

Resultados

• Caracterización electroforética

- Sólo se encontró plimorfismo en el locus Idh-II de *C. Rhombifer*, el cual está bajo el control de dos alelos codominantes: el A de migración más anódica y el B que resultó el más frecuente. Algunos loci caracterizados en *C. rhombifer* como los de Aat, Est, Adh, Gdh y Xdh no deben considerarse definitivamente como monomórficos ya que éstos fueron revelados sólo para un pequeño número de ejemplares.
- En *C. acutus* no pudo demostrarse la existencia de polimorfismo tal vez debido al reducido tamaño de muestra que se empleó para esta especie.
- Todos los loci estudiados mostraron un patrón electroforético similar en ambas especies, excepto el esterásico.

Tabla 2. Polimorfismo genético para 19 sistemas proteicos de *C. rhombifer*

C. rhombifer			
SISTEMA ENZIMÁTICO	TEJIDO	No. DE LOCI	ALELOS
SDH	MÚSCULO	I, II	MONOMÓRFICOS
PHI	MÚSCULO	I	MONOMÓRFICO
PGM	MÚSCULO	I	MONOMÓRFICO
LDH	RIÑÓN	I, II	MONOMÓRFICOS
α GPD	MÚSCULO	I	MONOMÓRFICO
AcP	CORAZÓN	I	MONOMÓRFICO
Me	MÚSCULO	I	MONOMÓRFICO
MDH	MÚSCULO	I, II	MONOMÓRFICOS
IDH	MÚSCULO	I, II	POLIMÓRFICO: IDH-II $p^A = 0,190 \quad q^B = 0,809$
6PGD	MÚSCULO	I, II	MONOMÓRFICOS
XDH	RIÑÓN	I	—
G6PD	HÍGADO	I, II	MONOMÓRFICOS
Pep	HÍGADO	I, II	MONOMÓRFICOS
GDH	RIÑÓN	I	—
ADH	MÚSCULO	I	—
SOD	HÍGADO	I, II	MONOMÓRFICOS
AAT	HÍGADO	I, II	—
EST	HÍGADO	—	—
PT	MÚSCULO	—	MONOMÓRFICO

- Variabilidad genética de *C. rhombifer*

Esta población mostró desviación del equilibrio genético de Hardy-Weinberg para el locus Idh-II.

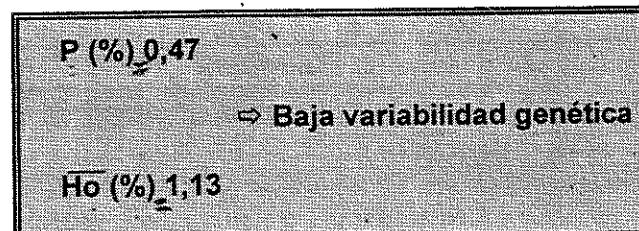


Tabla 3. Valores de H₀ para otras especies de reptiles y vertebrados en general.

Especie	H ₀ (%)	Referencia
<i>Leiocephalus carinatus</i>	4,4	Chamizo Lara (1999)
<i>Leiocephalus stictigaster</i>	6,0	Chamizo Lara (1999)
<i>Leiocephalus cubensis</i>	4,0	Chamizo Lara (1999)
<i>Alligator mississippiensis</i>	1,2-3,4	Admas et al. (1980)
Vertebrados	5,0-7,0	Selander y Johnson (1973)
Vertebrados	0,0-10,0	Avise (1994)

- Comparación entre *C. rhombifer* y *C. acutus*

El patrón del sistema esterásico resultó el único diferente entre ambas especies, correspondiendo el de mayor número de bandas, a *C. rhombifer*.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. De los 19 sistemas proteicos establecidos, 17 se consideran bajo la regulación genética de 26 loci, tanto para *C. rhombifer* como para *C. acutus*.
2. La población de *C. rhombifer* de la granja de la Ciénaga de Zapata resultó genéticamente muy homogénea lo que pudiera deberse posiblemente a los sistemas de cruzamientos consanguíneos. Esto debe verificarse estudiando las poblaciones naturales de esta especie.
3. El sistema esterásico de *C. rhombifer* resultó el único que presentó un fenotipo distingible del de *C. acutus*. Sin embargo, para conocer si este sistema tiene carácter diagnóstico, deberá aumentarse el número de ejemplares examinados.

Biosecurity and the Prevention of Stress-Mediated Immune Suppression on Crocodile Farms

F W Huchzermeyer, P O Box 12499, 0110 Onderstepoort, South Africa

INTRODUCTION Biosecurity is intended to protect valuable farm stock from the introduction of infectious agents capable of producing outbreaks of disease and mortality. This is done by erecting barriers between the animals and potential sources of infectious agents and in particular this is practised meticulously on many poultry farms. This paper tries to identify the sources of potential danger and from them derives a number of practical biosecurity measures applicable to crocodile farms.

However, in spite of the adoption of hygienic measures to curb the infection pressure exerted by pathogens, disease outbreaks occur from time to time. The crocodile's immune system is the other side of the coin and in this paper I am also going to examine the deleterious effects of environmental factors on the immune system of crocodiles.

PATHOGENS There are only very few crocodile-specific pathogens: Caiman- and crocodile poxviruses (Jacobson et al., 1979; Horner, 1988; Gerdes, 1991), adenovirus (Jacobson et al., 1984), crocodile chlamydiae (Huchzermeyer et al., 1994) and mycoplasms (Clippinger et al., 1996; Kirchhoff et al., 1997), coccidia as well as pentastomes, roundworms and trematodes. It is even doubtful that any of these, possibly with the exception of the coccidia, can cause disease in an unstressed, uncompromised crocodile.

General pathogens, those that can cause disease in and can be carried as well by animals other than crocodiles, include certain mycobacteria, some salmonellae and other enterobacteria.

Finally, environmental pathogens may be present in the water (*Proteus*, *Aeromonas*, *Edwardsiella*) used on the farm or can derive from the intestinal flora (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*) of the crocodiles themselves.

SOURCES OF INFECTION The crocodile-specific viruses and bacteria are carried by subclinically infected crocodiles, which shed these pathogens into the water. The pathogens are introduced into the farm either by the introduction of a carrier crocodile or in the water from a river or lake inhabited by wild crocodiles, when such water is used on the farm, particularly in the

rearing section. At least as far as mycoplasms are concerned, there is also the very real possibility of vertical transmission through the egg and the introduction with eggs collected from the wild. Most of the metazoan parasites (ascaridoids, trematodes, pentastomes) require fish as intermediate hosts and are brought into the farm if fresh fishes are fed that were caught in a river or lake inhabited by wild crocodiles.

General pathogens can be present in the raw meat that is fed to the crocodiles, particularly if it originates from farm mortalities. The feed can also become contaminated by droppings of flies and rats, which both are regular carriers of salmonellae. Rats scavenging for leftovers may be caught and eaten by the crocodiles. In this way they are the most likely source of trichinellosis reported from crocodiles in Zimbabwe (Foggin & Widdowson, 1996; Foggin et al., 1997).

Environmental bacteria usually are of low pathogenicity and require an immune-compromised host to cause infections. They can be present in the water which is used on the farm, but more often they originate from the normal or abnormal intestinal flora of the crocodiles, since faecal contamination of water, pens and feed can hardly be avoided in an intensive rearing situation.

BIOSECURITY MEASURES The crocodile-specific pathogens are the most important to be kept out of a farm. Several measures are necessary to this end:

- Only borehole-, well- or public water should be used on the farm or at least in the rearing section,
- extreme care should be taken with the introduction of new stock, for breeding as well as for rearing, particularly if the animals have originated from the wild,
- wide separation of rearing and breeding sections on the farm with separate staff working in each section and
- separation of incubation and rearing facilities for eggs and hatchlings from eggs collected in the wild from those produced on the farm from own breeding stock.

Metazoan parasites are kept out by not feeding fresh fish from a river or lake inhabited by crocodiles. If such fish has to be fed, it should be heat sterilized (boiled) before use.

The impact of general pathogens can be reduced by not feeding farm mortalities, or at least, by heat sterilizing the meat before feeding (Huchzermeyer, 1991). Feeding pellets has become a viable and much more hygienic alternative.

The use of well, borehole or public water also will reduce the danger of introducing water-borne

environmental bacteria. However, the continuous exposure to faecal bacteria remains a cause for concern. Daily water changes together with scrubbing and disinfection of the rearing pens are a necessity. The surface of the concrete lining is of particular importance, as small cracks and crevices easily fill with debris and grease, which will protect bacteria and other pathogens from the action of the disinfectant. An absolutely smooth, impermeable lining, such as achieved by the use of fibre glass with an epoxy resin paint, will greatly reduce the danger of residual bacteria.

THE IMMUNE SYSTEM The immune system of crocodiles is similar to that of other higher vertebrates; it responds specifically to antigens which are introduced into the body. Under normal conditions this reaction allows the elimination of most infectious agents. This action can be boosted by a previous (preventive) exposure to the antigen in question - vaccination: A mycoplasma vaccine has been tried successfully in Zimbabwe (Mohan et al., 1997), a crude autogenous crocodile pox vaccine was reported to speed up the recovery of pox-infected crocodile hatchlings (Horner, 1988) and a calf paratyphoid vaccine was used in an outbreak of *Salmonella typhimurium* infection (Huchzermeyer, 1991).

IMMUNE SUPPRESSION: COLD In a poikilothermic animal the activity of the immune system also is temperature-dependent: it functions best in the preferred temperature range of the crocodile. With decreasing body temperature its activity slows down and at the lowest tolerated temperatures the immune system is practically inactive. This may not necessarily render the cold crocodile more vulnerable, as a lowered temperature also slows down the multiplication rate of many pathogens with the exception of cryophilic bacteria. For this very reason Huchzermeyer (1991) reduced the house temperature to 29°C, knowing that at that temperature the rate of multiplication of *Salmonella typhimurium* was greatly reduced, while the immune system of the hatchlings still was able to operate at a high level of efficiency, although normally crocodiles suffering from a septiaemia are expected to select a high temperature (behavioural fever).

Under cold conditions the crocodile reduces the flow of blood to the periphery (Smith et al., 1978). This reduced blood flow together with the reduced immune activity render the skin doubly vulnerable under prolonged conditions of suboptimal temperatures: Infected scratches and small bite wounds develop into larger sores instead of healing rapidly and leave scars which devalue the skin. These sores are covered by yellowish or brownish crusts and in South Africa are called winter sores (Huchzermeyer, 1996).

STRESS Stress causes the release of corticosteroids, which in turn suppress the immune system. Exposing juvenile farmed crocodiles to varying temperature regimes Turton et al. (1994) found that high temperatures are more stressful than lower ones and that temperature changes are always accompanied by increased corticosterone levels. In these trials stress produced immunosuppression via decreased lymphocyte counts, while plasma IgG levels remained unaffected, suggesting another route of immunosuppression than the hypothalamic pituitary adrenocortical axis (Turton et al., 1994).

This illustrates that low temperatures can have a double immunosuppressive action, one directly by cold and the other one mediated by stress. The stressfulness of temperature changes under farming or captive conditions most likely is due to their forced nature, leaving the crocodile without a natural thermogradient and therefore unable to behaviourally adjust its temperature.

Other stress situations commonly occurring on crocodile farms are:

- fear of the open (inability to hide)
- competition and fighting due to overcrowding
- handling and translocation

Crocodile hatchlings naturally have to be afraid of predators, particularly of large birds. This is why they are instinctively afraid to be in the open. When crocodile hatchlings are reared in outside ponds, but even indoors, they tend to crowd along the wall or in corners. If given hide boards, under which they can seek refuge when frightened, they are much quieter and there is a lesser tendency to crowd in corners. Their constant fear, often demonstrated by vocalizations, must cause a considerable level of chronic stress.

Overcrowding also commonly occurs on crocodile farms and there are no laid-down guide lines on how many crocodiles one should keep per m². Their constant growth also causes a continuous need to thin out the population, which farmers tend to resist in the knowledge that catching, handling and translocation also are very stressful. However, this can be overcome to some extend by getting the hatchlings used to human presence in their pen and by avoiding to catch them with bare hands but rather from a distance with the help of snake tongs.

MALNUTRITION Theoretically, malnutrition can deleteriously affect the functioning of the immune system. However, severe malnutrition rarely occurs on crocodile farms at least as far as immune suppression is concerned. However, in crocodiles severe stress also suppresses the appetite and once the crocodile has not eaten for a few days the ensuing hypoglycaemia further

suppresses the appetite. Such a fasting crocodile then becomes immunosuppressed as a consequence of malnutrition (starvation) as well as because of the stress of starvation. In this situation a crocodile usually falls victim to secondary infections, often by assumedly nonpathogenic bacteria.

On the other hand there is evidence that in fish, birds and mammals vitamin requirements increase under conditions of stress and that high doses of vitamin C protect against the effects of stress while at the same time boosting the activity of the immune system, primarily by protecting macrophages from free oxygen radicals. Thus it has been found that vitamin C protects aquarium fishes against bacterial as well as parasitic infections (Li & Lovell, 1985; Wahli et al., 1986; Chávez de Martínez & Richards, 1991). There is no reason why this should not apply to reptiles (crocodiles) as well.

DISCUSSION Crocodile farms often are situated close to crocodile waters and this poses a danger not only to the farm but also to the wild crocodiles because of the recycling and enrichment with crocodile pathogens which are released back into the wild, not only with the release (or escape) of juveniles, but also with the effluent from the farm. They may thereby contribute to a spread and increase of the pathogen burden of wild crocodile populations. This point should receive the attention of veterinarians and regulating authorities.

However, while the wild crocodiles live in their natural and presumably almost stress-free environment, they probably are not affected to the same extent by the accumulating pathogens as the crocodiles on the farm, where conditions most likely are more stressful.

The initial expense of instituting biosecurity measures may appear very high, but mortalities suffered on many farms lead to considerable losses every year. Compensating for poor measures by an increased use of antibiotics, which incidentally also are released into the environment in the effluent from the farm, certainly is an illogical as well as costly solution.

Captive and farming conditions often severely restrict the behavioural spectrum of crocodiles. There is no cover to hide under, there is no place to get away to avoid aggressive interactions and usually there are very limited possibilities to thermoregulate.

In popular opinion crocodiles as tropical animals like and need heat. Yet heat can kill: One must not forget that crocodiles need to maintain their core temperature at 32-33°C and that for them 37°C already is lethal. On a hot summer day the air temperature in the shade easily reaches 40°C or even more, the sun is shining onto the concrete, heating it to boiling heat, and the

shallow water in the pond rapidly warms up to at least 36°C. Where in such a scenario can a crocodile go to cool down to avoid overheating? - Providing sufficiently deep water basins is the easiest way to supply a cooling environment to crocodiles under hot, tropical conditions. The water must be deep enough and contain a sufficient volume not to overheat even on very hot days. Regular monitoring of water temperatures is seldom practised on crocodile farms, but is recommended as an early warning system to guard against heat stress.

Prolonged periods of exposure to unsuitable hot or cold temperatures or frequent large temperature variations without the possibility for the crocodiles to thermoregulate effectively are the direct cause of most outbreaks of disease and mortality on crocodile farms. Some infectious agents always are present to take advantage of the immunosuppressed state of the crocodiles. The laboratory diagnosis and identification of the infectious agents do not help the farmer, if he does not get an answer to the question "why did this disease occur on my farm?" Identifying the cause of immunosuppression under the circumstances prevailing on the particular farm is the only way towards overcoming these problems.

Supplementing feeds with high levels of ascorbic acid (vitamin C) (1000 g/t) may also help to combat the immunosuppressive action of stress and at the same time provide an additional boost to the immune system of the crocodiles.

REFERENCES

- Chávez de Martínez, M.C., and R.H. Richards. 1991. Histopathology of vitamin C deficiency in a cichlid, *Cichlasoma urophthalmus* (Günther). J. Fish. Dis. 14:507-519.
- Clippinger, T.L., R.A. Bennett, C.M. Johnson, K.A. Vliet, E.R. Jacobson, D.R. Brown and M.B. Brown. 1996. Mycoplasma epizootic in a herd of bull alligators (*Alligator mississippiensis*). 1996 Proc. Amer. Ass. Zoo Veterinarians 230-234."
- Foggin, C.M., and M.-A. Widdowson. 1996. A trichinella-like parasite in farmed crocodiles in Zimbabwe. Zim. Vet. J. 27:86.
- Foggin, C.M., G.D. Vasilev and M.-A. Widdowson. 1997. Infection with *Trichinella* in farmed crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in Zimbabwe. Abstracts, 16th Int. Conf. World Ass. Adv. Vet. Parasitol., Sun City, South Africa 31.
- Gerdes, G.H. 1991. Morphology of poxviruses from Reptiles. Vet. Rec. 128:452.

Horner, R.F. 1988. Poxvirus in farmed Nile crocodiles. Vet. Rec. 122:459-462.

Huchzermeyer, F.W. 1996. Winter sores, a dermatitis in farmed Nile crocodiles kept at suboptimal temperatures. In: Crocodiles. Proc. 13th Work. Meetg Crocodile Specialist Group, IUCN - The World Conservation Union, Gland, Switzerland 296-297.

Huchzermeyer, F.W., G.H. Gerdes, C.M. Foggin, K.D.A. Huchzermeyer and L.C. Limper. 1994. Hepatitis in farmed hatchling Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) due to chlamydial infection. J. S. Afr. Vet. Ass. 65:20-22.

Huchzermeyer, K.D.A. 1991. Treatment and control of an outbreak of salmonellosis in hatchling Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*). J. S. Afr. Vet. Ass. 62:23-25.

Jacobson, E.R., J.A. Popp, R.P. Shields and J.M. Gaskin. 1979. Poxlike skin lesions in captive caimans. J. Amer. Vet. Med. Ass. 175:937-940.

Jacobson, E.R., C.H. Gardiner and C.M. Foggin. 1984. Adenovirus-like infection in two Nile crocodiles. J. Amer. Vet. Med. Ass. 185:1421-1422.

Kirchhoff, H., K. Mohan, M. Runge, D.R. Brown, M.B. Brown, C.M. Foggin, P. Muvaravirwa, H. Lehmann and J. Flossdorf. 1997. *Mycoplasma crocodyli* sp. nov., a new species from crocodiles. Int. J. Syst. Bact. 47:742-746.

Li, Y., and R.T Lovell. 1985. Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in Channel catfish. J. Nutr. 115:1223-131.

Mohan, K., C.M. Foggin, P. Muvaravirwa and J. Honiwill. 1997. Vaccination of farmed crocodiles (*Crocodylus niloticus*) against *Mycoplasma crocodyli* infection. Vet. Rec. 141:476.

Smith, E.N., S. Robertson and D.G. Davies. 1978. Cutaneous blood flow during heating and cooling in the American alligator. Amer. J. Physiol. 235:R160-R167.

Turton, J.A., P.W. Ladds, S.C. Manolis and G. Webb. 1994. The influence of water temperature and clutch of origin on stress in farmed *Crocodylus porosus* hatchlings. Aust. Vet. J. 75:114-119.

Wahli, T., W. Meier and K. Pfister. 1986. Ascorbic acid induced immune-mediated decrease in mortality in *Ichthyophthirius multifiliis* infected rainbow-trout (*Salmo gairdneri*). Acta Trop. 43:2287-289.

Mycobacterial infections in farmed and captive crocodiles

F W Huchzermeyer and H F Huchzermeyer,
P O Box 12499, 0110 Onderstepoort, South Africa

INTRODUCTION Only few cases of mycobacterial infections in crocodilians have been reported: *Mycobacterium marinum* was isolated from four spectacled caimans from London Zoo (Griffiths, 1928), a nontypable strain of *M. avium* complex was isolated from a "crocodile" (Thoen & Schliesser, 1984) and acid-fast bacteria which did not grow on culture media were found associated with granulomatous lesions in a captive Chinese alligator (Blahak, 1998). In addition lung, tracheal and intestinal granulomatous lesions associated with mycobacteria from a number of crocodilian cases were reported by Youngprapakorn et al. (1994).

From October 1991 to March 1993 a number of cases of mycobacterial infection occurred in Nile crocodiles on one particular crocodile farm in South Africa. In addition several cases from other farms and a zoo were detected during routine postmortem examinations and all these are reported in this paper.

CASE HISTORIES During the period in question **farm A** submitted all Nile crocodile mortalities for postmortem examination. Amongst these were five crocodiles ranging in length from 0.7 to 1.27 m, in which granulomatous lesions were found either in the liver or in several organs.

On **farm B** several Nile crocodiles intended as future breeding stock died after having been transported from another farm. The one submitted to a veterinary practitioner measured 1.5 m and had large generalized granulomatous lesions. Both authors were present when the postmortem was carried out.

On **farm C** one subadult Nile crocodile, 2.2 m in length, died after a relatively cold winter and was found to have large granulomatous lesions in the lungs. Only the lungs were submitted for examination.

On **farm D** several young Nile crocodiles suffered from an ulcerative fat-associated dermatitis due to the feeding of excessively fat pork mince, from which the fat had leached into the water and had covered the skins of the crocodiles in successive layers providing a medium for the growth of fungi and bacteria, which then penetrated into the skin. The crocodile, from the skin of which mycobacteria were isolated, was 0.8 m long.

A 2-year-old spectacled caiman was submitted by a **zoo**. It was found to have suffered from pansteatitis. Granulomatous lesions were found in the fat.

MATERIALS AND METHODS Portions of organs with granulomatous lesions were submitted for bacteriological examination and were also fixed in buffered formaline-saline solution for routine processing for histopathological examination. Additionally histopathological sections with granulomatous lesions were stained with Ziehl-Neelsen stain.

The isolation and identification of the mycobacteria followed the methods described by Nel et al. (1980). Lesions were excised, homogenized and decontaminated, then neutralized and inoculated into series of tubes containing slopes of Löwenstein-Jensen (LJ) egg-based medium with and without glycerin, LJ medium with pyruvate and Herold's egg medium containing mycobactin. The tubes were incubated at 27°C, 37°C and 45°C and observed for growth of acid-fast colonies at weekly intervals for 6 weeks. As soon as colonies of acid-fast bacteria were observed, the isolates were subcultured onto the same medium which supported primary growth. The isolates were then identified by their growth characteristics and the results of biochemical tests (nitrate reduction, Tween hydrolysis, urease action, tellurite reduction, catalase activity and arylsulfatase production).

RESULTS The results of the mycobacterial isolations are detailed in Table 1. The crocodiles from farm A, with the exception of the first one from which a culture was not attempted, all yielded *M. avium* complex while *M. fortuitum* was isolated from the lesions of the spectacled caiman. The crocodile from Farm B had generalized mycosis with *M. terrae* as an environmental contaminant and the crocodile from farm C had pulmonary aspergillosis (*Aspergillus flavus*) with an atypical *Mycobacterium* also as environmental contaminant. Finally *M. triviale* was isolated from the skin of the crocodile from farm D with a mixed fungal and bacterial "greasy" dermatitis. The skin of this crocodile had ulcerations but no granulomatous lesions. *M. terrae* and *M. triviale* are difficult to differentiate from one another by the biochemical tests applied at the time and in retrospect the two isolates may have been one or the other.

Typical reptilian granulomata were present in some of the organs of all the crocodiles except the one from farm D. Acid-fast bacteria were detected in the histopathological sections of organs of the crocodiles from Farm A and of the zoo caiman.

DISCUSSION The low body temperature of reptiles including crocodiles does not favour the multiplication of the obligate pathogenic mycobacteria *M. tuberculosis* and *M. bovis*, although Blahak (1998) mentions a case of reptilian *M. tuberculosis* infection (without reference). The opportunistic or potentially pathogenic mycobacteria have less stringent temperature requirements, e.g. *M. avium*, while *M. fortuitum* and *M. marinum* even prefer lower temperatures and therefore often infect fishes. They are also able to multiply in the environment. The non-pathogenic environmental mycobacteria can contaminate wounds, ulcers and even internal lesions, but do not cause granulomatous

reactions. The granulomata seen in cases B and C had been caused by fungi.

Granulomatous reactions in crocodiles are less specific than those in mammals and hence are not *per se* pathognomonic for mycobacterial infections. However, if they are found, one should bear in mind the possibility of the presence of mycobacteria.

The affected crocodiles were at least one year old or older. This is in line with the cases reported by Youngprapakorn et al. (1994) and this is believed to be due to the chronicity of the infection.

Liver lesions suggest an enteric origin of the infections with the potentially pathogenic mycobacteria. *M. avium* probably originated from infected pig carcasses, as it rarely occurs in poultry in South Africa. In fact, carcasses from a piggery with mycobacterial problems had reportedly been fed for a while prior to the manifestation of the infection. The probable source of *M. fortuitum* was fish.

Heat sterilizing raw feeds before the admixture of vitamins is one recommended way of preventing feed-associated infections (Huchzermeyer, 1991) and is now practised widely in South Africa, at least for hatchlings. Another, similar, hygienic measure is the feeding of pelleted rations instead of fresh meat and more recently this also is increasing in popularity.

REFERENCES

- Blahak, S. 1998. Mykobakteriose bei einem juvenilen China-Alligator (*Alligator sinensis*). Proc. 11. Tagung AG ARK, Dtsch. Gesellsch. Herpetol. Terrarienk., Detmold 1-15.
- Griffith, A.S. 1928. Tuberculosis in captive wild animals. J. Hyg. 28:198-218.
- Huchzermeyer, K.D.A. 1991. Treatment and control of an outbreak of salmonellosis in hatchling Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*). J. S. Afr. Vet. Ass. 62:23-25.
- Nel, E.E., H.H. Kleeberg and E.M.S. Gatner. 1980. Laboratory manual of tuberculosis methods. Tuberculosis Research Institute, SAMRC, Pretoria.
- Thoen, C.O., and T.A. Schliesser. 1984. Mycobacterial infections in cold-blooded animals. In: G P Kubica & L G Wayne (Eds) The mycobacteria, a sourcebook. Marcel Dekker Inc., New York & Basel 1297-1311.
- Youngprapakorn, P., L. Ousavaplangchai and S. Kanchanapangka. 1994. A color atlas of diseases of the crocodile. Thailand 30-31.

Table 1 Mycobacterial cases in farmed and captive crocodiles in South Africa

Farm	Date M/Y	Size* m	Agent isolated	Microscopy
B	07/91	1.5	<i>M. terrae</i>	neg.
C	08/91	2.2	atypical <i>M.</i>	neg.
A	10/91	0.7	not done	acid fasts
A	11/91	1.2	<i>M. avium</i> cplx	acid fasts
A	12/91	1.25	<i>M. avium</i> cplx	acid fasts
D	01/92	0.8	<i>M. triviale</i>	neg.
A	11/92	1.27	<i>M. avium</i> cplx	acid fasts
A	03/93	1.19	<i>M. avium</i> cplx	acid fasts
Zoo	05/94	2 yr-old	<i>M. fortuitum</i>	acid fasts

* size or age of crocodile

**VALORES HEMATOLÓGICOS OBTENIDOS EN EL CROCODYLUS RHOMBIFER
DEL ZOOCRIADERO DE LA CIÉNAGA DE ZAPATA. MATANZAS. CUBA**

Moliner, J.L¹; Ramos, R²; Bello, O¹; Elizalde, S².

Instituto de Medicina Veterinaria. Matanzas. Cuba.¹
Ministerio de la Industria Pesquera. La Habana. Cuba.²

RESUMEN

En un estudio hematológico efectuado en 119 cocodrilos cubanos con edades comprendidas entre 0-2 años se determinó hematocritos, hemoglobina, leucocitos totales y diagnóstico diferencial de las células de la serie blanca. Se evaluaron los resultados obtenidos aplicándose un método estadístico para determinar diferencias significativas con otras investigaciones realizadas.

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones hematológicas han sido objeto de estudio por algunos investigadores. Wintrobe (1933) estableció los valores de hematies, hematocrito, hemoglobina y constantes corpusculares en el caimán. Dill y Edwards (1935) también estudiaron los eritrocitos en el *Alligator mississippiensis*, así como en el cocodrilo *Acutus*. Ramírez y col. (1975,1978) realizaron estudios hematológicos de una población de "babas" (*Caimán crocodylus*).

En nuestro país, Castellanos (1973 ab, 1977); Benítez y col. (1976) mostraron parámetros hematológicos en el cocodrilo cubano. (*C. rhombifer*).

El presente trabajo consiste en presentar los valores hematológicos obtenidos en el *Crocodylus rhombifer* del zoocriadero de la Ciénaga de Zapata. Matanzas. Cuba; cuyos ejemplares se encuentran mantenidos en cautiverio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 119 cocodrilos cubanos (*Crocodylus rhombifer*) del zoocriadero de la Ciénaga de Zapata. Matanzas. Cuba, con edades comprendidas entre 0-2 años de vida. Se tomaron muestras de sangre por punción cardíaca (5 ml) utilizando como anticoagulante EDTA (1mg/ml), en el propio lugar y posteriormente se trasladaron al Laboratorio Provincial de Veterinaria para su procesamiento donde se estudiaron los siguientes aspectos: hematocrito por el método de microhematocrito; hemoglobina por el método de cianometahemoglobina y fotocolorimetría, conteo global de leucocitos por el método de la cámara contadora de Newbauer y conteo diferencial por el método de Wintrobe.

A los resultados obtenidos se le determinaron los parámetros estadísticos simples que consistieron en la media (\bar{X}), la desviación típica (S), la desviación de la media ($S\bar{X}$) y el coeficiente de variabilidad de cada grupo (CV) expresándose estos según los distintos años investigados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los valores promedio de hematócritos observados, se detectó un nivel medio de 21,7% con una mayor incidencia en el año 1985 (Tabla.1) siendo coincidentes con los resultados obtenidos por Castellanos (1977).

Ramírez (1978) refiere valores promedios de 24,09% en el caimán cocodrilo hembra y de 24,5% en los machos, los cuales no difieren con los resultados obtenidos por nosotros. Este autor señala que los valores de hematócritos tienden a aumentar ligeramente en la temporada de lluvias en relación con la temporada de sequía pero sin diferir estadísticamente.

Los valores de hemoglobina mostraron cifras de 7,6 g%/ en el año 1985 y 7,3 g%/ en el año 1990 con un valor promedio total de 7,5 g%/ (Tabla.2) no detectándose diferencias significativas con otros autores consultados: cifras de 7,4 g%/ (Foggin 1992) valores de 7,1 g%/ (Castellanos 1977).

Se destaca que las mayores cifras de hemoglobina y glóbulos rojos determinados en una población de "babas" (Caimán cocodylus) fue superior en las hembras que en los machos. (Ramírez y col 1975).

Al apreciar los resultados de leucocitos totales se obtuvieron valores promedios totales de 12 151,3 % destacándose el valor más elevado en el año 1990 (Tabla.3) el cual difiere de los datos de Foggin (1992) que reporta un promedio de 22%. Con relación a esto, se señala que los valores bajos en las especímenes jóvenes (menores de 2 años) podrían estar relacionadas con la mayor tasa de crecimiento en esta etapa de vida.

Dentro de los valores de leucocitarios normales se analizaron con mayor interés los segmentados y linfocitos por ser las células observadas en el recuento leucocitario diferencial que aparecieron con mayor índice de presentación.

Los segmentados mostraron un discreto aumento en sus valores promedios totales de 16,7% (Tabla. 4). Se detectaron en esta magnitud en la mayoría de los años analizados que se podría atribuir a las condiciones de stress a que estuvieron sometidos estos animales en régimen de cautiverio.

Los linfocitos fueron las células que mayor incidencia de observación mostraron en el recuento diferencial detectándose en un 81,2 % (Tabla.5), coincidentes con los distintos autores consultados (Pérez Benítez, 1980).

Los eosinófilos, basófilos y monocitos fueron las células que en el diagnóstico diferencial se observaron con menor incidencia porcentual.(Pérez Benítez, 1980).

Los reptiles presentan muchas características fisiológicas y anatómicas que el clínico debe tener en cuenta para manejar estos animales en cautiverio ya que la mayoría de ellos son poiquilotermos, ectotérmicos (Anon, 1993).

El número de las diversas células sanguíneas circulantes varía de acuerdo con los estados fisiológicos normales, así como con las afecciones patológicas. Las variaciones considerables que existen normalmente entre los individuos dentro de una población dada pueden atribuirse al sexo, la edad, la nutrición, el ejercicio físico, la temperatura ambiente y los ciclos diurnos y sexuales ; por tanto, los valores normales obtenidos deben considerarse como guías generales más bien que como criterios rígidos.

BIBLIOGRAFIA

1. Anon: " El Manual Merck de Veterinaria." Cuarta Edición en Español. Barcelona. España. Valores y Procedimientos Clínicos. Hematología. Pág 1019-1023. 1993.
2. Benítez, A; Isabel Pérez y A. Patrón. Perfil hematológico en animales jóvenes sanos de 0-1 año de la especie *Crocodylus rhombifer* Cuvier y *Crocodylus acutus* Cuvier. IV Jornada de Ciencias Veterinarias, Matanzas, Cuba, 1976.
3. Castellanos, R.: Valores leucocitarios y velocidad de sedimentación de la sangre del cocodrilo cubano (*Crocodylus rhombifer* Cuvier). IV Seminario Científico del CENIC. La Habana.1973 a.
4. Castellanos, R.: Estudio del frotis de sangre del cocodrilo cubano (*Crocodylus rhombifer* Cuvier). Rvta. Cub. Cienc. Vet. 4: 71-77. 1973 b.
5. Castellanos, R.: Algunos parámetros hematológicos en el cocodrilo cubano (*Crocodylus rhombifer* Cuvier). Rvta. Cub. Cienc. Vet. 8: 65-69, 1977.
6. Dill, D.A y H.T. Edwards: Properties of reptilian blood IV The Alligator, *Alligator mississippiensis*, Daudin. J. Cell and Comp. Physiol. 9: 243. 1935.
7. Foggin, C.M: " Diseases of farmed crocodiles" Chapter 10. In Conservation and utilization of the nile crocodiles in South Africa. Handbook on crocodile farming. Ed. GA Smith and J Marais pág 107-140. 1992.
8. Pérez Benítez, Isabel, G. Sardinas y A Benítez: Hallazgo y evolución de una parasitosis aguda producida por *Acantostomum loosi* (Pérez Vigueras, 1956) en animales jóvenes de una cría industrial de cocodrilos (*Crocodylus acutus* Cuvier y *Crocodylus rhombifer* Cuvier) Rvta. Cub. Cienc. Vet.Vol 11 79-83,1980.
9. Ramírez, F.; C.L. Arocha-Piñango, S. Gorzula, C. Salazar y D. Rondón: Hematología del Caimán *Crocodylus* (Baba) Acta Científica Venezolana. Volumen 26 Suplemento No 1. 1975.
10. Ramírez, F.; C.L. Arocha-Piñango, N. Montiel y S. Gorzula: Elementos figurados hemoglobina y proteínas de la sangre en el Caimán *Crocodylus* (Linnaeus) Acta Cient Venezolana 29: 268-273, 1978.
11. Winfrobe, M.M: Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia. Hemat. 51: 32, 1933.

ANEXOS

Tabla 1. Valores hematológicos obtenidos en la serie roja (hematócrito, %) en el cocodrilo cubano de 0-2 años.

N	1983	1984	1985	1986	1990	TOTAL
N	60	22	13	17	7	119
\bar{X}	20,8	21.1	25.2	22.9	22.0	21.7
S	4.5	4.3	4.2	2.2	2.3	4.2
$S\bar{X}$	0.6	0.9	1.2	0.5	0.9	0.4
CV	22.5	20.3	16.7	9.6	10.45	19.35

Tabla 2. Valores hematológicos obtenidos en la serie roja (hemoglobina, g%) en el cocodrilo cubano de 0-2 años.

N	1985	1990	TOTAL
N	13	7	20
\bar{X}	7.6	7.3	7.5
S	1.2	0.9	1.1
$S\bar{X}$	0.3	0.3	0.3
CV	15.8	12.3	14.7

Tabla 3. Valores hematológicos obtenidos en la serie blanca (Leucocitos totales, %) en el cocodrilo cubano de 0-2 años.

N	1983	1984	1985	1986	1990	TOTAL
N	60	22	13	17	7	119
\bar{X}	11551.7	10005.5	8706.2	4400.0	37114.2	12151.3
S	2043.5	1606.3	969.2	1531.8	2746.2	6614.4
$S\bar{X}$	263.8	342.5	268.8	371.5	1038.0	606.34
CV	17.7	16.1	11.1	16.3	7.4	54.4

Tabla 4. Valores hematológicos obtenidos en la serie blanca (Segmentados, %) en el cocodrilo cubano de 0-2 años.

N	1983	1984	1985	1986	1990	TOTAL
N	60	22	13	17	7	119
\bar{X}	17.2	14.9	21.0	8.7	29.4	16.7
S	8.1	8.2	9.3	5.6	8.5	9.1
$S\bar{X}$	1.1	1.8	2.6	1.4	3.2	0.8
CV	47.1	55.0	44.3	65.9	28.9	54.5

Tabla 5. Valores hematológicos obtenidos en la serie blanca (Linfocitos, %) en el cocodrilo cubano de 0-2 años.

N	1983	1984	1985	1986	1990	TOTAL
N	60	22	13	17	7	119
\bar{X}	82.5	83.9	75.5	62.0	69.7	82.1
S	8.2	8.7	9.6	5.7	8.2	9.2
$S\bar{X}$	1.1	1.9	2.7	1.4	3.1	0.8
CV	9.9	10.4	12.7	9.2	11.8	11.21

**CONSIDERACIONES CLINICAS Y ANATOMOPATOLOGIAS
OBSERVADAS EN LA DEFICIENCIA DE VITAMINA E (ESTEATITIS) EN
EL COCODRILO CUBANO (*CROCODYLUS rhombifer*) DEL
ZOOCRIADERO DE LA CIENAGA DE ZAPATA. MATANZAS. CUBA.**

Moliner, J. L1; Ramos, R2; Bello, O1; Elizalde, S².
Instituto de Medicina Veterinaria, Matanzas
Ministerio de la Industria Pesquera

RESUMEN

Debido a la presentación de mortalidades en cocodrilos cubanos de 1-3 años, que en su primer año se alimentaron con pescado de agua dulce: tilapia (*Oreochromis sp.*), biajaca criolla (*Ciclostoma tetricanta*) y pez sol (*Lepomis sp.*) y que en su segundo año se alimentaron con pescado marino, principalmente machuelo (*Ophisthonema sp.*) totalmente eviscerado y sin cabeza, en el año 1984, realizamos un estudio clínico, epizootiológico y anatomico para determinar la causa que incidió en dicha mortalidad.

Dentro de los aspectos clínicos más destacados se observaron trastornos que afectaron el aparato locomotor, sistema digestivo y sistema nervioso.

Entre las alteraciones anatomico-pathológicas, se presentaron las mayores lesiones a nivel de la grasa, debido a la alteración de su metabolismo.

Se realizó revisión de la dieta suministrada a dichos animales en este período, comprobándose la deficiente alimentación con vitamina E, sugiriendo un cuadro de esteatitis fundamentalmente por la deficiencia de la vitamina E.

INTRODUCCION

Con la creación del zoocriadero de cocodrilos en la Ciénaga de Zapata se ha logrado que esta especie no se convirtiera en nuestro país, solo en un recuerdo de su existencia para todos, constituyendo una premisa para evitar su extinción. Actualmente la crianza de estos reptiles en cautiverio, ha constituido un problema serio con que se han enfrentado zoólogos, herpetólogos y veterinarios en el mundo (Wallach, 1971 y Wayne, 1971) ya que estos animales mantenidos en cautiverio deben estar en un ambiente similar al de su hábitat natural.

Con el objetivo de profundizar sobre la fisiología y patología de las especies cubanas *Crocodylus acutus* y *C. rhombifer* numerosos investigadores han realizado estudios sobre diferentes perfiles: parámetros hematológicos y bioquímicos (Castellanos, 1973 ab, 1977; Benítez y col. 1976) balance hidromineral (Blanco y González, 1974) la presencia de parásitos (Groschaft y Barus, 1970; Pérez y col. 1976).

Las condiciones del cautiverio influyen sobre la mayoría de los reptiles provocando una alta mortalidad entre los mismos (Wallach, 1971 y Wayne 1971) ya que la cría artificial de estas especies, como el resto de las especies animales de explotación por el hombre y fundamentalmente en los animales salvajes, origina la aparición de síndromes patológicos que hacen necesario investigar su patología, así como su erradicación y control, dando lugar a la aparición de una serie de enfermedades de tipo nutricional entre la que se encuentra la esteatitis o enfermedad de la grasa amarilla.

En la actualidad se reconoce que la esteatitis o enfermedad de la grasa amarilla que se presenta en los cocodrilos está asociada a la deficiencia de vitamina E en la dieta (Anon, 1993).

En la mayoría de los casos, tanto espontáneos como experimentales, han ocurrido en animales que recibieron dietas exclusivamente a base de pescado o subproductos del pescado que se han deteriorados (Frye, 1973; Burton, 1978; Larsen, 1983).

La patogenésis de la esteatitis se piensa que es debido al consumo de ácidos grasos insaturados o rancios durante un periodo largo de tiempo.

La esteatitis esta caracterizada por una inflamación notable del tejido adiposo y deposición de pigmentos "ceroide" en las células adiposas (Burton, 1978; Anon, 1993). El objetivo del presente trabajo consiste en describir el cuadro clínico, epizootiológico y anatomico-pathológico en la esteatitis por deficiencia de vitamina E, la cual se presentó en el cocodrilo cubano del zoocriadero de la Ciénaga de Zapata, Matanzas Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Se investigaron clínica y anatomico-pathológicamente 32 cocodrilos cubanos (vivos y muertos) cuyas edades estaban comprendidas entre 1 - 3 años.

Los animales se encontraban en corrales de cría.

En su primer año se alimentaron con pescado de agua dulce: tilapia (*Oreochromis sp.*), biajaca criolla (*Ciclostoma tetricanta*) y pez sol (*Lepomis sp.*) y en su segundo año con pescado marino, principalmente machuelo (*Ophisthonema sp.*) totalmente eviscerado y sin cabeza. No se le suministro suplemento vitamínico en este período. Dicho proceso se presentó en el año 1984. Los animales mostraron trastornos variados (locomotores, nerviosos y digestivos).

Primeramente se procedió a la observación de las manifestaciones clínicas de los animales vivos y al estudio de la clínica remitida en los casos de los animales enviados muertos. Posteriormente se realizó el sacrificio de los vivos y la necropsia, para efectuar el examen anatomico-pathológico correspondiente.

A los animales vivos se les practicó extracción de sangre por punción cardíaca, para la realización de exámenes hematológicos usuales y de bioquímica sanguínea. Se realizaron además otras pruebas, como análisis coprológicos empleando el método de flotación. Se tomaron muestras de órganos: hígado, riñón e intestinos para control bacteriológico.

Para el estudio histopatológico se tomaron muestras de órganos parenquimatosos (corazón, pulmón, hígado, bazo y riñón), estómago, intestinos, encéfalo, músculo esquelético de las extremidades y grasa donde se asentaron las diferentes lesiones, cuyos fragmentos fueron colocados en frascos que contenían solución fijadora de formol neutro al 10% durante un tiempo de 16 a 24 horas.

Luego se procedió a la selección, lavado (eliminación del fijador) e hidratación con agua corriente de los fragmentos.

Después se hizo el paso de deshidratación y aclaración según las Normas Técnicas Histológicas establecidas NRA-769 (1985).

Se utilizó el método de inclusión en parafina y la técnica de tinción de hematoxilina y eosina para su posterior estudio microscópico.

RESULTADOS:

Los animales estudiados mostraron signos de enfermedad de manera sorpresiva, en las primeras horas del amanecer, posterior a un cambio brusco de temperatura en días anteriores.

En la observación clínica se evidenciaron algunos animales muertos y otros pocos que murieron rápidamente.

También se pudieron detectar animales que empezaron a enfermar paulatinamente, mostrando signos clínicos de; andar vacilante y torpe, ataxia y postración y en aquellos que se mantuvieron vivos se reflejaron trastornos en la locomoción delantera con inflamación de dicha extremidad así como también en la región del cuello. Además se observó presencia de limo en el cuerpo y en la boca y en ocasiones el cuerpo manchado de la cal del piso.

Se apreció que los animales no dejaron de comer a no ser que el proceso se encontrara muy avanzado.

Se pudo observar que se afectaron los animales que más comían.

Es de destacar que los animales de esta categoría se encontraban en cuartones altos y descubiertos donde el frío los afectaba con mayor fuerza. También se pudo observar la garganta y la lengua enrojecida y la presencia de diarreas líquidas, amarillentas y grumosas.

Las distintas zonas inflamadas antes descritas mostraron endurecimiento, sobre todo aquellas áreas donde habían depósitos de grasa. Unos pocos animales con procesos muy avanzados mostraron la región de la cola con un aspecto quemado.

Al efectuar la necropsia se observó macroscópicamente en todos los casos con sintomatología, las grasas corporales con gran aumento de la consistencia, de color amarillo alternando con el color blanco y de aspecto necrótico. En el órgano de reserva de la grasa, grave acumuló de grasa endurecida de color amarillo en forma nodular y difusa. Algunos animales mostraron una coloración rojiza en este órgano.

Se detectó aumento de la consistencia del riñón con aumento del órgano y endurecimiento de la grasa perirrenal la cual mostraba un aspecto yesoso de color amarillo opaco que se extendía por todo el mesenterio hasta el páncreas.

Los músculos de las extremidades mostraron tumefacción y edema subcutáneo acompañados de una coloración rosado pálida, destacándose la misma en relación con otras áreas del cuerpo.

Además se observaron las glándulas del cuello aumentadas.

En el estomago se observó un contenido líquido de color verdoso acompañándose la mucosa de un mucus transparente y espeso adherida a la misma.

También se observó engrosamiento de la mucosa de la cloaca y en hígado y riñón discreta degeneración.

En los animales investigados bacteriológicamente no se logró aislamiento de gérmenes de valor diagnóstico.

Los resultados de los análisis coprológicos empleando el método de flotación fueron negativos.

En los chequeos hematológicos efectuados se observó una leucocitosis con neutrofilia en tres animales y una neutrófilia solamente en la mayoría de los restantes animales.

El balance mineral se manifestó con un ligero aumento de los valores de fósforo. Los niveles de colesterol también aumentaron en sangre.

Microscópicamente se evidenció en la zona perirrenal el aspecto esponjoso de la misma con presencia de un infiltrado focal perivasculares a predominio de células mononucleares y vacuolización del endotelio vascular, lo cual está en concordancia con lo descrito para la necrosis masiva de la grasa.

Otro hallazgo de interés resultó el aspecto hialino de las fibras musculares de las extremidades y la pérdida de las estriaciones transversales en algunas porciones.

También se observó leve gastroenteritis de tipo catarral descamativa y la nefrosis que fue otro hallazgo constante en los animales estudiados.

En el encéfalo se observaron áreas de malacia en diferentes regiones, caracterizadas por destrucción glial y tumefacción de las vainas de mielina que envuelven los axones de las vainas.

Los índices de mortalidad ascendieron a 83(2.3%) en animales de 1 - 2 años y a 10 (0,7%) en los animales comprendidos de 2 - 3 años.

DISCUSIÓN:

Wallach y col. (1968), plantearon como la característica más notable de la vitamina E su propiedad antioxidante; los ácidos grasos polisaturados son atacados fácilmente por el oxígeno molecular dando por resultado la formación de peróxidos los cuales impiden este proceso ya que destruyen la vitamina E (Frye, 1973; Burton, 1978; Sánchez y col. 1981).

Dentro de los factores influyentes para que se presente la deficiencia de vitamina E en los distintos animales está en primer lugar su suministro insuficiente.

No se debe olvidar la gran alterabilidad de la vitamina E frente a los agentes oxidantes que hacen que sea destruida en los alimentos.

Van Vleet (1982) señala que al aumentar los requerimientos debido a la presencia en la dieta de sustancias que poseen actividad antivitamina E, como son los ácidos no saturados y sus productos de oxidación o cuando se produce la ingestión de grandes cantidades de microelementos, también da lugar a la deficiencia de vitamina E.

Mederos y col. (1981) afirman que cuando el metabolismo del animal se somete a intensos esfuerzos y si al organismo se le imponen exigencias rigurosas quedando particularmente afectados los músculos de las articulaciones de la espalda, región cervical, dorso, músculo cuadriceps e intercostales se pone de manifiesto la carencia de vitamina E.

Cummins (1972) señala que las situaciones de "stress" producen un descenso de las reservas orgánicas de vitamina E.

Los datos clínicos obtenidos mostraron síntomas donde predominaron los trastornos de tipo locomotor y nerviosos.

Sánchez (1981) señala que en los primeros momentos, en las aves, se manifiesta una encefalomalacia con tristeza, ojos cerrados, posturas sobre el abdomen por largos períodos y posteriormente los trastornos nerviosos con ataxia, incoordinación de los movimientos, retracción de la cabeza, relajación de las piernas y postración.

En nuestro caso predominó el andar vacilante y torpe en algunos animales y de ataxia y postración en otros, que pudo estar dado por la incapacidad motriz. Se pudo constatar que las lesiones del tejido adiposo son fáciles de diagnosticar en el examen post mortem debido a que la grasa subcutánea abdominal y de la cola es de un color amarillo a naranja, de una dura consistencia y apariencia necrótica, coincidiéndose por lo planteado por (Larsen, 1983; Bolton Melvin, 1989; Foggin, 1992 y Youngprapakorn, 1994).

Larsen (1983) describe que la complicación de la cola fue particularmente severa, frecuentemente desplazando hasta un 50% de los tejidos circundantes a las apófisis vertebral y en algunos casos causando daños a la piel circundante al escudo dorsal central en la punta de cola. En casos graves, la complicación causó pérdidas considerables de la cola o total de la carne disponible. La consecuencia de los trastornos nerviosos estuvieron de manifiesto por hiperemia, edema y aplanamiento ligero de la superficie del cerebro.

Los resultados histopatológicos evidenciaron lo planteado por Larsen(1983) de que en la esteatitis las células de los músculos esqueléticos y cardíacos muestran degeneración hialina con tendencia a la necrosis de coagulación. Las lesiones del encéfalo se corresponde con lo señalado por los autores consultados, siendo coincidentes los aspectos típicos de un cuadro de encéfalomalacia. La degeneración de los músculos esqueléticos y cardíacos dan lugar a pérdidas de importancia, no solamente debido a las muertes por la enfermedad y al desarrollo defectuoso que ocasiona, sino también porque las carnes no son aptas para el consumo humano debido a su aspecto pálido(Anon,1972). Se conoce que el pescado marino en su medio natural posee cantidades apreciables de vitamina E, pero cuando es sometido a congelación durante algún tiempo los ácidos grasos no saturados que existen también en ellos se transforman con el tiempo en peróxidos, que destruyen la vitamina E por lo que se debe adicionar la misma. Se coincide con Cardeilhac(1981);Foggins (1992); Anon(1993) que recomiendan suministrar vitamina E a razón de 100 UI/día como medidas preventivas, pero que es más importante evitar alimentar con pescados que se han congelado y descongelado de modo inapropiado, que se han almacenado por tiempo demasiado prolongado o que se han dejado sin comer durante un día o más. Una vez instaurada y diagnosticada la enfermedad, se procedió al cambio de la dieta a base de pescado por vísceras de bovino fundamentalmente hígado el cual es rico en vitamina E y así se pudo detener el curso de la enfermedad recuperándose rápidamente los animales.

BIBLIOGRAFÍA:

- Anon. 1972. La vitamina E en la nutrición animal. Revista Alimento y Nutrición. Vol. 1 No 4 (Agosto).
- Anon. 1993. El Manual Merck de Veterinaria. Cuarta edición en Español. Barcelona, España. Manejo, Cría y Nutrición: 1233 – 1248 pp.
- Benitez, A.; Isabel Perez y A. Patron: 1976. Perfil hematológico en animales jóvenes sanos de 0 – 1 año de la especie *C. rhombifer* y *C. acutus*. IV Jornada de Ciencias Veterinarias, Matanzas, Cuba.
- Blanco, A y F. González, 1974. Variaciones de Ca, P, Mg, Na y K en el suero sanguíneo del Cocodrilo cubano *C. rhombifer*. Rvta CENIC 2 (2): 107 – 113.
- Bolton Melvin 1989. The management of crocodiles in captivity. FAO Roma.
- Burton, J.D. 1978. Reptiles in captivity. The University of Sidney Course for Veterinarians. Lecture published as procdedins. No 36 Fauna.
- Cardeilhac, P. 1981. Nutritional disorders of alligators paper presented at the 1er Annual alligators productions Conf. University of Florida.
- Castellanos, R. 1973a. Valores leococitarios y velocidad de sedimentación de la sangre del cocodrilo cubano (*C. rhombifer*). IV Seminario Científico del CENIC. La Habana.
- Castellanos, R. 1973b. Estudio de frotis de sangre del Cocodrilo cubano (*C. rhombifer*) Rvta. Cub. Cienc. Vet. 4: 71 – 77.
- Castellanos, R. 1977. Algunos parámetros hematológicos n el cocodrilo cubano *Crocodylus rhombifer*. Rvta. Cub. Cienc. Vet. 8: 65-69 pp.
- Cummins,W. D.1972. Trastornos digestivos a causa de drogas y medicamentos. Rev. Avicultura. Vol. 16 No. 4-15.
- Foggin, C. M.1992. Diseases of farmed crocodiles. Chapter 10. In Conservation and utilization of the nile crocodiles in South Africa. Ed. GA Smith and J. Marais.107-140 pp.
- Frye,F. L y S. H. Schelling. 1973. Steatitis in a caiman. VM SAC 68:143-145 pp.
- Groschaft y Barus. 1970. Estudio de la helmintofauna de los cocodrilos en Cuba. Helmithological abstracs. Series A :40, 199.
- Larsen, R. E.:C. Buergelt: P. T. Cardeihac y E. R.Jacobson.1983. Steatitis and fat necrosis in captive alligators.JAVMA.Vol.183. No.11.
- Mederos Dora: J. Rodriguez: María E. Rivero. 1981. Patología Especial de los Animales Domésticos. Inst. Superior. Ed. Pueblo y Educación. La Habana, pp. 351.
- Sanchez, A. Y María del C. Lamazares 1981. Manual del Enf.. de las aves. Ministerio de Educación Superior. La Habana pp 289 – 294.
- Van Vleet, J. 1982: La influencia de selenio y vitamina E en los animales domésticos. Rev. Información Express. Vol. 6 No. 3 (35) pp. 25.
- Wallach, J. D and C. Hoessle 1968: Steatitis in Captive Crocodilians. JAVMA 153: 845 – 847.
- Wallach, J. D. 1971: Environmental and nutritional diseases of captive reptiles J. Am. Vet. Med. Assoc. 159: 1632 – 1643.
- Wayne, F. 1971: Housing, sanitation and nutrition of reptiles. JAVMA. 159 (11) 1612 – 1617.
- Ypungprapakorn, P., L. Ousavaplangchai and S. Kanchanapangka 1994: A colour Atlas of Diseases of the Crocodile. Style Creative House Co. Ltd, Thailand.

A Cost-Effective Method for Chemical Restraint in Crocodilians: Initial Observations and Species-Specific Responses

Samuel G. Seashole, Sara Swiesz, Carol Armell, C. Abercrombie, and C. Hope
Cypress Gardens Reptile Research Institute, 3030 Cypress Gardens Road, Moncks Corner, South Carolina
29461, U.S.A.

INTRODUCTION. In most of our work crocodilians are routinely manipulated by physical restraints alone, but occasions exist under which chemical techniques are appropriate. Such occasions can include minor surgical procedures (e.g., implanting transmitters), medical examination, radiography, and gastric lavage. Furthermore, very large crocodilians may respond poorly to brute physical restraint; with these animals some sort of chemical restraint (which, for brevity, we occasionally term "anesthesia" below) may be required even for translocation or collection of morphometric evaluation (Mader, 1996).

A number of chemical agents have been applied toward the chemical restraint and anesthesia in crocodilians. Important clinical findings are summarized in Lloyd (1999), and we do not presume to review them at this time. Paralytics such as Gallamine triethiodide (Loveridge and Blake, 1987) and dissociatives such as Telazol (tiletamine-zolazepam; Lloyd, 1999) have been used with appreciable success. On the other hand, some attempts at chemical restraint have failed—sometimes by killing the patients (Lloyd, 1999) and sometimes by having no observable effects whatsoever (Loveridge and Blake, 1987). Furthermore, when applied to large crocodilians or to large numbers of crocodilians, the cost of some chemical agents can be prohibitive.

STUDY ANIMALS, MATERIALS, AND METHODS. We evaluated the safety and effectiveness of an inexpensive technique for chemical restraint. From the Cypress Gardens Reptile Research Institute collection, four individuals were selected at random from each of the following species: *Crocodylus moreletii*, *Paleosuchus palpebrosus*, *P. trigonatus*, and *Caiman crocodilus*; details about these animals are supplied in Table 1.

Species	Snout-vent length	Mass	Cloacal temperature
<i>Crocodylus moreletii</i>	73cm	8.7kg	23.8°C
<i>C. moreletii</i>	78cm	10kg	23.8°C
<i>C. moreletii</i>	74cm	8.5kg	23.8°C
<i>C. moreletii</i>	36cm	1kg	23.8°C
<i>Paleosuchus trigonatus</i>	55cm	4.9kg	23.8°C
<i>P. trigonatus</i>	51cm	4.1kg	23.8°C
<i>P. trigonatus</i>	57cm	3.8kg	23.9°C
<i>P. trigonatus</i>	56cm	4.4kg	23.9°C
<i>Caiman crocodilus</i>	57cm	4.6kg	22.6°C
<i>C. crocodilus</i>	53cm	3.5kg	22.6°C
<i>C. crocodilus</i>	52cm	2.9kg	22.6°C
<i>C. crocodilus</i>	52cm	3.2kg	22.6°C
<i>Paleosuchus palpebrosus</i>	65cm	7.5kg	23.8°C
<i>P. palpebrosus</i>	55cm	3.6kg	23.8°C
<i>P. palpebrosus</i>	68cm	10.5kg	23.9°C
<i>P. palpebrosus</i>	71cm	8.8kg	23.9°C

Table 1.

All animals were captured by hand from large pools; mouths were taped and eyes were covered immediately. Within 5 minutes of capture, each animal received 1.5mg/kg of Xylazine; twenty minutes later each animal received 20mg/kg of Ketamine HCl. Drugs were administered by injection into the brachial musculature. Animal condition was monitored constantly in a recovery room at 24°C. Within 6 hours all crocodilians were returned to their enclosures. Work was directly supervised at all times by a

veterinarian and met animal use guidelines at Wofford College. All procedures were performed at an on-site veterinary clinic.

RESULTS. Animals' responses to treatment were evaluated on a three-level ordinal scale:

1. "None": Crocodilian exhibited no apparent effect of chemical treatment. No ataxia, no loss of righting reflex, no reduced respiration, no reduced mobility. Palpebral reflex maintained.
2. "Intermediate": Crocodilian exhibited intermediate effects of chemical treatment. Mild to moderate ataxia; animal ambulatory but with reduced mobility; responses to stimuli apparently suppressed. No loss of righting reflex, no reduced respiration. Palpebral reflex maintained.
3. "Profound": Crocodilian exhibited profound effects of chemical treatment. Extreme ataxia, entire loss of mobility, loss of righting reflex, respiration slowed to average of c. 1 breath per minute. Palpebral reflex maintained.

Table 2 shows treatment result by species.

Response to treatment	Species			
	<i>Crocodylus moreletii</i>	<i>Paleosuchus trigonatus</i>	<i>Caiman crocodilus</i>	<i>Paleosuchus palpebrosus</i>
None		4		
Intermediate			4	
Profound	4			4

Table 2.

Animals experiencing intermediate or profound responses entered maximum apparent depth of "anesthesia" within 70 minutes of ketamine injections; recovery from "anesthesia" was apparently complete within 4 hours. All animals recovered entirely, without any ill effects. The species effect obvious in Table 2 is significant at $P < 0.001$ (by a truncated extension of Fisher's exact test).

DISCUSSION. The combination of drugs used in our work cost us roughly \$0.10 U.S. (including disposable syringes) per kilogram of crocodilian "anesthetized." With many animals or large animals, this amount would not be trivial, but (at least in the U.S.A.) it is still an order of magnitude lower than the cost of other immobilizing agents commonly employed.

Both xylazine and ketamine are relatively safe agents; the LD₅₀ of either drug is perhaps ten times the dose concentration we tested (Lloyd, 1999; Lumb and Jones, 1973).

We used the combination of agents—rather than either drug along—for several reasons. Ketamine is a dissociative agent with muscle-relaxant effect caused by inhibition of intraneuronal transmission in the CNS (Ketaset, 1999). Used alone, however, it has very limited analgesic properties (Lloyd, 1999). Furthermore, there are practical difficulties associated with administering the very large volume of ketamine required for effective immobilization.

Xylazine as an alpha₂ agonist that apparently interrupts association pathways to the brain and then produces somesthetic sensory blockage (XYLA-JECT, 1999). Thus the drug will serve as an effective analgesic. However, when used alone, xylazine may not provide sufficient muscular relaxation for some procedures, and the quantities in which it must be administered can substantially prolong recovery time (Lloyd, 1999). Clearly this can be a severe problem for aquatic animals: recovering crocodilians must be monitored until they can swim, and (particularly under field conditions) during that period appropriate thermal conditions must be ensured.

Used in combination, ketamine and xylazine provide muscle relaxation, sedation, and analgesia. Furthermore, doses of each agent can be reduced as the two drugs work in synergy (Lloyd, 1999). We injected the xylazine first as has been recommended (Lloyd, 1999). The inter-injection period of 20 minutes was empirically developed through the clinical experience of this paper's primary author.

An interesting finding of this study was the complete failure of our drug combination to elicit any apparent anesthetic response in *P. trigonatus* and its reduced effects in *C. crocodilus*. It should also be noted that Loveridge and Blake (1987) experienced a similar failure when they applied ketamine to *Crocodylus niloticus*. This species effect strongly suggests that no regime of chemical immobilization

should be uncritically applied to crocodilians without tests upon the target species (and perhaps population).

It should be noted that our initial investigations have been entirely limited to crocodilians of very modest size. Generalization to larger animals (in which anesthesia/immobilization is both more important and more difficult) would be hazardous at best. We hope at some point to expand our studies to a wider range of crocodilian sizes (as well as to additional species).

ACKNOWLEDGEMENTS. We gratefully acknowledge the assistance of staff at the Live Oak Veterinary Clinic and of members of the Coastal Carolina Herpetocultural Society.

LITERATURE CITED.

- Ketaset. 1999. Packet insert for Ketamine HCl. Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, USA.
- Lloyd, M.L. 1999. Crocodilian anesthesia. Pp. 205-216 in M. E. Fowler and R. E. Miller (eds.), Zoo and Wild Animal Medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, USA.
- Loveridge, J.P., and D.K. Blake. 1987. Crocodile immobilization and anaesthesia. Pp. 259-267 in G. Webb, S. Manolis, and P. Whitehead (eds.), Wildlife Management: Crocodiles and Alligators. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, NSW, Australia.
- Lumb, W.V., and E.W. Jones. 1973. Veterinary Anesthesia. Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, USA.
- Mader, D.R. 1996. Reptile Medicine and Surgery. W.B.Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, USA.
- XYLA-JECT. 1999. Package insert for Xylazine. Phoenix Pharmaceutical, Inc. St. Joseph, Missouri, USA.

EMPRESA NACIONAL PARA LA CONSERVACION DE LA FLORA Y LA FAUNA
MICROESTACION BIOLOGICA
ZOOCRIADERO DE COCODRILOS
MANZANILLO

TRABAJO DE DESARROLLO

TITULO: ENRIQUECIMIENTO DIETETICO Y SU EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CROCODRYLUS
ACUTUS EN EL ZOOCRIADERO DE MANZANILLO.

PROVINCIA GRANMA, CUBA

AUTOR: Dr. BENAVIDES CALVO ROMARICO RODRIGO,
Lic. FONSECA SANZ RAUL NORBERTO.

AÑO 1999

INTRODUCCION

Nuestro zoocriadero se encuentra situado en la región sur de la provincia Granma en el municipio de Manzanillo, en el barrio conocido por "El Congo". Comienza sus actividades en Mayo de 1991 con 500 neonatos procedentes del monte Cabaniguan, ubicado en la región del río Cauto y bañado por las corrientes marinas del oriental "Golfo del Guacanayabo". Estos animales fueron colocados en un corral para categoría iniciantes de 600 m².

Lograr una adecuada alimentación del cocodrilo en cautiverio constituye la función más importante dentro de la actividad del manejo zootécnico por lo que debe tenerse en cuenta que un régimen normal de alimentación es aquel que mantiene la salud y la normalidad de la vida en todas sus manifestaciones como son; crecer, reproducirse y vivir. La cual debe estar de acuerdo con la edad, el sexo, el peso y el clima.

Muchos han sido los métodos utilizados en el suministro de alimentos a cocodrilos, a fin de favorecer un crecimiento más acelerado y con menos costos, pero sin embargo somos del criterio que cualquiera que sea el método empleado no podemos olvidar las características que en cuanto a la alimentación presentan los cocodrilos y que constituyen indicadores a tener en cuenta por los especialistas.

Motivados por estas ideas y con previos conocimientos de que hace falta hacer mucho todavía, en aras de favorecer mejores tasas de crecimiento y desarrollo del cocodrilo decidimos incursionar en la problemática a partir de algunas ideas empíricas que sobre el tema poseíamos, apoyados en el control sistemático sobre el suministro y técnicas aplicadas.

Nuestro zoocriadero cuenta con una biomasa de 1120 cocodrilos divididos en las siguientes categorías:

• Iniciantes	11	0 - 1 Año
• Desarrollo	798	1 - 4 Años
• Reproductores	311	6 - Adelante

OBJETIVO

Por todo lo anteriormente planteado, nuestro objetivo fue dar a conocer los resultados obtenidos en el *Crocodylus acutus* de Manzanillo, basado en la alimentación y métodos de enriquecimiento dietético.

MATERIALES Y METODOS

Nuestras técnicas de alimentación comienzan con los animales iniciantes, recién nacidos y capturados inmediatamente en el monte de Cabaniguan, los cuales fueron trasladados para el zoocriadero de Manzanillo y ubicados en un corral de 600 m² acondicionado para esta categoría.

Para comenzar a desarrollar nuestras técnicas tuvimos en cuenta que la alimentación se cumple cuando es adecuada, equilibrada y suficiente; así cuando ésta se da por exceso, por defecto y/o incumple con los requerimientos necesarios, se considera una mal nutrición.

Es por eso que cuando pensamos en alimentación debemos tener en cuenta las necesidades calóricas y proteicas del individuo acorde a sus características fisiológicas. Especificando la cantidad de alimento que satisfaga las necesidades de nutrientes, teniendo en cuenta la disponibilidad, balance, el costo y los hábitos alimentarios.

Para este trabajo también tuvimos presente otros indicadores específicos del cocodrilo, que de alterarlos influirían negativamente en la alimentación y conversión de los individuos como son:

- Determinar el consumo por categorías y épocas del año.
- Suministrar la dieta en horarios estables de (1.00 - 3.00 P.M); teniendo en cuenta las temperaturas más altas (30.5 - 32.0 °C).
- No suministrar alimentos recongelados.
- No incluir en inicio y desarrollo tejidos lisos.
- El alimentador debe ser la misma persona y con las ropas de costumbre.
- No suministrar alimentos después de actividades técnicas.
- Aplicación de suplemento dietético en la categoría de inicio y desarrollo (10 cc/lbs alimento).
 - Hemolizado 120 cc
 - Tetramisol 100 mg
 - Clorafenicol 20 cc
 - Dextrosa 5 500 cc %
 - Azúcar cruda 20 g
 - Polivitamina 80 tabletas

La alimentación fue basada en productos marinos, productos carnicos de desechos y desperdicios industriales (matadero y pesqueros). Todos ellos frescos y sin alteraciones organolepticas y patológicas; para evitar trastornos metabólicos y surgimiento de posibles patologías por infecto contagios.

Para la elaboración de las raciones se utilizó una máquina para moler para el alimento a los iniciantes, cuchillos y machetes para el troceado al desarrollo. Todas las raciones fueron pesadas a la hora del suministro y de igual forma comprobado el sobrante por corral para determinar con exactitud el consumo. El alimento fue distribuido en diferentes lugares del

RESULTADOS Y DISCUSION

corral, en comederos, siempre en las orillas de este; utilizando un control diario en cada categoría.

Se aplicó la técnica de moler la materia prima utilizada como alimento (pescado o vísceras) y adicionarle (10 cc) de suplemento por libra de alimento, mezclandolo con el objetivo de hacer una masa homogénea. Posteriormente se elaboraban bolas las cuales se colocaban en diferentes comederos facilitando el acceso a todos los iniciantes.

Se realizaron estudios bromatológicos al alimento elaborado, arrojando que los mismos son altamente ricos en proteínas, vitaminas y aminoácidos esenciales. Sustancias fundamentales para el crecimiento y desarrollo del cocodrilo en cautiverio conjugado con el balance dietético, el cual se ha fundamentado entre 60 - 70 % de productos marinos y 30 - 40 % de desperdicios de matadero. Podemos decir que durante el proceso no fuimos objeto de muertes por focos epizootiológicos.

En la medida en que se suministraba el alimento y se aplicaban diferentes técnicas por categorías se hacían muestreos periódicos determinando la conversión, donde obtuvimos crecimientos aceptables a pesar de que las condiciones para el manejo no eran las mejores. (Ver Tabla 1 - Anexo 1, Tabla 2 - Anexo 2, Tabla 3 - Anexo 3, Tabla 4 - Anexo 4, Tabla 5-Anexo 5).

Cálculos del trabajo.

Al finalizar el estudio se había ahorrado \$ 24006.75 en alimentos, \$23878.75 y \$ 128.00 en combustible, en transportación de la comida para dicha especie en las 3 categorías a las cuales se le aplicaron las diferentes técnicas descritas en el trabajo.

AHORRO POR CATEGORIAS EN UN AÑO EN M.N.

	Alimentos	Toneladas (Kg)
• Inicio	\$ 4378.75	5838.33
• Desarrollo	\$ 4500.00	6000.00
• Reproductores	\$ 15000.00	20000.00
• Totales	\$ 23878.75	31838.33

- Establecimiento de una norma acorde a la calidad.
- Ahorro de alimentos precisando el control y suministro del mismo.
- Buen porcentaje de la supervivencia animal, 94 % en inicio, 98 % en desarrollo y reproductores.
- Mejor proyección para el manejo del cocodrilo.
- Ahorro de dinero por concepto de alimentos.
- Se lograron niveles de crecimiento aceptables con relación a la media nacional según las categorías.
- Aplicación de medicina preventiva logrando buenos niveles de salud.

CONCLUSIONES

- Dosificación de alimentación, precisando el consumo de alimentos por categorías.
- Se logró en la categoría inicio llevar el crecimiento medio por encima de 70 cm y el peso hasta 1111 gramos.
- Se logra un mejor confort para el cocodrilo al mejorar los niveles de alimentos.
- Mejor preparación orgánica del animal para la etapa reproductiva.

RECOMENDACIONES

- Garantizar mediante convenios con los suministradores los niveles de alimentos según los requerimientos por categorías.
- El control estricto del alimento suministrado, teniendo en cuenta el ingerido y el sobrante para determinar el consumo.
- Efectuar balance de dieta, priorizando el pescado sobre los desperdicios de matadero (hígado, bazo, pulmón, pancrea y riñón).
- Utilización de suplemento a base de vitaminas, hemolizados, antiparasitarios, antibióticos y reconstituyentes en inicio y desarrollo, a razón de 10 cc/lb de alimento.
- Utilización de corrales pequeños o subdivididos para estas categorías, con el objetivo de lograr que el alimento sea mejor aprovechado por los animales.

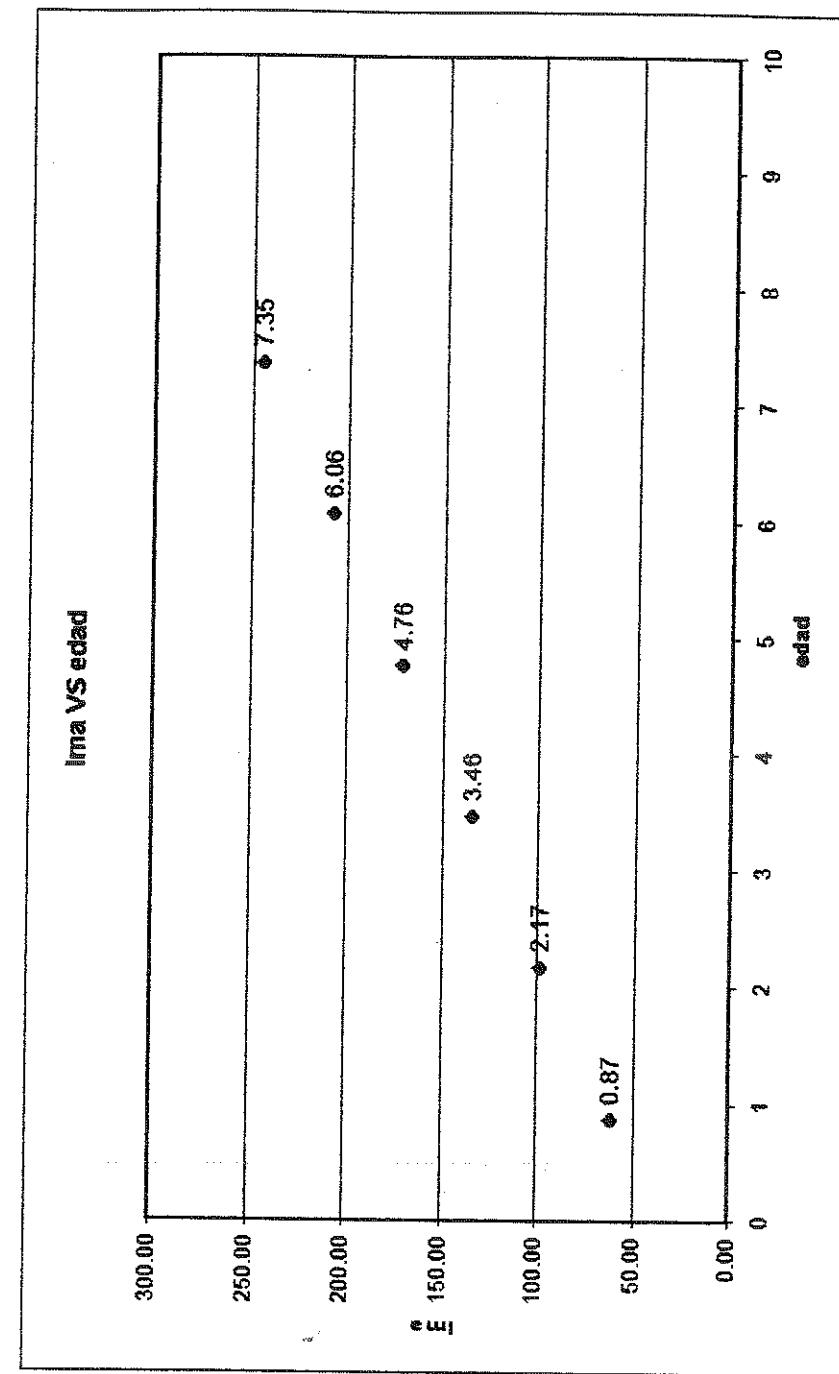
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bolton, M 1994, "Explotación del cocodrilo en cautividad", Guía FAO. Conservación 22.
- Ramos, R 1997. "Manejo en cautiverio del cocodrilo cubano. Crocodylus Rhombifer Cuvier, en el zoocriadero de la Ciénaga de Zapata". Cuba. 4^a Reunión grupo de especialistas en Cocodrilos de América Latina y el Caribe. Villa Hermosa. México. P.P 145-149.

Anexo 1

**TABLA DE DOSIFICACION DE ALIMENTO APLICADA EN EL CRIADERO DE
MANZANILLO
CONSUMO INDIVIDUAL**

Edad en años	Consumo Diario Gr (+/-)	Consumo Semanal Gr (+/-)	Consumo por Comida (3) Gr (+/-)	Consumo Anual Kg (+/-)	Talla media obtenida Cm
0 - 1	16 - 25	112 - 175	37.3 - 58.3	5.8 - 9.0	70.90
1 - 2	27 - 50	189 - 350	63.0 - 116.6	9.8 - 18.0	106.90
2 - 3	55 - 110	385 - 770	128.3 - 256.6	20.0 - 40.0	140.00
3 - 4	120 - 180	840 - 1260	280.0 - 420.0	43.7 - 65.6	165.00
4 - 5	185 - 250	1295 - 1750	431.0 - 583.3	67.4 - 91.0	190.00
5 - 6	250 - 350	1750 - 2450	583.3 - 816.6	91.0 - 127.6	208.00
Reproductores de 8 años	357 - 428	2499 - 2996	833.0 - 998.6	130.0 - 156.0	244.00



Anexo 2

Edad	Ima
0.87	61.79
2.17	98.23
3.46	134.67
4.76	171.12
6.06	207.56
7.35	244.00
8.6	244.00

Anexo 3

Covariance Matrix

	lma	edad
cma		
lma	1.000000	
edad	0.988808	1.000000

Anexo 4

Simple Regression Statistics

$$lma = 59.088934 + 24.523361 (edad)$$

variable	S.E.	t	prob
intercept	7.7865	7.5887	0.0008
edad	1.6547	14.8203	0.0000

$$y = 40.42 + 0.77 X_1 + 40.7 X_2$$

$$r = 0.99$$

Anexo 5

All Selected

Use all variables in the file

Ind.	Var	Dependent Variable: lma		Degrees of Freedom: 4		
		Coefficient	Std Error	Beta Coeff	T Statistic	Probability
cma	0.50989	-0.66188031	-1.52839	0.20114046		
edad	10.74021	1.84446042	3.78733	0.01914782		

2 Tolerance F Statistic Probability

2: 0.985848325
Intercept: 40.42473181
F-Statistic: 140.33178
Standard Error: 8.676856
Std Error (d. F.): 9.50689

r : 0.99294931
r (d. f.) 0.99153315
Proportion Reduced: 0.0082061
Cumulative Reduced: 0.98584833

$$y = 40.42 - 0.77 cma + 40.78 edad$$

sustituyendo:

cma = X1

edad = X2

$$y = 40.42 - 0.77 X_1 + 40.78 X_2$$

$$r = 0.9915$$

$$r = 0.9929$$

Karyotype of *Caiman latirostris* and *Caiman yacare* (Reptilia, Alligatoridae)

Amavet, Patricia; Siroski, Pablo; Donayo, Paula and Medina, Marilyn

Proyecto Yacaré – Santa Fe – Argentina
Bv. Pellegrini 3100, Santa Fe, Argentina

Introduction:

The studied species are the “broad snouted caiman” (*Caiman latirostris*) and “black yacare” (*Caiman yacare*), both belonging to Class Reptilia, to Order Crocodilia, and to Family Alligatoridae.

The individuals of this argentine species are very similar morphologically and show little variability in their biology, although they are different in ecological aspects, in relation to habitat conditions each one: *Caiman latirostris* can be found in various aquatic environments of the Parana river basin, is more widely distributed and it can reach a higher latitude than the black yacare, which is more related to the Paraguay river basin, with a geographic distribution that partially overlaps with the other species. Individually, they differ in their habitat preferences: *Caiman latirostris* prefer shallow waters and vegetated marshes, whereas *C. yacare* lives in deeper, open and more or less constants rivers. (Larriera, 1992)

There are few antecedents of cytogenetical studies for this Order of Reptiles, that usually make reference to genus *Crocodylus*, and it exists only one paper about *Caiman latirostris* (Lui *et al.*, 1993) in Brasil, in which there are no comparatives studies with others species.

Molecular studies that allow to establish phylogenetical relationships between crocodilians are cited in: Densmore and White, 1990; Glenn *et al.*, 1998; etc.

Many studies, in others zoological groups, establish the banding of the chromosomes to find differences and similarities among individuals different species (Fenocchio, A. *et al.*, 1991, 1992; Powers, P. and J. Gold, 1991; and Roncati, H. *et al.*, 1997, in Fishes; Caputo, V. *et al.*, 1992; and Kashara, S. *et al.*, 1987, in others Reptiles). In most cases, the authors also analyse phylogeny taking as a basis the obtained results.

The purpose of this paper is to characterize the karyotypic structure of each species by means of banding techniques, that allow to find a pattern of specific bands for each one. Thus it will be possible establish phylogenetical relationships between these species and others, belonging to the same Order.

Materials and methods:

Metaphases are obtained by means of blood culture, from internal jugular vein at cervical vertebrae level of animals bred in captivity, following the method de Tourn *et al.* (1993)

The blood samples are cultured to 29° C in medium TC 199, added to fetal bovine serum, phytohemagglutinin (mitogenic) and antibiotics, for 72 to 96 hours.

The samples processing consists of:

- Stopping the mitosis in metaphase, by means of added Colcemid.

- Cellular lysis, adding CIK .
- Fixation, using Farmer solution.

Chromosome preparations are stained with 5% Giemsa for the analysis, and then, treatments for the C- and NOR banding are applied, following techniques of Sumner (1972) and Howell and Black (1980).

Observation and analysis take placed under optic microscope and the microphotographs are obtained with lens that magnify 1000 times the image, in white and black of 50 ASA films.

Results:

Up to the moment, the results are partial, and are related to the number and chromosomal morphology of both species.

The two caiman show a diploid number of 42 chromosomes and the karyotype reveals that both species present 12 pairs of telocentric chromosomes, 6 pairs of metacentric and 3 pairs of submetacentric chromosomes.(Figure 1and 2)

We are beginning to work with C- and NOR banding methods . If the obtained results show significant differences among both species , it will allow to analyse more deeply phylogeny among these species and others, belonging to the same Order.

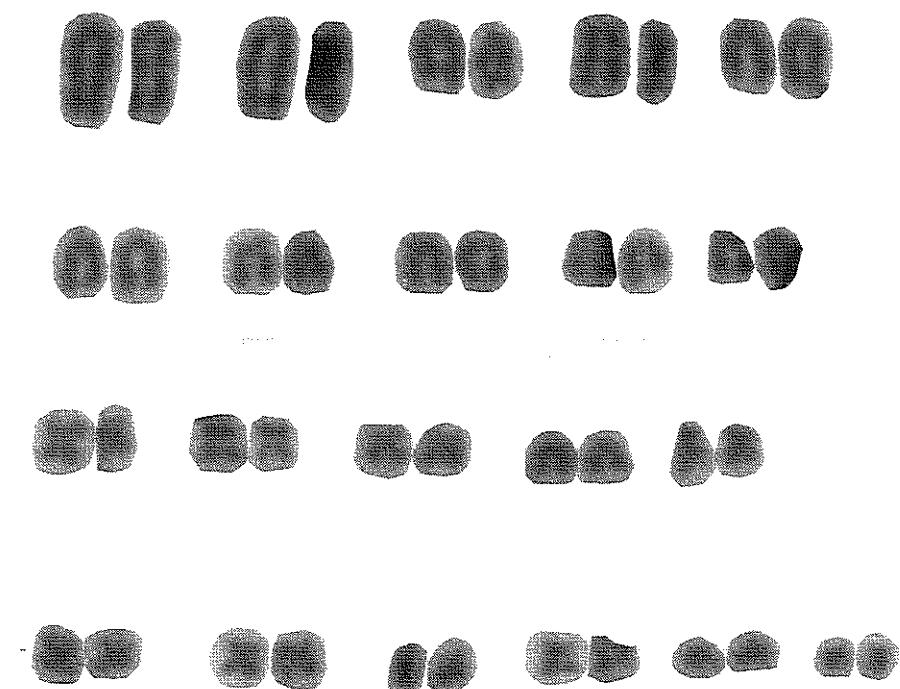


Figure 1:Karyotype of *Caiman yacare*.

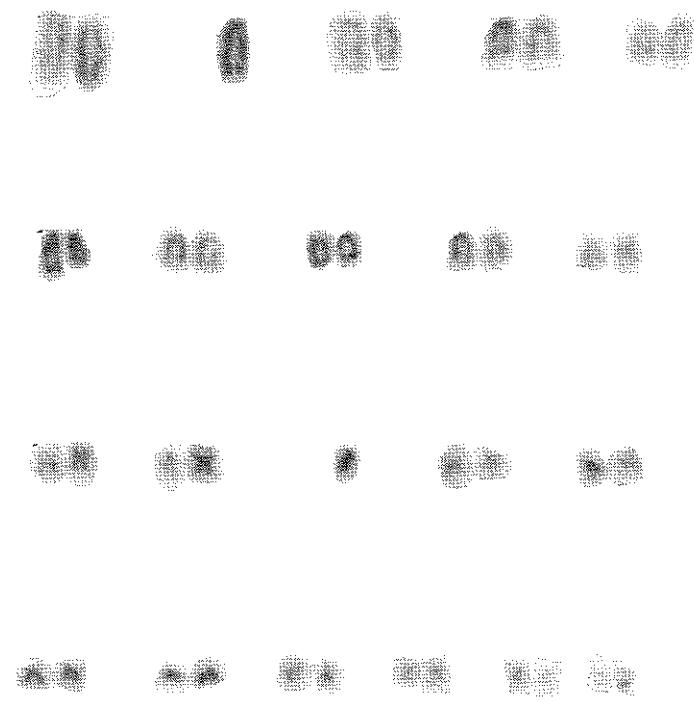


Figure 2:Karyotype of *Caiman latirostris*.

References:

- Caputo,V.; Odierna, G. and G. Aprea. 1992. "Karyological comparison of *Sphenops sepsoides* , *Chalcides chalcides* and *C.ocellatus* (Reptilia, Scincidae): Taxonomic implications." (Short contribution) In: Copeia, 1993 (4). pp 1180-1184.
- Chavanankul,V. ; Wattanodorn, S. and P. Youngprapakorn. 1994. "Karyotypes of 5 species of crocodile kept in Samutprakan Crocodile Farm and Zoo" (Abstract). In: Proceedings of 12 th Working Meeting of the IUCN /SSC. May 1994. Pattaya, Thailand. Vol. I pp 58-62.
- Densmore,L. and P.S.White.1990. "The Systematics and Evolution of the Crocodilia as suggested by Restriction Endonuclease Analysis of mitochondrial and nuclear ribosomal DNA." In: Copeia, 1991 (3) pp 602- 610.
- Fenocchio, A.S. and L.A.C. Bertollo. 1991. "Karyotype similarities among Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from the Brazilian Amazon region." In: Cytobios 69 (1992). pp 41-46.
- Fenocchio, A.S. and L.A.C. Bertollo. 1992. "Karyotype, C-Bands and NORs of the neotropical siluriform fish *Ageneiosus brevifilis* and *A.atronasus* (Ageneiosidae)." In: Cytobios 72 (1992). pp 19-22.

-Glenn, T.C., Dessauer, H.C. and M.J. Braun. 1998. "Characterization of Microsatellite DNA Loci in American Alligators." In: Copeia, 1998 (3). pp 591-601.

-Howell , W.M. and A. Black.1980. "Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a 1-step method." In: Experientia 36, pp 1014-1015.

-Kashara,S.; Yonenaga-Yassuda,Y. and M. Trefaut Rodrigues. 1987. "Karyotype and evolution of the *Tropidurus nanuzae* species group (Sauria, Iguanidae)." In: Rev. Brasil. Genet. X, 2 (1987). pp 185-197.

-Larriera, A. 1992. "La conservación y el manejo de *Caiman latirostris* en la Argentina" En: Proceeding of the II Workshop sobre Conservação e manejo do jacare-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*). 1992. pp 8-17.

-Lui, J.F.; Tapia Valencia, E.F. and J.A. Boer. 1993. "Karyotypic analysis and chromosome biometry of cell cultures of the yellow throated Alligator (*Caiman latirostris* DAUDIN)". Rev. Brasil. Genet. 17 (2). 1994. pp 165-169.

-Powers, P.K. and J.R. Gold. 1991. "Cytogenetic studies in North American Minnows (Cyprinidae).XX. Chromosomal NOR Variation in the Genus *Luxilus*." In: Copeia, 1992 (2) pp 332-343.

-Roncati, H.A.; Fenocchio, A.S.; Pastor, M.C.; Sánchez, S; Alberdi, A. y A. Laudicina. 1997. "Descripción cariotípica de 5 géneros de cíclidos (Perciformes) de la Rep. Argentina." En: Resúmenes de las IV Jornadas de Cs. Naturales del Litoral. Agosto. 1997. Corrientes. Argentina. pp 227-228.

-Sumner, A.T. 1972. "A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. (Preliminary notes)." In: Exptl. Cell. Res. 75 (1972).pp 304-306.

-Tourn, S.; Imhof, A. ;Costa, A.L.; Von Finck, M.C. y A. Larriera. 1993."Colecta de sangre y procesamiento de muestras en *Caiman latirostris* (Informe de Avance)." En: Memorias del IV Workshop sobre Conservación y Manejo del yacaré overo (*Caiman latirostris*). Octubre 1993. Santa Fe. Argentina. pp 25-30.

CRIDERO INTENSIVO DE CAIMANES “EL PALOMO”

MVZ Ma. Paz López Vázquez, Criadero Intensivo de Caimanes “El Palomo”. Calle Niños Héroes y Josefa Ortiz de Dominguez, Colonia San Antonio Cahואacán, c.p. 30770, Tapachula, Chiapas, México. ++ 52 - 962 - 56672 ó ++ 52 - 962 - 61082.

RESUMEN:

Siendo el primer criadero de caimanes en México, el “Criadero de Caimanes El Palomo”, inicia sus operaciones en 1979 con la finalidad de Conservar Reproducir y Proteger al Caiman crocodilus fuscus o chiapasius y cubrir en parte la creciente demanda por la piel de esta especie. En este trabajo se describen la forma de operación, cuidados y manejo, las instalaciones, el aprovechamiento del área en el criadero y los resultados obtenidos después de varias décadas de trabajo empírico y pocos recursos y los grandes avances obtenidos más científicos y tecnificados con la nueva generación a cargo.

ABSTRACT:

Being the first caiman farm in Mexico, the “Criadero de Caimanes El Palomo” started operation in 1979 with the objective to conserve, reproduce and protect the Caiman crocodilus fuscus or chiapasius and cover the increasing demand for the hide of this species. In this work it is describe the operation, care and management, the infrastructure and the optimise of the area in the farm and the results of decades of empirical work and few resources and the great advances obtain with more science and technique with the new generation.

INTRODUCCIÓN:

A lo largo de la costa chiapaneca podemos encontrar entre muchas otras especies silvestres al *Caiman crocodilus fuscus*, nombrado comúnmente caimán, pululo, huizil o talulin. Esta especie por sus características naturales entra en el grupo de especies viables a un aprovechamiento sustentable, productos y subproductos (carne, piel, artículos terminados) tiene una gran demanda tanto en el mercado nacional como en el internacional.

Debido a su demanda se ha puesto en riesgo a las poblaciones silvestres de dicha especie, ya que no existe la suficiente oferta legal para cubrir estas necesidades, propiciando la cacería indiscriminada y furtiva de estos organismos silvestre a lo largo de todo el estado de Chiapas.

Actualmente existe en el municipio de Tapachula, estado de Chiapas, el primero y único criadero intensivo de caimanes en la república mexicana denominado "El Palomo". Registrado ante las autoridades a través de la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS), Instituto de Ecología (INE), Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP) con las finalidades de Reproducción, Conservación, Investigación, Exhibición y Aprovechamiento.

Este criadero inicia en el año de 1979, con la introducción de organismos del medio silvestre conforme a las autorizaciones correspondientes otorgadas por autoridades competentes en su momento. Operando de una manera empírica, adecuando el área en forma natural y conforme a las observaciones en campo, se tiene con éxito la reproducción y crecimiento de los caimanes. Año con año se ha ido mejorando las técnicas de manejo, reproducción y crianza teniendo en la actualidad buenos resultados.

CARACTERÍSTICAS DEL CRIADERO:

El criadero cuenta con una extensión de 1,500 m² dividido en tres secciones:

Sección A: En esta sección se localiza el área de incubación artificial la cual esta inmersa en un cuarto de 6 x 3 mts, edificado con bloc de concreto y lamina acanalada como techo, con una puerta de acceso y sin ventanas para evitar cambios de temperatura, el área de crías, que consta de albergues de piedra braza pulido con concreto con una fosa de agua en la parte central con una profundidad 30 cm con un drenaje conectado al servicio municipal.

Además un albergue amplio de 100 metros cuadrados con una fosa irregular

donde se alberga provisionalmente uno de los grupos reproductores, que consta de 2 machos y 8 hembras, este albergue esta diseñado para albergar a una pareja de Cocodrilo de río, *Crocodylus acutus*, que se esta gestionando la obtención de la hembra, otro albergue de 50 metros cuadrados con una fosa circular para otro grupo reproductor que consta de 1 macho "El Palomo" y 4 hembras.

También se encuentra el área de cuarentena, dos albergues para la reproducción y crecimiento de tortugas y la Palapa para venta de artículos y recuerdos y atención al visitante.

Sección B: Sección denominada de Crecimiento y Desarrollo:

En esta sección se tiene cuida el crecimiento y desarrollo de los ejemplares jóvenes próximos a incorporación al pie de cría o sacrificio. Este se divide en 2 secciones la primera con encierros de menor tamaño, construidos a los muros divisorios a base de bloc de concreto, piso de concreto pulido y un fosa de agua al centro con una profundidad de entre 50 y 60 centímetros, en estos se albergan los de clase de 60 a 80 cm en cuatro encierros adicionales de diferentes dimensión con poca variación se albergan los ejemplares de clase 80 a 120 centímetros al igual que los anteriores se tienen muros de bloc y piso de concreto pulido con excepción de uno de ellos que tiene piso natural.

Estando ubicados en este ultimo los ejemplares que pasarán a ser parte del grupo reproductor.

Además de 2 encierros para hembras primerizas y provisionalmente el albergue del Cocodrilo de río, *Crocodylus acutus*.

Así como un encierro de 70 metros cuadrados, con una fosa que cubre un 40% del área total destinado para una pareja de cocodrilos de pantano, *Crocodylus moreletii* y otro para mazacuatas, *Boa constrictor*.

Sección C: Área de Reproductores:

Es en donde se albergan en 6 encierros con una superficie total de 500 metros cuadrados y dividido mediante malla ciclónica con una base de mampostería de 40 centímetros de profundidad, un canal semicircular con un ancho de 3.00 metros y una profundidad de 80 centímetros al grupo reproductor con una proporción de 4 hembras por macho. Un área de manejo central y un pasillo de observación.

El perímetro del área esta bardado con bloc de concreto a una altura de 2.50 con alambre electificado y protecciones de vidrio.

Con esto se tiene la capacidad para albergar a 1500 organismos en sus diferentes etapas de desarrollo y crecimiento, teniendo en proyecto a corto

plazo aumentar 15 más el numero de encierros para crías. Sí bien en este momento se cuenta con 856 caimanes en pleno crecimiento y desarrollo, 17 caimanes machos y 52 hembras reproductoras como pie de cría, el criadero tiene todavía capacidad para tener más animales y con planes de ampliación.

OPERATIVIDAD DEL CRIADERO:

Reproducción:

Con las primeras lluvias los machos empiezan a vocalizar e iniciar el cortejo para posteriormente dar inicio al apareamiento que dentro del criadero es entre Febrero y Abril. Pasando unas semanas del apareamiento las hembras tienden a esconderse entre la hojarasca para finalmente con el mismo material hacer sus nidos ovopositando un promedio de 28 huevos por hembra (Mayo y Junio). A las pocas horas de la postura se recolectan los huevos, generalmente en las primeras hora de la mañana ya que las hembras construyen los nidos y ponen sus huevos durante la noche. Para el transporte de los huevos del sitio a las incubadoras se realiza mediante cajas aislantes de unicel con material del nido evitando al máximo cualquier movimiento y manipulación excesiva adicional.

Incubación:

El método de incubación en el criadero es completamente artificial, utilizando incubadoras con materiales de unicel con base de madera y vidrio para su revisión se puede albergar hasta 300 huevos en cada una contando con 4 de este tipo. Se controla la temperatura a base de resistencias ubicadas estratégicamente y conectadas a un termostato regulado a las temperaturas deseadas (para hembras o machos y según el estadio del embrión). La humedad se da a base de dos piletas con agua en la parte inferior de las incubadoras.

Después de revisar los huevos cuidadosamente, estos son colocadas en cajas plásticas con perforaciones (una por nido) y material del nido (ayuda a guardar la humedad y permite la descomposición de la cascara de los huevos) e introducidos en las incubadoras correspondientes. Es aquí donde permanecen los huevos por un período entre 69 y 72 días con una estricta vigilancia para observar la evolución y viabilidad del mismo. Al final del período de incubación se escucha la vocalización de las crías que llaman deseosas por nacer, se ubica la nidada se saca y coloca esta en otra incubadora que funciona

como nacadora, observando el proceso y en caso necesario poder asistir a las pequeñas crías sin tener que molestar a los otros nidos evitando la estimulación temprana y nacimientos prematuros.

Crianza:

Después de la eclosión las crías se instalan en tinas plásticas durante los 3 primeros días de vida para su observación y cuidado, posteriormente se ubican en los encierros de crianza, donde permanecerán el primer año de vida. En condiciones especiales y suministrando calor artificial por la tarde, la noche y parte de la mañana, ya que en el día la temperatura es favorable para su desarrollo.

Crecimiento y Desarrollo:

Durante esta etapa los ejemplares son menos susceptibles a enfermedades, siempre y cuando se les mantenga en buenas condiciones de limpieza y un manejo adecuado. Aquí en el criadero se agrupa por tallas y condiciones físicas. Una vez alcanzada la talla de 90 cm. de longitud total (LT) son sexados y separando grupos, los machos para sacrificio y las hembras para el lote reproductor.

Alimentación:

La alimentación de los caimanes es principalmente con becerro neonato, complementando con pescado y suministrando algunos minerales y vitaminas según lo requieran.

A los adultos se les proporciona alimento una vez a la semana hasta saciar colocando este en planchas de concreto a la orilla del agua, a los juveniles se les da tres veces a la semana carne picada en trozos colocando el alimento en diferentes puntos del encierro para que todos tengan posibilidad para alimentarse y a las crías se les da cuatro veces a la semana carne finamente picada por las tardes cuando han alcanzado su máxima temperatura corporal. El alimento es fresco y tratado higiénicamente para evitar se contamine y cause enfermedades a los ejemplares.

Manejo de los organismos:

Los ejemplares se deben manejar únicamente en casos necesarios ya que un constante manejo los estresa al grado de enfermarse y difícilmente se

recuperan. Dentro del criadero el primer manejo es con las crías recién nacidas ya que antes de ubicarlas en los albergues se les coloca una grapa interdigital grabado con las siglas **CP** (Criadero El Palomo) y un número sucesivo de cuatro dígitos, número de identificación individual mismo que llevará toda la etapa de vida. Cuando se trata de individuos que van a formar parte del grupo reproductor se les coloca una segunda grapa de color azul para los machos y color rojo para las hembras con las siglas **CP** (Criadero El Palomo) y un número sucesivo además de ser marcados con el sistema tradicional de corte de quillas con el número de la grapa, es un doble marcaje que nos garantiza el seguimiento de estos animales.

Para manejar a los ejemplares de mayor talla, se manipulan mediante las púrtigas y lazos. Una vez lazado y extraído del agua se procede a la sujeción de la cola para que una tercera persona pueda cerrar el hocico con cinta de aislar. Este manejo se realiza únicamente cuando se requiera obtener información como datos morfológicos, tratamiento para organismos enfermos o sacrificio.

Ecoturismo:

Dentro de los objetivos del criadero está la difusión y educación ambiental. Por ello y como una nueva tendencia a partir del 14 de noviembre de 1998, el criadero abre sus puertas al público y a través de visitas guiadas se da a conocer los trabajos de conservación de especies en peligro (principalmente los cocodrilianos), la situación actual de los cocodrilianos en general y la importancia de conservar el medio ambiente.

Tanto los visitantes nacionales como extranjeros llegan a conocer la biología e importancia de las especies en sus diferentes etapas:

- 1) Incubación (en la temporada)
- 2) Recién nacidos y crías
- 3) Crecimiento y engorda y
- 4) Las diferentes etapas de la reproducción.

Además se reciben estudiantes de diferentes niveles académicos a los que se les imparten pláticas de educación ambiental.

Hoy en día el ecoturismo es muy importante para los criaderos y la conservación de las áreas naturales ya que representan un ingreso considerable para estos, recursos tanto económicos como emotivos que alientan para poder continuar con los esfuerzos realizados.

Cuidados y Crianza del *Crocodylus moreletii* en el Criadero Cocodrilos de Chiapas s.a. de c.v., Chiapas, México.

**Muñiz Manuel I., Cocodrilos de Chiapas s.a. de c.v.,
A.P. 41 – 601, Lomas de Chapultepec, Méx. D.F., c.p. 11000, México.
e-mail: jamuniz@data.net.mx**

Abstracto:

Con el objetivo de conservar, proteger y reproducir Finca “La Joya” desarrolla un programa para cocodrilianos denominado COCODRILOS DE CHIAPAS s.a. de c.v..

En este criadero se estudian las tres especies de cocodrilianos del País. Por sus características y obtención de pie de cría se ha observado y trabajado más con el cocodrilo de Pantano, *C. moreletii*, describiendo su comportamiento durante el cortejo, forma de anidación, tiempo de incubación, desarrollo, alimentación y cuidados. Mismos que han sido descritos por pocos autores para ejemplares en vida silvestre y cautiverio, por lo que creo que cualquier información acerca de esta especie es vital para ampliar su conocimiento.

Abstract:

With the purpose for conservation, protection and breeding Finca “La Joya” develops a program for crocodilian called COCODRILOS DE CHIAPAS s.a. de c.v.

At this farm the three species of crocodilians of the country are studied. Because of the availability of adults and it's characteristics the morelet's crocodile, *C. moreletii* has been more observer and studied, here we describe the courtship, the nesting, time of incubation, growth, feeding and cares. Which are been describe by few authors, so I believe that any information about this species is vital.