio que en ejemplares silvestres, atribuyendo esta circunstancia, además de la regularidad de la alimentación, al control de la temperatura ambiental. No obstante ello, nuestros resultados indican que el clima frío influyó desfavorablemente sobre la proteinemia y la albuminemia de animales cautivos protegidos por calefacción. Este hallazgo es concordante a lo acontecido en criaderos de rana toro (*R. catesbeiana*), en las cuales el cese de la alimentación durante el letargo invernal provoca depleción de proteínas plasmáticas, principalmente albúminas (Coppo *et al.*, 2004). En cocodrilos, antes que se reasuma la alimentación en primavera, la depleción de las reservas tisulares que ocurre durante el invierno puede causar severa desnutrición (Schoeb *et al.*, 2002). Piña y Larriera (2002) lograron mayores ganancias de peso (100 g) y longitud total (5 cm) en *C. latirostris* mantenidos durante 2 meses a temperatura ambiental más alta (22°C) que los testigos (18°C).

El sistema alimentario del zoo estudiado generó menores tasas de proteínas totales y albúminas que las registradas en animales del criadero. Dado que no existe un sistema de almacenamiento de prótidos comparable a los depósitos de glúcidos (glucógeno hepático y muscular) y lípidos (panículos adiposos), las proteínas del organismo están en permanente renovación (*turnover*) y su equilibrio depende de las velocidades de síntesis (captación de aminoácidos dietarios, anabolismo proteico) y degradación (catabolismo proteico, liberación de aminoácidos). Por ende, las insuficiencias dietarias se reflejan en la tasa de proteínas plasmáticas, y viceversa (Coppo, 2001). En *R. catesbeiana* los valores plasmáticos de proteínas totales y albúminas fueron directamente proporcionales a la cantidad y calidad de la proteína dietaria (Coppo *et al.*, 2004). En caimanes del nordeste argentino, el cambio de alimento (carne vacuna suplementada con minerales y vitaminas) a una nueva dieta (harina de carne y sangre) produjo aumento de las albúminas plasmáticas (Ferreya y Uhart, 2001). El yacaré, como todo reptil carnívoro, durante el cautiverio requiere proteína dietaria de alta calidad, capaz de suplir las presas que constituyen su alimentación natural; en climas cálidos, la malnutrición de los cocodrilos es más deletérea debido al paralelo incremento del metabolismo (Donoghue y Langerber, 1996). En los caimanes, la hipoproteinemia se asocia con depresión inmunitaria, porque el déficit de aminoácidos obstaculiza la adecuada síntesis de inmunoglobulinas (Klingenberg, 1996).

A diferencia de la dieta suministrada en los criaderos, las presas que el reptil captura en vida natural le proveen adecuados niveles de aminoácidos esenciales, lípidos, vitaminas, minerales y oligoelementos (Frye, 1986). En tal sentido, los valores bioquímicos son útiles para evaluar el estado fisiológico de los cocodrilos y detectar precozmente la aparición de enfermedades (Uhart *et al.*, 2001). Se afirma que para mejorar los sistemas de cría de yacarés en cautiverio, la prioridad actual es mejorar la alimentación (Ferreya y Uhart, 2001).

En conclusión, se establecen nuevos intervalos de referencia para las proteínas plasmáticas de *C. latirostris* y *C. yacare*, obtenidos a partir de una muestra numerosa, con técnicas fidedignas sujetas a control de calidad. Se verifican varias diferencias entre especies, pero las variaciones son escasas entre sexos. El avance del crecimiento correlaciona con el aumento de proteínas totales, albúminas y relación albúminas / globulinas. Se constatan cambios atribuibles al sistema de

alimentación y al clima, registrándose los más bajos valores de proteínas totales y albúminas en la temporada invernal.

BIBLIOGRAFIA

- Canfield PJ. 1985. Characterization of the blood cells of Australian crocodiles (*Crocodylus porosus* and *C. johnstoni*). *Zentralbl Vet Med C Anat Histol Embryol* 14: 269-288.
- Coppo JA. 2001. *Fisiología Comparada del Medio Interno*, Ed. Dunken, Buenos Aires, 297 p.
- Coppo JA, Mussart NB, Fioranelli SA. 2004. Impacto de la alimentación, clima y sistema de manejo del criadero sobre el peso y las proteínas plasmáticas de *Rana catesbeiana*. *Vet Arg* 21:101-116.
- Donoghue S, Langerber J. 1996. Nutrition. In: *Reptile Medicine and Surgery* (Mader DR Ed.), Saunders, Philadelphia, p. 148-173.
- Ferreira H, Uhart M. 2001. Evaluación y evolución del estado sanitario de *Caiman latirostris* y *Caiman yacare* en el Refugio El Cachapé. *Boletín Técnico de la Fundación Vida Silvestre Argentina* N° 55, Anexo III: 1-15.
- Foggin CM. 1987. Diseases and disease control on crocodile farms in Zimbabwe. In: *Wildlife Management: Crocodiles and Alligators* (Webb GJ, Manolis SC, Whitehead PJ, Ed.), Surrey Beatty, Chipping Norton, p. 351-362.
- Frye FL. 1986. Hematology of captive reptiles. In: *Zoo and Wild Animal Medicine* (Fowler EM Ed.), 2nd ed., Saunders, Philadelphia, p. 181-184.
- Hoar WS. 1983 *General and Comparative Physiology*, 3rd ed., Prentice-Hall, New Jersey, 848 pp
- Jacobson E. 1984. Immobilization, blood sampling, necropsy techniques and diseases of crocodylians: a review. *J Zoo Anim Med* 15: 38-45.
- Kalinov A. 1984. *El Laboratorio y su Interpretación Semiológica*, 2^o ed., López Libreros, Buenos Aires, 1209 p.
- Klingenberg RJ. 1996. Therapeutics. In: *Reptile Medicine and Surgery* (Mader DR Ed.), Saunders, Philadelphia, p. 299.
- Millan JM, Janmaat A, Richardson KC, Chambers LK, Formiatti KR. 1997. Reference ranges for biochemical and haematological values in farmed saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*) yearlings. *Aust Vet J* 75: 814-817.
- Neremberg ST. 1975. *Electrophoretic Screening Procedures*, Lea y Febiger, Philadelphia, 245 p.
- Piña C, Larriera A. 2002. *Caiman latirostris* growth: the effect of a management technique on the supplied temperature. *Aquaculture* 211: 387-392.
- Schoeb TR, Heaton-Jones TG, Clemmons RM, Carbonneau DA, Woodward AR, Shelton D, Poppenga RH. 2002. Clinical and necropsy findings associated with increased mortality among american alligators of Lake Griffin, Florida. *J Wildl Dis* 38: 320-337.
- Stacy BA, Whitaker N. 2000. Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). *J Zoo Wildl Med* 31: 339-347.

- Stein G. 1996. Hematologic and blood chemistry values in reptiles. In: *Reptile Medicine and Surgery* (Mader DR Ed.), Saunders, Philadelphia, p. 248-257.
- Troiano JC, Althaus R. 1994. Hallazgos hematológicos en *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) en condiciones de cautiverio. *Memorias del IV Workshop sobre Conservación y Manejo del Yacaré Overo*, Santo Tomé (Santa Fe, Argentina), p. 12-24.
- Uhart M, Prado W, Beldoménico P, Rossetti C, Ferreyra Armas MC, Martínez A, Bardón JC, Avilés G, Karesh W. 2001. Estudios sanitarios comparativos de yacaré (*Caiman latirostris* y *Caiman yacare*) silvestres y cautivos. *Boletín Técnico de la Fundación Vida Silvestre Argentina* N° 55: 39-50.
- Waller T, Micucci PA. 1993. Relevamiento de la distribución, hábitat y abundancia de los crocodilios de la Provincia de Corrientes, Argentina. *Memorias de la 1ra. Reunión Regional del Grupo de Especialistas en Cocodrilos*, Santa Marta, Colombia, p. 341-385.
- Watson PA. 1990. Effects of blasting on Nile crocodiles, *Crocodylus niloticus*. *Proceedings of the 10th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group IUCN*, Gainesville, Florida, p. 240-252.

VALORES BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE CAIMÁN FRENTE LISA (*PALEOSUCHUS TRIGONATUS*) (SCHNEIDER, 1801) MANTENIDOS EN CAUTIVERIO EN PERÚ

Rojas M., Gianmarco^{1,2}, Chavez I. Germán².

¹ Parque Zoológico Huachipa, Lima – Perú; <gian_wildvet@hotmail.com>

² PUMAS Group S.A.C., Lima – Perú ; <gianmarco_rojas@yahoo.com>

RESUMEN

Se realizó el análisis de valores bioquímicos séricos de caimán frente lisa (*Paleosuchus trigonatus*). Para esto fueron empleados 3 animales, dos hembras y un macho, con pesos de 5, 7 y 7.5 Kg. respectivamente, adultos, sanos y mantenidos en cautiverio en el Parque Zoológico Huachipa - Perú. Todos los animales fueron contenidos físicamente por sujeción manual. Fueron colectados 10 ml de sangre mediante punción de la rama dorsal de la vena cava craneal. La sangre colectada fue separada en dos tubos uno con heparina y otro sin heparina, para su análisis posterior en laboratorio. En el laboratorio fueron realizados estudios de Alanina Aminotransferase (ALT) y Aspartato Aminotransferase (AST), Nitrógeno de Urea, Creatinina, glucosa, colesterol, proteínas totales, albúmina y globulina. En los resultados de laboratorio se obtuvieron valores bioquímicos séricos similares a las encontradas en otras especies del orden Crocodylia principalmente los del género *Paleosuchus*. Concluimos que el análisis de los valores bioquímicos séricos en *Paleosuchus trigonatus* se puede realizar basándose en modelos conocidos para especies del mismo orden, sin dejar de lado la necesidad de estudios complementarios tanto en cautiverio como en animales de vida libre.