

**UNIVERSIDAD NACIONAL
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
POSGRADO EN CIENCIAS VETERINARIAS TROPICALES**



**EVALUACIÓN DE SALUD EN UNA POBLACIÓN DE COCODRILO AMERICANO
(*Crocodylus acutus*) EN LA CUENCA DEL RÍO TEMPISQUE, COSTA RICA.**

**SUSTENTANTE
JOSÉ FERNANDO AGUILERA GONZÁLEZ
“CAMPUS BENJAMÍN NÚÑEZ”
HEREDIA
10 DE OCTUBRE DE 2017**

Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador del Posgrado en Ciencias Veterinarias Tropicales con énfasis en Medicina Interna de Fauna Silvestre para optar al grado de Magister Scientiae en Medicina de la Conservación

**EVALUACIÓN DE SALUD EN UNA POBLACIÓN DE COCODRILO AMERICANO
(*Crocodylus acutus*) EN LA CUENCA DEL RÍO TEMPISQUE, COSTA RICA.**

**SUSTENTANTE
JOSÉ FERNANDO AGUILERA GONZÁLEZ**

Tesis presentada para aspirar al grado de
Magister Scientiae en Medicina de la Conservación
Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de Posgrado de la
Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.

Miembros del tribunal examinador:

Dra. Mayela Coto Choto
Delegado del Consejo Central de Posgrado

Dra. Kinndle Blanco Peña
Representante del PCVET

Laura Patricia Porras Murillo
Biól, MSc, PhD.
Tutor(a)

Albert Martínez-Silvestre
DVM, MSc, PhD, Dipl ECZM (Herp)
Asesor(a)

Jaime Samour
MVZ (Hons), PhD, Dipl ECZM (Avian)
Asesor(a)

José Fernando Aguilera González
Sustentante

Resumen

El cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) es el representante más grande de las cuatro especies existentes del género *Crocodylus* en el continente americano. Una especie amenazada incluida en el apéndice I de la “Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora” (CITES) y catalogada como “Vulnerable” en la lista roja de la “International Union for Conservation of Nature and Natural Resources” (UICN). En Costa Rica, está protegida por la “Ley de Conservación de Vida Silvestre”.

Actualmente, las principales causas que amenazan a la población en la cuenca del río Tempisque son: a) disminución de sitios de anidación por fragmentación, b) concesiones de agua para riego disminuyendo el caudal ambiental y, c) uso de plaguicidas por actividades agroindustriales. Sin embargo, se desconocen los efectos de exposición a contaminantes en su medio, careciendo de información biomédica que permita realizar comparaciones y valorar el estado de salud general.

Con el objetivo de realizar una evaluación preliminar de salud y proporcionar herramientas diagnósticas, se determinaron valores hematológicos y químicos plasmáticos para el cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) en Costa Rica. Adicionalmente, se determinó el Factor de Condición (FC) de Fulton (K) como indicador de bienestar y salud. Para el desarrollo de esta investigación se trabajó con una población de cuarenta y dos (42) especímenes de vida libre de junio 2014 a junio 2015, realizando capturas en estanques de cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) de la empresa Aquacorporación Internacional S.A., ubicados en la Provincia de Guanacaste, Costa Rica.

Para determinar posibles asociaciones con valores hematológicos y químicos plasmáticos, se analizaron medidas corporales, peso, sexo, temperatura cloacal, temperatura ambiente, temperatura de agua, humedad relativa y caudal (m^3/s) del río Tempisque

Summary

The American crocodile (*Crocodylus acutus*) is the largest representative of the four existing species of the genus *Crocodylus* in the America Continent. An endangered species included in Appendix I of the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna (CITES) and it's considered vulnerable by the International Union for Conservation of Nature (IUCN). In Costa Rica is protected by the Law of Wildlife Conservation.

Currently, the main causes that threaten the population in the Tempisque River basin are a) declining nesting sites due fragmentation, b) irrigation water concessions lowering environmental flow and c) pesticides use for agro-industrial activities. However, to determine effects of exposure to contaminants in the environment, it is necessary to have diagnostic tools to carry out health assessments.

With the objective of carrying out a preliminary health assessment and providing diagnostic tools, hematology and plasma chemistry values were determined for the American crocodile (*Crocodylus acutus*) in Costa Rica. Additionally, the Fulton (K) Condition Factor (FC) was determined as an indicator of health and wellbeing. For the development of this research we worked with a population of forty-two (42) free-living specimens from June 2014 to June 2015. All the crocodiles were captured in aquaculture ponds from the "Aquacorporación Internacional S.A" company, located in the province of Guanacaste, Costa Rica.

To determine associations with hematology and plasma chemistry values, morphometric measurements, weight, sex, cloacal temperature, ambient temperature, water temperature, relative humidity and flow rate (m^3/s) were recorded.

V. Agradecimientos

A **Karol Stefany López Barahona**, una persona maravillosa, excelente ser humano y madre de nuestra divina hija **Nicté**. Gracias por tu grandiosa colaboración durante la colecta y el procesamiento de muestras en campo. Además, te agradezco por compartir y vivir maravillosos e inolvidables momentos en Costa Rica.

Al **Posgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales (PCVET)** de la **Universidad Nacional (UNA) de Costa Rica**, por brindarme la oportunidad de ingresar y adquirir las bases del conocimiento como investigador.

Especial agradecimiento a la **Dra. Laura Bouza Mora**, **Dra. Rose Mary H.** e **Ing. Biotec. Andrés Arturo Villalobos** por su colaboración, tiempo e inigualable amistad. La participación de cada integrante del Departamento de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, fue crucial y clave para el desarrollo de la presente investigación.

A la **Dra. Laura Patricia Porras Murillo** por su confianza, apoyo, orientación en la investigación y por brindarme la oportunidad de participar en su proyecto, aceptando ser tutora de la presente investigación.

Al **Biól. MSc. Juan Rafael Bolaños Montero** y todo el equipo técnico de captura de la empresa Aquacorporación Internacional S.A. por compartir su gran experiencia en el manejo de cocodrilianos y su valiosa participación con la coordinación y captura de los cocodrilos en los estanques de tilapia.

Al **Dr. Albert Martínez-Silvestre**, quien tuvo la gentileza y amabilidad de aceptar un comunicado por vía electrónica solicitando su participación como lector, aceptando desde el principio, mostrando interés, compromiso y confianza en la investigación.

Al **Dr. Jaime Samour**, persona que admiro por sus cualidades como ser humano y trayectoria profesional. Sin duda alguna, mentor y ejemplo de vida. Agradezco su total confianza y amistad.

A mis colegas y **compañeros de generación del posgrado**, gracias por todos aquellos momentos de aprendizaje, viajes, giras y celebraciones únicas en Costa Rica.

Pura Vida.



Reconocimientos

Proyecto realizado gracias al apoyo y financiamiento de:

Proyecto SIA 0005 - 11 (2014-2015)

“Evaluación de la estructura poblacional y la exposición a contaminantes en la población de *Crocodylus acutus* de la Cuenca del Río Tempisque”

FOCAES (2014)

Fondo para el Fortalecimiento de las Capacidades Estudiantiles en Investigación y Extensión de la Universidad Nacional. Costa Rica.

IUCN - SSC - CSG - FHVSAS (2015)

Fondo de Apoyo a Investigación de Estudiantes en Ciencias Veterinarias
Fritz Huchzermeyer

VI. Dedicatoria

**EN LA MEMORIA DE
GILBERTO AGUILERA BALDERAS
* 04 de febrero de 1949 - 03 de agosto de 2015†**

*Padre, esposo, amigo, ejemplo de vida,
quien, junto con mi madre y hermanos,
han sido la luz de mi camino,
apoyo incondicional y
fuerza de mi ser*

VII. Índice

Resumen

Summary

V. Agradecimientos

Reconocimientos

VI. Dedicatoria

VII. Índice

VIII. Lista de Cuadros

IX. Lista de Figuras

X. Lista de Abreviaturas

XI. Descriptores

Introducción general	12
Bibliografía.....	14
Valores hematológicos y químicos plasmáticos de una población de cocodrilo americano (<i>Crocodylus acutus</i>) en Guanacaste, Costa Rica.	17
Resumen.....	17
Abstract.....	18
Introducción.....	19
Materiales y Métodos.....	21
Área y población de estudio	21
Método de captura y registro de medidas morfométricas	22
Colecta y manejo de muestras sanguíneas.....	24
Procesamiento de muestras sanguíneas.....	24
Datos hidrológicos y climáticos	26
Análisis de datos	27
Valores hematológicos y químicos plasmáticos.....	27
Niveles de decisión	28
Resultados	30
Hematología.....	36
Recuento diferencial leucocitario.....	39
Química plasmática.....	41
Asociaciones con variables ambientales	43
Valores hematológicos	46
Discusión	47
Hematología.....	47
Recuento diferencial leucocitario.....	49
Química plasmática.....	50
Asociaciones con variables ambientales	55
Conclusiones	56
Recomendaciones	57
Referencias	58

Relaciones entre condición corporal del cocodrilo americano (<i>Crocodylus acutus</i>), valores hematológicos y químicos plasmáticos en Guanacaste, Costa Rica.....	69
Resumen.....	69
Abstract.....	70
Introducción.....	71
Materiales y métodos.....	72
Área de estudio.....	72
Método de captura.....	72
Medidas corporales y peso.....	73
Factor de condición corporal de Fulton (K).....	74
Categorización de Fulton (K).....	75
Correlaciones de Fulton (K).....	75
Variaciones de Fulton (K).....	75
Valores hematológicos y químicos plasmáticos.....	76
Análisis de datos.....	76
Resultados.....	77
Exploración de datos.....	77
Factor de condición de Fulton (K).....	79
Correlaciones de K y variables ambientales.....	83
Variaciones de K y variables ambientales.....	83
Correlaciones de K y valores hematológicos y químicos plasmáticos.....	85
Diferencias de K con valores hematológicos y químicos plasmáticos.....	86
Discusión.....	88
Conclusiones.....	92
Recomendaciones.....	93
Referencias.....	94
Conclusiones y recomendaciones generales.....	98
Anexos.....	99
Anexo 1. Registros de medidas corporales.....	99
Anexo 2. Resultados hematológicos.....	100
Anexo 3. Resultados químicos plasmáticos.....	101
Anexo 4. Datos hidrológicos y climáticos.....	102
Anexo 5. Instrucciones para los autores.....	103

VIII. Lista de Cuadros

Cuadro	Página
Cuadro 1. Clases y sexos de la población de cocodrilo americano (<i>Crocodylus acutus</i>) capturados en el presente este estudio.	30
Cuadro 2. Sexos, clases y promedios de longitudes totales (LT), pesos (Kg), temperaturas cloacales en grados Celsius (°C) y variables ambientales de la población (N = 42) capturada en los estanques de tilapias durante el periodo de junio 2014 a junio 2015.	30
Cuadro 3. Valores hematológicos y químicos plasmáticos de cocodrilos excluidos del conjunto de datos con base en niveles de decisión.	31
Cuadro 4. Resumen estadístico de los valores hematológicos y químicos plasmáticos de cocodrilos americanos (<i>Crocodylus acutus</i>) capturados en estanques de tilapia en Guanacaste, Costa Rica.	32
Cuadro 5. Prueba de Anderson - Darling (A = 0.757) y Fisher (F = 0.314 - 2.236) entre machos (gl = 23) y hembras (gl = 11) $\alpha = 0.05$	33
Cuadro 6. Prueba de Anderson - Darling (A = 0.757) y Bartlett (K^2) entre adultos y sub adultos. $\alpha = 0.05$	34
Cuadro 7. Prueba de Anderson - Darling (A = 0.757) y Bartlett (K^2) entre estación lluviosa y seca. $\alpha = 0.05$	35
Cuadro 8. Media, desviación estándar (DE) y contraste por sexo (gl = 34, $\alpha = 0.05$). .	38
Cuadro 9. Media, desviación estándar (DE) y contraste por clase (gl = 32, $\alpha = 0.05$).	38
Cuadro 10. Media, desviación estándar (DE) y contraste por estación (gl = 37, $\alpha = 0.05$).	38
Cuadro 11. Media, desviación estándar (DE) y contraste por sexo (gl = 34, $\alpha = 0.05$).	40
Cuadro 12. Media, desviación estándar (DE) y contraste por clase (gl = 32, $\alpha = 0.05$).	40
Cuadro 13. Media, desviación estándar (DE) y contraste por estación (gl = 37, $\alpha = 0.05$).	40
Cuadro 14. Media, desviación estándar (DE) y contraste por sexo (gl = 34, $\alpha = 0.05$)	42
Cuadro 15. Media, desviación estándar (DE) y contraste por clase (gl = 32, $\alpha = 0.05$)	42
Cuadro 16. Media, desviación estándar (DE) y contraste por estación (gl = 37, $\alpha = 0.05$)	42
Cuadro 17. Matriz de correlaciones significativas ($p < 0.05$)	43
Cuadro 18. Correlaciones con el método de Spearman (Rho) y significancia ($\alpha = 0.05$)	45
Cuadro 19. Valores hematológicos sin distinción de sexo, clase o estación.	62
Cuadro 20. Valores hematológicos en machos.	63
Cuadro 21. Valores hematológicos en adultos.	64
Cuadro 22. Valores hematológicos en estación lluviosa.	65
Cuadro 23. Valores hematológicos y químicos plasmáticos por sexo.	66
Cuadro 24. Valores hematológicos y químicos plasmáticos por clase.	67
Cuadro 25. Valores hematológicos y químicos plasmáticos por estación.	68
Cuadro 26. Clases y sexos de la población de cocodrilos americanos (<i>Crocodylus acutus</i>) capturados en el presente este estudio.	77

Cuadro 27. Ajuste de relaciones logarítmicas entre medidas corporales de <i>C. acutus</i> con los supuestos del factor de condición de Fulton (K). Ho: $\beta = 3$ y $\delta = 0$, $\alpha = 0.05$	79
Cuadro 28. Individuos de <i>C. acutus</i> en cada categoría de Fulton (K), por clase y sexo	81
Cuadro 29. Factor de condición corporal de Fulton (K) por sexo, clase y estación	82
Cuadro 30. Correlación entre K y variables ambientales empleando el método de Spearman (Rho), $\alpha = 0.05$	83
Cuadro 31. Parámetros de regresión estimados, error estándar, valor t y p de variables independientes de los modelos evaluados con Fulton (K).	84
Cuadro 32. Correlaciones entre K y valores hematológicos y químicos plasmáticos con el método de Spearman (Rho), $\alpha = 0.05$	85
Cuadro 33. Valores hematológicos y químicos plasmáticos medios por categorización de Fulton (K)	86

IX. Lista de Figuras

Figura	Página
Figura 1. Área de estudio y localización de los sitios de muestreo en los estanques de tilapia de Aquacorporación Internacional, S.A., estaciones del Instituto Nacional de Meteorología (INM), Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) y la Organización para Estudios Tropicales (OET).....	22
Figura 2. Método de captura en estanques de tilapia (Bolaños, 2012). Para la técnica se empleó red de arrastre liviana de 40 x 4 metros con 7 pulgadas de luz. La contención se realizó gracias al apoyo del equipo de captura de Aquacorporación S.A, conformado por 8 a 10 personas capacitadas en el manejo y contención de cocodrilos.	23
Figura 3. Contención física para colecta de muestras sanguíneas, registro de temperatura cloacal con termómetro higrómetro digital (RadioShack ®) y medidas morfométricas.	23
Figura 4. Comparación de trombocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) por estación lluviosa ($n = 25$) y seca ($n = 14$).	36
Figura 5. Comparación de hematocrito (%) (A) y hemoglobina (g/dl) (B) entre sexos, clases y estación. Hembras ($n = 12$); Machos ($n = 24$). Adultos ($n = 24$; ♀:7 - ♂:17); Sub adultos ($n = 10$:♀: 4 - ♂:6). Individuos por estación lluviosa ($n = 25$) y seca ($n = 14$). ..	37
Figura 6. Heterófilos (<i>cabeza de flecha</i>) y eosinófilo (<i>flecha</i>) [40x].	41
Figura 7. Linfocito (<i>cabeza de flecha</i>) y célula con gránulos despigmentados (<i>flecha</i>) [100x].....	41
Figura 8. Monocito (<i>flecha</i>), trombocitos (<i>cabeza de flecha</i>), eosinófilo y heterófilo [40x].	41
Figura 9. Plasmocito (<i>cabeza de flecha</i>), linfocito inmaduro (<i>flecha</i>) y trombocitos [40x].	41
Figura 10. Basófilo [100x].	41
Figura 11. Linfocito reactivo [100x].	41
Figura 12. Comparación de la enzima aspartato aminotransferasa (AST UI/L) entre sexos (A) y clases (B).....	41
Figura 13. Correlograma de variables ambientales y hematológicas. Nótese el intervalo de correlaciones con el método de Spearman (Rho: 0.63 a -0.63) y el nivel de significancia dentro de las elipses. Elipses que no presentan valor numérico, son correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$).	43
Figura 14. Diagramas de caja (boxplot) de 33 medidas corporales crudas, logarítmicas y gráfica de puntos (Cleveland) con la variable peso.	78
Figura 15. Observaciones detectadas con cada relación como datos atípicos con el método robusto de distancia Mahalanobis. Modelo $\log W \sim \log L$	78
Figura 16. Gráfica de residuales e histograma, confirmando homogeneidad (izquierda) y normalidad (derecha).	80
Figura 17. Regresión lineal (Log Peso \sim Log LTC) con 32 medidas corporales.....	80
Figura 18. Identificación gráfica de individuos con Mala, Buena y Excelente condición corporal aplicando el factor de condición de Fulton (K).....	81
Figura 19. Diagramas de caja por sexo (A), clase (B), estación (C) y categorización (D) del Factor de Condición (FC) de Fulton (K).....	82

Figura 20. Diagramas de caja de variables hematológicas por categorías (Buena, Mala, Excelente) de Fulton K..... 87

X. Lista de Abreviaturas

ACAT	Área de Conservación Arenal-Tempisque
AST	Aspartato aminotransferasa
ASVCP	American Society of Veterinary Clinical Pathology
AU	Ácido úrico
CGB	Conteo total de glóbulos blancos
CGR	Conteo total de glóbulos rojos
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
CITES	Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora
CK	Creatina quinasa
COL	Colesterol
CRT	Cuenca del Río Tempisque
FC	Factor de condición
GLOB	Globulinas
GLUC	Glucosa
Ha	Hectáreas
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina corpuscular media
Hrs	Horas
Htc	Hematocrito
IC	Intervalo de Confianza
ICC	Índices de condición corporal
ICE	Instituto Costarricense de Electricidad
INM	Instituto Nacional de Meteorología
IR	Intervalos de Referencia
K	Fulton
Km	Kilómetro
MC	Medicina de la Conservación
ml	mililitro
OET	Organización para Estudios Tropicales
PT	Proteínas totales
PVC	Policloruro de vinilo
RVA	Reference Value Advisor
SINAC	Sistema Nacional de Áreas de Conservación
Temp	Registros de temperatura media de las estaciones meteorológicas
UCC	Unidades prioritarias de Conservación de Cocodrilos
IUCN	International Union for Conservation of Nature and Natural Resources
VCM	Volumen corpuscular medio
VTS	Volumen total sanguíneo

XI. Descriptores

Crocodylus acutus

Hematología

Química plasmática

Factor de Condición (FC) de Fulton (K)

Estanques de tilapia

Guanacaste

Introducción general

¿Qué es la Medicina de la Conservación?.

Tabor (2002) la define como el campo científico multidisciplinario que representa un enfoque para evaluar la salud de individuos o poblaciones y hábitats, analizando las interacciones entre ecosistemas, humanos y animales. Para el estudio de salud y enfermedad, la Medicina de la Conservación (MC) examina los efectos y factores determinantes en el mantenimiento, transmisión, ocurrencia e impacto por pérdida de hábitat o biodiversidad sobre los patógenos y cómo influyen en especies silvestres (Tabor, 2002).

El objetivo es desarrollar evaluaciones incorporando indicadores ambientales con técnicas diagnósticas, sistemas de monitoreo y vigilancia epidemiológica en especímenes capaces de representar cambios o tendencias en el medio que habitan. La finalidad es proponer soluciones que vinculen ciencias naturales, sociales y de salud (Aguirre, Tabor, House, & Pearl, 2002).

Por lo general, los indicadores son especies con un amplio rango de distribución, abundancia y accesibilidad, representando un grupo clave de la salud ecosistémica (Aguirre et al., 2002).

El cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) es uno de los indicadores que cumple con los criterios descritos por su distribución, abundancia, capacidad de influir en la densidad y composición de sus presas, responder directamente a las condiciones ambientales e hidrológicas (Fujisaki, Rice, Pearlstine, & Mazzotti, 2009; Mazzotti et al., 2009) y reconocida como especie de interés para la conservación (Bolaños, 2012b; Mauger et al., 2012; J. B. Thorbjarnarson, 2010; J. Thorbjarnarson et al., 2006).

En Costa Rica se ha estudiado en aspectos ecológicos, genéticos y toxicológicos (Bolaños, 2012b; Mauger et al., 2012; Rainwater et al., 2011; Porras, Bolaños, & Barr, 2008). Sin embargo, se carece de información biomédica que permita evaluar y comparar el estado de salud de los cocodrilos en diferentes regiones.

Para atender esta problemática, la presente investigación tiene por objeto determinar valores hematológicos, químicos plasmáticos y evaluar la condición corporal aplicando el Factor de Condición (FC) de Fulton (K) empleado en diferentes crocódilidos como indicador de bienestar y salud (González-Ávila, 2015; Mazzotti et al., 2012; Padilla,

Weber, & Jacobson, 2011; Cedeño-Vázquez, González-Ávila, & Castro-Pérez, 2011; Zweig, 2003).

La información presentada se analiza en dos artículos científicos como trabajo de graduación. El primero describe la generación de los valores hematológicos y químicos plasmáticos del *C. acutus* en Guanacaste, Costa Rica. La metodología propuesta se basa en especímenes silvestres con limitaciones en el tamaño de muestra ($n = 20 - 40$) y en las recomendaciones proporcionadas por la Sociedad Americana de Patología Clínica Veterinaria (ASVCP, American Society of Veterinary Clinical Pathology) (Cray, 2015).

El segundo determina y analiza las relaciones entre la condición corporal, valores hematológicos, químicos plasmáticos, factores bióticos y abióticos como propuesta para el manejo sanitario de las poblaciones de *C. acutus*.

Finalmente, los resultados de la presente investigación proporcionan información biomédica preliminar como herramienta diagnóstica que permitirá a futuras investigaciones comparar el estado de salud, establecer alertas tempranas por cambios patológicos debido a contaminantes, agentes infecciosos o parasitarios, así como, para el monitoreo y manejo de la población en el río Tempisque y las que habiten en las diferentes Unidades de Conservación de Cocodrilos (Thorbjarnarson et al., 2006) en Costa Rica.

Bibliografía

- Aguirre, A. A., Tabor, G. M., House, C., & Pearl, M. C. (2002). *Conservation medicine: ecological health in practice*. (A. A. Aguirre, R. S. Ostfeld, G. M. Tabor, & M. C. Pearl, Eds.). New York, USA: Oxford University Press, Inc. <https://doi.org/10.1017/S1466046604220154>
- Bolaños, J. (2012). Population Status of the American Crocodile (*Crocodylus acutus*) in the Tempisque Great Wetland, Guanacaste, Costa Rica, 2009-2010. In *21 st Working Meeting of the IUCN-SSC Crocodile Specialist Group* (pp. 167-178). Manila, Philippines: IUCN: Gland, Switzerland.
- Cedeño-Vázquez, J. R., González-Ávila, F., & Castro-Pérez, J. M. (2011). Condición corporal del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) en el Río Hondo , Quintana Roo , México. *Quehacer Científico En Chiapas*, 1(330), 19-26.
- Cray, C. (2015). Reference Intervals in Avian and Exotic Hematology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 18(1), 105–116. <http://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.006>
- Fujisaki, I., Rice, K. G., Pearlstine, L. G., & Mazzotti, F. J. (2009). Relationship between body condition of American alligators and water depth in the Everglades, Florida. *Hydrobiologia*, 635(1), 329-338. <http://doi.org/10.1007/s10750-009-9925-3>
- González Ávila, F. (2015). *Condición corporal del cocodrilo americano (Crocodylus acutus) en el Parque Nacional Arrecifes de Xcalak, Quintana Roo, México*. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur, Chetumal, Quintana Roo, México. Recuperado de <http://bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000054838>
- Lovely, C. J., Pittman, J. M., & Leslie, a J. (2007). Normal haematology and blood biochemistry of wild Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in the Okavango Delta, Botswana. *Journal of South Africa Veterinary Association*, 78, 137-144. <http://doi.org/10.4102/jsava.v78i3.305>

- Mauger, L. A., Velez, E., Cherkiss, M. S., Brien, M. L., Boston, M., Mazzotti, F. J., & Spotila, J. R. (2012). Population assessment of the American crocodile, *Crocodylus acutus* (crocodilia: Crocodylidae) on the Pacific coast of Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 60(4), 1889-1901.
- Mazzotti, F. J., Best, G. R., Brandt, L. A., Cherkiss, M. S., Jeffery, B. M., & Rice, K. G. (2009). Alligators and crocodiles as indicators for restoration of Everglades ecosystems. *Ecological Indicators*, 9(6), S137--S149. <http://doi.org/10.1016/j.ecolind.2008.06.008>
- Mazzotti, F. J., Cherkiss, M. S., Brandt, L. A., Fujisaki, I., Hart, K., Jeffery, B., ... Vinci, J. (2012). Body Condition of Morelet's Crocodiles (*Crocodylus moreletii*) from Northern Belize a. *Journal of Herpetology*, 46(3), 356-362. <http://doi.org/10.1670/11-188>
- Padilla, S. E. (2008). *Hematología , Índice Corporal y Lesiones Externas del Cocodrilo de Pantano Crocodylus Moreletii en los Humedales del Norte del Estado de Campeche, Méxco*. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur.
- Padilla, S. E., Weber, M., & Jacobson, E. R. (2011). Hematological and plasma biochemical reference for morelet's crocodiles (*Crocodylus moreletii*) in the northern wetlands of Campeche, México. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(3), 511-522.
- Porras, L. P. M., Bolaños, J. R., & Barr, R. B. (2008). Variación genético y flujo de genes entre poblaciones de *Crocodylus acutus* (Crocodylia : Crocodylidae) en tres ríos del Pacífico Central , Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 56 (septiembre), 1471-1480.
- Rainwater, T. R., Millichamp, N. J., Barrantes, L. D. B., Barr, B. R., Montero, J. R. B., Platt, S. G., ... Anderson, T. a. (2011). Ocular disease in American crocodiles (*Crocodylus acutus*) in Costa Rica. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(2), 415-426. <http://doi.org/10.7589/0090-3558-47.2.415>

- Rainwater, T. R., Wu, T. H., Finger, A. G., Cañas, J. E., Yu, L., Reynolds, K. D., ... McMurry, S. T. (2007). Metals and organochlorine pesticides in caudal scutes of crocodiles from Belize and Costa Rica. *Science of the Total Environment*, 373(1), 146-156. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.11.010>
- Stacy, B., & Whitaker, N. (2000). Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 31(3), 339-347. [http://doi.org/10.1638/1042-7260\(2000\)031\[0339:HABBOC\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0339:HABBOC]2.0.CO;2)
- Tabor, G. M. (2002). Defining Conservation Medicine. In A. A. Aguirre, R. S. Ostfeld, C. House, & M. C. Pearl (Eds.), *Conservation medicine: ecological health in practice* (pp. 8-16). Oxford University Press, Inc.
- Thorbjarnarson, J. B. (2010). American Crocodile *Crocodylus acutus*. In S. C. Manolis & C. Stevendon (Eds.), *Crocodiles Status Survey and Conservation Action Plan* (Third Edit, pp. 46-53). *Crocodile Specialist Group: Darwin*. [http://doi.org/10.1670/0022-1511\(2007\)41\[122:ACCAIF\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1670/0022-1511(2007)41[122:ACCAIF]2.0.CO;2)
- Thorbjarnarson, J., Mazzotti, F., Sanderson, E., Buitrago, F., Lazcano, M., Minkowski, K., ... Velasco, A. (2006). Regional habitat conservation priorities for the American crocodile. *Biological Conservation*, 128(1), 25-36. <http://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.013>
- Zayas, M. A., Rodríguez, H. A., Galoppo, G. H., Stoker, C., Durando, M., & Luque, E. H. (2011). Hematology and Blood Biochemistry of Young Healthy Broad-Snouted Caimans (*Caiman latirostris*). *Journal of Herpetology*, 45(4), 516-524.
- Zweig, C. L. (2003). Body condition index analysis for the american alligator (*Alligator mississippiensis*). M.Sc. Thesis. University of Florida.

Valores hematológicos y químicos plasmáticos de una población de cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) en Guanacaste, Costa Rica.

Resumen

Los valores hematológicos y químicos plasmáticos son parámetros útiles para el diagnóstico, monitoreo y evaluación general de salud. Con el objetivo de establecer valores hematológicos para el cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) de vida libre, se trabajó con una población de cuarenta y dos (N = 42) organismos de junio 2014 a junio 2015, capturados en estanques de cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) de la empresa Aquacorporación Internacional S.A., ubicados en la provincia de Guanacaste, Costa Rica. El análisis hematológico consistió en el conteo total de glóbulos rojos (CGR $\times 10^6/\mu\text{l}$) y glóbulos blancos (CGB $\times 10^3/\mu\text{l}$), concentración de hemoglobina (Hb), hematocrito (Htc%), índices eritrocitarios y recuento diferencial celular. En la bioquímica plasmática se determinó glucosa (GLU), creatina quinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST), colesterol (COL), ácido úrico (AU), proteínas totales (PT) y globulinas (GLOB).

Palabras clave: Condición corporal, hematología, química plasmática, *Crocodylus acutus*, Guanacaste, Costa Rica.

Abstract

Hematological values are useful parameters for the diagnosis, monitoring and health assessments. To establish hematological values for the free-living American crocodile (*Crocodylus acutus*), a population of forty-two (N = 42) organisms were studied from June 2014 to June 2015, captured in aquaculture ponds from Aquacorporación Internacional SA, located in the province of Guanacaste, Costa Rica. Hematological analysis consisted of total red blood cells (CGR $\times 10^6/\mu\text{l}$) and white blood cells (CGB $\times 10^3/\mu\text{l}$) counts, hemoglobin concentration (Hb), hematocrit (Hct%), white blood cell differential. glucose (GLU), creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), cholesterol (COL), uric acid (AU), total proteins (PT) and globulins (GLOB) were determined in plasma biochemistry.

Key words: Hematology, plasma biochemistry, *Crocodylus acutus*, Guanacaste, Costa Rica.

Introducción

El cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) es el representante más grande de las cuatro especies existentes del género *Crocodylus* en el continente Americano, alcanzando longitudes de 5 a 6 metros en promedio, con un amplia distribución en hábitats costeros, como ríos, lagunas y manglares, que van desde el extremo sur de la Florida, a lo largo del Atlántico y Pacífico sur de México, América Central y norte de Sudamérica, así como las islas del Caribe de Cuba, Jamaica y La Española (Thorbjarnarson et al., 2006).

Actualmente, el *C. acutus* está incluido en el Apéndice I de la “Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora” (CITES, 2017), la “International Union for Conservation of Nature and Natural Resources” lo cataloga dentro de la lista roja como “Vulnerable” (IUCN, 2017) y en Costa Rica, está protegido por la Ley de Conservación de Vida Silvestre (Porrás et al., 2008)

A pesar de los grandes avances logrados por instituciones internacionales y nacionales, la especie continúa presentando diversas amenazas, siendo la destrucción del hábitat la mayor preocupación (Thorbjarnarson et al., 2006). Debido a esto, un grupo de especialistas diseñó un plan regional de conservación basado en el conocimiento de diferentes expertos para identificar áreas críticas de conservación y protección del hábitat (Thorbjarnarson et al., 2006).

El consenso con los expertos, identificó ocho biorregiones con 69 áreas prioritarias, y para Costa Rica los ríos Tempisque, Térraba y Tárcoles fueron definidos como Unidades de Conservación de Cocodrilos (UCC) (Thorbjarnarson et al., 2006).

Lamentablemente una de las tres UCC, el río Tárcoles, ha presentado contaminación por descargas industriales y agrícolas, situación que impulsó evaluar la acumulación de metales y pesticidas organoclorados en la población de cocodrilos americanos (Rainwater et al., 2007, 2011).

Sin embargo, actualmente se carecen de valores hematológicos y químicos plasmáticos que permitan realizar comparaciones entre especímenes de diferentes UCC, establecer diagnósticos de alteraciones funcionales, realizar un monitoreo biomédico y evaluar la condición interna de los animales.

Para la generación de valores hematológicos de especies silvestres con limitaciones en el tamaño de muestra ($n = 20 - 40$), la Sociedad Americana de Patología Clínica Veterinaria (ASVCP, American Society of Veterinary Clinical Pathology), ha realizado las siguientes recomendaciones: a) describir área y población de estudio, b) especificar los procedimientos correspondientes al manejo de la muestra, c) determinar posibles asociaciones con variables ambientales, y c) resumir los métodos estadísticos empleados (Cray, 2015).

El objetivo del presente estudio es proporcionar valores hematológicos y químicos plasmáticos del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*), que cumplan con las recomendaciones proporcionadas por la ASVCP, permitiendo a futuras investigaciones evaluar posibles impactos por actividades antropogénicas y comparaciones entre especímenes que habiten en las diferentes UCC en Costa Rica.

Materiales y Métodos

Área y población de estudio

El área de estudio se ubica dentro de la Cuenca del Río Tempisque (CRT), situada en la vertiente pacífica de la región Chorotega, provincia de Guanacaste, Costa Rica. Esta cuenca se extiende desde la cordillera de Guanacaste hasta el Golfo de Nicoya, conformada por las subcuencas Tempisque, con un área de 3.357 Km² y Bebedero con 2.047 Km², para una extensión total de 5.404 Km² (Calvo-Alvarado, Jiménez, González, Jiménez, & Pizarro, 2008)

En su extremo sur está constituida por humedales a lo largo del río Tempisque y los protegidos por el Parque Nacional Palo Verde, que cuenta con una extensión de aproximadamente 19.000 Hectáreas (Ha), declarado sitio Ramsar de importancia internacional en 1991 (Murcia, Muñoz-Caprnea, & Sasa, 2012). Es la cuenca más grande de Costa Rica, abarcando el 53% de Guanacaste siendo las principales actividades de tipo agroindustrial, ganadera y acuícola (Calvo-Alvarado et al., 2008)

Dentro de la CRT, se localizan los estanques de cultivo de tilapia (*O. niloticus*) de la empresa Aquacorporación Internacional S.A., ubicados en los cantones de Cañas (10°23'54.2"N, 85°06'53.0"W) y Bagaces (10°28'35.6"N, 85°24'09.0"W) (Figura 1), manejando en promedio 600 hectáreas (Ha) de espejos de agua, en los cuales se comenzó a notar mayor presencia de cocodrilos provenientes de la cuenca del río Tempisque (Bolaños, 2012).

Ante esta situación, a partir del año 2004 se realiza un manejo de captura y translocación inmediata de cocodrilos en los estanques de cultivo de tilapia (*O. niloticus*) como medida preventiva para evitar ataques procurando la seguridad de los trabajadores, representando una oportunidad para colecta de información y evaluación de la población que habita en la CRT.

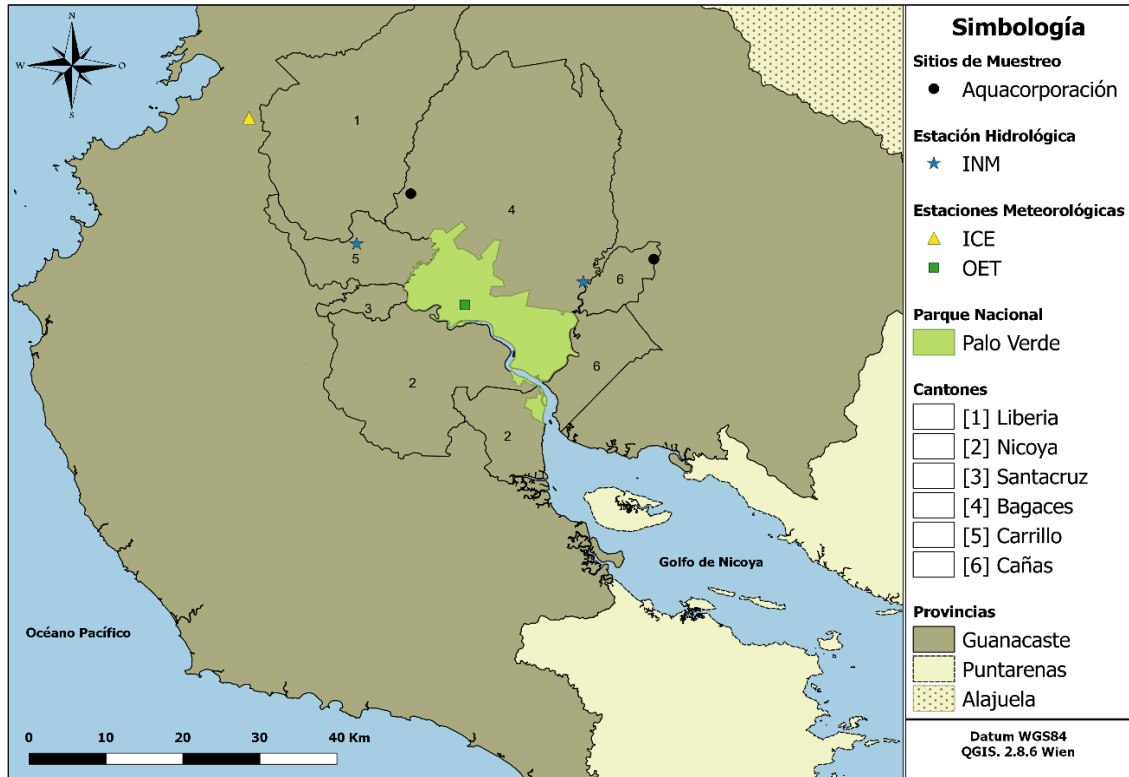


Figura 1. Área de estudio y localización de los sitios de muestreo en los estanques de tilapia de Aquacorporación Internacional, S.A., estaciones del Instituto Nacional de Meteorología (INM), Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) y la Organización para Estudios Tropicales (OET).

Método de captura y registro de medidas morfométricas

La captura de cocodrilos se realizó de junio 2014 a junio 2015 con el método descrito por Bolaños (2012) empleando red liviana de arrastre de siete pulgadas (7") de luz con hilo número dieciocho (#18) y plomo fanguero (Figura 2). Una vez contenidos dentro de la red, los cocodrilos se aproximaron a la orilla, asegurando hocico, ojos, miembros torácicos y pélvicos para recolectar muestras de sangre, obtener medidas, registrar temperatura cloacal, temperatura de agua, temperatura ambiente y humedad relativa con termómetro/higrómetro digital (RadioShack®) (Figura 3).

Las medidas se registraron con cinta flexible graduada en centímetros (cm), dividiéndose en longitudes generales (LT = longitud total y LHC = hocico-cloaca) y complementarias (CCu = circunferencia de cuello, CPC = pecho y CC = cola). El sexo se determinó por palpación cloacal, y el peso se obtuvo con báscula colgante digital (Rhino®) modelo BAC-300 (capacidad de 300 kilogramos y división mínima de 100 gramos), introduciendo a los cocodrilos en tubos de policloruro de vinilo (PVC) de diferente diámetro (Bolaños, 2012) (Ver Anexo 1. Registros de medidas corporales).



Figura 2. Método de captura en estanques de tilapia (Bolaños, 2012). Para la técnica se empleó red de arrastre liviana de 40 x 4 metros con 7 pulgadas de luz. La contención se realizó gracias al apoyo del equipo de captura de Aquacorporación S.A, conformado por 8 a 10 personas capacitadas en el manejo y contención de cocodrilos.



Figura 3. Contención física para colecta de muestras sanguíneas, registro de temperatura cloacal con termómetro higrómetro digital (RadioShack ®) y medidas morfométricas.

Colecta y manejo de muestras sanguíneas

La toma de muestra se realizó inmediatamente después de la captura, obteniendo de 3 a 5 mililitros (ml) procedentes de la vena coccígea por aproximación lateral (Campbell, 2015b). Para la extracción, se utilizaron jeringas de 3 a 5 ml con aguja calibre 22G x 32mm (Becton Dickson Corporation, Franklin Lakes, NJ, EUA).

Posteriormente, se procedió a realizar de dos a tres frotis sanguíneos sin anticoagulante (Campbell, 2015b). Para el envío de las extensiones, los portaobjetos se colocaron individualmente en una caja transportadora plástica, junto con bolsas transpirables de gel sílica para prevenir citólisis por humedad.

Del volumen total extraído, 1 ml se vertió en un tubo comercial (Sarstedt®) con capacidad de 1.3 ml para hematología. El volumen restante se almacenó en un tubo vacutainer (Beckton Dickison®) con capacidad de 3 ml para química plasmática. Las muestras fueron homogenizadas a temperatura ambiente con heparina de litio para prevenir la coagulación (Campbell, 2015b; Maceda-Veiga et al., 2015; Martínez-Silvestre, Lavin, & Cuenca, 2011).

Dentro de las primeras seis horas (6 hrs) en campo, se obtuvo plasma por centrifugación a 10,000 g separándolo en microtubos de polipropileno con capacidad de 2 ml con tapón plano y cierre de seguridad.

Para el almacenamiento en frío y traslado al laboratorio, las muestras sanguíneas y plasmáticas se colocaron dentro de una gradilla de espuma con fondo cónico en un contenedor térmico de poliestireno junto con bolsas plásticas con gel refrigerante, evitando el contacto directo de las bolsas con las muestras para conservar una temperatura de cuatro grados Celsius (4 °C) aproximadamente.

Procesamiento de muestras sanguíneas

El procesamiento se realizó dentro de las primeras cuarenta y ocho horas (48 hrs) en el Departamento de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica.

El cuadro hematológico consistió en determinar el conteo total de glóbulos rojos (CGR x10⁶/μl), conteo total de glóbulos blancos (CGB x10³/μl), concentración de hemoglobina (Hb g/dl), porcentaje de hematocrito (Htc %), índices eritrocitarios y, recuento diferencial.

El CGR (x10⁶/μl) y CGB (x10³/μl) se realizó con solución de Natt y Herrick, dilución 1:200 (10μl:1990μl) (Campbell, 2015b; Martínez-Silvestre et al., 2011).

La lectura se llevó a cabo en cámara hemocitométrica de Nuebauer modificada (cuadrícula central de 5 x 5 líneas), contando los glóbulos rojos en los cinco campos del retículo central y los leucocitos en los nueve campos mayores en ambos lados de la cámara (Martínez-Silvestre et al., 2011).

Para confirmar los resultados obtenidos por el método de Natt y Herrick, se realizó una estimación aproximada de la cantidad de glóbulos blancos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) a partir de las extensiones sanguíneas, contando el número promedio de leucocitos en diez (10) campos con objetivo seco [x40] y multiplicando el resultado por 1.5 (1,500 para convertir a μl) (Campbell, 2015b).

La concentración de hemoglobina (Hb g/dl) se determinó con el analizador Metrolab 1,600 DR, por el método de cianometahemoglobina (Campbell, 2015b). Previo a la lectura de la densidad óptica (540 nm), la muestra se centrifugó durante cinco minutos a 500 g, con la finalidad de remover núcleos libres de eritrocitos (Strik, Alleman, & Harr, 2007).

El porcentaje de hematocrito (Htc %) se determinó por el método de micro hematocrito, centrifugándose durante cinco minutos a 12,000 g, estimando el porcentaje con un lector de escala (Campbell, 2015b). Los índices eritrocitarios se calcularon aplicando las fórmulas descritas por Samour & Howlett (2008) y Strik et al., (2007), obteniendo el volumen corpuscular medio ($\text{VCM} = \text{Htc} \times 10/\text{CGR}$, expresado en femtolitros), hemoglobina corpuscular media ($\text{HCM} = \text{Hb} \times 10/\text{CGR}$, en picogramos), y concentración de hemoglobina corpuscular media ($\text{CHCM} = \text{Hb} \times 100/\text{Htc}$ en gramos/litro).

El recuento diferencial leucocitario se realizó bajo objetivo de inmersión [100x]. Para determinar el conteo relativo en porcentaje se clasificaron 100 células como heterófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos o basófilos. La tinción del frotis sanguíneo se realizó con solución ligeramente modificada Wright-Giemsa de Samour & Howlett (2008).

Para la química sanguínea, el plasma se procesó en equipo automatizado Selectra Junior (Siemens®) perteneciente al laboratorio del Departamento de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

Siguiendo los protocolos de la línea líquida de la marca Wiener Lab® se determinaron valores de glucosa (GLUC), creatina quinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST), colesterol (COL) y ácido úrico (AU). La determinación de proteínas totales (PT) y globulinas (GLOB) se realizó por el método de biuret y verde de bromocresol respectivamente. Las razón albúmina - globulinas (A/G) derivó de estos resultados.

Datos hidrológicos y climáticos

Para determinar posibles asociaciones entre valores hematológicos y químicos plasmáticos con variables ambientales, se obtuvo el caudal (m^3/s) mínimo, máximo y medio mensual del Río Tempisque (período en año civil 2000 – 2010) procedentes de la estación hidrométrica “La Guardia” del Instituto Costarricense de Electricidad (ICE).

Los registros de temperatura media, mínima, y máxima (período 2000 – 2014), se adquirieron de la estación meteorológica “Mojica” ($10^{\circ}27'N$, $85^{\circ}09'W$) perteneciente al Instituto Nacional de Meteorología (INM) ubicada en Cañas. Así como de la estación meteorológica “Palo Verde” (período 2014 – 2015) ($10^{\circ}20'38.36''N$, $85^{\circ}20'18.54''W$) de la Organización para Estudios Tropicales (OET) (Figura 1). Para el análisis de los datos, se promediaron las temperaturas de las estaciones meteorológicas (Ver Anexo 4. Datos hidrológicos y climáticos).

Análisis de datos

Valores hematológicos y químicos plasmáticos

Los resultados se analizaron siguiendo el procedimiento planteado por Cray (2015) con el "Reference Value Advisor" (RVA), una aplicación de Microsoft Excel (versión 2013) desarrollada por Geffré, Concordet, Braun, & Trumel (2011) para la generación de valores hematológicos, aplicando el método paramétrico robusto con transformación Box-Cox (BC) con muestras pequeñas ($n = 20 - 40$) y un intervalo de confianza (IC) del 90% (Cray, 2015; Geffré et al., 2011).

Esta aplicación computó los valores calculando la media, mediana, valores mínimos, máximos, desviación estándar, valor "p" empleando la prueba de normalidad de Anderson-Darling ($\alpha = 0.5$), los métodos de Tukey y Dixon para identificar valores atípicos, límites inferiores (LI) y superiores (LI) con un $IC_{90\%}$.

Todos los valores fueron analizados para identificar diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0.05$) entre medias por sexo, clase y estación, comprobando el supuesto de normalidad y homocedasticidad con las pruebas de Anderson-Darling, Fisher para sexos y Bartlett para clases y estación.

Las diferencias entre las medias se identificaron con una prueba t de Student para muestras independientes. Con variables que no cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se aplicó la prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon. Para explorar asociaciones entre variables ambientales, valores hematológicos y químicos plasmáticos, se realizó un análisis de correlación simple con el método de Spearman.

Las pruebas paramétricas y no paramétricas se realizaron con el lenguaje de programación estadístico R versión 3.3.0 (RCoreTeam, 2016) empleando los paquetes readxl, (Wickham & Bryan, 2019), dplyr (Wickham & François, 2016), nortest (Gross & Ligges, 2015), outlier (Komst. L, 2011) y ggplot2 (Wickham, 2009) para importar, manipular, transformar, visualizar y analizar los datos.

Niveles de decisión

Independientemente de los supuestos estadísticos, para el establecimiento de valores hematológicos con determinadas especies es reconocido que dependen de muchos factores como la edad, nutrición y estado de salud (Campbell, 2015b). Debido a la capacidad de los diferentes organismos para enmascarar signos clínicos que denoten un proceso patológico, es difícil garantizar que el espécimen esté libre de enfermedad para incluirlo en la población de referencia (Campbell, 2015b). Por lo tanto, los siguientes niveles de decisión se utilizaron como guía general para su inclusión con base en las recomendaciones realizadas por Campbell (2014, 2015) y Campbell & Ellis (2007).

Hematología

- Para el CGR ($\times 10^6/\mu\text{l}$) se consideraron el valor mínimo y máximo publicados por Padilla (2008) para *Crocodylus moreletii* de vida libre ($n = 30$) de 0.52 - 1.61 con un erro estándar de 5.73 ($\times 10^6/\mu\text{l}$).
- El hematocrito (Htc) de la mayoría de los reptiles, se sitúa entre el 15 % a 55 % (Campbell, 2015b). Por lo tanto, un hematocrito menor de 15 % sugiere anemia, siempre y cuando se descarte hemodilución por linfa (Martínez-Silvestre et al., 2011). Los indicadores de anemia incluyen un conteo de glóbulos rojos (CGR $\times 10^6/\mu\text{l}$), junto con un hematocrito (Htc) y concentración de hemoglobina (Hb) disminuidos (Campbell, 2015b). Un Htc mayor a 55 % sugiere hemoconcentración o eritrocitosis (policitemia) (Campbell, 2014),
- La concentración de hemoglobina (Hb) en reptiles, varía de 5.5 a 12 g/dl. Un valor por debajo de 5.5 g/dl sugiere algún tipo de anemia (hemolítica, hemorrágica o por producción disminuida) (Campbell, 2014, 2015b).
- Debido a factores externos y estresores específicos como la captura, restricción y confinamiento pueden tener un efecto marcado en el leucograma de reptiles, Campbell (2013) sugiere que un conteo de glóbulos blancos (CGB $\times 10^3/\mu\text{l}$) mayor a 30,000 cel/ μl , sería un indicador de respuesta inflamatoria asociada a infección, permitiendo identificar un proceso patológico subyacente.

Química plasmática

Debido a que los reptiles poseen diferencias anatómicas para el control homeostático, los intervalos de diferentes parámetros químicos son más amplios y sujetos a variaciones ambientales (Martínez-Silvestre, Lavin, & Cuenca, 2013). Por lo tanto, para la presente investigación los niveles de decisión fueron más flexibles.

- La concentración total de proteínas plasmáticas de reptiles generalmente varía de 3 a 7 g/dl. Un valor < 3 g/dl (hipoproteïnemia), comúnmente se asocia con una desnutrición crónica o recurrente, entre otras causas. Un valor > 7 g/dl (hiperproteïnemia), podría asociarse con deshidratación, incremento inducido por estrógenos (foliculogénesis) o por consumo de una dieta alta en proteínas (Campbell, 2012a).
- En general, la concentración de glucosa se ubica entre 60 - 100 mg/dl, pero sujeta a una marcada variación fisiológica por consumo de alimento y momento de obtención de la muestra (Campbell, 2012a). Sin embargo, Padilla et al., (2011) sugiere valores > 200 mg/dl sin considerarse hiperglicémicos.
- La concentración sérica de colesterol dependerá de la ecología nutricional de la especie. Por ejemplo, en reptiles herbívoros el intervalo es menor (77 - 270 mg/dl) comparado con omnívoros y carnívoros (Campbell, 2012a).
- Respecto al ácido úrico, valores > 15 mg/dl usualmente se asocian a la fase absorbiva de proteínas o enfermedad renal en conjunto con la evaluación de otros analitos. Por lo anterior, es de esperar con reptiles carnívoros un incremento de 1.5 a 2.0 veces por consumo de presas (Campbell, 2012a).
- La actividad de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) por lo general es < 250 UI/L. Un incremento se puede asociar con daño hepático o lesión muscular (Campbell, 2012a).

Resultados

Se trabajó con una población de cuarenta y dos (**N = 42**) cocodrilos de vida libre de junio 2014 a junio 2015. De los 42 (100 %) animales, se capturaron 26 (62%) machos (♂), 13 (31 %) hembras (♀) y 3 (7 %) sin sexar (Cuadro 1) (Ver Anexo 1. Registros de medidas corporales). En el Cuadro 1, se resumen las variables fisiológicas, ambientales y longitudes registradas durante la colecta de muestras sanguíneas en el sitio de captura.

Cuadro 1. Clases y sexos de la población de cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) capturados en el presente estudio.

Clase	Longitud total (m)	♂	♀	Sin sexar	Sub total
Adulto	>2,0	18	8	0	26
Sub adulto	1,50 ≤ 2,0	7	4	0	11
Sin clase	Sin medidas	1	1	3	5
Total		26	13	3	42

Cuadro 2. Sexos, clases y promedios de longitudes totales (LT), pesos (Kg), temperaturas cloacales en grados Celsius (°C) y variables ambientales de la población (N = 42) capturada en los estanques de tilapias durante el periodo de junio 2014 a junio 2015.

Sexo & clase	n	LT (cm)	Peso (Kg)	Cloaca (°C)	Agua (°C)	Aire (°C)	HR (%)
♂	26	222	50	30	28	33	60
Adulto	18	233	59	30	28	33	57
Sub adulto	7	192	31	30	28	31	68
Sin medidas	1						
♀	13	232	67	30	28	32	58
Adulto	8	258	90	30	28	33	49
Sub adulto	4	179	21	29	28	31	59
Sin medidas	1						
Sin sexar	3						
Acumulativo	42	227	59	30	28	32	59

Se identificaron tres cocodrilos (Cuadro 3) con dos o más criterios con base en los niveles de decisión (ND), descartando los resultados para la generación de los valores hematológicos.

Cuadro 3. Valores hematológicos y químicos plasmáticos de cocodrilos excluidos del conjunto de datos con base en niveles de decisión.

	ID ¹	CGR ²	Htc ³	Hb ⁴	Pt ⁵	Alb ⁶	Glob ⁷	Gluc ⁸
Macho adulto	24	0,51	11	3,6	6,6	2,3	4,3	79
Hembra adulta	106	0,45	16	4,9	7,3	3,1	4,2	152
Macho sub adulto	3M	0,49	25	7,8	2,5	1,1	1,4	43
Nivel de decisión⁹		0,52	15	5,5	3			60

¹ Identificación, ² Conteo de Glóbulos Rojos ($\times 10^6/\mu\text{l}$), ³ Hematocrito (%), ⁴ Hemoglobina (g/dl), ⁵ Proteínas totales (g/dl), ⁶ Albúmina (g/dl), ⁷ Globulina (g/dl), ⁸ Glucosa (mg/dl) ⁹ Niveles mínimos a considerar en la presente investigación.

Los resultados hematológicos de los cocodrilos adultos, macho 24 y hembra 106 (Cuadro 3) con un CGR, Htc y Hb se ubicaron por debajo de los niveles de decisión y en conjunto, indicaron que cursaban con algún tipo de anemia, un signo de enfermedad subyacente.

Respecto al cocodrilo macho 3M sub adulto (Cuadro 3), sus valores denotaron hipoproteinemia con hipoglucemia. La primera, posiblemente por malabsorción o mala digestión (parasitismo intestinal) (Martínez-Silvestre et al., 2013) y la segunda por privación de alimento (Campbell, 2013).

Adicionalmente, los resultados de la química plasmática del cocodrilo 48 sin clase y sin sexo, se descartaron como datos atípicos (proteínas plasmáticas: 0,1 g/dl; albúmina 0,0 g/dl; globulinas: 0,1 g/dl; AST: 10 UI/L), así como, los valores de creatina quinasa (CK) del macho 367 sub adulto (CK: 41 UI/L) y del cocodrilo 53 sin sexar y sin clase (CK: 90 UI/L). La causa de este resultado se desconoce. Probablemente relacionados con el tiempo transcurrido en su procesamiento (entre 24 - 48 hrs).

Por lo tanto, de la población capturada (N = 42) se analizaron treinta y nueve muestras para hematología (n = 39), treinta y ocho para química sanguínea (n = 38) y el único metabolito con treinta y cinco (n = 35) valores fue la CK, contrastando 12 hembras frente a 24 machos, 24 adultos frente a 10 sub adultos y 25 individuos en la época lluviosa frente a 14 en la seca.

De forma preliminar, el resumen estadístico de los valores hematológicos y químicos plasmáticos, sin distinción de sexo, clase o estación, se muestran en el Cuadro 4 (Ver Anexo 2. Resultados hematológicos y Anexo 3. Resultados químicos plasmáticos).

Cuadro 4. Resumen estadístico de los valores hematológicos y químicos plasmáticos de cocodrilos americanos (*Crocodylus acutus*) capturados en estanques de tilapia en Guanacaste, Costa Rica.

Parámetro	Unidad	n	Media	DE*	Min	Mediana	Máx
CGR	(x10 ⁶ /μl)	39	0.68	0.14	0.37	0.65	0.97
Hematocrito	(%)	39	24.64	3.06	19	25	31
Hemoglobina	(g/dl)	39	7.72	0.96	5.8	7.8	10.3
VCM	(fl)	39	374.12	80.89	235.29	380.89	602.74
HCM	(pg)	39	117.28	25.42	68.24	115.33	186.3
CHCM	(g/dl)	39	31.29	2.41	27	30	37
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	39	9.44	9.93	0	6	38
CGB	(x10 ³ /μl)	39	6.98	2.77	2.65	6.75	13.15
Heterófilos	(%)	39	21.59	7.3	10	20	44
Linfocitos	(%)	39	67.82	7.7	47	68	80
Basófilos	(%)	39	4	3.36	0	3	17
Monocitos	(%)	39	1.79	1.26	0	2	4
Eosinófilos	(%)	39	4.79	2.53	0	5	12
Proteínas totales	(g/dl)	38	6.59	1.19	4.5	6.5	9.6
Albúmina	(g/dl)	38	2.73	0.34	1.9	2.8	3.5
Globulina	(g/dl)	38	3.86	1.01	2.5	3.7	6.1
A/G		38	0.74	0.18	0.48	0.71	1.13
Glucosa	(mg/dl)	38	108.49	27.97	46	105	166
Colesterol	(mg/dl)	38	174.51	51.19	99	166	344
Ácido	(UI/L)	38	5.2	2.33	1.8	4.7	14.2
AST	(UI/L)	38	57.11	22.66	27	53	160
CK	(UI/L)	35	1,425.26	1,409	208	1,013	7,053

* Desviación estándar

Previo al contraste estadístico, todas las variables se sometieron a las pruebas de normalidad (Anderson-Darling, $A = 0.757$) y homogeneidad de varianzas entre machos y hembras (F de Fisher, $gl = 23, 11$) (Cuadro 5), adultos y sub adultos (K^2 de Bartlett) (Cuadro 6), estación lluviosa y seca (Cuadro 7), para determinar si presentaban una distribución normal ($p = 0.05$) y decidir el tipo de estadística paramétrica o no paramétrica para su análisis.

Cuadro 5. Prueba de Anderson - Darling ($A = 0.757$) y Fisher ($F = 0.314 - 2.236$) entre machos ($gl = 23$) y hembras ($gl = 11$) $\alpha = 0.05$.

Parámetro	Unidad	Machos		Hembras		Contraste	
		A	p	A	p	F	p
CGR	($\times 10^6/\mu l$)	0.981	0.011	0.196	0.858	1.909	0.185
Hematocrito	(%)	0.425	0.292	0.166	0.917	1.318	0.552
Hemoglobina	(g/dl)	0.536	0.153	0.241	0.711	1.702	0.272
VCM	(fl)	0.343	0.461	0.489	0.179	1.591	0.335
HCM	(pg)	0.311	0.529	0.499	0.168	1.68	0.284
CHCM	(g/dl)	1.101	0.006	0.61	0.086	2.056	0.14
Trombocitos	($\times 10^3/\mu l$)	0.999	0.01	0.759	0.035	2.455	0.067
CGB	($\times 10^3/\mu l$)	0.694	0.061	0.253	0.668	0.845	0.799
Heterófilos	(%)	0.636	0.085	0.285	0.562	0.34	0.067
Linfocitos	(%)	0.493	0.197	0.185	0.886	0.415	0.131
Basófilos	(%)	1.387	0.001	0.337	0.44	0.4	0.117
Monocitos	(%)	0.863	0.023	0.987	0.009	0.714	0.572
Eosinófilos	(%)	0.405	0.327	0.28	0.578	2.331	0.084
Proteínas totales	(g/dl)	0.882	0.02	0.541	0.129	0.885	0.866
Albumina	(g/dl)	0.424	0.293	0.495	0.173	0.408	0.124
Globulina	(g/dl)	0.757	0.042	0.568	0.111	0.873	0.847
A/G		0.66	0.074	0.453	0.223	0.549	0.302
Glucosa	(mg/dl)	0.178	0.909	1.073	0.005	0.766	0.662
Colesterol	(mg/dl)	0.745	0.045	0.413	0.284	3.314	0.015
Ácido	(UI/L)	0.519	0.169	0.817	0.024	3.717	0.008
AST	(UI/L)	1.775	0	0.31	0.509	0.265	0.026
CK	(UI/L)	2.17	0	1.049	0.006	0.24	0.018

Acumulativo ($n = 36$); Machos ($n = 24$); Hembras ($n = 12$)

Cuadro 6. Prueba de Anderson - Darling ($A = 0.757$) y Bartlett (K^2) entre adultos y sub adultos. $\alpha = 0.05$.

Parámetro	Unidad	Adultos		Sub adultos		Contraste	
		A	p	A	p	K^2	p
CGR	($\times 10^6/\mu\text{l}$)	0.679	0.067	0.34	0.419	3.767	0.052
Hematocrito	(%)	0.205	0.857	0.179	0.89	2.089	0.148
Hemoglobina	(g/dl)	0.307	0.538	0.416	0.265	1.143	0.285
VCM	(fl)	0.314	0.523	0.369	0.353	3.007	0.083
HCM	(pg)	0.503	0.186	0.324	0.459	3.74	0.053
CHCM	(g/dl)	1.008	0.01	0.427	0.249	1.266	0.261
Trombocitos	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	1.621	0	0.77	0.03	0.757	0.384
CGB	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0.309	0.533	0.485	0.173	0.786	0.375
Heterófilos	(%)	0.94	0.014	0.356	0.381	0.029	0.865
Linfocitos	(%)	0.304	0.545	0.308	0.503	2.233	0.135
Basófilos	(%)	1.176	0.004	0.632	0.07	3.967	0.046
Monocitos	(%)	1.032	0.008	0.496	0.162	0.105	0.746
Eosinófilos	(%)	0.305	0.541	0.367	0.358	0.485	0.486
Proteínas totales	(g/dl)	1.071	0.007	0.427	0.249	0.237	0.627
Albumina	(g/dl)	0.88	0.02	0.217	0.783	0.043	0.836
Globulina	(g/dl)	1.053	0.007	0.394	0.304	0.002	0.963
A/G		0.712	0.055	0.246	0.679	3.546	0.06
Glucosa	(mg/dl)	0.495	0.194	0.312	0.493	5.904	0.015
Colesterol	(mg/dl)	1.625	0	0.216	0.785	0	0.994
Ácido	(UI/L)	1.311	0.002	0.691	0.049	0.684	0.408
AST	(UI/L)	0.306	0.539	0.67	0.055	16.467	0
CK	(UI/L)	1.516	0	1.936	0	0.042	0.837

Acumulativo (n = 36); Machos (n = 24); Hembras (n = 12)

Cuadro 7. Prueba de Anderson - Darling ($A = 0.757$) y Bartlett (K^2) entre estación lluviosa y seca. $\alpha = 0.05$.

Parámetro	Unidad	Lluviosa		Seca		Contraste	
		A	p	A	p	K^2	p
CGR	($\times 10^6/\mu\text{l}$)	0.674	0.069	0.281	0.584	0.21	0.647
Hematocrito	(%)	0.314	0.524	0.263	0.643	0.633	0.426
Hemoglobina	(g/dl)	0.402	0.334	0.339	0.446	0.015	0.902
VCM	(fl)	0.435	0.276	0.173	0.909	1.461	0.227
HCM	(pg)	0.323	0.509	0.359	0.398	1.094	0.296
CHCM	(g/dl)	0.479	0.215	1.554	0	0.002	0.964
Trombocitos	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	2.048	0	0.218	0.8	2.754	0.097
CGB	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0.705	0.057	0.254	0.674	0.023	0.88
Heterófilos	(%)	0.449	0.256	0.578	0.11	0.828	0.363
Linfocitos	(%)	0.468	0.229	0.696	0.053	3.892	0.049
Basófilos	(%)	1.587	0	0.422	0.277	1.796	0.18
Monocitos	(%)	1.038	0.008	0.962	0.011	2.067	0.151
Eosinófilos	(%)	0.466	0.232	0.409	0.298	0.326	0.568
Proteínas totales	(g/dl)	1.758	0	0.606	0.09	1.71	0.191
Albumina	(g/dl)	0.332	0.489	0.61	0.088	7.921	0.005
Globulina	(g/dl)	1.34	0.001	0.299	0.533	0.367	0.545
A/G		0.267	0.658	0.764	0.035	2.229	0.135
Glucosa	(mg/dl)	0.27	0.649	0.969	0.01	0.262	0.609
Colesterol	(mg/dl)	0.529	0.16	0.746	0.04	7.502	0.006
Ácido	(UI/L)	1.355	0.001	0.547	0.129	2.951	0.086
AST	(UI/L)	1.837	0	0.436	0.254	7.011	0.008
CK	(UI/L)	1.825	0	0.257	0.661	20.3	0

Acumulativo (n = 34); Lluviosa (n = 25); Seca (n = 14)

Hematología

Del Cuadro 8 al Cuadro 10, se resumen la media, desviación estándar (DE) y contraste de cada variable hematológica por sexo, clase y estación. No existió evidencia suficiente para detectar diferencias significativas entre clases o sexos con el CGR, VCM, HCM, CHCM y CGB (Cuadro 8 y Cuadro 9).

Sin embargo, al comparar el Htc ($t = 2.797$, $gl = 34$, $p\text{-valor} = 0.008$) y Hb ($t = 3.145$, $gl = 34$, $p\text{-valor} = 0.003$) por sexos, se observó que las hembras presentaron valores superiores a los machos (Figura 5), con una diferencia de 2.6% ($IC_{90\%}$, 0.844, 4.406) en el Htc, y de 0.879 g/dl ($IC_{90\%}$, 0.301, 1.457) con la Hb.

Durante la estación seca, el Htc ($t = -2.998$, $gl = 37$, $p\text{-valor} = 0.005$) y la Hb ($t = -2.339$, $gl = 37$, $p\text{-valor} = 0.025$) presentaron un incremento de 2.285% ($IC_{90\%}$, 0.463, 4.108) y 0.263 g/dl ($IC_{90\%}$, -0.328, 0.855) respectivamente. Otro parámetro que presentó diferencias significativas ($U = 67$, $p\text{-valor} = 0.001$) durante la estación seca, fueron los trombocitos con un incremento de 11.695 células ($\times 10^6/\mu\text{l}$) respecto a lo observado en la época lluviosa (Figura 4).

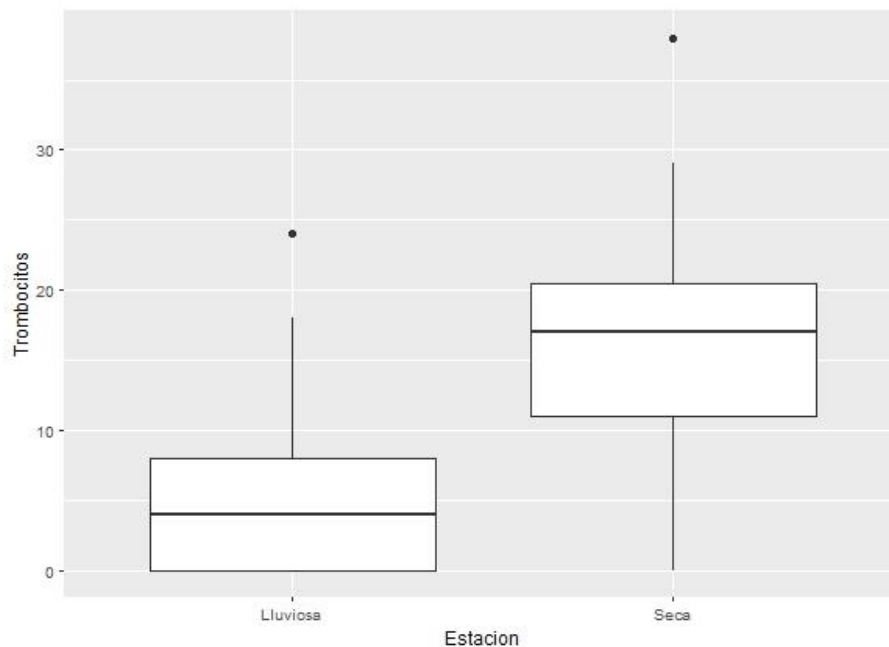


Figura 4. Comparación de trombocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) por estación lluviosa ($n = 25$) y seca ($n = 14$).

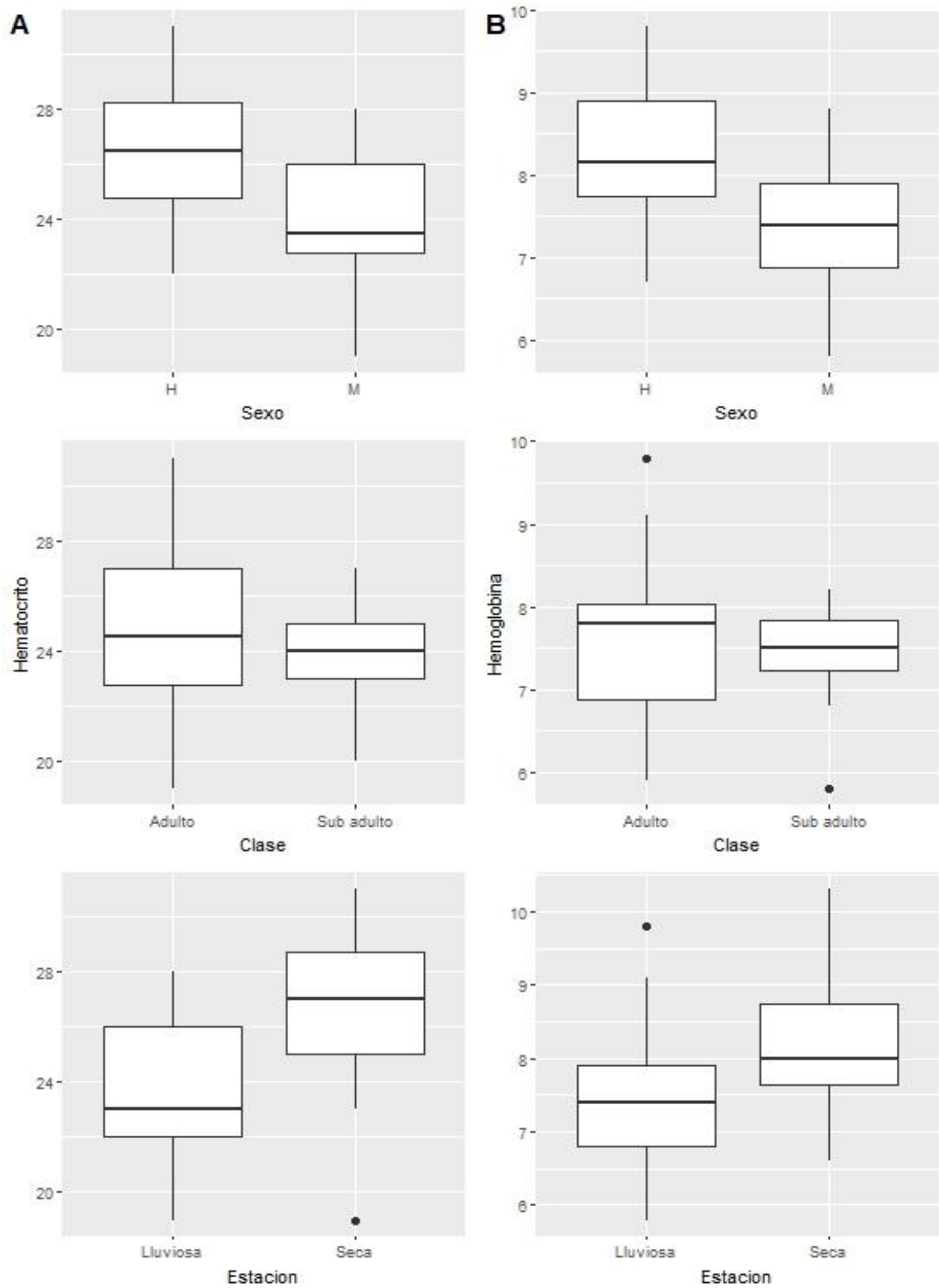


Figura 5. Comparación de hematocrito (%) (A) y hemoglobina (g/dl) (B) entre sexos, clases y estación. Hembras (n = 12); Machos (n = 24). Adultos (n = 24; ♀:7 - ♂:17); Sub adultos (n = 10; ♀: 4 - ♂:6). Individuos por estación lluviosa (n = 25) y seca (n = 14).

Cuadro 8. Media, desviación estándar (DE) y contraste por sexo (gl = 34, $\alpha = 0.05$).

Parámetro	Unidad	Hembras		Machos		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
CGR	($\times 10^6/\mu\text{l}$)	0.730	0.172	0.662	0.124		191.000	0.118
Hematocrito	(%)	26.333	2.902	23.708	2.528	2.797		0.008
Hemoglobina	(g/dl)	8.216	0.931	7.337	0.713	3.145		0.003
VCM	(fl)	379.652	96.471	369.698	76.474	0.337		0.783
HCM	(pg)	118.338	29.948	114.401	23.108	0.436		0.665
CHCM	(g/dl)	31.287	2.857	31.028	1.993		148.500	0.891
Trombocitos	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	11.500	13.228	8.333	8.442		156.000	0.692
CGB	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	7.004	2.573	7.077	2.799	-0.075		0.940

♂ = 24; ♀ = 12

Cuadro 9. Media, desviación estándar (DE) y contraste por clase (gl = 32, $\alpha = 0.05$).

Parámetro	Unidad	Adultos		Sub adultos		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
CGR	($\times 10^6/\mu\text{l}$)	0.668	0.120	0.715	0.202	-0.833		0.410
Hematocrito	(%)	24.583	3.147	23.900	2.024	0.631		0.532
Hemoglobina	(g/dl)	7.670	0.950	7.380	0.690	0.873		0.389
VCM	(fl)	376.888	71.725	362.139	114.351	0.456		0.651
HCM	(pg)	117.444	21.340	111.865	35.831	0.564		0.575
CHCM	(g/dl)	31.325	2.521	30.833	1.800		130	0.715
Trombocitos	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	9.416	11.131	7.900	8.608		117	0.922
CGB	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	7.139	2.555	6.544	3.259	0.569		0.572

Adultos = 24; Sub adultos = 10

Cuadro 10. Media, desviación estándar (DE) y contraste por estación (gl = 37, $\alpha = 0.05$).

Parámetro	Unidad	Lluviosa		Seca		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
CGR	($\times 10^6/\mu\text{l}$)	0.663	0.143	0.718	0.128	-1.196		0.239
Hematocrito	(%)	23.640	2.580	26.429	3.131	-2.998		0.005
Hemoglobina	(g/dl)	7.468	0.920	8.179	0.892	-2.339		0.025
VCM	(fl)	372.871	89.547	376.361	65.678	-0.128		0.899
HCM	(pg)	117.612	27.855	116.676	21.333	0.108		0.914
CHCM	(g/dl)	31.646	2.379	30.643	2.405		231	0.100
Trombocitos	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	5.520	7.113	16.429	10.603		67	0.001
CGB	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	6.582	2.787	7.682	2.682	-1.197		0.239

Lluviosa = 25; Seca = 14

Recuento diferencial leucocitario

Las células se clasificaron de acuerdo a lo descrito por Campbell (2012a, 2013, 2015). Respecto a los hallazgos morfológicos con la solución ligeramente modificada Wright-Giemsa de Samour & Howlett (2008), es de notar que los gránulos citoplasmáticos de los leucocitos fueron característicos a lo descrito por diferentes autores (Campbell, 2012a, 2013, 2015) como se puede apreciar en las imágenes de la Figura 6 a Figura 11.

La población predominante del recuento diferencial leucocitario fue de linfocitos (68%), seguida por heterófilos (22%), eosinófilos (5%), basófilos (4%) y monocitos (2%). En los Cuadro 11, Cuadro 12 y Cuadro 13 se describen los resultados del recuento diferencial leucocitario por sexo, clase y estación. Los heterófilos, linfocitos y eosinófilos, cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas entre sexos y estación.

Sin embargo, para la clase adulta los heterófilos presentaron una distribución no normal, y junto con el resto de las variables no normales el análisis se realizó con estadística no paramétrica, sin observar diferencias estadísticamente significativas por sexo, clase o estación (Cuadro 11 y Cuadro 12).

Al comparar los eosinófilos (Figura 6) por estación, se observó un incremento significativo ($t = -3.044$, $gl = 37$, $p\text{-valor} = 0.004$) de 2.326% ($IC_{95\%}$, 0.778, 3.874) durante la estación seca (Cuadro 13). Mientras que por sexo ($t = 0.41$, $gl = 34$, $p\text{-valor} = 0.684$) o clase ($t = 1.774$, $gl = 32$, $p\text{-valor} = 0.086$) no se detectaron diferencias significativas (Cuadro 11 y Cuadro 12).

Cuadro 11. Media, desviación estándar (DE) y contraste por sexo (gl = 34, $\alpha = 0.05$).

Parámetro	Unidad	Hembras		Machos		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
Heterófilos	(%)	19.580	4.580	21.750	7.860	-0.880		0.39
Linfocitos	(%)	70.170	5.360	67.080	8.320	1.160		0.25
Basófilos	(%)	3.670	2.420	4.460	3.830		135	0.77
Monocitos	(%)	1.580	1.080	2.080	1.280		110	0.24
Eosinófilos	(%)	5.000	3.300	4.630	2.160	0.410		0.68

♂ = 24; ♀ = 12

Cuadro 12. Media, desviación estándar (DE) y contraste por clase (gl = 32, $\alpha = 0.05$).

Parámetro	Unidad	Adultos		Sub adultos		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
Heterófilos	(%)	20.790	7.340	21.200	6.990		111.500	0.76
Linfocitos	(%)	68.040	6.770	68.300	10.140	-0.090		0.93
Basófilos	(%)	3.830	2.810	5.300	4.790		96.500	0.38
Monocitos	(%)	2.040	1.230	1.600	1.350		145.500	0.33
Eosinófilos	(%)	5.290	2.660	3.600	2.170	1.770		0.09

Adultos = 24; Sub adultos = 10

Cuadro 13. Media, desviación estándar (DE) y contraste por estación (gl = 37, $\alpha = 0.05$).

Parámetro	Unidad	Lluviosa		Seca		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
Heterófilos	(%)	21.600	7.930	21.570	6.300	0.010		0.99
Linfocitos	(%)	68.720	8.770	66.210	5.210	0.970		0.34
Basófilos	(%)	3.920	3.750	4.140	2.660		150.5	0.48
Monocitos	(%)	1.800	1.410	1.790	0.970		178.0	0.94
Eosinófilos	(%)	3.960	2.170	6.290	2.490	-3.040		0.00

Lluviosa = 25; Seca = 14

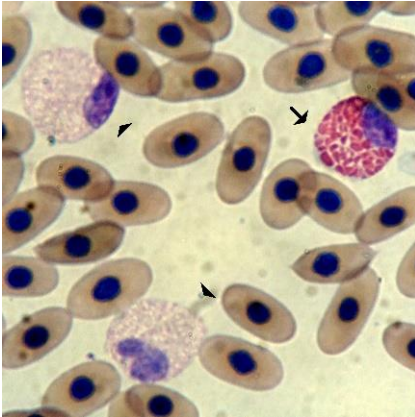


Figura 6. Heterófilos (*cabeza de flecha*) y eosinófilo (*flecha*) [40x].

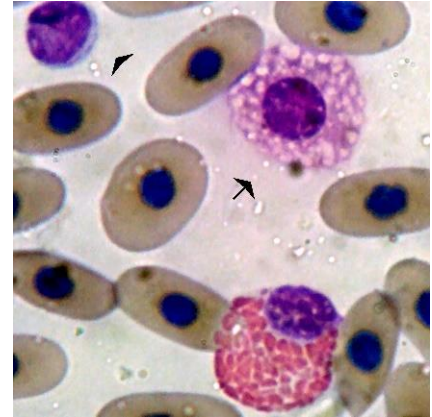


Figura 7. Linfocito (*cabeza de flecha*) y célula con gránulos despigmentados (*flecha*) [100x]

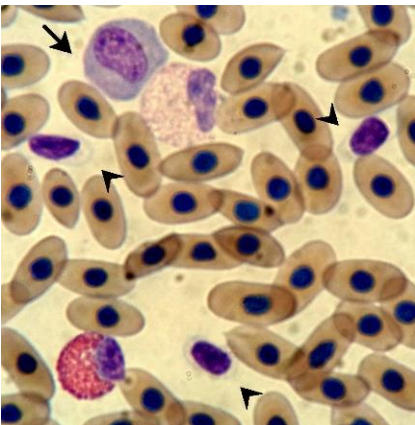


Figura 8. Monocito (*flecha*), trombocitos (*cabeza de flecha*), eosinófilo y heterófilo [40x].

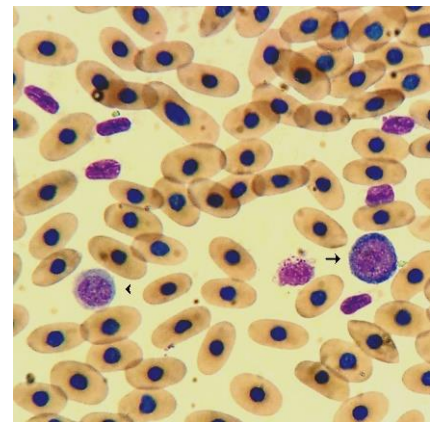


Figura 9. Plasmocito (*cabeza de flecha*), linfocito inmaduro (*flecha*) y trombocitos [40x].



Figura 10. Basófilo [100x].

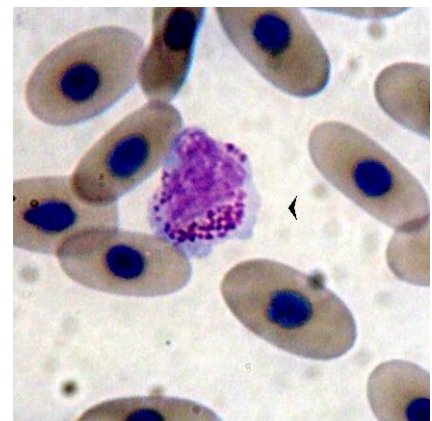


Figura 11. Linfocito reactivo [100x].

Química plasmática

En cuanto a los valores de química plasmática, la única variable que cumplió los supuestos de normalidad y homocedasticidad entre sexos fue la albúmina ($A = 0.539$, $p\text{-valor} = 0.124$), sin diferencias significativas entre machos y hembras ($t = 0.905$, $gl = 34$, $p\text{-valor} = 0.372$) o por clases con varianzas iguales ($t = -0.615$, $gl = 16.049$, $p\text{-valor} = 0.547$). Los valores medios, con desviación estándar (DE) y contraste, se muestran en los Cuadro 14, Cuadro 15 y Cuadro 16.

Las principales diferencias descriptivas fueron por estación. Para la época seca, las proteínas incrementaron en promedio 1.442 g/dl ($IC_{95\%}$, 0.762 , 2.123), con un aumento en las globulinas de 1.214 g/dl ($IC_{95\%}$, 0.631 , 1.796) y con la albúmina de 0.225 g/dl ($IC_{95\%}$, $4,493 \times 10^{-5}$, 0.45).

Respecto a las enzimas, el estadístico de Mann-Whitney-Wilcoxon indicó que existe una diferencia significativa con la enzima aspartato amino transferasa (AST) ($U = 53.5$, $p\text{-valor} = 0.013$) de 24.292 UI/L ($IC_{95\%}$, 7.996 , 40.587) entre adultos (49.708 ± 12.023) y sub adultos (74 ± 35.169) (Figura 12).

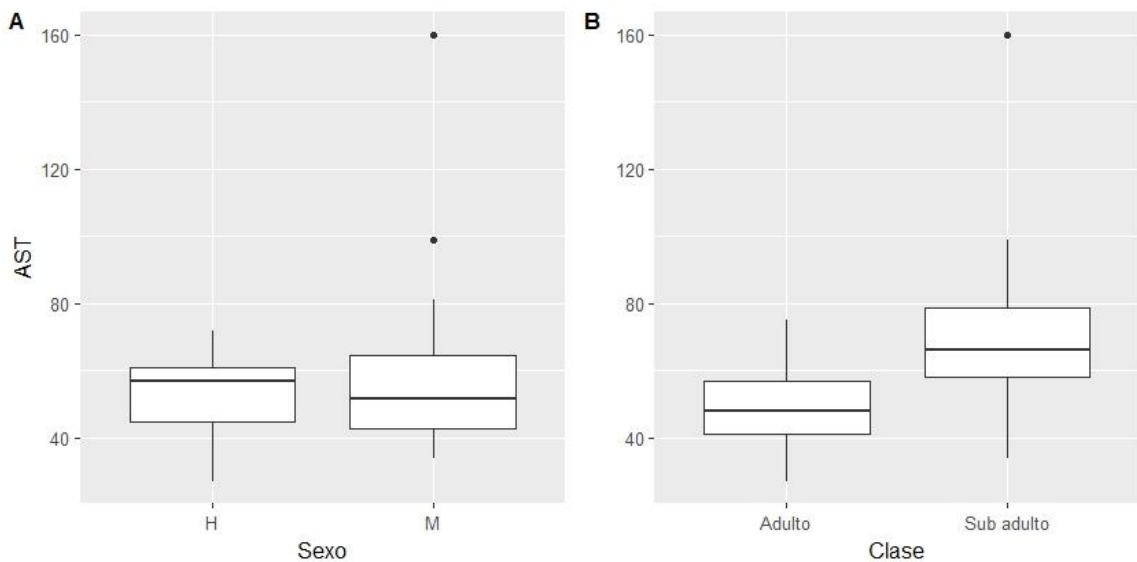


Figura 12. Comparación de la enzima aspartato aminotransferasa (AST UI/L) entre sexos (A) y clases (B).

Cuadro 14. Media, desviación estándar (DE) y contraste por sexo (gl = 34, $\alpha = 0.05$)

Parámetro	Unidad	Hembras		Machos		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
PT	(g/dl)	6.783	1.180	6.479	1.254		163.50	0.523
ALB	(g/dl)	2.782	0.240	2.674	0.376	0.905		0.372
GLOB	(g/dl)	4.000	1.002	3.807	1.072		163.50	0.5
GLUC	(mg/dl)	104.916	24.821	105.833	28.361		127.50	0.6
COL	(mg/dl)	194.416	68.143	162.958	37.433		183.50	0.191
AU	(UI/L)	5.883	3.315	4.828	1.720		159.00	1
AST	(UI/L)	53.916	13.734	58.541	26.704		148.50	1
CK	(UI/L)	1113.583	819.348	1657.000	1673.784		105.00	0.345

♂ = 24; ♀ = 12

Cuadro 15. Media, desviación estándar (DE) y contraste por clase (gl = 32, $\alpha = 0.05$)

Parámetro	Unidad	Adultos		Sub adultos		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
PT	(g/dl)	6.453	1.210	6.800	1.386		105	0.583
ALB	(g/dl)	2.686	0.341	2.770	0.362		114	0.834
GLOB	(g/dl)	3.770	1.078	4.030	1.064		95	0.354
GLUC	(mg/dl)	103.958	19.729	115.600	37.651		87	0.212
COL	(mg/dl)	171.625	53.215	178.700	53.331		105	0.571
AU	(UI/L)	5.278	2.580	5.330	2.022		117	0.925
AST	(UI/L)	49.708	12.023	74.000	35.169		54	0.013
CK	(UI/L)	1514.261	1483.072	1402.000	1575.881		116	0.621

Adultos = 24; Sub adultos = 10

Cuadro 16. Media, desviación estándar (DE) y contraste por estación (gl = 37, $\alpha = 0.05$)

Parámetro	Unidad	Lluviosa		Seca		Contraste		
		Media	DE	Media	DE	t	U	p
PT	(g/dl)	6.096	1.075	7.538	0.759		37	0.000
ALB	(g/dl)	2.652	0.379	2.877	0.169		85.5	0.018
GLOB	(g/dl)	3.448	0.879	4.661	0.752		42.5	0.000
GLUC	(mg/dl)	112.800	26.432	100.786	29.952		235	0.081
COL	(mg/dl)	164.640	35.820	192.143	69.063		140	0.312
AU	(UI/L)	5.332	2.647	4.971	1.689		185	0.781
AST	(UI/L)	56.600	26.674	54.643	17.640		150.5	0.482
CK	(UI/L)							

Lluviosa = 25; Seca = 14

Asociaciones con variables ambientales

En la matriz del Cuadro 17, se resumen los resultados numéricos de las correlaciones obtenidas con variables hematológicas, químicas plasmáticas y ambientales colectadas en el sitio de captura (temperatura de agua y aire en °C, humedad relativa en %) y los promedios obtenidos de la estación hidrológica (caudal m³/s) y meteorológicas (Temp: registros de temperatura media). De manera práctica, y con la finalidad de sintetizar la información, se realizó un correlograma entre las variables ambientales, resultados hematológicos y químicos plasmáticos (Figura 13).

Cuadro 17. Matriz de correlaciones significativas ($p < 0.05$)

	HTC	HB	TROM	PT	ALB	GLOB	A/G	GLUC	COL	CK
Agua			-0.48	-0.44		-0.42			-0.40	0.41
Aire							-0.44	-0.47		
HR	-0.38			-0.38		-0.35	0.420	0.41		
Caudal	-0.41	-0.38	-0.50	-0.63	-0.37	-0.63	0.510			
Temp	0.410	0.380	0.500	0.630	0.37	0.63	-0.51	-0.09		

HTC: Hematocrito; HB: Hemoglobina; TROM: Trombocitos; PT: Proteínas totales; ALB: Albúmina; GLOB: Globulina; A/G: Razón albúmina / globulina; COL: Colesterol; CK: Creatina quinasa

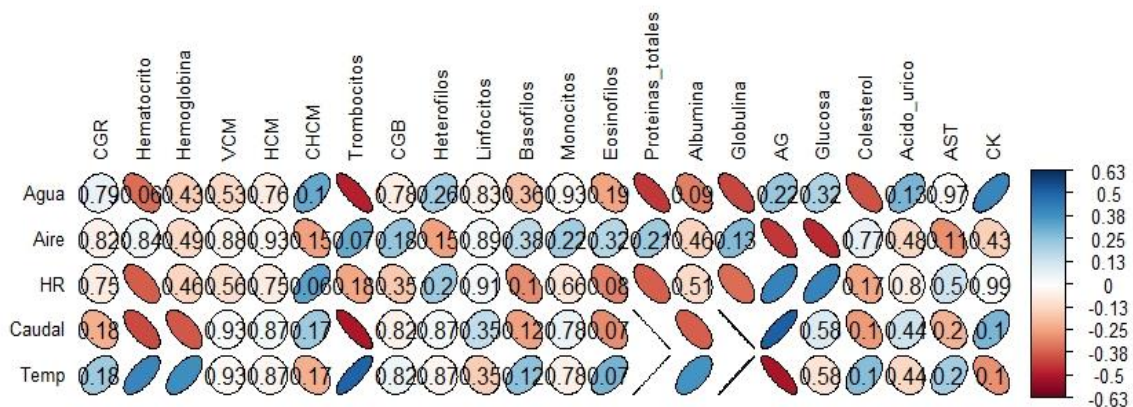


Figura 13. Correlograma de variables ambientales y hematológicas. Nótese el intervalo de correlaciones con el método de Spearman (Rho: 0.63 a -0.63) y el nivel de significancia dentro de las elipses. Elipses que no presentan valor numérico, son correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Como se puede apreciar visualmente en el correlograma (Figura 13) el hematocrito, hemoglobina, trombocitos, proteínas totales, fracciones albúmina y globulina, razón A/G, glucosa, colesterol y creatina quinasa, fueron las variables que presentaron correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con variables ambientales.

La matriz de correlaciones significativas del Cuadro 17 muestra que las variables de temperatura media (Temp), caudal y temperatura del agua (Agua: en el sitio de captura), fueron las que presentaron correlación moderada (0.51 - 0.75). De hecho, la mayor correlación positiva se observó entre la temperatura media y las proteínas totales (Rho = 0.627, p-valor = 0), principalmente con la fracción correspondiente a las globulinas (Rho = 0.626, p-valor = 0) y en menor medida con la albúmina (Rho = 0.37, p-valor = 0.022). En contraste, la mayor correlación negativa detectada fue entre el caudal del río y las proteínas totales (Rho = -0.627, p-valor = 0), seguida de la temperatura media con la razón A/G (Rho = -0.511, p-valor = 0.001)

Las variables que presentaron menor correlación negativa ($0.26 < 0.50$) se observaron entre la temperatura media y glucosa (Rho = -0.092, p-valor = 0.578), seguida de la humedad relativa con el hematocrito (Rho = -0.412, p-valor = 0.009) y proteínas totales. Finalmente, la variable que se asoció inversamente con el colesterol (Rho = -0.398, p-valor = 0.032) y la enzima CK (Rho = 0.412, p-valor = 0.033) fue la temperatura del agua (Cuadro 18).

Cuadro 18. Correlaciones con el método de Spearman (Rho) y significancia ($\alpha = 0.05$)

Parámetro	Unidad	Agua		Aire		HR		Caudal		Temp	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
CGR	($\times 10^6/\mu\text{l}$)	0.051	0.792	-0.040	0.825	-0.057	0.754	-0.221	0.177	0.221	0.177
Hematocrito	(%)	-0.349	0.064	0.036	0.843	-0.378	0.03	-0.412	0.009	0.412	0.009
Hemoglobina	(g/dl)	-0.153	0.428	-0.124	0.492	-0.134	0.456	-0.384	0.016	0.384	0.016
VCM	(fl)	-0.122	0.528	-0.028	0.877	-0.105	0.563	0.014	0.931	-0.014	0.931
HCM	(pg)	-0.060	0.759	-0.016	0.932	-0.057	0.753	0.027	0.87	-0.027	0.87
CHCM	(g/dl)	0.315	0.096	-0.255	0.152	0.337	0.055	0.223	0.173	-0.223	0.173
Trombocitos	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	-0.484	0.008	0.319	0.070	-0.24	0.178	-0.505	0.001	0.505	0.001
CGB	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	-0.055	0.776	0.240	0.179	-0.168	0.35	-0.039	0.815	0.039	0.815
Heterófilos	(%)	0.214	0.264	-0.254	0.153	0.231	0.197	0.027	0.871	-0.027	0.871
Linfocitos	(%)	-0.041	0.832	0.025	0.888	0.019	0.914	0.154	0.349	-0.154	0.349
Basófilos	(%)	-0.177	0.357	0.158	0.379	-0.293	0.098	-0.254	0.119	0.254	0.119
Monocitos	(%)	-0.017	0.93	0.217	0.224	-0.079	0.662	0.046	0.781	-0.046	0.781
Eosinófilos	(%)	-0.248	0.194	0.177	0.325	-0.311	0.078	-0.294	0.069	0.294	0.069
Proteínas totales	(g/dl)	-0.442	0.016	0.223	0.213	-0.376	0.031	-0.627	0.000	0.627	0.000
Albúmina	(g/dl)	-0.318	0.093	-0.132	0.462	-0.119	0.511	-0.37	0.022	0.37	0.022
Globulina	(g/dl)	-0.418	0.024	0.272	0.126	-0.348	0.047	-0.626	0.000	0.626	0.000
A/G		0.233	0.223	-0.441	0.01	0.416	0.016	0.511	0.001	-0.511	0.001
Glucosa	(mg/dl)	0.191	0.322	-0.468	0.006	0.415	0.016	0.092	0.578	-0.092	0.578
Colesterol	(mg/dl)	-0.398	0.032	0.053	0.77	-0.243	0.172	-0.264	0.105	0.264	0.105
Ácido úrico	(UI/L)	0.288	0.129	-0.126	0.484	-0.046	0.800	0.127	0.44	-0.127	0.44
AST	(UI/L)	-0.007	0.972	-0.286	0.106	0.12	0.505	-0.215	0.195	0.215	0.195
CK	(UI/L)	0.412	0.033	-0.13	0.479	-0.042	0.822	0.283	0.089	-0.283	0.089

Valores hematológicos

Debido al desbalance observado en el presente estudio, y de acuerdo con las recomendaciones proporcionadas por Cray (2015), se decidió establecer valores hematológicos sin distinción de sexo, clase o estación ($n = 39$) (Cuadro 19), así como para machos ($n = 24$) (Cuadro 20), adultos ($n = 24$) (Cuadro 21) y para la estación lluviosa ($n = 25$) (Cuadro 22).

De acuerdo con Cray (2015), muestras menores a 20 observaciones no deben ser consideradas para la generación de valores hematológicos. Sin embargo, se pueden presentar todos los resultados obtenidos para que el usuario y lector puedan comprender la variación en los datos (Ver Anexo 2. Resultados hematológicos y Anexo 3. Resultados químicos plasmáticos).

Adicionalmente, los valores hematológicos y químicos plasmáticos se detallan por sexo (Cuadro 23), clase (Cuadro 24) y estación (Cuadro 25) con su respectivo resumen estadístico para el lector.

De acuerdo a lo explicado en la sección análisis de datos (página 27), todos los parámetros se sometieron a transformación Box-Cox (BC) normalizando los datos. Sin embargo, para algunos valores no fue posible normalizar la distribución, principalmente con los resultados del recuento diferencial leucocitario y variables ambientales, por tanto, no fue posible calcular los valores hematológicos respectivos con el método BC, calculando los límites con el método estándar con un $IC_{90\%}$.

Discusión

Para la interpretación de los hallazgos observados en la presente investigación, es importante recordar que los valores hematológicos calculados de forma acumulativa, así como para machos, adultos y por estación lluviosa, se realizaron con un IC_{90%} por tratarse de un análisis estadístico con limitaciones en el tamaño de muestra (n = 20 - 40).

Hematología

En la presente investigación, los intervalos para el CGR de datos acumulativos (0.43 - 1.00 x 10⁶/μl) difieren con lo reportado por Stacy & Whitaker (2000); Padilla (2008) y Padilla et al., (2011), observándose valores por debajo del límite inferior de los intervalos propuestos por estos autores. Stacy & Whitaker (2000) reportan un intervalo de 0.64 - 0.99 (x10⁶/μl) para cocodrilos adultos en cautiverio de la especie *Crocodylus palustris*, sin distinción de sexo.

En el trabajo realizado por Padilla (2008), los valores eritrocitarios de cocodrilos silvestres (n = 30) de la especie *Crocodylus moreletti*, fueron de 0.52 - 1.61 (x10⁶/μl). Posteriormente, Padilla et al., (2011) reportan para la misma especie (*C. moreletti*), un intervalo de 0.93 - 1.16 (x10⁶/μl) con individuos silvestres y de cautiverio, con mayor número de muestra (n = 45).

Ambos autores y colaboradores, realizan comparativos con reportes de resultados previos en diferentes especies (*Alligator mississippiensis*, *Caiman spp*, *C. porosus*, *C. mindorensis*, *C. niloticus* y *C. acutus*). Una de las especies reportadas por Stacy & Whitaker (2000) fue la del presente estudio (*C. acutus*), pero con muy pocos parámetros, entre los cuales se reporta un Htc del 26%, glucosa de 101 (mg/dl), sodio de 149 (mEq/L), potasio de 7.9 (mEq/L) y cloro de 117 (mEq/L).

Para el CGR en el cuadro comparativo de Padilla et al., (2011), se observa un intervalo de 0.61 - 1.48 (x10⁶/μl) para el *A. mississippiensis*; 0.64 - 0.99 (x10⁶/μl) con el *C. palustris* (adulto); 0.60 - 1.20 (x10⁶/μl) en *C. porosus*; 0.98 - 1.14 (x10⁶/μl) con *C. moreletii* sin distinción de sexo y procedencia (cautiverio / vida libre).

El intervalo generado para el CGR del presente estudio, puede verse influenciado por la hembra con ID 102 con una LT (longitud total) de 150.50 cm y un peso de 9.30 kg. Con este organismo se obtuvo un CGR de 0.365 (x10⁶/μl), un Htc de 22% y concentración Hb 6.80 (g/dl). Los valores de Htc y Hb, se situaron por encima de los niveles de decisión

(ND; descritos en la página 28) con los cuales podemos descartar que padezca de algún tipo de anemia (enfermedad subyacente).

Existen dos causas por las cuales puedo verse disminuido el CGR en esta muestra sanguínea. Por hemodilución y tiempo de procesamiento posterior a la obtención. Otro aspecto a considerar es el método manual de conteo, el cual presenta un margen de error del 10% para la técnica en general (Campbell, 2015b). A pesar de ello, comúnmente es empleado por la facilidad de realización en la práctica clínica.

Sin embargo, fue el único individuo en el límite inferior de la clase sub adulto (causi juvenil) que presentó un valor de CGR por debajo del ND. Por lo tanto, se decidió incluirlo en el análisis de los resultados.

Por sexo, no se detectaron diferencias significativas. Campbell (2015) menciona que en algunas especies de reptiles los machos presentan CGR mayores al de las hembras. Sin embargo, en el presente estudio el valor medio en los machos (CGR: 0.66 ± 0.12) fue menor al de las hembras (CGR: 0.73 ± 0.17), lo cual concuerda con lo sugerido por Padilla (2008) para el *C. moreletii*, pero contrario a los resultados de Stacy & Whitaker (2000) con *C. palustris*, donde los machos presentaron valores superiores al de las hembras bajo condiciones de cautividad.

Respecto al hematocrito (Htc) y hemoglobina (Hb), el intervalo obtenido (Htc: 18.38 - 30.94%; Hb: 5.75 - 9.70 g/dl) de ambos parámetros se ubicó dentro de lo reportado por Campbell (2015) para la mayoría de reptiles (Htc: 15 - 55%; Hb: 5.5 - 12 g/dl).

La evidencia existente para la diferencia observada en el Htc y Hb por estación, sugieren que para la época seca intervinieron dos eventos fisiológicos que causaron este incremento. El primero, por deshidratación leve a moderada, resultando en hemoconcentración junto con un incremento de proteínas totales (PT).

El segundo, se debe a disminución en los niveles de agua en el medio, incremento de temperatura ambiente y respuesta de huida. Cuando una especie intenta escapar, se genera una respuesta vascular adrenérgica (contracción esplénica) estimulada por la liberación de epinefrina, como ocurre con la excitación, miedo, dolor o actividad física.

Para especies semi acuáticas, como los crocodílidos, este tipo de respuesta de huida está asociado a un mayor tiempo de inmersión (actividad física) y por consecuencia un incremento en el Htc y Hb, aumentando la afinidad y capacidad de transporte de oxígeno significativamente, como lo reportan Campbell et al., (2010), Wells, Beard, & Grigg

(1991) en *C. porosus*, y Eme et al., (2009), Emswiller & Gleeson (1997) en *A. mississippiensis*.

Adicionalmente, durante la época seca se observó un incremento significativo de trombocitos. Frye (1991) citado por Martínez-Silvestre et al., (2011), menciona la importancia de las células en la formación del trombo, coagulación, cicatrización, y señala que “*en condiciones de anemia, pueden adquirir capacidad de transportar oxígeno, cubriendo la demanda por la pérdida eritrocitaria*”. Debido a los ND, podemos concluir que los valores obtenidos no fueron sugestivos de anemia. Sin embargo, debido a la posible capacidad de los trombocitos en cubrir la demanda de oxígeno, es probable que el incremento observado esté asociado a lo obtenido con el Htc y Hb.

Recuento diferencial leucocitario

Los valores del recuento leucocitario fueron similares a los reportados para otros cocodrilos. Campbell (2015) reporta para la mayoría de reptiles una población predominante de linfocitos del 80%, heterófilos al 40%, basófilos 0-40%, eosinófilos hasta el 20% y monocitos de 0-10%. En el presente estudio, la población predominante fue de linfocitos (68%), seguida por heterófilos (22%), eosinófilos (5%), basófilos (4%) y monocitos (2%), detectando una diferencia significativa con eosinófilos por estación.

A diferencia de los datos publicados para *C. moreletti*, *C. palustris*, y *Caiman latirostris* (juveniles) (Padilla et al., 2011; Stacy & Whitaker, 2000; Zayas et al., 2011), el valor medio de los eosinófilos fue similar a lo publicado para *A. mississippiensis* y *C. niloticus* (Glassman, Bennet, & Hazen, 1981; Lovely et al., 2007). Los cambios significativos observados durante la estación seca con eosinófilos, sugieren asociación con enfermedades parasitarias o estimulación antigénica. Los gránulos de los eosinófilos de reptiles contienen glicógeno, mieloperoxidasas y proteínas básicas (Campbell, 2012b) que liberan potentes toxinas contra parásitos (principalmente helmintos), inactivando leucotrienos y causando la liberación de histamina de mastocitos (Campbell, 2012b).

En el presente estudio, no se determinó la carga parasitaria interna o externa. Durante la colecta de muestras sanguíneas, se detectó visualmente a varios cocodrilos con moderada infestación por el parásito *Paratrichosoma recurvum*. Padilla (2008), estudió la relación entre este parásito y los análisis hematológicos, reportando una correlación positiva entre la presencia del parásito y los valores del CGB ($r = 0.350$; $p < 0.001$) y monocitos ($r = 0.253$; $p < 0.05$). Sin embargo, sugiere realizar más estudios para

determinar el efecto que tiene la presencia del nemátodo en la salud del cocodrilo de pantano.

Química plasmática

Similar a lo observado para el Htc, Hb y eosinófilos, durante la estación seca las proteínas totales (PT) y principalmente la fracción proteica correspondiente a las globulinas (GLOB), presentaron incrementos significativos.

Kerr (2002), describe tres principales causas que provocan un incremento en la concentración de las PT en mamíferos. La primera por deficiencia relativa de agua; cuando incrementan por esta razón, todas las fracciones proteicas (albúmina y globulinas) incrementan aproximadamente el mismo porcentaje. Cuando existe un incremento absoluto en las proteínas debido a otras causas, únicamente la fracción globulínica incrementa, mientras que la albúmina permanece sin cambios o reducciones.

La segunda causa se produce por inflamaciones crónicas y enfermedades inmunomediadas, que pueden causar incrementos en la fracciones globulínicas (Kerr, 2002). La tercera se atribuye a la paraproteinemia, que es una aparición anormalmente grande de una inmunoglobulina. Básicamente, se detecta cuando las proteínas totales son extremadamente elevadas y la albúmina marcadamente disminuida (Kerr, 2002).

Para reptiles, Martínez-Silvestre et al., (2013) proporcionan variaciones fisiológicas y de utilidad diagnóstica. Por ejemplo, fisiológicamente se detecta hiperalbuminemia como consecuencia de la deshidratación durante la hibernación, así como, por actividad ovárica en tortugas o al final de la gravidez en iguanas.

De utilidad diagnóstica, la hipoproteinemia se asocia a problemas de malnutrición crónica, malabsorción, mala digestión relacionada con parasitismo intestinal, enteropatías con pérdida de proteínas, pérdida de sangre, enfermedad hepática o renal crónica y edema generalizado. En contraste, la hiperproteinemia se asocia a deshidratación o a una elevación de fracción globulínica, debido a enfermedad inflamatoria crónica (Martínez-Silvestre et al., 2013).

De acuerdo con Campbell (2012a, 2012b) el incremento observado en las PT podría estar inducido por estrógenos (foliculogénesis), ingesta de una dieta alta en proteína o deshidratación. Con base en lo descrito por Martínez-Silvestre et al., (2013), los promedios obtenidos en las PT para la estación seca (7.538 ± 0.759 g/dl) con un

intervalo de 6.60 - 8.60 (g/dl), corresponden a una ligera hiperproteinemia asociada a una elevación en la fracción globulínica (4.662 ± 0.752 g/dl), sugerente de algún proceso inflamatorio crónico u estimulación antigénica.

Sin embargo, y debido a que parte del ciclo reproductivo del *Crocodylus acutus* inicia a mediados de septiembre hasta principios de febrero, donde se observa el cortejo y cópula, existe la posibilidad que el incremento detectado en hembras fuera inducido por estrógenos o progesterona. Durante la época seca en el mes de marzo, se capturaron 6 hembras (3 adultas, 2 sub adultas, 1 sin clase), 5 machos (4 adultos, 1 sin clase) y 3 cocodrilos sin clase.

Así mismo, para ambos casos (machos y hembras) el incremento en las PT posiblemente está asociado con ingesta de una dieta alta en proteínas (Campbell, 2012a). Con los registros de aforo obtenidos de la estación hidrológica "La Guardia", se determinó que para el mes de marzo existió un descenso del caudal del río de $9.05 \text{ m}^3/\text{s}$ con respecto al promedio de $18.6 \text{ m}^3/\text{s}$ para la época seca. Una disminución tan marcada podría tener diversas consecuencias, entre las cuales se observaría un incremento en las interacciones agonísticas de competencia por alimento.

Esta hipótesis, supondría que los cocodrilos realizan desplazamientos a sitios con mayor disponibilidad de recurso alimenticio, como los estanques de tilapia (*O. niloticus*), implicando un desgaste energético considerable y como consecuencia de las interacciones por competencia, lesiones que favorecen el desarrollo de procesos inflamatorios con utilización de factores que permitan la cicatrización y coagulación, como se observó con el incremento de los trombocitos durante la misma época seca.

Debido a este tipo de competencia, fisiológicamente el organismo requiere altos niveles plasmáticos de glucosa, los cuales para el presente estudio fueron superiores (> 100 mg/dl) a los reportados por Campbell (2012a) para la mayoría de reptiles (60 - 100 mg/dl), sin considerarse hiperglicémicos de acuerdo a Padilla et al., (2011) (> 200 mg/dl).

Las fuentes de glucosa plasmática pueden ser diversas. En mamíferos, Kerr (2002) describe que en la fase post absorptiva, la glucosa puede ser transportada desde los sitios de ingreso en el intestino a sitios de almacenamiento de glucógeno, principalmente del hígado y músculos.

Desde los trabajos realizados por Coulson & Hernandez (1983) en Aligat6ridos, es reconocido que la bioqu6mica de los crocodilianos es similar a otros vertebrados. Grigg & Kirshner (2015) resumen los productos de la digesti3n en crocod6lidos como resultado del desdoblamiento de las mol6culas que atraviesan la pared intestinal, mayoritariamente por el sistema porta hep6tico, hasta el h6gado. 6stas mol6culas son glucosa, az6cares simples de los carbohidratos, 6cidos grasos, monoglic6ridos derivados de l6pidos y amino 6cidos producto de la digesti3n prote6ica (Grigg y Kirshner, 2015).

Otro sitio de almacenaje de recursos energ6ticos en crocod6lidos son los m6sculos (Grigg y Kirshner, 2015). Coulson & Hernandez (1983) explica que su aprovechamiento se realiza por catabolismo anaerobio del gluc3geno en el citoplasma de las c6lulas musculares, cuyas enzimas entran en contacto con m6s glucosa (fosfato) en 20 segundos, durante una explosiva actividad agresiva, que lo que podr6an obtener de la sangre en 10 horas (Coulson & Hernandez, 1983) .

Por lo tanto, esto sugiere que el aumento observado en el presente estudio fuera por ingesta de alimento antes de la captura, o por movilizaci3n precedentes de los m6sculos.

Tambi6n existe la posibilidad de una respuesta fisiol3gica neuroend3crina metab3lica (estr6s) por captura, donde el organismo requiere una elevada cantidad de energ6a por la respuesta de lucha y hu6da, increment6ndose la movilizaci3n de glucosa estimulada por la liberaci3n de catecolaminas (Coulson & Hernandez, 1983) o glucocorticoides (Jessop, Tucker, Limpus, & Whittierd, 2003).

Adem6s, se observ3 una correlaci3n negativa estad6sticamente significativa ($Rho = -0.468$, $p\text{-valor} = 0.006$) con la temperatura en el sitio de captura (Aire) de 32.467 ± 1.69 , lo cual contrastar6a con los descrito por Mart6nez-Silvestre et al. (2013), quien sugiere que “una elevaci3n de temperatura conduce a un incremento de glucosa sangu6nea en caimanes, lagartos y serpientes”. Esta correlaci3n negativa, podr6a estar relacionado con el manejo de la muestra o el m6todo de registro de la temperatura media del aire en el sitio de captura.

La utilizaci3n de un equipo poco sofisticado pero calibrado de acuerdo a las normas internacionales especificadas por el fabricante, podr6a conducir a especulaciones respecto a la fiabilidad del dato registrado. Sin embargo, por practicidad en campo se decidi3 emplearlo, y es de esperar que futuras investigaciones detecten este tipo de

asociaciones. Para el presente estudio, no se encontró reporte alguno que indique este tipo de correlaciones negativas a temperaturas > 30 °C.

Los niveles medios de colesterol en *C. acutus*, fueron superiores al reportado en *A. mississippiensis* en el cuadro comparativo de Padilla (2008), y menores a los de *C. palustris* (Stacy & Whitaker, 2000), *C. niloticus* (Lovely et al., 2007) y *C. moreletti* (Padilla et al., 2011), e intermedios para las diferentes especies reportadas en el cuadro comparativo de Lovely et al., (2007).

En el orden de las investigaciones realizadas, Stacy & Whitaker (2000) reportan para *C. palustris* diferencias en las concentraciones de colesterol entre sexos de juveniles, siendo mayor en los machos, y entre las clases sub adultos y juveniles comparada con adultos en cautiverio. Lovely et al., (2007), no reporta diferencias entre sexos o clases. Sin embargo, su investigación la realiza con *C. niloticus* de vida libre (n = 35) y al comparar sus resultados con los de *C. acutus* en el presente estudio (n = 39), existe una diferencia de 0.98 mmol/L, equivalente a 37.93 mg/dl para los datos acumulativos sin distinción de sexo, clase o estación.

Esta diferencia, como lo argumenta Lovely et al., (2007), puede ser debido a la influencia en el tiempo de colecta en relación a la ingesta de alimento. Los cocodrilos muestreados en este trabajo fueron capturados en estanques de tilapia (*O. niloticus*), sitio con evidente disponibilidad de recurso alimenticio durante la captura.

En el trabajo realizado por Padilla (2008) con *C. moreletti*, compararon valores hematológicos con cocodrilos de vida libre y cautiverio, donde plantean que las diferencias significativas pueden ser producto de la composición de la dieta, frecuencia de alimentación y condiciones de cautividad. Así como también, explica que la diferencia observada fue por la proporción de sexos mostrada en cautiverio, colectando más muestras de hembras que de machos, siendo más altos los valores en las hembras.

Para cocodrilos de vida libre (n = 45) Padilla et al., (2011) reportan una media en el colesterol de 228.77 mg/dl. Al comparar este resultado con lo obtenido para *C. acutus* (n = 39), es evidente que la diferencia de 54.26 mg/dl es superior a la observada con Lovely et al., (2007), lo cual podría ser resultado de la disponibilidad de recursos alimenticios, estructura de hábitat o distribución de la especie.

El valor medio determinado de ácido úrico en *C. acutus* fue de 5.20 mg/dl. Al compararlos con los datos acumulativos de adultos en cautiverio de la especie *C. palustris* publicados por Stacy & Whitaker (2000) (4.41 mg/dl), existe una mínima diferencia de 0.79 mg/dl. Con *C. niloticus* de vida libre reportado por Lovely et al., (2007) (0.12 mmol/L), se tiene una diferencia de 0.19 mmol/L, y con *C. moreletti* de vida libre generados por Padilla et al., (2011) (4.48 mg/dl) de 0.72 mg/dl. Por lo tanto, se puede observar que el valor medio obtenido con *C. acutus*, se ubica dentro de lo sugerido por Martínez-Silvestre et al., (2013) para la mayoría de reptiles entre 0 - 10 mg/dl.

Con valores de AST se determinó una diferencia significativa ($U = 53.5$, $p\text{-valor} = 0.013$) de 24.292 UI/L, siendo mayor en sub adultos (74 ± 35.169) que en adultos (49.708 ± 12.023). Este hallazgo es parcialmente similar a lo reportado por Lovely et al., (2007) respecto a la clase, donde reporta valores mayores para la clase sub adulta (135.00 ± 54.05 UI/L) que la observada con juveniles (36.59 ± 33.67 UI/L). Pero claramente, los valores medios entre sub adultos de *C. niloticus* y *C. acutus*, difieren por 61 UI/L.

En contraste, Stacy & Whitaker (2000) reportan que las diferencias observadas en *C. palustris* en cautiverio, fueron significativamente menor en la clase adulta (41 ± 11.72 UI/L) que la observada para sub adultos (50.94 ± 9.12) y juveniles (52.13 ± 8.88), difiriendo con los valores medios del *C. acutus* para la clase adulta del presente estudio (49.71 ± 12.02 UI/L) por 8.71 UI/L.

Para los datos acumulativos en *C. acutus*, el valor promedio (57.105 ± 22.657 UI/L) fue mayor a lo obtenido por Stacy & Whitaker (2000) para adultos cautivos de *C. palustris* (41 ± 11.72 UI/L), y menor que los resultados de Lovely et al., (2007) en *C. niloticus* de vida libre (66.5 ± 56.4 UI/L). Sin embargo, se puede apreciar que la variación observada respecto a la media en cocodrilos cautivos (Stacy & Whitaker, 2000) fue mucho menor a la de cocodrilos de vida libre, tanto para el *C. niloticus* (Lovely et al., 2007) como en *C. acutus*.

Finalmente, para la actividad enzimática de la CK se observó una gran variación. Para los datos acumulativos se determinó una media de $1,425.361 \pm 1,409.04$ UI/L. Los estudios realizados por Lovely et al., (2007) y Padilla et al., (2011), no determinan actividad de la CK. Por el contrario, Stacy & Whitaker (2000) incorporan esta enzima en su perfil químico sanguíneo. Sin embargo, Stacy & Whitaker (2000) mencionan que el análisis bioquímico con albúmina, proteínas totales, colesterol, triglicéridos, glucosa,

BUN y todas las concentraciones de electrolitos, fueron obtenidas de plasma sanguíneo, y los análisis restantes con suero.

En la presente investigación, los análisis químicos sanguíneos se realizaron con plasma. Por lo tanto, la marcada variación observada entre los resultados de la actividad enzimática de la CK con los de Stacy & Whitaker (2000) para la clase adulta en *C. palustris* (8.64 ± 1.01), pueden corresponder a diferencias en los métodos analíticos de laboratorio.

Independientemente del método analítico, Martínez-Silvestre et al., (2013) y Campbell (2013) comentan que la CK es una enzima derivada de la actividad musculoesquelética y cardíaca.

En reptiles que oponen resistencia durante la captura, los niveles de esta enzima se elevan por trauma en las células musculares, con incrementos leves a moderados de la AST y LDH. Campbell (2013) sugiere que cuando existe un incremento de AST y LDH, sin aumento de la CK, debería sospecharse de enfermedad hepatobiliar, ya que el daño en las células musculares como en el hígado puede ocurrir simultáneamente, tal como resulta con trauma o septicemia con un incremento en AST, LDH y CK. Por lo tanto, los niveles observados en el presente estudio sugieren que el método de captura repercutió de forma drástica en la respuesta fisiológica muscular de los cocodrilos capturados.

Asociaciones con variables ambientales

En lo que respecta a correlaciones con variables ambientales, se determinó que el caudal del río junto con la temperatura del agua y humedad relativa juegan un papel importante en la disminución del hematocrito, concentración de hemoglobina, trombocitos y proteínas totales.

Durante la época seca, la temperatura media (Temp) incrementó el porcentaje de hematocrito, así como, la concentración de hemoglobina, trombocitos y proteínas totales; principalmente la fracción correspondiente a globulinas.

Conclusiones

1. A pesar del desbalance observado en el presente estudio, fue posible determinar valores hematológicos y químicos plasmáticos sin distinción de sexo, clase o estación, así como, para machos, clase adultos y por estación lluviosa.
2. El intervalo determinado para el conteo de glóbulos rojos (CGR) en *Crocodylus acutus*, difiere con lo reportado en diferentes especies de cocodrilianos.
3. Respecto al sexo, las hembras presentaron mayor porcentaje de hematocrito y concentración de hemoglobina.
4. Los valores del recuento leucocitario fueron similares a los reportados para otras especies de cocodrilianos.
5. La estación seca repercutió directamente en el incremento de diferentes parámetros hematológicos y químicos sanguíneos.
6. Los principales parámetros aumentados durante la estación seca fueron: hematocrito, hemoglobina, trombocitos, eosinófilos y proteínas plasmáticas, principalmente la fracción proteica correspondiente a las globulinas.

Recomendaciones

1. Incrementar el número de muestra y balancear el estudio con diferentes clases.
2. Determinar valores hematológicos y químicos plasmáticos en especímenes procedentes de los ríos Térraba y Tárcoles, definidos como Unidades de Conservación de Cocodrilos (UCC).
3. Generar una base de datos de acceso libre con los resultados hematológicos y químicos plasmáticos para que los usuarios puedan comprender la variación de los datos, realizar comparaciones y análisis multivariados entre las UCC.
4. Determinar posibles cambios citotóxicos en leucocitos por contaminantes generados o vertidos al caudal por actividades agroindustriales en la región del río Tempisque.
5. Analizar posibles asociaciones entre contaminantes, valores hematológicos y químicos plasmáticos.
6. Determinar si existe asociación entre contaminantes, eosinófilos y globulinas.
7. Determinar el rol potencial del *Crocodylus acutus* como amplificador del virus del oeste del nilo.
8. Establecer asociaciones entre la presencia del *Paratrachisoma* spp, condición corporal y fragmentación de hábitat.

Referencias

- Bolaños, J. (2012). Manejo de cocodrilos (*Crocodylus acutus*) en estanques de cultivo de tilapia en Cañas, Guanacaste. *Ambientales*, 43, 63–72.
- Calvo-Alvarado Julio & González, E., Jiménez, A., Pizarro, F., Calvo-Alvarado, J., Jiménez, J. a., González, E., ... Pizarro, F. (2008). Determinación preliminar del caudal ambiental en el río Tempisque , Costa Rica : el enfoque hidrológico con limitación de datos. *Revista Forestal*, 5(13), 1–18.
- Campbell, H. A., Sullivan, S., Read, M. A., Gordos, M. A., & Franklin, C. E. (2010). Ecological and physiological determinants of dive duration in the freshwater crocodile. *Functional Ecology*, 103–111. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01599.x>
- Campbell, T. W. (2012a). Clinical Chemistry of Reptiles. In M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & Campbell (Eds.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (Second, pp. 599–606). Wiley Blackwell.
- Campbell, T. W. (2012b). Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. In R. W. A. Mary Anna Thrall Glade Weiser & Campbell (Eds.), (Second, pp. 223–320). Wiley Blackwell.
- Campbell, T. W. (2013). Clinical Pathology. In *Current Therapy in Reptiles Medicine and Surgery* (pp. 70–92). Elsevier Saunders.
- Campbell, T. W. (2014). Clinical Pathology. In D. R. Mader & S. J. Divers (Eds.), *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery* (1 ed, pp. 248–257). Philadelphia: Elsevier Inc.
- Campbell, T. W. (2015). *Exotic Animal Hematology and Cytology* (4th ed). Wiley Blackwell.
- Campbell, T. W., & Ellis, C. K. (2007). *Avian and Exotic Animal Hematology ans Cytology* (3rd ed). Blackwell Publishing Co.
- Coulson, R. A., & Hernandez, T. (1983). *Alligator Metabolism Studies on Chemical Reactions In Vivo*. Pergamon Press.
- Cray, C. (2015). Reference Intervals in Avian and Exotic Hematology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 18(1), 105–116. <http://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.006>

- Eme, J., Owerkowicz, T., Gwalthney, J., Blank, J. M., Rourke, B. C., & Hicks, J. W. (2009). Exhaustive exercise training enhances aerobic capacity in American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Journal of Comparative Physiology B*, 179, 921–931. <http://doi.org/10.1007/s00360-009-0374-0>
- Emshwiller, M. G., & Gleeson, T. T. (1997). Temperature Effects on Aerobic Metabolism and Terrestrial Locomotion in American Alligators. *Journal of Herpetology*, 31(1), 142–147.
- Frye, F. L. (1991). *Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry*. (Vol. 2). Malabar, Florida.: Krieger Publishing.
- Geffré, A., Concordet, D., Braun, J. P., & Trumel, C. (2011). Reference Value Advisor: A new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(1), 107–112. <http://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00287.x>
- Glassman, A. B., Bennet, C. E., & Hazen, T. C. (1981). Peripheral blood components in *Alligator mississippiensis*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 100(2), 210–215.
- Grigg, G., & Kirshner, D. (2015). *Biology and Evolution of Crocodylians*. CSIRO Publishing.
- Gross, J., & Ligges, U. (2015). nortest: Tests for Normality. Recuperado de <https://cran.r-project.org/package=nortest>
- IUCN. (2017). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-1. Recuperado de <http://www.iucnredlist.org>
- Jessop, T. S., Tucker, A. D., Limpus, C. J., & Whittierd, J. M. (2003). Interactions between ecology, demography, capture stress, and profiles of corticosterone and glucose in a free-living population of Australian freshwater crocodiles. *General and Comparative Endocrinology*.
- Kerr, M. G. (2002). *Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Biochemistry and Hematology* (pp. 73–79). Blackwell Science.
- Komsta, L. (2011). outliers: Tests for outliers. Recuperado de <https://cran.r-project.org/package=outliers>

- Lovely, C. J., Pittman, J. M., & Leslie, a J. (2007). Normal haematology and blood biochemistry of wild Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in the Okavango Delta, Botswana. *Journal of South Africa Veterinary Association*, 78, 137–144. <http://doi.org/10.4102/jsava.v78i3.305>
- Maceda-Veiga, A., Figuerola, J., Martínez-Silvestre, A., Viscor, G., Ferrari, N., & Pacheco, M. (2015). Inside the Redbox: Applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. *Science of The Total Environment*, 514, 322–332. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.004>
- Martínez-Silvestre, A., Lavin, S., & Cuenca, R. (2011). Hematología y citología sanguínea en reptiles. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*, 31(3), 131–141.
- Martínez-Silvestre, A., Lavin, S., & Cuenca, R. (2013). La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. *Consulta Difusión Veterinaria*, (200), 31–40.
- Murcia, C., Muñoz-Caprnea, R., & Sasa, M. (2012). Modelaje integrado de cambio climático y socioeconómico en el manejo sostenible del recurso hídrico en la cuenca Arenal-Tempisque: Una propuesta multidisciplinaria. *Ambientales*, 43, 47–62.
- Padilla, S. E. (2008). *Hematología , Índice Corporal y Lesiones Externas del Cocodrilo de Pantano Crocodylus Moreletii en los Humedales del Norte del Estado de Campeche, Méxco*. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur.
- Padilla, S. E., Weber, M., & Jacobson, E. R. (2011). Hematological and plasma biochemical reference for morelet's crocodiles (*Crocodylus moreletii*) in the northern wetlands of Campeche, México. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(3), 511–522.
- Porras, L. P. M., Bolaños, J. R., & Barr, R. B. (2008). Variación genético y flujo de genes entre poblaciones de *Crocodylus acutus* (Crocodylia : Crocodylidae) en tres ríos del Pacífico Central , Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 56 (septiembre), 1471–1480.
- Rainwater, T. R., Wu, T. H., Finger, A. G., Cañas, J. E., Yu, L., Reynolds, K. D., ... McMurry, S. T. (2007). Metals and organochlorine pesticides in caudal scutes of crocodiles from Belize and Costa Rica. *Science of the Total Environment*, 373(1), 146–156. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.11.010>

- RCoreTeam. (2016). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. Recuperado de <https://www.r-project.org/>
- Samour, J., & Howlett, J. C. (2008). Hematology analysis. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (pp. 35–52). Mosby, Elsevier.
- Stacy, B., & Whitaker, N. (2000). Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 31(3), 339–347. [http://doi.org/10.1638/1042-7260\(2000\)031\[0339:HABBOC\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0339:HABBOC]2.0.CO;2)
- Strik, N. I., Alleman, A. R., & Harr, K. E. (2007). Circulating Inflammatory Cells. In E. R. Jacobson (Ed.), *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles* (1st ed, pp. 167–218). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Thorbjarnarson, J., Mazzotti, F., Sanderson, E., Buitrago, F., Lazcano, M., Minkowski, K., ... Velasco, A. (2006). Regional habitat conservation priorities for the American crocodile. *Biological Conservation*, 128(1), 25–36. <http://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.013>
- Thorbjarnarson, J.B. (2010). American Crocodile *Crocodylus acutus*. Pp. 46-53 in *Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan. Third Edition*, ed. by S.C. Manolis and C. Stevenson. Crocodile Specialist Group: Darwin.
- Wells, R. M. G., Beard, L. A., & Grigg, G. C. (1991). Blood Viscosity and Hematocrit in the Estuarine Crocodile, *Crocodylus porosus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 99(3), 411–414. [http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629\(91\)90025-8](http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629(91)90025-8)
- Wickham, H. (2009). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-98141-3>
- Wickham, H., & Francois, R. (2016). dplyr: A Grammar of Data Manipulation. Recuperado de <https://cran.r-project.org/package=dplyr>
- Wickham, H., & Bryan, J. (2019). readxl: Read Excel Files. R package version 1.3.1. Recuperado de <https://CRAN.R-project.org/package=readxl>
- Zayas, M. A., Rodríguez, H. A., Galoppo, G. H., Stoker, C., Durando, M., & Luque, E. H. (2011). Hematology and Blood Biochemistry of Young Healthy Broad-Snouted Caimans (*Caiman latirostris*). *Journal of Herpetology*, 45(4), 516–524.

Cuadro 19. Valores hematológicos sin distinción de sexo, clase o estación.

Parámetro	Unidades	n	Media	Mediana	DE	Acumulativo		LI IC90%	Intervalo	LS IC90%	
						Min	Máx				
LT	(cm)	34	227.25	225.25	36.23	150.50	298.00	136.22-169.78	152.47-302.05	283.84-319.49	□
Peso	(Kg)	33	56.78	46.60	33.94	9.30	142.00	8.74-17.21	12.28-154.47	114.00-199.57	*
Temp. Cloaca	(°C)	31	30.15	30.00	1.94	26.60	35.10	25.50-27.27	26.30-34.37	33.25-25.50	*
Temp. Agua	(°C)	29	28.32	28.50	2.21	24.30	33.00	22.48-25.41	23.71-32.94	31.74-33.95	X
Temp. Aire	(°C)	33	32.47	32.50	1.69	29.50	36.90	28.03-29.87	28.97-35.96	35.03-36.81	□
Temp. Media	(°C)	39	27.92	27.15	1.14	26.46	29.28	25.37-25.95	25.58-30.26	29.84-30.59	X
Humedad Relativa	(%)	33	59.06	65.00	14.10	30.00	77.00	21.60-39.79	33.94-96.64	87.38-100.04	~
Caudal	(m³/s)	39	28.82	30.52	16.93	9.55	58.14	2.25-6.07	3.53-75.86	65.26-84.88	+
CGR	(x10 ⁶ /μl)	39	0.68	0.65	0.14	0.37	0.97	0.39-0.48	0.43-1.00	0.91-1.07	+
Hematocrito	(%)	39	24.64	25.00	3.06	19.00	31.00	16.91-19.76	18.38-30.94	29.42-32.43	+
Hemoglobina	(g/dl)	39	7.72	7.80	0.96	5.80	10.30	5.28-6.16	5.75-9.70	9.27-10.14	□
VCM	(fl)	39	374.12	380.89	80.89	235.29	602.74	200.15-260.94	224.65-557.87	513.99-598.92	*
HCM	(pg)	39	117.28	115.33	25.42	68.24	186.30	63.56-79.73	70.94-174.50	159.65-190.89	*
CHCM	(g/dl)	39	31.29	30.00	2.41	27.00	37.00	25.73-27.17	26.35-36.22	34.83-37.44	X
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	39	9.44	6.00	9.93	0.00	38.00	na	na	na	X
CGB	(x10 ³ /μl)	39	6.98	6.75	2.77	2.65	13.15	0.94-2.77	1.90-13.17	11.69-14.65	*
Heterófilos	(%)	39	21.59	20.00	7.30	10.00	44.00	ND-11.95	10.39-38.68	33.77-43.73	+
Linfocitos	(%)	39	67.82	68.00	7.70	47.00	80.00	42.12-54.54	49.00-80.95	78.60-82.93	+
Basófilos	(%)	39	4.00	3.00	3.36	0.00	17.00	na	na	na	X
Monocitos	(%)	39	1.79	2.00	1.26	0.00	4.00	na	na	na	X
Eosinófilos	(%)	39	4.79	5.00	2.53	0.00	12.00	0.00-0.68	0.00-9.97	8.68-11.19	□
Proteínas totales	(g/dl)	38	6.59	6.50	1.19	4.50	9.60	4.37-4.96	4.67-9.59	8.61-10.57	*
Albúmina	(g/dl)	38	2.73	2.80	0.34	1.90	3.50	1.76-2.21	1.98-3.39	3.25-3.52	*
Globulina	(g/dl)	38	3.86	3.70	1.01	2.50	6.10	2.17-2.51	2.32-6.49	5.71-7.34	*
A/G		38	0.74	0.71	0.18	0.48	1.13	0.41-0.49	0.44-1.18	1.04-1.30	*
Glucosa	(mg/dl)	39	108.49	105.00	27.97	46.00	166.00	41.06-63.27	53.32-168.13	150.76-182.41	*
Colesterol	(mg/dl)	39	174.51	166.00	51.19	99.00	344.00	99.55-116.51	106.87-316.94	259.37-395.23	*
Ácido úrico	(UI/L)	39	5.20	4.70	2.33	1.80	14.20	1.93-2.67	2.26-11.88	9.11-15.49	*
AST	(UI/L)	38	57.11	53.00	22.66	27.00	160.00	26.71-35.12	30.28-116.28	91.93-167.02	*
CK	(UI/L)	37	1,425.36	1,013.00	1,409.04	208	7,053.00	148.81-308.06	216.02-5,835.10	3,680.79-8,895.32	*

Método Estándar □ ; Método Robusto ~; Método Box-Cox estándar + ; Box-Cox robusto *; Desviación estándar DE; Dist. No normal X; No aplica na; No determinado ND

Cuadro 20. Valores hematológicos en machos.

Parámetro	Unidades	n	Machos							Intervalo	LS _{IC90%}	
			Media	Mediana	DE	Min	Máx	LI _{IC90%}	LS _{IC90%}			
LT	(cm)	23	224.10	215.00	29.70	191.00	298.00	144.78-178.92	161.18-287.02	268.36-304.87	X	
Peso	(Kg)	22	50.40	43.95	23.99	24.50	121.80	19.01-26.28	21.61-138.57	88.04-212.36	*	
Temp. Cloaca	(°C)	22	30.33	30.05	1.91	27.00	35.10	24.94-27.52	26.27-34.39	33.08-35.56	□	
Temp. Agua	(°C)	20	28.36	28.00	2.20	24.30	33.00	22.16-25.48	23.64-33.07	31.54-34.24	X	
Temp. Aire	(°C)	23	32.58	32.60	1.77	29.50	36.90	28.49-30.16	29.28-36.92	35.43-38.37	*	
Temp. Media	(°C)	24	27.68	27.00	1.02	26.46	29.28	25.30-25.90	25.52-29.85	29.08-30.34	X	
Humedad Relativa	(%)	23	60.00	65.00	13.88	30.00	77.00	28.49-30.21	29.28-36.92	35.52-38.31	*	
Caudal	(m ³ /s)	24	32.26	39.03	15.08	9.55	58.14	na	na	na	X	
CGR	(x10 ⁶ /μl)	24	0.66	0.63	0.12	0.52	0.94	0.47-0.51	0.49-1.08	0.85-1.43	*	
Hematocrito	(%)	24	23.71	23.50	2.53	19.00	28.00	16.36-19.86	17.89-28.76	27.41-29.89	*	
Hemoglobina	(g/dl)	24	7.34	7.40	0.71	5.80	8.80	5.05-6.29	5.62-8.66	8.34-9.00	*	
VCM	(fl)	24	369.70	379.92	76.47	235.29	514.29	158.56-256.57	208.03-530.92	482.37-581.17	+	
HCM	(pg)	24	114.40	113.42	23.11	68.24	155.75	52.66-81.32	65.57-163.14	149.40-176.62	+	
CHCM	(g/dl)	24	31.03	30.00	1.99	29.00	36.00	26.21-27.63	26.82-35.24	33.83-36.46	X	
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	24	8.33	5.50	8.44	0.00	28.00	na	na	na	X	
CGB	(x10 ³ /μl)	24	7.08	6.90	2.80	3.00	13.15	ND-3.33	2.71-14.12	11.21-16.89	*	
Heterófilos	(%)	24	21.75	20.00	7.85	13.00	44.00	4.7-11.1	8.1-40.4	32.97-47.80	*	
Linfocitos	(%)	24	67.08	67.00	8.32	47.00	80.00	38.15-54.14	46.55-82.14	77.81-85.51	+	
Basófilos	(%)	24	4.46	3.00	3.83	0.00	17.00	na	na	na	X	
Monocitos	(%)	24	2.08	2.00	1.28	0.00	4.00	na	na	na	X	
Eosinófilos	(%)	24	4.63	4.50	2.16	0.00	9.00	0.00-1.42	0.06-9.19	7.89-10.50	□	
Proteínas totales	(g/dl)	24	6.48	6.05	1.26	4.50	9.60	4.27-4.94	4.57-10.28	8.36-12.85	*	
Albúmina	(g/dl)	24	2.68	2.70	0.38	1.90	3.59	1.68-2.14	1.89-3.48	3.24-3.69	*	
Globulina	(g/dl)	24	3.81	3.60	1.07	2.50	6.10	1.98-2.37	2.15-6.40	5.39-7.41	*	
A/G		24	0.75	0.69	0.20	0.48	1.13	0.38-0.48	0.42-1.32	1.07-1.52	*	
Glucosa	(mg/dl)	24	na	105.05	29.00	46.00	166.00	ND-67.06	52.76-175.47	148.77-197.26	*	
Colesterol	(mg/dl)	24	162.96	159.50	37.43	113.00	293.00	104.67-122.77	111.67-271.06	226.59-333.58	*	
Ácido úrico	(UI/L)	24	4.83	4.60	1.72	1.80	9.00	1.56-2.65	2.01-9.29	7.60-11.07	*	
AST	(UI/L)	24	58.54	51.50	26.70	34.00	160.00	na	na	na	X	
CK	(UI/L)	22	1657.00	1276.00	1673.78	208.00	7053.00	na	na	na	□	

Método Estándar □ ; Método Robusto ~; Método Box-Cox estándar + ; Box-Cox robusto *; Desviación estándar DE; Dist. No normal X; No aplica na; No determinado ND

Cuadro 21. Valores hematológicos en adultos.

Parámetro	Unidades	n	Adultos								
			Media	Mediana	DE	Min	Máx	LI IC90%	Intervalo	LS IC90%	
LT	(cm)	24	243.59	241.50	29.29	203.00	298.00	165.93-198.82	181.75-305.43	287.48-322.61	□
Peso	(Kg)	23	69.86	62.00	32.52	27.00	142.00	24.15-32.78	26.09-155.12	120.90-190.28	+
Temp. Cloaca	(°C)	21	30.39	30.10	2.15	26.80	35.10	24.75-27.42	25.86-35.14	33.47-36.58	*
Temp. Agua	(°C)	20	28.41	28.60	2.47	24.30	33.00	20.08-24.68	22.42-33.17	31.94-34.18	*
Temp. Aire	(°C)	23	32.93	32.90	1.67	29.50	36.90	28.66-30.60	29.58-36.65	35.32-37.83	*
Temp. Media	(°C)	24	26.83	26.18	1.15	25.56	28.38	25.05-25.73	25.31-30.15	29.49-30.61	X
Humedad Relativa	(%)	23	na	62.36	16.94	30.00	77.00	13.97-37.96	27.24-97.49	86.33-101.63	~
Caudal	(m ³ /s)	24	32.11	34.78	17.93	9.55	58.14	0.27-7.83	2.34-78.18	64.79-87.20	X
CGR	(x10 ⁶ /μl)	24	0.67	0.63	0.12	0.52	0.91	0.46-0.51	0.48-1.02	0.84-1.16	*
Hematocrito	(%)	24	24.58	24.50	3.15	19.00	31.00	16.55-19.97	18.17-31.51	29.63-33.48	*
Hemoglobina	(g/dl)	24	7.67	7.80	0.95	5.90	9.80	5.40-6.32	5.83-9.83	9.14-10.52	+
VCM	(fl)	24	376.89	376.32	71.73	252.75	514.29	210.10-272.77	236.25-538.60	491.61-582.20	*
HCM	(pg)	24	117.44	113.42	21.34	83.52	155.75	73.58-88.08	80.33-174.60	155.56-195.65	*
CHCM	(g/dl)	24	31.33	30.00	2.52	27.00	36.00	26.54-28.02	27.19-38.90	35.67-42.19	X
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	24	9.42	5.50	11.13	0.00	38.00	na	na	na	X
CGB	(x10 ³ /μl)	24	7.14	7.03	2.56	3.00	13.25	0.26-3.35	1.75-12.53	10.89-14.08	□
Heterófilos	(%)	24	20.79	19.00	7.34	13.00	44.00	na	na	na	X
Linfocitos	(%)	24	68.04	68.00	6.77	50.00	79.00	44.09-57.30	51.09-80.36	76.69-82.83	*
Basófilos	(%)	24	3.83	3.00	2.81	0.00	10.00	na	na	na	X
Monocitos	(%)	24	2.04	2.00	1.23	0.00	4.00	na	na	na	X
Eosinófilos	(%)	24	na	5.14	2.73	0.00	12.00	0.00-1.22	0.00-10.78	8.95-12.58	~
Proteínas totales	(g/dl)	24	6.45	5.95	1.21	4.50	8.60	4.14-4.85	4.48-10.17	8.22-12.05	*
Albúmina	(g/dl)	24	2.69	2.80	0.34	1.90	3.40	1.48-2.15	1.85-3.30	3.15-3.44	+
Globulina	(g/dl)	24	3.77	3.35	1.08	2.50	5.70	2.03-2.42	2.22-7.01	5.45-8.23	*
A/G		24	0.76	0.74	0.21	0.48	1.13	0.23-0.44	0.35-1.25	1.07-1.40	*
Glucosa	(mg/dl)	24	103.96	100.00	19.73	75.00	146.00	64.58-76.23	69.85-152.19	134.08-168.26	*
Colesterol	(mg/dl)	24	171.63	161.50	53.22	113.00	344.00	109.23-122.48	114.16-347.59	255.94-475.81	*
Ácido úrico	(UI/L)	24	5.28	4.60	2.58	1.80	14.20	1.72-2.75	2.14-13.61	9.04-20.30	*
AST	(UI/L)	24	49.71	48.00	12.02	27.00	75.00	23.24-32.70	27.76-78.48	68.15-87.76	*
CK	(UI/L)	24	1,514.26	1,252.00	1,483.07	208.00	7,053.00	164.37-252.32	172.31-5,787.91	3,727.76-8,238.38	□

Método Estándar □ ; Método Robusto ~; Método Box-Cox estándar + ; Box-Cox robusto *; Desviación estándar DE; Dist. No normal X; No aplica na; No determinado ND

Cuadro 22. Valores hematológicos en estación lluviosa.

Parámetro	Unidades	n	Estación lluviosa								
			Media	Mediana	DE	Min	Máx	LI IC90%	Intervalo	LS IC90%	
LT	(cm)	25	228.79	223.50	39.35	150.50	298.00	125.18-168.37	145.98-311.61	288.06-334.14	□
Peso	(Kg)	24	58.87	46.55	37.74	9.30	142.00	6.45-17.04	10.67-178.49	122.22-247.35	*
Temp. Cloaca	(°C)	25	30.77	30.50	1.55	28.00	35.10	27.51-28.72	28.08-34.63	33.12-36.62	*
Temp. Agua	(°C)	23	29.17	28.70	1.43	27.60	33.00	25.59-26.83	26.15-32.19	30.98-33.21	X
Temp. Aire	(°C)	25	32.05	32.10	1.33	29.50	34.50	28.51-30.07	29.23-34.84	34.07-35.57	*
Temp. Media	(°C)	25	27.16	27.00	0.62	26.46	28.30	25.69-26.10	25.86-28.47	27.96-28.87	X
Humedad Relativa	(%)	25	65.32	65.00	5.71	55.00	77.00	50.58-57.12	53.40-77.50	74.12-80.72	*
Caudal	(m³/s)	25	39.61	39.03	10.76	26.24	58.14	13.44-22.00	16.96-62.27	54.33-68.19	X
CGR	(x10 ⁶ /μl)	25	0.66	0.63	0.14	0.37	0.94	0.34-0.46	0.40-1.01	0.86-1.14	*
Hematocrito	(%)	25	23.64	23.00	2.58	19.00	28.00	17.08-19.77	18.18-29.39	27.71-30.54	*
Hemoglobina	(g/dl)	25	7.47	7.40	0.92	5.80	9.80	5.43-9.65	5.76-9.65	8.91-10.48	*
VCM	(fl)	25	372.87	380.95	89.55	235.29	602.74	185.93-259.64	212.15-592.96	525.92-656.96	*
HCM	(pg)	25	117.61	125.40	27.85	68.24	186.30	54.68-78.33	62.55-183.70	161.29-202.34	*
CHCM	(g/dl)	25	31.65	31.00	2.38	27.00	36.00	25.96-28.16	27.02-37.06	35.27-38.82	+
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	25	5.52	4.00	7.11	0.00	24.00	na	na	na	X
CGB	(x10 ³ /μl)	25	6.58	5.30	2.79	2.65	12.70	1.84-2.84	2.14-14.22	10.50-16.20	*
Heterófilos	(%)	25	21.60	20.00	7.93	10.00	44.00	7.63-11.89	7.63-11.89	35.46-55.30	*
Linfocitos	(%)	25	68.72	68.00	8.77	47.00	80.00	26.75-55.92	44.46-83.05	79.87-85.55	+
Basófilos	(%)	25	3.92	3.00	3.75	0.00	17.00	na	na	na	X
Monocitos	(%)	25	1.80	2.00	1.41	0.00	4.00	na	na	na	X
Eosinófilos	(%)	25	na	3.93	2.22	0.00	8.00	0.00-0.42	0.00-8.52	7.08-9.71	~
Proteínas totales	(g/dl)	25	na	5.71	1.15	4.50	9.60	2.50-4.53	3.33-8.09	6.88-9.07	~
Albúmina	(g/dl)	25	2.65	2.70	0.38	1.90	3.50	1.73-2.10	1.90-3.49	3.25-3.77	+
Globulina	(g/dl)	25	na	3.18	0.92	2.50	6.10	2.30-2.56	2.42-7.48	4.67-ND	*
A/G		25	0.80	0.79	0.18	0.48	1.13	0.32-0.51	0.42-1.19	1.07-1.30	*
Glucosa	(mg/dl)	25	112.80	110.00	26.43	46.00	166.00	34.00-70.95	54.17-166.87	150.41-181.22	*
Colesterol	(mg/dl)	25	164.64	162.00	35.82	113.00	268.00	108.61-121.26	113.21-260.13	226.21-297.02	*
Ácido úrico	(UI/L)	25	5.33	4.80	2.65	1.80	14.20	1.66-2.64	2.07-14.02	9.54-19.37	*
AST	(UI/L)	25	56.60	51.00	26.67	27.00	160.00	24.30-133.09	27.87-133.09	90.45-241.69	*
CK	(UI/L)	23	1750.22	1252.00	1664.24	208.00	7053.00	137.25-363.68	218.80-8,014.45	4,210.51-14,220.12	*

Método Estándar □ ; Método Robusto ~; Método Box-Cox estándar + ; Box-Cox robusto *; Desviación estándar DE; Dist. No normal X; No aplica na; No determinado ND

Cuadro 23. Valores hematológicos y químicos plasmáticos por sexo.

Parámetro	Unidades	n	Machos					Hembras					
			Media	DE	Min	Mediana	Máx	n	Media	DE	Min	Mediana	Máx
LT	(cm)	23	224.10	29.70	191.00	215.00	298.00	11	233.86	48.17	150.50	253.00	298.00
Peso	(Kg)	22	50.40	23.99	24.50	43.95	121.80	11	69.55	46.99	9.30	68.30	142.00
Temp. Cloaca	(°C)	22	30.33	1.91	27.00	30.05	35.10	9	29.69	2.05	26.60	29.70	32.70
Temp. Agua	(°C)	20	28.36	2.20	24.30	28.00	33.00	9	28.26	2.38	24.30	28.50	31.10
Temp. Aire	(°C)	23	32.58	1.77	29.50	32.60	36.90	10	32.20	1.54	29.70	32.35	34.90
Temp. Media	(°C)	24	27.68	1.02	26.46	27.00	29.28	12	28.06	1.29	26.46	28.21	29.28
Humedad Relativa	(%)	23	60.00	13.88	30.00	65.00	77.00	10	56.90	15.12	32.00	64.50	75.00
Caudal	(m ³ /s)	24	32.26	15.08	9.55	39.03	58.14	12	26.77	19.57	9.55	20.04	58.14
CGR	(x10 ⁶ /μl)	24	0.66	0.12	0.52	0.62	0.94	12	0.73	0.17	0.36	0.74	0.96
Hematocrito	(%)	24	23.71	2.53	19.00	23.50	28.00	12	26.33	2.90	22.00	26.50	31.00
Hemoglobina	(g/dl)	24	7.34	0.71	5.80	7.40	8.80	12	8.22	0.93	6.70	8.15	9.80
VCM	(fl)	24	369.70	76.47	235.29	379.92	514.29	12	379.65	96.47	248.70	372.61	602.74
HCM	(pg)	24	114.40	23.11	68.24	113.42	155.75	12	118.34	29.95	84.49	107.23	186.30
CHCM	(g/dl)	24	31.03	1.99	29.00	30.00	36.00	12	31.29	2.86	27.00	30.50	35.45
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	24	8.33	8.44	0.00	5.50	28.00	12	11.50	13.23	0.00	6.50	38.00
CGB	(x10 ³ /μl)	24	7.08	2.80	3.00	6.90	13.15	12	7.00	2.57	2.65	7.40	10.50
Heterófilos	(%)	24	21.75	7.86	13.00	20.00	44.00	12	19.58	4.58	10.00	20.50	25.00
Linfocitos	(%)	24	67.08	8.32	47.00	67.00	80.00	12	70.17	5.36	60.00	69.50	80.00
Basófilos	(%)	24	4.46	3.83	0.00	3.00	17.00	12	3.67	2.42	0.00	3.50	8.00
Monocitos	(%)	24	2.08	1.28	0.00	2.00	4.00	12	1.58	1.08	0.00	2.00	3.00
Eosinófilos	(%)	24	4.62	2.16	0.00	4.50	9.00	12	5.00	3.30	0.00	5.00	12.00
Proteínas totales	(g/dl)	24	6.48	1.26	4.50	6.05	9.60	12	6.78	1.18	5.40	6.90	8.40
Albúmina	(g/dl)	24	2.67	0.38	1.90	2.70	3.50	12	2.78	0.24	2.40	2.80	3.10
Globulina	(g/dl)	24	3.81	1.07	2.50	3.60	6.10	12	4.00	1.00	2.80	3.95	5.40
A/G		24	0.75	0.20	0.48	0.69	1.13	12	0.73	0.15	0.56	0.71	1.00
Glucosa	(mg/dl)	24	105.83	28.36	46.00	105.00	166.00	12	104.92	24.82	81.00	92.50	151.00
Colesterol	(mg/dl)	24	162.96	37.43	113.00	159.50	293.00	12	194.42	68.14	99.00	173.50	344.00
Ácido úrico	(UI/L)	24	4.83	1.72	1.80	4.60	9.00	12	5.88	3.32	2.70	5.00	14.20
AST	(UI/L)	24	58.54	26.70	34.00	51.50	160.00	12	53.92	13.73	27.00	57.00	72.00
CK	(UI/L)	22	1657.00	1673.78	208.00	1276.00	7053.00	12	1113.58	819.35	257.00	910.50	3066.00

Método Estándar □ ; Método Robusto ~; Método Box-Cox estándar + ; Box-Cox robusto *; Desviación estándar DE; Dist. No normal X; No aplica na; No determinado ND

Cuadro 24. Valores hematológicos y químicos plasmáticos por clase.

Parámetro	Unidades	n	Adultos					Sub adultos					
			Media	DE	Min	Median a	Máx	n	Media	DE	Min	Median a	Máx
LT	(cm)	24	243.59	29.29	203.00	241.50	298.00	10	188.06	14.22	150.50	191.25	198.10
Peso	(Kg)	23	69.86	32.52	27.00	62.00	142.00	10	26.70	8.23	9.30	27.75	37.30
Temp. Cloaca	(°C)	21	30.39	2.15	26.80	30.10	35.10	10	29.64	1.36	26.60	29.65	31.60
Temp. Agua	(°C)	20	28.41	2.47	24.30	28.60	33.00	9	28.13	1.62	24.30	28.50	29.80
Temp. Aire	(°C)	23	32.93	1.67	29.50	32.90	36.90	10	31.39	1.24	29.70	31.45	33.10
Temp. Media	(°C)	24	27.73	1.15	26.46	27.07	29.28	10	27.72	0.98	27.00	27.00	29.28
Humedad Relativa	(%)	23	56.39	15.18	30.00	63.00	77.00	10	65.20	9.15	42.00	67.50	75.00
Caudal	(m ³ /s)	24	32.11	17.93	9.55	34.77	58.14	10	30.58	12.25	9.55	39.03	39.03
CGR	(x10 ⁶ /μl)	24	0.67	0.12	0.52	0.63	0.91	10	0.72	0.20	0.36	0.70	0.96
Hematocrito	(%)	24	24.58	3.15	19.00	24.50	31.00	10	23.90	2.02	20.00	24.00	27.00
Hemoglobina	(g/dl)	24	7.67	0.95	5.90	7.80	9.80	10	7.38	0.69	5.80	7.50	8.20
VCM	(fl)	24	376.89	71.73	252.75	376.32	514.29	10	362.14	114.35	235.29	367.09	602.74
HCM	(pg)	24	117.44	21.34	83.52	113.42	155.75	10	111.87	35.83	68.24	109.38	186.30
CHCM	(g/dl)	24	31.33	2.52	27.00	30.00	36.00	10	30.83	1.80	29.00	30.50	34.00
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	24	9.42	11.13	0.00	5.50	38.00	10	7.90	8.61	0.00	5.00	29.00
CGB	(x10 ³ /μl)	24	7.14	2.56	3.00	7.03	13.15	10	6.54	3.26	2.65	5.17	12.70
Heterófilos	(%)	24	20.79	7.34	13.00	19.00	44.00	10	21.20	6.99	10.00	22.50	33.00
Linfocitos	(%)	24	68.04	6.77	50.00	68.00	79.00	10	68.30	10.14	47.00	67.50	80.00
Basófilos	(%)	24	3.83	2.81	0.00	3.00	10.00	10	5.30	4.79	0.00	4.00	17.00
Monocitos	(%)	24	2.04	1.23	0.00	2.00	4.00	10	1.60	1.35	0.00	2.00	4.00
Eosinófilos	(%)	24	5.29	2.66	0.00	5.50	12.00	10	3.60	2.17	0.00	3.00	7.00
Proteínas totales	(g/dl)	24	6.45	1.21	4.50	5.95	8.60	10	6.80	1.39	5.40	6.60	9.60
Albúmina	(g/dl)	24	2.69	0.34	1.90	2.80	3.40	10	2.77	0.36	2.30	2.70	3.50
Globulina	(g/dl)	24	3.77	1.08	2.50	3.35	5.70	10	4.03	1.06	2.80	3.75	6.10
A/G		24	0.76	0.21	0.48	0.74	1.13	10	0.71	0.12	0.57	0.71	0.93
Glucosa	(mg/dl)	24	103.96	19.73	75.00	100.00	146.00	10	115.60	37.65	46.00	112.00	166.00
Colesterol	(mg/dl)	24	171.62	53.22	113.00	161.50	344.00	10	178.70	53.33	99.00	173.50	268.00
Ácido úrico	(UI/L)	24	5.28	2.58	1.80	4.60	14.20	10	5.33	2.02	2.50	5.00	8.90
AST	(UI/L)	24	49.71	12.02	27.00	48.00	75.00	10	74.00	35.17	34.00	66.00	160.00
CK	(UI/L)	23	1514.26	1483.07	208.00	1252.00	7053.00	9	1402.00	1575.88	635.00	906.00	5549.00

Método Estándar □ ; Método Robusto ~; Método Box-Cox estándar + ; Box-Cox robusto *; Desviación estándar DE; Dist. No normal X; No aplica na; No determinado ND

Cuadro 25. Valores hematológicos y químicos plasmáticos por estación.

Parámetro	Unidades	n	Lluviosa					Seca					
			Media	DE	Min	Mediana	Máx	n	Media	DE	Min	Mediana	Máx
LT	(cm)	25	228.79	39.35	150.50	223.50	298.00	9	223.00	27.26	180.00	227.00	256.00
Peso	(Kg)	24	58.87	37.74	9.30	46.55	142.00	9	51.21	21.54	18.20	52.30	90.00
Temp. Cloaca	(°C)	25	30.77	1.55	28.00	30.50	35.10	6	27.53	0.97	26.60	27.15	28.80
Temp. Agua	(°C)	23	29.17	1.43	27.60	28.70	33.00	6	25.10	1.67	24.30	24.50	28.50
Temp. Aire	(°C)	25	32.05	1.33	29.50	32.10	34.50	8	33.77	2.10	29.70	33.95	36.90
Temp. Media	(°C)	25	27.16	0.62	26.46	27.00	28.30	14	29.28	0.00	29.28	29.28	29.28
Humedad Relativa	(%)	25	65.32	5.71	55.00	65.00	77.00	8	39.50	14.84	30.00	34.50	75.00
Caudal	(m ³ /s)	25	39.61	10.76	26.24	39.03	58.14	14	9.55	0.00	9.55	9.55	9.55
CGR	(x10 ⁶ /μl)	25	0.66	0.14	0.36	0.63	0.94	14	0.72	0.13	0.54	0.70	0.96
Hematocrito	(%)	25	23.64	2.58	19.00	23.00	28.00	14	26.43	3.13	19.00	27.00	31.00
Hemoglobina	(g/dl)	25	7.47	0.92	5.80	7.40	9.80	14	8.18	0.89	6.60	8.00	10.30
VCM	(fl)	25	372.87	89.55	235.29	380.95	602.74	14	376.36	65.68	248.70	372.68	500.00
HCM	(pg)	25	117.61	27.85	68.24	125.40	186.30	14	116.68	21.33	84.97	113.30	163.49
CHCM	(g/dl)	25	31.65	2.38	27.00	31.00	36.00	14	30.64	2.41	29.00	30.00	37.00
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	25	5.52	7.11	0.00	4.00	24.00	14	16.43	10.60	0.00	16.00	38.00
CGB	(x10 ³ /μl)	25	6.58	2.79	2.65	5.30	12.70	14	7.68	2.68	3.60	8.15	13.15
Heterófilos	(%)	25	21.60	7.93	10.00	20.00	44.00	14	21.57	6.30	14.00	20.50	39.00
Linfocitos	(%)	25	68.64	8.69	47.00	68.00	80.00	14	66.21	5.21	52.00	67.50	72.00
Basófilos	(%)	25	3.92	3.75	0.00	3.00	17.00	14	4.14	2.66	0.00	3.50	10.00
Monocitos	(%)	25	1.80	1.41	0.00	2.00	4.00	14	1.79	0.97	0.00	2.00	3.00
Eosinófilos	(%)	25	3.96	2.17	0.00	4.00	8.00	14	6.29	2.49	3.00	6.50	12.00
Proteínas totales	(g/dl)	25	6.10	1.07	4.50	5.70	9.60	13	7.54	0.76	6.60	7.40	8.60
Albúmina	(g/dl)	25	2.65	0.38	1.90	2.70	3.50	13	2.88	0.17	2.50	2.90	3.10
Globulina	(g/dl)	25	3.45	0.88	2.50	3.20	6.10	13	4.66	0.75	3.50	4.60	5.70
A/G		25	0.80	0.18	0.48	0.79	1.13	13	0.63	0.12	0.49	0.59	0.89
Glucosa	(mg/dl)	25	112.80	26.43	46.00	110.00	166.00	14	100.79	29.95	58.00	90.50	153.00
Colesterol	(mg/dl)	25	164.64	35.82	113.00	162.00	268.00	14	192.14	69.06	99.00	173.00	344.00
Ácido úrico	(UI/L)	25	5.33	2.65	1.80	4.80	14.20	14	4.97	1.69	3.10	4.35	8.70
AST	(UI/L)	25	56.60	26.67	27.00	51.00	160.00	14	54.64	17.64	10.00	55.50	75.00
CK	(UI/L)	23	1750.22	1664.24	208.00	1252.00	7053.00	13	850.62	390.95	222.00	906.00	1364.00

Método Estándar □ ; Método Robusto ~; Método Box-Cox estándar + ; Box-Cox robusto *; Desviación estándar DE; Dist. No normal X; No aplica na; No determinado ND

Relaciones entre condición corporal del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*), valores hematológicos y químicos plasmáticos en Guanacaste, Costa Rica.

Resumen

La estimación de índices de condición corporal son métodos no destructivos para determinar atributos de salud, nutrición o tendencias. En crocodílidos, el Factor de Condición de Fulton (K) se ha empleado en diversas investigaciones. El objetivo del presente estudio fue determinar la condición corporal de crocodílidos capturados en estanques de tilapia (*O. niloticus*) y analizar las relaciones con valores hematológicos y químicos sanguíneos. Se evaluaron 33 cocodrilos, de los cuales la mayoría (n = 24) presentó una buena condición corporal, indicando que en términos generales la población se encuentra en óptimas condiciones. Al comparar la condición entre sexos, clases y estación, no se detectaron diferencias significativas ($p = 0.05$). Sin embargo, evaluando la condición con relación a factores bióticos y abióticos, se determinó que la temperatura del agua y la humedad relativa en el sitio de captura, explican el 22% de la variabilidad observada. Respecto a las diferencias de Fulton (K) con valores hematológicos, se determinó que los individuos con mala y buena condición presentaron CGB mayor a los de excelente condición. En el conteo diferencial, los eosinófilos se observaron en mayor proporción en individuos con buena condición. Este estudio, proporciona información de línea base para continuar desarrollando investigaciones en términos del manejo de la salud en crocodílidos en las unidades de conservación de crocodílidos en Costa Rica.

Palabras claves: Condición corporal, hematología, química plasmática, *Crocodylus acutus*, Guanacaste, Costa Rica.

Abstract

The estimation of body condition index are non-destructive methods to decide health attributes, nutrition, or trends. In crocodiles, the Fulton Condition Factor (K) has been analyzed in different investigations. The aim of the present investigation was to study the body condition of crocodilians captured in aquaculture ponds and to analyze the relationships with hematological and plasma blood values. We evaluated 33 crocodiles, of which the majority (n = 24) were with good body condition. When comparing the condition between sex, classes and seasons, there was no significant differences ($p = 0.05$). However, evaluating the condition in relation to biological and abiotic factors, it was identify that water temperature and relative humidity at the capture site account for 22% of observed variability. Concerning the differences of Fulton (K) with hematological values, it was found that individuals with poor and good condition presented and increase in white blood cell count to those of excellent condition. In the blood cell count, eosinophils were seen in a higher proportion in individuals with good condition. This study supplies baseline information to further develop research in terms of crocodilian health management within the crocodile conservation units in Costa Rica

Keywords: Body condition, hematology, plasma biochemistry, *Crocodylus acutus*, Guanacaste, Costa Rica.

Introducción

Los factores de condición corporal fueron desarrollados originalmente como un índice para evaluar la grasa relativa en las ciencias acuícolas (Blackwell, Brown, & Willis, 2000; Mazzotti et al., 2012; Oleg, 2015) y actualmente han sido empleados como indicadores de bienestar y salud en diferentes investigaciones en crocodilianos, siendo el Factor de Condición (FC) de Fulton (K) el índice de condición corporal (ICC) que ha permitido identificar poblaciones que requieran mejorar el manejo o incrementar los esfuerzos de investigación (Cedeño-Vázquez et al., 2011; Fujisaki et al., 2009; Mazzotti et al., 2012; Zweig, 2003).

Recientemente, el FC de K ha probado ser útil en *Crocodylus acutus* (Cedeño-Vázquez et al., 2011), *Crocodylus moreletii* (Cedeño-Vázquez et al., 2011; Mazzotti et al., 2012; Padilla, 2008), *Caiman crocodilus* (Grant, Woudneh, & Ross, 2013) y *Alligator mississippiensis* (Fujisaki et al., 2009; Rice, 2004; Zweig, 2003) para describir la condición corporal entre poblaciones (Zweig, 2003), realizar comparaciones con la dieta (Rice, 2004), relacionar valores hematológicos y presencia de ectoparásitos (Padilla, 2008), condiciones hidrológicas (profundidad del agua) (Fujisaki et al., 2009), factores bióticos (talla, sexo, hábitat) y abióticos (sitio, nivel del agua, temperatura ambiente) (Mazzotti et al., 2012), concentraciones de pesticidas (Grant et al., 2013) y carga parasitaria (González-Ávila, 2015), soportando su aplicabilidad como herramienta práctica para la toma de decisiones por parte de manejadores de recursos naturales.

El presente capítulo, tiene por objetivo determinar y aplicar el Factor de Condición (FC) de Fulton (K) como métrica de salud para determinar el estatus físico y analizarlo con valores hematológicos, químicos plasmáticos y variables ambientales que mejor describan la relación, permitiendo la categorización de los individuos y a su vez, proporcionar la metodología a futuras investigaciones para su aplicación en el manejo de las poblaciones en Costa Rica.

Materiales y métodos

Área de estudio

Este estudio se realizó en la Cuenca del Río Tempisque (CRT), provincia de Guanacaste, Costa Rica. El tipo de vegetación predominante es Bosque Tropical Seco, uno de los ambientes más vulnerables en Costa Rica, con una precipitación entre 1,500 y 2,000 milímetros anuales, temperatura de 27°C en promedio y un altitud de 10 metros sobre el nivel del mar (Sánchez-Ramírez, 2001). Esta cuenca posee una riqueza natural que incluye hábitats secos y ecosistemas estacionales. La zona se destaca por lagunas, mangle, bosque anegado, bosque deciduo de bajura, matorral espinoso, charral, potrero, pantano y los ríos Tempisque, Bebedero, Cañas y Liberia (Sánchez-Ramírez, 2001).

Dentro de esta cuenca, la empresa Aquacorporación Internacional S. A. maneja en promedio 600 hectáreas de espejos de agua de forma industrial para la producción de tilapia (*O. niloticus*), localizándose los estanques de cultivo en los cantones de Cañas (10°23'54.2"N, 85°06'53.0"W) y Bagaces (10°28'35.6"N, 85°24'09.0"W) (Figura 1, en pág. 22), con un área aproximada de 2,282 Km² (Cañas) y 1,560 Km² (Bagaces), en los cuales aumentaron los encuentros con cocodrilos (Bolaños, 2012a) implementando un manejo de captura y translocación inmediata como medida preventiva para evitar ataques, desarrollando una estrategia de manejo para la conservación de la especie (Bolaños, 2012a).

Método de captura

La captura de cocodrilos se realizó de junio 2014 a junio 2015 con el método descrito por Bolaños (2012a), empleando una red liviana de arrastre y plomo fanguero. La red se utilizó como un instrumento de apantallamiento para reducir el espacio para el cocodrilo, una vez contenidos dentro de la red se procedió a pasar el excedente de la malla detrás de la primera línea de captura, con la finalidad de evitar que el animal lograra evadir el entrapamiento (Bolaños, 2012). Posteriormente, los cocodrilos se aproximaron a la orilla para realizar la contención física, asegurando hocico, ojos, miembros torácicos y pélvicos para recolectar muestras de sangre, medidas morfométricas, registrar temperatura cloacal, temperatura de agua, temperatura ambiente y humedad relativa con termómetro/higrómetro digital (RadioShack ®).

Medidas corporales y peso

Las medidas morfométricas se registraron con cinta flexible graduada en centímetros (cm), modificándose de acuerdo con lo descrito por Padilla (2008) como sigue:

Longitudes generales:

- LTC = longitud total del cráneo: medida en centímetros en línea recta, desde la punta del hocico hasta la cresta occipital.
- LHC = longitud hocico cloaca: medida en centímetros en línea recta, desde la punta del hocico hasta el inicio de la abertura cloacal.
- LT = longitud total; medida en centímetros en posición dorsal, desde el hocico hasta el extremo más distal de la cola.

Longitudes complementarias:

- CCu = circunferencia de cuello: medida en centímetros; caudal a los escudos post occipital y craneal a los escudos nucales anteriores.
- CPC = circunferencia de pecho: medida en centímetros, posterior a la articulación escapulo humeral (miembros torácicos).
- CCL = circunferencia de cola: medida en centímetros tomada sobre la tercera línea de escamas después de la articulación coxofemoral.

Peso:

- El peso se obtuvo con báscula colgante digital (Rhino®) modelo BAC-300 con capacidad de 300 kilogramos (kg) y división mínima de 100 gramos (gr), introduciendo a los cocodrilos en tubos de policloruro de vinilo (PVC) de diferente diámetro (Bolaños, 2012) para emplearlo como método de soporte que facilitara el pesaje.

El peso del tubo de PVC se descontó del registro para el registro numérico del peso vivo en Kg por cada organismo.

Sexo y talla:

- El sexo se determinó por palpación cloacal. Para la categorización de la talla, los individuos se catalogaron como sub-adultos ($LT\ 1.5 \leq 2.5\ m$) o adultos ($LT \geq 2.5\ m$) (Bolaños, 2012).

Factor de condición corporal de Fulton (K)

Este factor de condición corporal se basa en el análisis de las proporciones entre dos métricas anatómicas, asumiendo un crecimiento isométrico con una relación cúbica entre la masa y longitud con un factor de escala exponencial para que la media de K sea mayor a uno (Zweig, 2003). Mazzotti et al., (2012) y Zweig (2003) describen la fórmula como:

Ecuación 1:

$$K = \frac{W}{L^3} \times 10^n$$

Dónde: K = Factor de Condición de Fulton; W = peso (kg); L = longitud (cm); n = factor de escala exponencial (1, 2, 3, 4 o 5).

Si el crecimiento es isométrico, K puede emplearse para realizar comparaciones espaciales entre poblaciones (Zweig, 2003). Sin embargo, el supuesto es que el valor del exponencial ($\beta = 3$) de la longitud debe ser igual a tres, para que K sea independiente de las medidas corporales, y la constante de regresión lineal ($\delta = 0$) de masa ~ longitud, sea igual a cero ($\beta = 3, \delta = 0$) (Padilla, 2008).

De acuerdo con Padilla (2008), una de las formas para calcular β es a partir de la transformación logarítmica con la siguiente ecuación:

Ecuación 2:

$$\log(W) = \log \alpha + \beta \log(L)$$

Dónde: W = peso; L = longitud; α = constante de regresión o intercepto; β = pendiente o coeficiente de alometría.

Adicionalmente, para determinar y validar el supuesto isométrico del modelo de regresión lineal (Ecuación 2) con cada relación de masa ~ longitud, se aplicó una prueba F de Fisher para contrastar los valores de β , bajo la hipótesis nula de que $H_0 = 3$ ($\beta = 3, \delta = 0$) con un criterio de significancia de $\alpha = 0.05$.

Las medidas corporales se utilizan para determinar el Factor de Condición (FC) de Fulton (K) calculando la pendiente (β) de regresión del logaritmo de la masa ($\log W$) en función del logaritmo de la longitud ($\log L$), verificando si cumplen con el supuesto de crecimiento isométrico ($\beta = 3$) (Cedeño-Vázquez et al., 2011; Fujisaki et al., 2009;

Mazzotti et al., 2012; Padilla, 2008; Zweig, 2003). Las relaciones (masa ~ longitud) que cumplan con el criterio $\beta = 3$ y $\delta = 0$, se utilizan para aplicar la Ecuación 1.

Categorización de Fulton (K)

Los criterios para definir el FC de K en Mala, Buena y Excelente, son las medidas de tendencia central y dispersión; la media y la desviación estándar de cada FC (Cedeño-Vázquez et al., 2011). La primera categoría (Mala) es un valor de K menor que el valor de la media, menos una desviación estándar ($K_i < \bar{K} - Sk$); la segunda (Buena) es un valor de K igual o mayor al valor de la primera categoría (Mala), y menor o igual a la media, más una desviación estándar ($\bar{K} - Sk \leq K_i \leq \bar{K} + Sk$); la tercera categoría (Excelente) es un valor de K mayor a la media, más una desviación estándar ($K_i \geq \bar{K} + Sk$).

Correlaciones de Fulton (K)

Para explorar y medir las relaciones entre Fulton (K) por categorización con cada una de las variables ambientales, se realiza una correlación empleando el método de Spearman (Padilla, 2008).

Variaciones de Fulton (K)

De acuerdo con Mazzotti et al., (2012) para identificar variaciones del FC de K con sexo, clase (talla) y variables ambientales, se realiza una regresión lineal múltiple (Ecuación 3), considerando a K como variable dependiente (y_i); al sexo, talla y variables ambientales, como variables independientes (χ_i) con un α 0.05.

Ecuación 3:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 \chi_{i1} + \dots + \beta_k \chi_{ik} + \varepsilon_i$$

Dónde: y_i = variable dependiente o respuesta; χ_i = variables independientes, explicativas o predictoras; β_0 = intercepto; β_i = pendiente de χ_i ; ε_i = componente aleatorio (residuales).

Para examinar las variaciones de K con sexo, clase, estación (seca, lluviosa) y variables ambientales (temperaturas de agua, de aire en el sitio de captura, del ambiente, humedad relativa y el caudal del río), se ajustó el modelo con K como variable dependiente (y_i) aplicando la Ecuación 3, seleccionando las variables independientes (X_i) mediante pasos sucesivos (*stepwise* por sus siglas en inglés) y como criterio

razonable, se aplicaron los hallazgos descritos por Mazzotti et al., (2012) con el *Crocodylus moreletii*.

En este trabajo se evaluaron las relaciones entre peso como métrica de masa ($\log W$) con cada una de las longitudes generales y complementarias (descritas en la página 73) como métricas de longitud ($\log L$).

Valores hematológicos y químicos plasmáticos

Los valores hematológicos y químicos plasmáticos derivaron de la investigación desarrollada en paralelo al presente estudio (Ver página 17; Anexo 2. Resultados hematológicos y Anexo 3. Resultados químicos plasmáticos).

Para explorar las relaciones entre Fulton (K) por categorización, valores hematológicos y químicos plasmáticos se aplicaron pruebas de correlación de Spearman (Padilla, 2008). Además, con la finalidad de comparar las diferencias entre las categorías, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey de diferencias honestas (HSD) para crear los intervalos de confianza sobre las diferencias entre las medias de los niveles del factor (categorías mala, buena y excelente).

Análisis de datos

Para el análisis de los datos, se implementó el protocolo de exploración desarrollado por Zuur, Ieno, & Elphick (2010) aplicando técnicas de visualización y estimación de parámetros para determinar a) datos atípicos (outliers) en y_i y χ_{ik} , b) homogeneidad de los residuos, c) normalidad de los residuos y d) relaciones entre y_i y χ_{ik} mediante coeficientes de correlación.

El análisis de datos se realizó con el lenguaje y ambiente de programación estadístico R versión 3.3.0 (RCoreTeam, 2016) empleando los paquetes readxl, (Wickham & Bryan, 2019), dplyr (Wickham & François, 2016), nortest (Gross & Ligges, 2015), outlier (Komst. L, 2011) y ggplot2 (Wickham, 2009) para importar, manipular, transformar, visualizar y analizar los datos.

Resultados

En total, se capturaron cuarenta y dos cocodrilos (**N = 42**) de vida libre de junio 2014 a junio 2015. De los 42 (100%) animales, se obtuvieron 26 (62%) machos (♂), 13 (31%) hembras (♀) y 3 (7%) sin sexar (Cuadro 26).

Cuadro 26. Clases y sexos de la población de cocodrilos americanos (*Crocodylus acutus*) capturados en el presente estudio.

Clase	Longitud total (m)	♂	♀	Sin Sexar	Sub total
Adulto	>2,0	18	8	0	26
Sub-adulto	1,50 ≤ 2,0	7	4	0	11
Sin clase	Sin medidas	1	1	3	5
Total		26	13	3	42

De la población capturada (**N =42**) se registraron 37 medidas corporales (descritas en la página 73) como conjunto de datos (**n = 37**) (Ver Anexo 1. Registros de medidas corporales) para determinar el Factor de Condición (FC) de Fulton (K).

Exploración de datos

Visualmente, se determinaron cuatro observaciones atípicas con datos crudos y con transformación logarítmica mediante diagramas de cajas y de puntos tipo Cleveland (Zuur et al., 2010) (Figura 14). Aplicando el método de distancia de Mahalanobis (Figura 15) se detectaron observaciones atípicas con cada una de las relaciones entre peso y métricas de longitud ($\log W \sim \log L$), removiendo las observaciones para explorar el modelo y determinar el supuesto isométrico ($\beta = 3$).

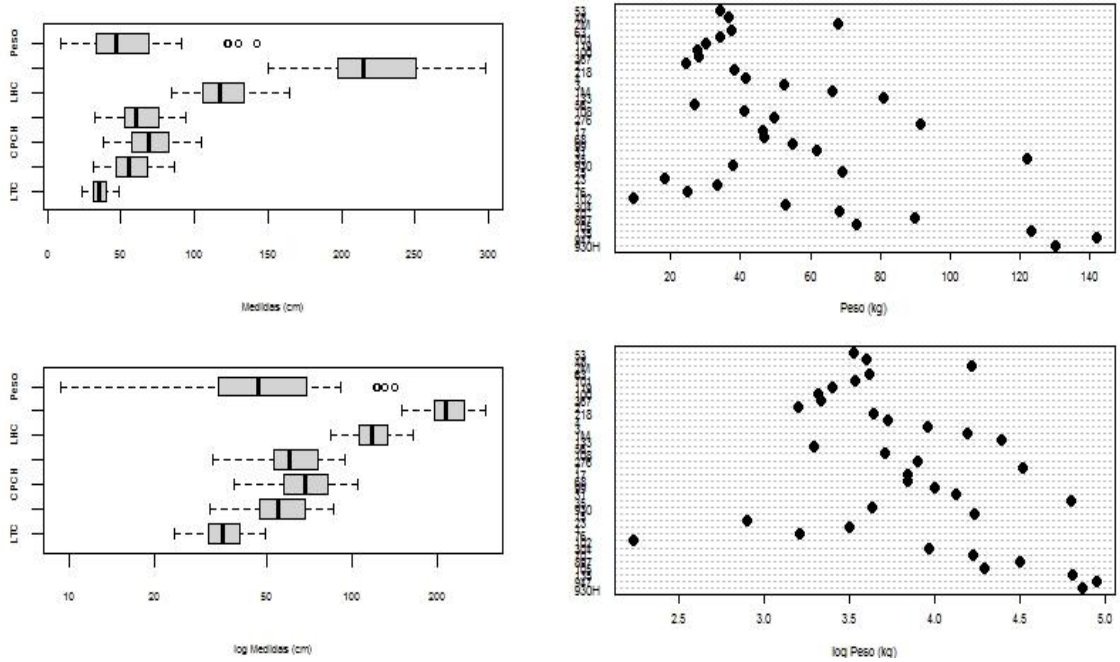


Figura 14. Diagramas de caja (boxplot) de 33 medidas corporales crudas, logarítmicas y gráfica de puntos (Cleveland) con la variable peso.

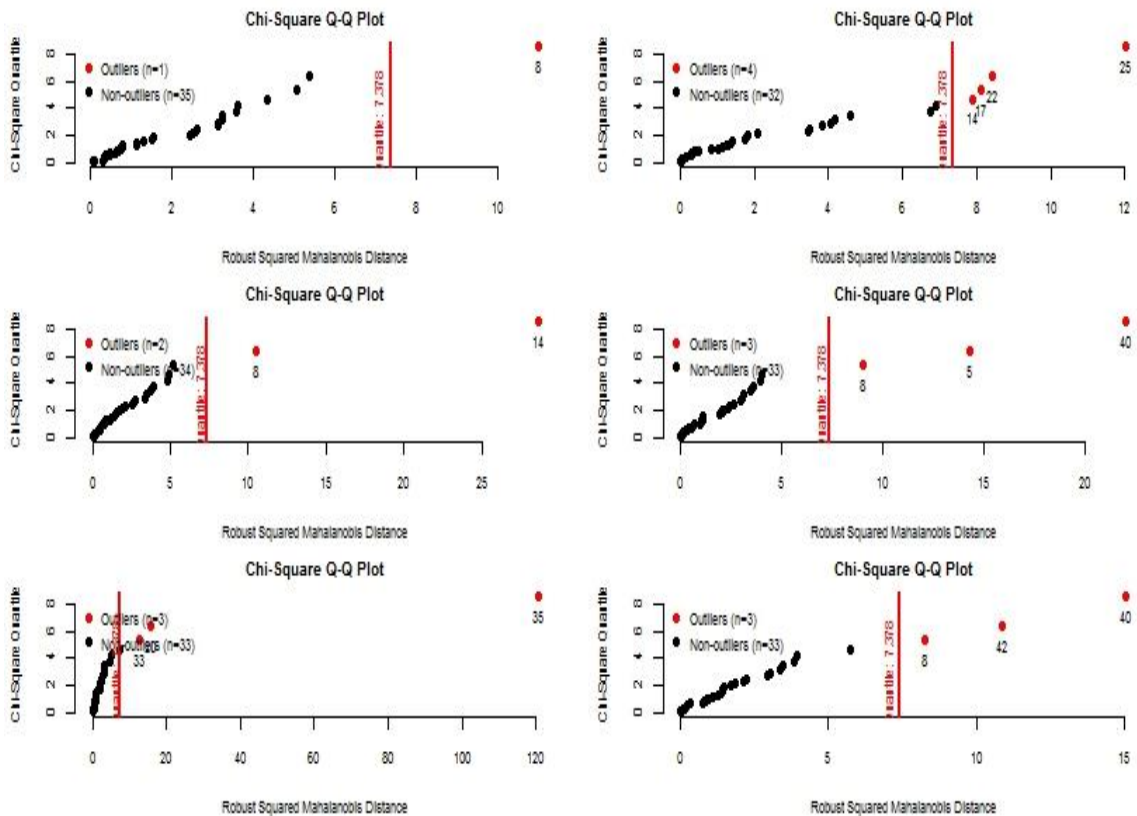


Figura 15. Observaciones detectadas con cada relación como datos atípicos con el método robusto de distancia Mahalanolis. Modelo $\log W \sim \log L$.

Factor de condición de Fulton (K)

De las relaciones sin datos atípicos, únicamente la de peso ~ longitud total de cráneo (Pesos ~ LTC) cumplió con el supuesto isométrico ($\beta = 3$) (Cuadro 27).

Cuadro 27. Ajuste de relaciones logarítmicas entre medidas corporales de *C. acutus* con los supuestos del factor de condición de Fulton (K). Ho: $\beta = 3$ y $\delta = 0$, $\alpha = 0.05$

Relaciones morfométricas		n	β	δ	R ²	F	Pr(>F)
Peso	Longitud total de cráneo	32	3.00	-2.95	0.87	0.00	0.97
Peso	Circunferencia de cuello	31	2.32	-2.38	0.93	35.15	0.00
Peso	Circunferencia de pecho	28	2.45	-2.84	0.98	55.03	0.00
Peso	Circunferencia de cola	31	2.55	-2.87	0.95	20.52	0.00
Peso	Longitud hocico cloaca	31	3.54	-5.68	0.90	6.48	0.01
Peso	Longitud total	31	3.72	-7.06	0.95	23.87	0.00

La regresión de peso y longitud total de cráneo para los 32 datos analizados de cocodrilos capturados en los estanques de tilapias fue $\log(\text{Peso}) = -2.954 + 3.009 * \log(\text{LTC})$, donde la pendiente ($\beta = 3.009$, IC_{95%} 2.568 - 3.45) no fue significativamente diferente de 3 (F 30 = 0.002, p = 0.968) verificando los supuestos de homogeneidad de residuos y normalidad (Zuur et al., 2010) (Figura 16); confirmando el supuesto isométrico entre datos morfométricos para emplear Fulton (K) como factor de condición corporal.

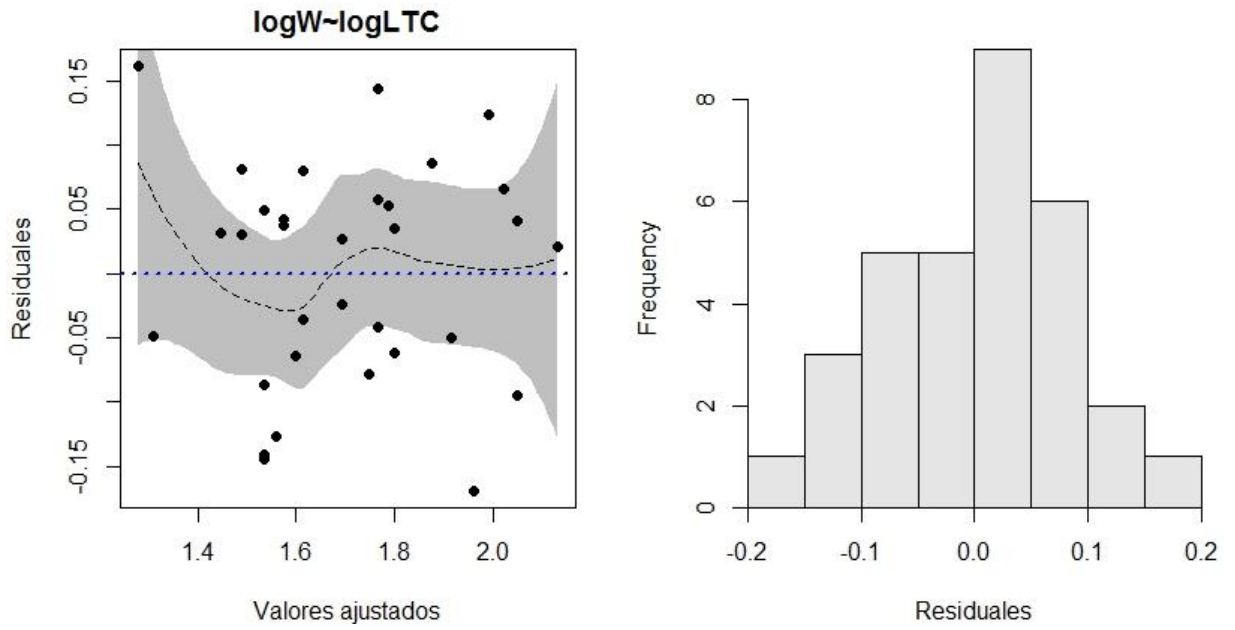


Figura 16. Gráfica de residuales e histograma, confirmando homogeneidad (izquierda) y normalidad (derecha).

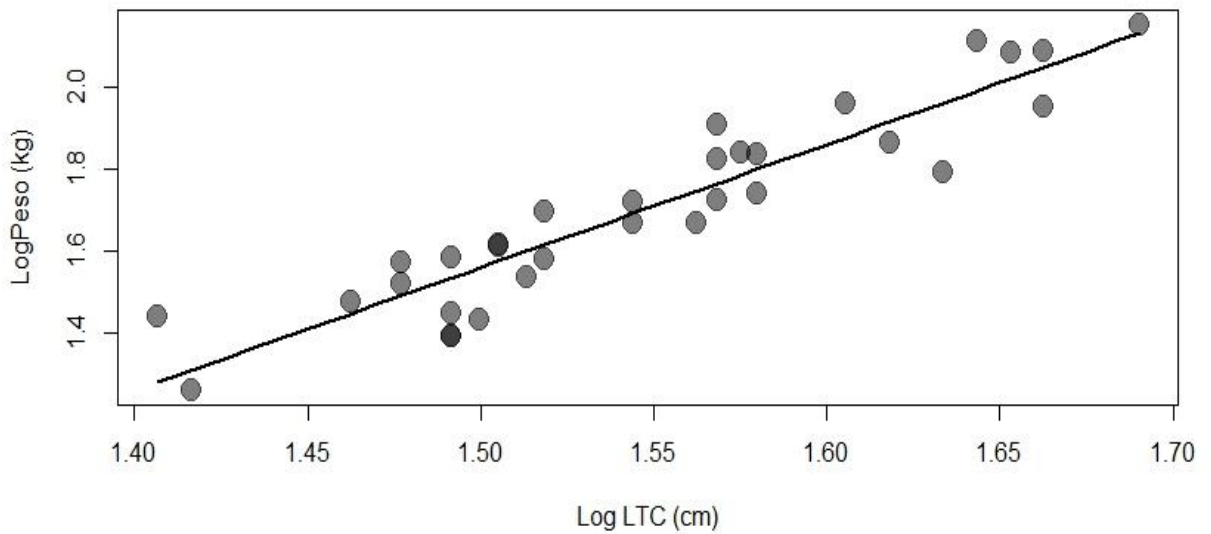


Figura 17. Regresión lineal (Log Peso ~ Log LTC) con 32 medidas corporales.

Aplicando la Ecuación 1 con un factor de escala exponencial tres, se obtuvo la media ($\bar{K} = 1.155$), desviación absoluta de la media ($Dm = 0.267$), desviación estándar ($S_K = 0.237$), valor mínimo y máximo (0.72, 1.66), rango ($R = 0.94$), cuantiles ($Q1 = 0.99$; $Q2 = 1.22$; $Q3 = 1.3$) y rango intercuatílico ($RQ = 0.31$) de los 33 datos.

Con las medidas de tendencia central y dispersión, la categorización de Fulton (K) quedó de la siguiente forma: Mala = $K < 0.919$; Buena = $0.919 \leq K < 1.392$; Excelente = $K \geq 1.392$ (Cuadro 28). De los 33 datos morfométricos, se identificaron 5 (15.1%) individuos con Mala condición, 24 con Buena (72.7%) y 4 (12.1%) con Excelente condición corporal (Cuadro 28 y Figura 18).

Cuadro 28. Individuos de *C. acutus* en cada categoría de Fulton (K), por clase y sexo

Clase	Mala		Buena		Excelente		Subtotal
Sexo	♀	♂	♀	♂	♀	♂	11: ♀ - 22: ♂
Adulto	0	2	6	12	1	2	23
Sub	2	1	2	4	0	1	10
Total	2	3	8	16	1	3	33

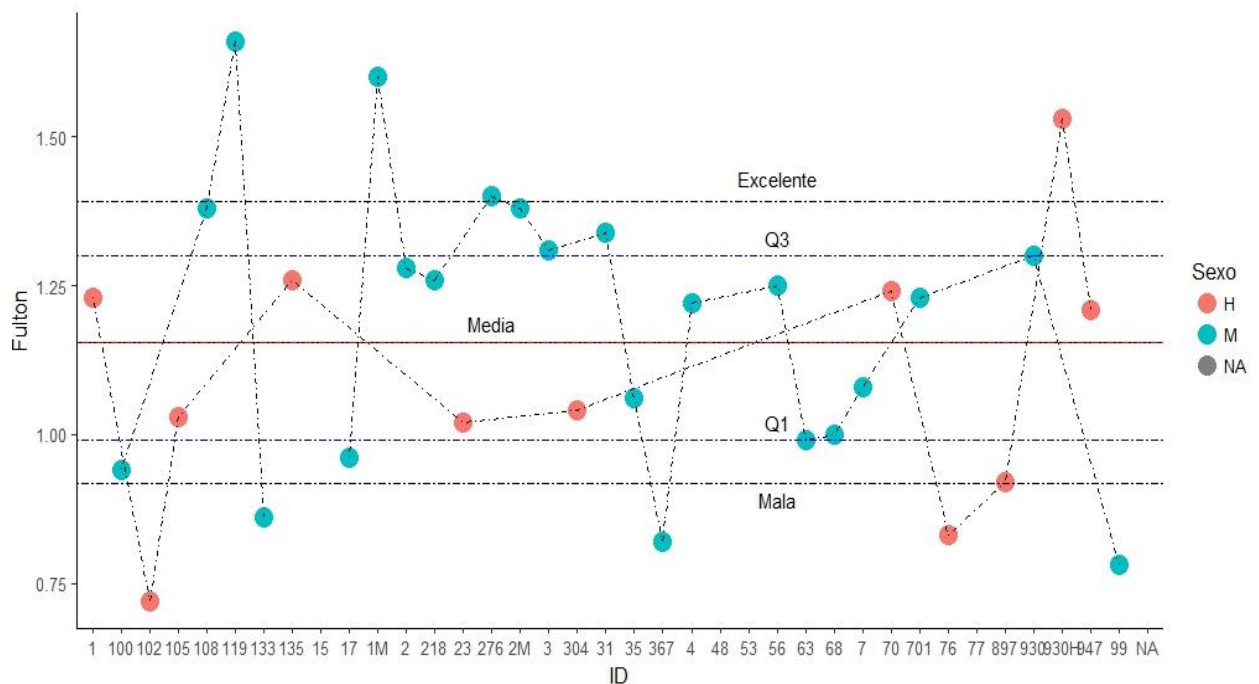


Figura 18. Identificación gráfica de individuos con Mala, Buena y Excelente condición corporal aplicando el factor de condición de Fulton (K)

Al comparar el FC de K entre sexos ($t = -1.063$, $gl = 31$, $p\text{-valor} = 0.296$), clases ($t = 1.182$, $gl = 31$, $p\text{-valor} = 0.246$) y estación ($t = -0.197$, $gl = 31$, $p\text{-valor} = 0.845$) (Cuadro 29), no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Figura 19, **A**, **B** y **C**). En contraste, por categoría de K se observó una diferencia de 0.745 ($IC_{95\%}$, 0.613, 0.878) entre individuos con Excelente ($\tilde{K} = 1.547$) y Mala ($\tilde{K} = 0.802$) condición corporal (Figura 19, **D**).

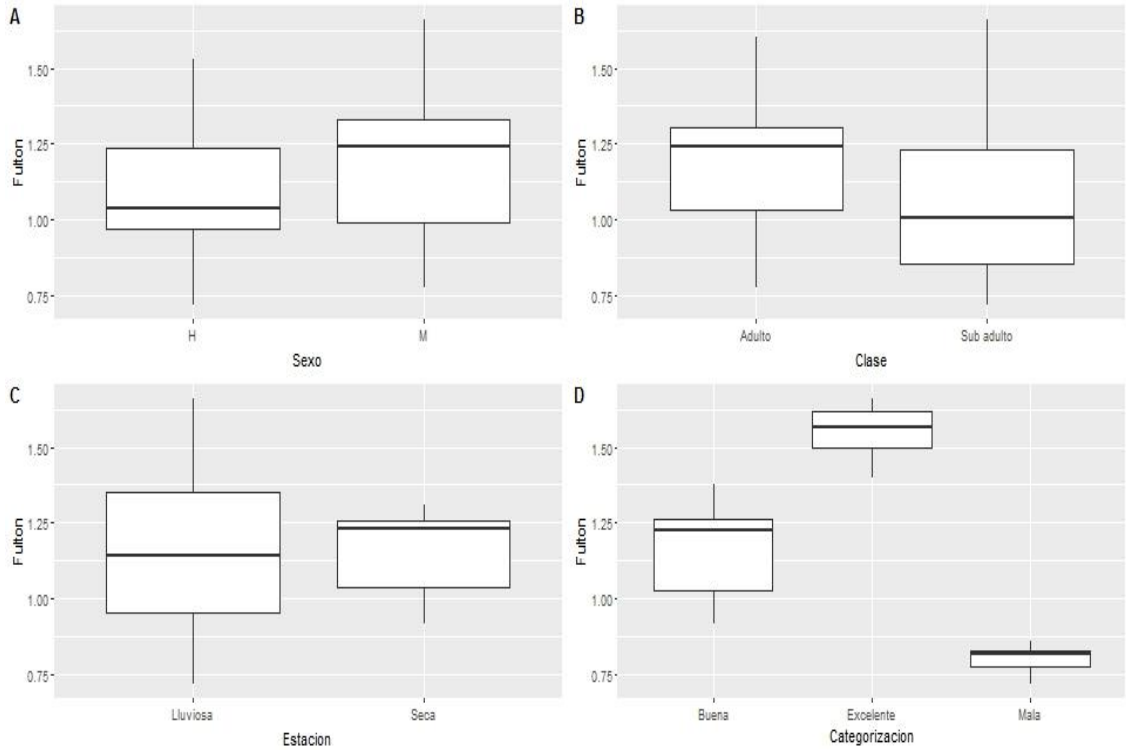


Figura 19. Diagramas de caja por sexo (A), clase (B), estación (C) y categorización (D) del Factor de Condición (FC) de Fulton (K)

Cuadro 29. Factor de condición corporal de Fulton (K) por sexo, clase y estación

	n	\tilde{K}	Q_2	D_m	S_k	$IC_{95\%}$	
Hembras	11	1.093	1.040	0.281	0.228	0.939	1.247
Machos	22	1.186	1.240	0.237	0.239	1.080	1.292
Adulto	23	1.187	1.240	0.237	0.208	1.097	1.277
Sub adultos	10	1.082	1.005	0.303	0.291	0.873	1.290
Seca	9	1.168	1.230	0.074	0.138	1.062	1.275
Lluviosa	24	1.150	1.145	0.296	0.266	1.037	1.263

Donde: n = tamaño de muestra; \tilde{K} = media de Fulton; Q_2 = cuantil; D_m = desviación absoluta de la media; S_k = desviación estándar de Fulton; $IC_{95\%}$ = intervalo de confianza

Correlaciones de K y variables ambientales

Las correlaciones entre los valores de K con temperatura de agua (°C), aire (°C) en el sitio de captura, humedad relativa (%), caudal del río (m³/s) y temperatura ambiente (°C), no mostraron relaciones significativas en los datos acumulativos, en la categoría buena y excelente. Sin embargo, en la categoría mala, existe una correlación significativa (Rho = 1, p - valor = 0.017) con humedad relativa (HR) (Cuadro 30).

Cuadro 30. Correlación entre K y variables ambientales empleando el método de Spearman (Rho), $\alpha = 0.05$

Fulton (K)		Agua	Aire	HR	Caudal	Temp
Acumulativo						
	Rho	0.12	0.09	-0.25	-0.16	0.16
	p-valor	0.53	0.64	0.18	0.38	0.38
Mala						
	Rho	-0.7	-0.9	1	-0.22	-0.22
	p-valor	0.17	0.08	0.02	0.72	0.72
Buena						
	Rho	0.15	0.18	-0.13	-0.06	0.06
	p-valor	0.53	0.41	0.57	0.77	0.77
Excelente						
	Rho	-0.4	0.5	0.6	-0.11	0.11
	p-valor	1	0.75	0.42	0.89	0.89

Variaciones de K y variables ambientales

En el modelo inicial (*full model*) el efecto del sexo ($t = 1.332$, p - valor = 0.198), clase ($t = -0.57$, p - valor = 0.576), estación ($t = 0.725$, p - valor = 0.477), temperatura del aire ($t = -0.467$, p - valor = 0.645) y temperatura media ($t = -1.385$, p - valor = 0.182), no fueron significativos incluyendo todas las covariables (Cuadro 31).

De acuerdo con la selección de pasos sucesivos (*step wise*), el segundo modelo se agrupó con las variables de temperatura de agua ($t = 2.265$, p - valor = 0.034), humedad relativa ($t = -2.5$, p - valor = 0.02), caudal del río ($t = -1.574$, p - valor = 0.13) y temperatura ambiente ($t = -1.346$, p - valor = 0.192). Empleando este modelo reducido, el efecto del caudal del río y temperatura ambiente no fueron significativos; por lo tanto, se excluyeron del modelo.

El modelo final incluyó: temperatura de agua en el sitio de captura ($t = 2.095$, p - valor = 0.046) y humedad relativa ($t = -2.653$, p - valor = 0.014), explicando el 22% de la variabilidad en la condición corporal de los animales capturados ($R^2 = 0.22$) (Cuadro 31).

Cuadro 31. Parámetros de regresión estimados, error estándar, valor t y p de variables independientes de los modelos evaluados con Fulton (K).

	<i>Variable dependiente:</i>		
		Fulton (K)	
	Modelo inicial	Modelo reducido	Modelo final
Sexo	0.13 (0.10) t = 1.33 p = 0.2		
Clase	-0.06 (0.11) t=-0.57 p= 0.58		
Estación	0.22 (-0.3) t= 0.73 p = 0.48		
Caudal	-0.02(0.01) t= -1.85 p=0.08*	-0.02(0.01) t=-1.67 p=0.11	
Temperatura de Aire	-0.02 (0.04) t= -0.47 p=0.65		
Temperatura Media	-0.28 (0.20) t=-1.38 p=0.19	-0.19 (0.14) t=-1.39 p=0.18	
Temperatura de Agua	0.14 (0.05) t=2.59 p=0.02**	0.11 (0.05) t=2.31 p=0.03**	0.07 (0.03) t=2.10 p=0.05**
Humedad Relativa	-0.02 (0.01) t=-2.28 p=0.04**	-0.02 (0.01) t=-2.98 p=0.01***	-0.01 (0.01) t=-2.65 p=0.02**
Intercepto	7.21(5.61) t=1.29 p=0.22	4.78 (4.10) t=1.17 p=0.26	0.05 (0.70) t=0.08 p=0.94
Observaciones	28	28	28
R²	0.39	0.3	0.22
R² Ajustada	0.13	0.18	0.16
Error estándar residuos	0.22(gl=19)	0.21(gl=23)	0.22(gl=25)
Estadístico F	1.49 (gl=8;19)	2.51* (gl=4;23)	3.52** (gl=2;25)

Nota: * p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

Correlaciones de K y valores hematológicos y químicos plasmáticos

En el presente estudio, no se detectaron correlaciones significativas entre Fulton (K) con valores hematológicos y químicos sanguíneos en datos acumulativos, así como, en la categoría buena y excelente. En los datos acumulativos, el valor de mayor correlación positiva fue con eosinófilos, sin ser estadísticamente significativo (Rho = 0.319, p - valor = 0.071). En contraste, en la categoría mala se detectó correlación positiva (Rho = 0.975, p - valor = 0.004) con hemoglobina (Cuadro 32).

Cuadro 32. Correlaciones entre K y valores hematológicos y químicos plasmáticos con el método de Spearman (Rho), $\alpha = 0.05$.

Parámetro	Unidad	Acumulativo		Mala		Buena		Excelente	
		Rho	p-valor	Rho	p-valor	Rho	p-valor	Rho	p-valor
CGR	(x10 ⁶ /μl)	0.01	0.96	0.30	0.68	-0.10	0.65	-0.40	0.75
Hematocrito	(%)	-0.12	0.50	0.90	0.08	-0.32	0.13	0.21	0.79
Hemoglobina	(g/dl)	-0.01	0.97	0.97	0.00	-0.22	0.28	-0.32	0.68
VCM	(fl)	-0.08	0.68	-0.10	0.95	-0.06	0.76	0.40	0.75
HCM	(pg)	-0.01	0.97	-0.30	0.68	0.05	0.80	0.40	0.75
CHCM	(g/dl)	0.10	0.56	-0.45	0.45	0.10	0.63	-0.40	0.75
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	0.04	0.81	0.21	0.74	-0.08	0.72	-0.20	0.92
CGB	(x10 ³ /μl)	-0.10	0.56	0.30	0.68	0.13	0.54	0.20	0.92
Heterófilos	(%)	-0.05	0.79	0.70	0.23	-0.27	0.20	-0.20	0.92
Linfocitos	(%)	-0.15	0.39	-0.62	0.27	-0.12	0.59	-0.20	0.92
Basófilos	(%)	0.27	0.13	-0.50	0.45	0.26	0.22	0.63	0.37
Monocitos	(%)	0.07	0.69	0.10	0.95	0.10	0.65	0.63	0.37
Eosinófilos	(%)	0.32	0.70	0.26	0.67	0.39	0.06	-0.60	0.42
Proteínas totales	(g/dl)	0.20	0.26	0.80	0.13	0.28	0.19	0.20	0.92
Albúmina	(g/dl)	0.07	0.68	0.90	0.08	0.17	0.44	0.40	0.75
Globulina	(g/dl)	0.21	0.23	0.20	0.78	0.23	0.27	-0.20	0.92
A/G	razón	-0.26	0.14	0.30	0.68	-0.28	0.19	0.40	0.75
Glucosa	(mg/dl)	-0.04	0.83	0.60	0.35	0.03	0.90	-0.40	0.75
Colesterol	(mg/dl)	0.07	0.69	0.60	0.35	-0.05	0.80	0.80	0.33
Ácido úrico	(UI/L)	0.16	0.39	-0.20	0.78	0.17	0.41	-0.11	0.89
AST	(UI/L)	-0.04	0.84	0.10	0.95	0.03	0.89	0.80	0.33
CK	(UI/L)	0.14	0.46	-0.80	0.33	0.03	0.89	0.00	1.00

Diferencias de K con valores hematológicos y químicos plasmáticos

Las variables que presentaron diferencias estadísticamente significativas fueron el conteo de glóbulos blancos (CGB) (ANOVA; $F_{2,7.962} = 5.128$, p - valor = 0.037) y eosinófilos (ANOVA; $F_{2,6.863} = 12.618$, p - valor = 0.005).

Cuadro 33. Valores hematológicos y químicos plasmáticos medios por categorización de Fulton (K).

	Unidad	Mala	Buena	Excelente
Fulton	(\bar{K})	0.802	1.163	1.547
Longitud Total	(cm)	197.040	227.750	244.380
Peso	(Kg)	29.500	58.170	82.530
Temperatura Cloaca	(°C)	30.100	29.950	30.000
Temperatura Agua	(°C)	28.920	27.790	29.330
Temperatura Aire	(°C)	31.860	32.600	32.120
Temperatura Media	(°C)	27.150	27.880	27.360
Humedad Relativa	(%)	68.600	56.480	62.750
Caudal	(m ³ /s)	40.290	29.740	33.700
CGR	(x10 ⁶ /μl)	0.710	0.660	0.760
Hematocrito	(%)	24.000	24.540	24.250
Hemoglobina	(g/dl)	7.500	7.580	7.920
VCM	(fl)	380.410	380.310	325.980
HCM	(pg)	119.010	117.350	106.460
CHCM	(g/dl)	31.200	30.980	32.660
Trombocitos	(x10 ³ /μl)	6.000	9.750	10.250
CGB	(x10 ³ /μl)	6.830	7.290	4.530
Heterófilos	(%)	23.800	19.790	22.500
Linfocitos	(%)	68.800	68.210	67.500
Basófilos	(%)	3.400	4.420	4.750
Monocitos	(%)	2.000	1.830	2.250
Eosinófilos	(%)	2.000	5.750	3.000
Proteínas totales	(g/dl)	6.120	6.710	6.330
Albúmina	(g/dl)	2.680	2.770	2.600
Globulina	(g/dl)	3.440	3.950	3.730
A/G		0.810	0.750	0.720
Glucosa	(mg/dl)	117.000	105.580	96.500
Colesterol	(mg/dl)	172.200	174.380	176.000
Ácido úrico	(UI/L)	3.920	5.830	3.770
AST	(UI/L)	54.400	55.380	71.000
CK	(UI/L)	966.500	1520.430	1510.000

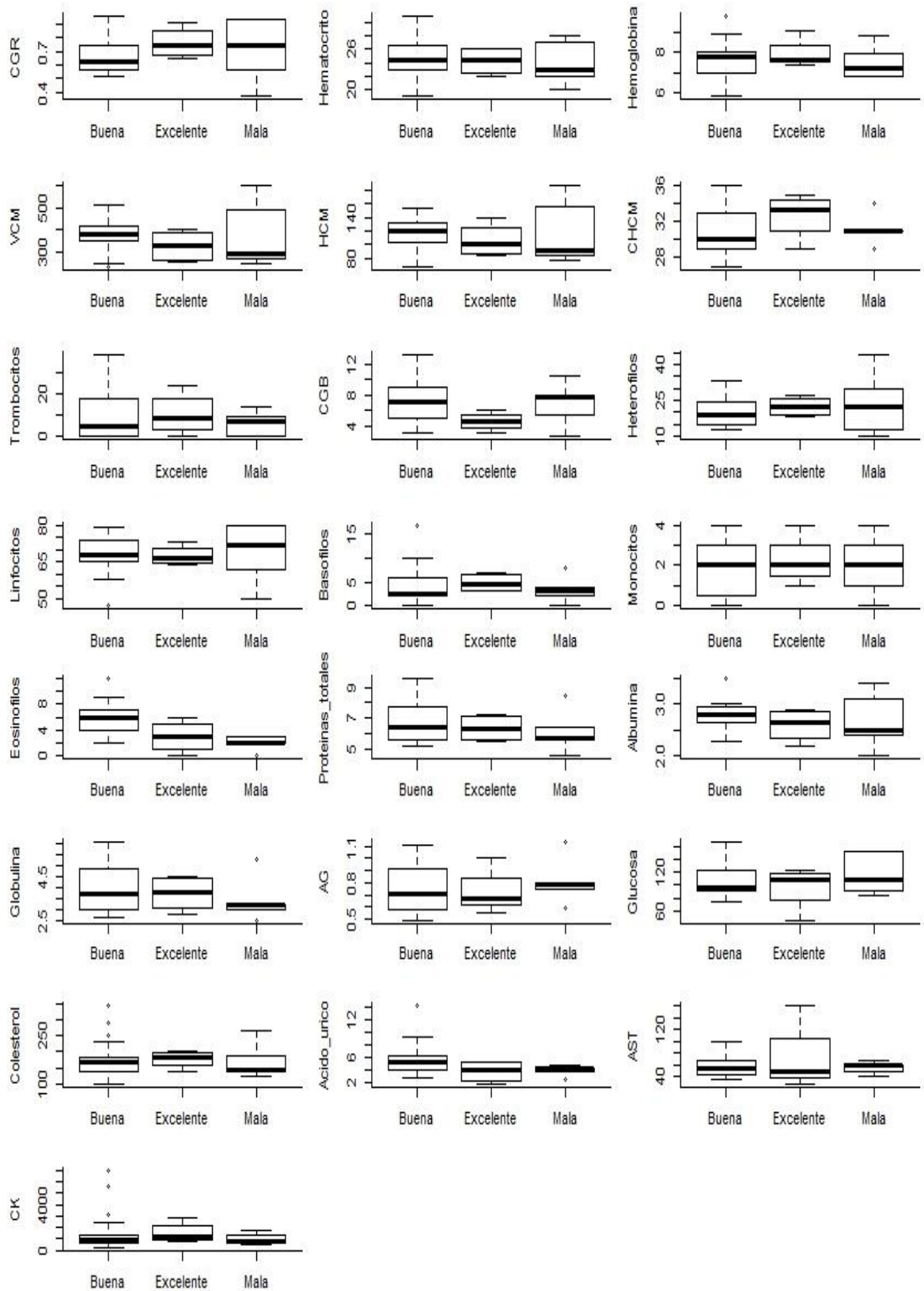


Figura 20. Diagramas de caja de variables hematológicas por categorías (Buena, Mala, Excelente) de Fulton K.

Discusión

En la presente investigación únicamente la relación de peso ~ longitud total de cráneo ($\beta = 3.00$, $\delta = -2.95$) cumplió con el supuesto isométrico ($\beta = 3$) para emplear la Ecuación 1 y determinar la condición corporal de 33 cocodrilos capturados en estanques de tilapia (*O. niloticus*). Por lo tanto, las relaciones de peso ~ medidas generales (LHC, LT) y complementarias (CCu, CPC, CCL) se inadecuaron para aplicar la ecuación de Fulton (K) (Cuadro 27).

En *Alligator mississippiensis*, Zweig (2003) analizó cinco índices de condición corporal, concluyendo que las relaciones de peso ~ longitud hocico cloaca y peso ~ longitud total de cráneo en aligatridos se ajustan al parámetro isométrico ($\beta = 3$) para realizar comparaciones entre poblaciones y hábitat.

Para el *Crocodylus moreletii*, Cedeño-Vázquez et al., (2011) estudió el FC de K en cocodrilos silvestres, y Padilla (2008) en silvestres y en cautiverio. Ambos autores evaluaron métricas de masa ~ longitud, ajustando las relaciones para determinar el supuesto isométrico ($\beta = 3$, $\delta = 0$). Cedeño-Vázquez et al., (2011) utilizó peso ~ perímetro de la cola ($\beta = 2.87$, $\delta = 0$); Padilla (2008) determinó peso ~ pliegue de grasa en la región cervical ($\tilde{\beta} = 1.65$, $\delta = 0$), esto debido a que ambas métricas de longitud se relacionan con la acumulación de grasa en cocodrilianos.

En contraste a los resultados de González-Ávila (2015) evaluando el FC de K para la misma especie (*Crocodylus acutus*) en México, identificó que la relación peso ~ perímetro de la base de la cola cumple con el criterio isométrico ($\beta = 3.02$, $\delta = 0$) para su validez.

Una de las diferencias fue con el tamaño de muestra. González-Ávila (2015) capturó 44 cocodrilos (19 hembras y 25 machos) en dos periodos de muestreo (26 para el 2006 y 18 para el 2012). Mientras que, en el presente estudio utilizamos 33 medidas corporales (11 hembras y 22 machos) de 42 capturas (24 para el 2014 y 18 para el 2015).

Además, la categorización de tallas fue distinto. González-Ávila (2015) incluye en su muestra 20 juveniles (LT 60.1 -120 cm), 15 sub-adultos (LT 120.1 - 180 cm) y 9 adultos (LT > 180 cm), a diferencia de 10 sub-adultos (LT 1.5 ≤ 2.5 m) y 23 adultos (LT ≥ 2.5 m) en la presente investigación. Por último, no describe la metodología para la exploración de datos, e identificación de valores atípicos. Por lo anterior, es imposible discutir o

argumentar las posibles causas de las diferencias observadas entre el presente estudio y el trabajo de González-Ávila (2015).

A pesar de las diferentes métricas empleadas, es de notar que en todas y cada una de las investigaciones realizadas con diferentes crocodílidos, el cumplimiento de los supuestos en el FC de K es importante para eliminar la independencia entre las métricas de masa y longitud. Es decir, que el índice de condición corporal aplicará siempre y cuando, no sea influenciado por el peso o la longitud.

Evaluado el cumplimiento de los supuestos, el FC de K permitió detectar que en términos generales la muestra poblacional estudiada ($n = 33$) presentó una buena condición corporal (72.7%), e individuos con mala condición (15.1%) fueron en su mayoría machos, tres adultos y un sub-adulto (Cuadro 28).

Al comparar entre sexos, clase y estación, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas. Con los datos descriptivos, se puede apreciar que para la época seca la variabilidad respecto a la media ($Dm = 0.074$) fue menor que en la época lluviosa ($Dm = 0.297$) y el 50% de individuos presentó mejor condición corporal en la época seca ($Q2 = 1.23$) que en la lluviosa ($Q2 = 1.145$), lo cual coincide con lo discutido por varios autores, identificando que la estacionalidad puede afectar la disponibilidad de presas (González-Ávila, 2015; Fujisaki et al., 2009; Mazzotti et al., 2009; Rice, 2004).

Sin embargo, en los estanques de tilapia (*O. niloticus*) la disponibilidad del recurso existe durante todo el año, independientemente de la estacionalidad. Esto sugiere que existen otros factores que afectan directamente la condición, como lo explica el modelo de regresión lineal múltiple. Los parámetros estimados del modelo final sugieren que, existe una relación negativa entre K y Humedad Relativa ($\beta = -0.014$), y positiva con la temperatura del agua ($\beta = 0.068$), explicando el 22% de la variabilidad, coincidiendo con los resultados de González-Ávila (2015) con *C. acutus* y Mazzotti et al. (2012) en *Crocodylus moreletii*, donde se consideró la temperatura del agua que experimentan los cocodrilos en el sitio de captura.

Respecto a los valores hematológicos y químicos plasmáticos, es de notar que mediante el método de Spearman no se detectaron correlaciones significativas en datos acumulativos. Estos resultados difieren con el trabajo de Padilla (2008) entre el FC de K con linfocitos ($r = -0.23$, $p < 0.05$), monocitos ($r = 0.34$, $p < 0.05$), heterófilos ($r = 0.24$, $p < 0.05$), eritrocitos ($r = 0.39$, $p < 0.01$), hematocrito ($r = -0.55$, $p < 0.01$), ácido úrico (r

= -0.39, $p < 0.01$) y colesterol ($r = -0.25$, $p < 0.05$). Posiblemente por el tamaño de muestra y tipo de especie.

Por otra parte, en la categoría mala la única correlación positiva que se observó fue con la hemoglobina ($r = 0.97$, $p < 0.01$), es decir que a medida que la condición corporal mejora de mala a buena, se espera que la Hb incremente.

Es importante observar que al menos el 50% de los cocodrilos con mala condición corporal presentaron un volumen corpuscular medio (VCM) ($Q2 = 288.77$ fl) menor (microcítico) al observado en la categoría excelente ($Q2 = 325.583$ fl), así como un mayor número de conteo de glóbulos rojos (CGR) ($Q2 = 0.74 \times 10^6/\mu\text{l}$) que en la categoría buena ($Q2 = 0.625 \times 10^6/\mu\text{l}$).

En animales domésticos, un VCM (junto con la CHCM) disminuido se asocia a deficiencia de hierro (Fe), procesos inflamatorios subagudos, crónicos o en individuos jóvenes en crecimiento (Kerr, 2002).

En reptiles, existe una relación inversa entre el VCM y CGR en quelonios y ofidios (N. I. Stacy, Alleman, & Saylor, 2011). Por lo tanto, esta observación puede ser una respuesta fisiológica característica de individuos con una baja condición corporal, sin que ello represente un signo patológico, pero interesante de investigar la causa de esta variación, la cual puede estar relacionada a la correlación positiva con la hemoglobina antes mencionada.

Adicionalmente, se detectó que individuos con mala ($\text{CGB} = 6.83 \times 10^3/\mu\text{l}$) y buena ($\text{CGB} = 7.287 \times 10^3/\mu\text{l}$) condición corporal, presentaron mayor conteo de glóbulos blancos (CGB) que individuos con excelente condición ($\text{CGB} = 4.525 \times 10^3/\mu\text{l}$). Es decir, la respuesta leucocitaria fisiológica en individuos con mala y buena condición puede verse influenciada por algún evento estresante (captura), dado que no se observaron células con cambios tóxicos sugeridos por Campbell (2015).

Finalmente, respecto a los eosinófilos es de notar que la categoría buena fue la de mayor número de este tipo celular, respuesta característica en especímenes infestados por parásitos (Campbell, 2012a, 2013, 2015b). Durante la captura, se observó que la mayoría de los individuos presentaron infestación leve a moderada (cualitativamente) por un parásito subcutáneo (*larva migrans*), el cual formaba surcos en zigzag, altamente sugestivo al género *Paratrichosoma* spp (Padilla, 2008).

Padilla (2008) determinó que existe una relación negativa entre la presencia del parásito y el FC de K ($r = -0.584$, $p < 0.01$), lo que sugiere que cuando aumenta la presencia del parásito, disminuye el FC de K. Por último, no menciona en que categoría se observó la mayor frecuencia del *Paratrichosoma* spp, pero discute que en sitios con mayor alteración de hábitat hay pérdida de hospedadores intermediarios, afectando el ciclo biológico del parásito y por consecuencia menor presencia del *Paratrichosoma* spp.

A pesar del esfuerzo de captura y desbalanceo de la muestra, fue posible aplicar el factor de condición (FC) de Fulton (K), y en términos generales el *C. acutus* presentó una buena condición corporal.

Para robustecer los hallazgos de la presente investigación, es necesario implementar un monitoreo sistemático que permita comparar el FC de K entre las UCC en Costa Rica.

Conclusiones

1. Para la aplicación del FC de K, es necesario corroborar el supuesto isométrico. La única relación que cumplió con el supuesto de Fulton en la presente investigación fue peso ~ longitud de cráneo.
2. En términos generales, el *C. acutus* presentó buena condición corporal.
3. La temperatura de agua y humedad relativa en el sitio de captura, explican el 22% de variación en la condición corporal determinada.
4. El FC de K no presentó diferencias significativas entre sexo, clase o estación, observando una leve correlación entre la categoría mala y el FC de K.
5. En la presente investigación, aplicando el FC de K no fue posible detectar asociaciones con valores hematológicos y químicos sanguíneos.
6. Sin embargo, las diferencias significativas se determinaron entre CGB y eosinófilos. Por lo tanto, es de esperar que el resultado esté influenciado por el tamaño de muestra desbalanceado.
7. Con datos descriptivos, se observó una mejor condición corporal en la época seca, identificando que la estacionalidad afecta el FC de K.
8. Posiblemente, existe una relación entre el FC de K y conteo leucocitario de eosinófilos.

Recomendaciones

1. Determinar el FC de K en las diferentes UCC en Costa Rica.
2. Generar una base de datos de acceso libre con los registros de medidas corporales para que los usuarios puedan comprender la variación de los datos, realizar comparaciones y análisis multivariados entre las UCC.
3. Detectar, mediante medidas de tendencia central y dispersión, organismos con mala o baja condición, sujetos a estrategias de manejo.
4. Establecer una metodología que permita comparar el FC de K entre UCC y acciones de manejo.
5. Incrementar el número de muestra para balancear y realizar comparaciones robustas entre sexos y clases.
6. Analizar asociaciones entre el FC de K y contaminantes.
7. Evaluar la relación entre FC de K, disponibilidad de recursos en la región del río Tempisque y presencia de cocodrilos en estanques de tilapia (*O. niloticus*) en ambos periodos (seca y lluviosa).

Referencias

- Bolaños, J. (2012). Manejo de cocodrilos (*Crocodylus acutus*) en estanques de cultivo de tilapia en Cañas, Guanacaste. *Ambientales*, 43, 63–72.
- Calvo-Alvarado Julio & González, E., Jiménez, A., Pizarro, F., Calvo-Alvarado, J., Jiménez, J. a., González, E., ... Pizarro, F. (2008). Determinación preliminar del caudal ambiental en el río Tempisque , Costa Rica : el enfoque hidrológico con limitación de datos. *Revista Forestal*, 5(13), 1–18.
- Campbell, H. A., Sullivan, S., Read, M. A., Gordos, M. A., & Franklin, C. E. (2010). Ecological and physiological determinants of dive duration in the freshwater crocodile. *Functional Ecology*, 103–111. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01599.x>
- Campbell, T. W. (2012a). Clinical Chemistry of Reptiles. In M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & Campbell (Eds.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (Second, pp. 599–606). Wiley Blackwell.
- Campbell, T. W. (2012b). Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. In R. W. A. Mary Anna Thrall Glade Weiser & Campbell (Eds.), (SECOND, pp. 223–320). Wiley Blackwell.
- Campbell, T. W. (2013). Clinical Pathology. In *Current Therapy in Reptiles Medicine and Surgery* (pp. 70–92). Elsevier Saunders.
- Campbell, T. W. (2014). Clinical Pathology. In D. R. Mader & S. J. Divers (Eds.), *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery* (1 ed, pp. 248–257). Philadelphia: Elsevier Inc.
- Campbell, T. W. (2015). *Exotic Animal Hematology and Cytology* (4th ed). Wiley Blackwell.
- Campbell, T. W., & Ellis, C. K. (2007). *Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology* (3rd ed). Blackwell Publishing Co.
- Coulson, R. A., & Hernandez, T. (1983). *Alligator Metabolism Studies on Chemical Reactions In Vivo*. Pergamon Press.
- Cray, C. (2015). Reference Intervals in Avian and Exotic Hematology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 18(1), 105–116. <http://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.006>

- Eme, J., Owerkowicz, T., Gwalthney, J., Blank, J. M., Rourke, B. C., & Hicks, J. W. (2009). Exhaustive exercise training enhances aerobic capacity in American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Journal of Comparative Physiology B*, 179, 921–931. <http://doi.org/10.1007/s00360-009-0374-0>
- Emshwiller, M. G., & Gleeson, T. T. (1997). Temperature Effects on Aerobic Metabolism and Terrestrial Locomotion in American Alligators. *Journal of Herpetology*, 31(1), 142–147.
- Fox, J., & Weisberg, S. (2011). *An R Companion to Applied Regression* (Second). Thousand Oaks CA: Sage. Recuperado de <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>
- Frye, F. L. (1991). *Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry*. (Vol. 2). Malabar, Florida.: Krieger Publishing.
- Geffré, A., Concordet, D., Braun, J. P., & Trumel, C. (2011). Reference Value Advisor: A new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(1), 107–112. <http://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00287.x>
- Glassman, A. B., Bennet, C. E., & Hazen, T. C. (1981). Peripheral blood components in alligator mississippiensis. *Transactions of the American Microscopical Society*, 100(2), 210–215.
- Grigg, G., & Kirshner, D. (2015). *Biology and Evolution of Crocodylians*. CSIRO Publishing.
- Gross, J., & Ligges, U. (2015). nortest: Tests for Normality. Recuperado de <https://cran.r-project.org/package=nortest>
- Jessop, T. S., Tucker, A. D., Limpus, C. J., & Whittierd, J. M. (2003). Interactions between ecology, demography, capture stress, and profiles of corticosterone and glucose in a free-living population of Australian freshwater crocodiles. *General and Comparative Endocrinology*.
- Kerr, M. G. (2002). *Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Biochemistry and Hematology* (pp. 73–79). Blackwell Science.

- Komsta, L. (2011). outliers: Tests for outliers. Recuperado de <https://cran.r-project.org/package=outliers>
- Lovely, C. J., Pittman, J. M., & Leslie, a J. (2007). Normal haematology and blood biochemistry of wild Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in the Okavango Delta, Botswana. *Journal of South Africa Veterinary Association*, 78, 137–144. <http://doi.org/10.4102/jsava.v78i3.305>
- Maceda-Veiga, A., Figuerola, J., Martínez-Silvestre, A., Viscor, G., Ferrari, N., & Pacheco, M. (2015). Inside the Redbox: Applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. *Science of The Total Environment*, 514, 322–332. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.004>
- Martínez-Silvestre, A., Lavin, S., & Cuenca, R. (2011). Hematología y citología sanguínea en reptiles. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*, 31(3), 131–141.
- Martínez-Silvestre, A., Lavin, S., & Cuenca, R. (2013). La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. *Consulta Difusión Veterinaria*, (200), 31–40.
- Murcia, C., Muñoz-Caprneá, R., & Sasa, M. (2012). Modelaje integrado de cambio climático y socioeconómico en el manejo sostenible del recurso hídrico en la cuenca Arenal-Tempisque: Una propuesta multidisciplinaria. *Ambientales*, 43, 47–62.
- Padilla, S. E. (2008). *Hematología , Índice Corporal y Lesiones Externas del Cocodrilo de Pantano Crocodylus moreletii en los Humedales del Norte del Estado de Campeche, Méxco*. El Colegio de la Frontera Sur.
- Padilla, S. E., Weber, M., & Jacobson, E. R. (2011). Hematological and plasma biochemical reference for morelet's crocodiles (*Crocodylus moreletii*) in the northern wetlands of Campeche, México. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(3), 511–522.
- Porrás, L. P. M., Bolaños, J. R., & Barr, R. B. (2008). Variación genética y flujo de genes entre poblaciones de *Crocodylus acutus* (Crocodylia : Crocodylidae) en tres ríos del Pacífico Central , Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 56 (septiembre), 1471–1480.
- RCoreTeam. (2016). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. Recuperado de <https://www.r-project.org/>

- Samour, J., & Howlett, J. C. (2008). Hematology analysis. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (pp. 35–52). Mosby, Elsevier.
- Stacy, B., & Whitaker, N. (2000). Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 31(3), 339–347. [http://doi.org/10.1638/1042-7260\(2000\)031\[0339:HABBOC\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0339:HABBOC]2.0.CO;2)
- Strik, N. I., Alleman, A. R., & Harr, K. E. (2007). Circulating Inflammatory Cells. In E. R. Jacobson (Ed.), *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles* (1st ed, pp. 167–218). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Thorbjarnarson, J., Mazzotti, F., Sanderson, E., Buitrago, F., Lazcano, M., Minkowski, K., ... Velasco, A. (2006). Regional habitat conservation priorities for the American crocodile. *Biological Conservation*, 128(1), 25–36. <http://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.013>
- Wells, R. M. G., Beard, L. A., & Grigg, G. C. (1991). Blood Viscosity and Hematocrit in the Estuarine Crocodile, *Crocodylus porosus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 99(3), 411–414. [http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629\(91\)90025-8](http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629(91)90025-8)
- Wickham, H. (2009). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. Recuperado de <http://ggplot2.org>
- Wickham, H., & Francois, R. (2016). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. Recuperado de <https://cran.r-project.org/package=dplyr>
- Zayas, M. A., Rodríguez, H. A., Galoppo, G. H., Stoker, C., Durando, M., & Luque, E. H. (2011). Hematology and Blood Biochemistry of Young Healthy Broad-Snouted Caimans (*Caiman latirostris*). *Journal of Herpetology*, 45(4), 516–524.

Conclusiones y recomendaciones generales

En la presente investigación se determinaron valores hematológicos con datos acumulativos, en adultos, para la época lluviosa y con machos. Para que esta información sea de mayor utilidad a manejadores de recursos naturales en Costa Rica, es necesario establecer valores hematológicos en las diferentes UCC, e incluir en los planes de manejo el FC de K como indicador de salud. Por ejemplo, aquellos individuos con mala o excelente condición corporal, determinados con criterios de clasificación basados en medidas de tendencia central y dispersión del FC de K, serán objeto de manejo y valoración clínica para determinar la condición sanitaria.

En lo que respecta a los hallazgos entre FC de K, valores hematológicos, químicos plasmáticos, sexo, clase, estación, factores bióticos y abióticos, es de notar que 1) individuos con buena y mala condición presentaron un incremento en el CGB, 2) la temperatura del agua y humedad son los factores más importantes en explicar la variación observada (22%), 3) investigar la proporción aumentada de eosinófilos en individuos con buena condición y finalmente, 4) éstas herramientas clínicas pueden proporcionar indicios en conjunto con datos eco toxicológicos para determinar repercusiones fisiológicas, o asociaciones entre niveles de contaminantes y condición corporal.

Finalmente, es evidente que se requiere de mayor evidencia cuantitativa para responder cuestiones respecto a las repercusiones fisiológicas entre contaminantes, condición corporal, agentes infecciosos y salud de los organismos. La información generada en la presente investigación proporciona una línea base para continuar desarrollando investigaciones en el ámbito de salud que articulen ciencia y toma de decisiones para el manejo de las poblaciones en las unidades de conservación de crocodílidos (UCC) de Costa Rica.

Anexos

Anexo 1. Registros de medidas corporales

Fecha	Estación	ID	Sexo	Clase	Peso (Kg)	LTC (cm)	CCu (cm)	CPCH (cm)	CCL (cm)	LHC (cm)	LT (cm)	Cloaca (°C)	Agua (°C)	Aire (°C)	HR (%)
08/07/2014	Lluviosa	15	M	Adulto	NA	46.00	86.00	94.00	94.50	164.00	298.00	35.10	33.00	33.70	56.00
09/07/2014	Lluviosa	367	M	Sub adulto	24.50	31.00	46.50	53.50	49.50	106.00	191.00	29.60	27.80	32.10	67.00
09/07/2014	Lluviosa	930	M	Adulto	69.00	37.60	45.50	82.50	76.00	133.00	243.00	31.50	28.70	32.90	55.00
20/08/2014	Lluviosa	35	M	Adulto	38.00	33.00	54.00	66.00	51.00	103.00	203.00	31.50	27.60	30.70	58.00
20/08/2014	Lluviosa	930H	H	Adulto	130.00	44.00	81.00	100.00	84.00	150.00	278.00	29.60	28.70	32.40	56.00
23/09/2014	Lluviosa	68	M	Adulto	54.70	38.00	61.00	78.00	60.00	125.00	231.00	32.70	30.70	31.50	74.00
23/09/2014	Lluviosa	99	M	Adulto	62.00	43.00	63.50	77.50	58.50	135.00	240.00	31.50	30.70	34.50	66.00
23/09/2014	Lluviosa	31	M	Adulto	121.80	45.00	77.50	95.00	83.00	156.00	287.00	32.70	30.80	31.90	63.00
23/09/2014	Lluviosa	135	H	Adulto	123.10	46.00	81.50	102.30	84.50	154.00	284.00	32.70	31.10	32.30	67.00
23/09/2014	Lluviosa	947	H	Adulto	142.00	49.00	85.00	104.60	86.00	165.00	298.00	31.60	30.40	31.50	65.00
18/11/2014	Lluviosa	102	H	Sub adulto	9.30	23.50	31.50	38.00	32.00	84.00	150.50	30.90	29.80	33.10	65.00
18/11/2014	Lluviosa	119	M	Sub adulto	27.50	25.50	39.50	55.50	45.50	106.00	191.50	31.60	29.80	32.50	63.00
18/11/2014	Lluviosa	100	M	Sub adulto	28.00	31.00	46.50	55.50	50.50	107.50	196.50	30.10	27.80	31.40	68.00
18/11/2014	Lluviosa	701	M	Sub adulto	30.00	29.00	51.00	68.00	53.00	106.00	191.00	29.70	28.20	31.50	68.00
18/11/2014	Lluviosa	7	M	Adulto	46.50	35.00	59.50	57.50	60.50	120.00	210.00	31.90	27.80	32.90	67.00
18/11/2014	Lluviosa	17	M	Adulto	46.60	36.50	52.00	68.50	59.00	124.00	230.00	30.10	27.80	33.50	65.00
19/11/2014	Lluviosa	76	H	Sub adulto	24.70	31.00	41.50	53.60	47.50	106.30	197.00	30.50	28.50	30.10	68.00
19/11/2014	Lluviosa	63	M	Sub adulto	34.30	32.60	48.60	59.50	53.00	106.50	198.10	29.50	28.50	30.80	62.00
19/11/2014	Lluviosa	133	M	Adulto	27.00	31.60	43.00	54.50	46.50	113.70	206.70	28.00	27.80	29.50	77.00
19/11/2014	Lluviosa	106	H	Adulto	36.60	31.60	46.50	56.60	49.00	114.50	207.80	29.70	29.50	33.20	64.00
19/11/2014	Lluviosa	56	M	Adulto	41.00	32.00	53.00	64.00	61.00	117.00	211.00	30.90	27.80	34.50	65.00
19/11/2014	Lluviosa	108	M	Adulto	49.60	33.00	56.50	66.50	68.00	119.00	223.50	30.00	29.50	32.60	68.00
19/11/2014	Lluviosa	105	H	Adulto	73.30	41.50	77.00	84.00	75.50	140.00	257.00	29.70	28.50	31.80	64.00
19/11/2014	Lluviosa	276	M	Adulto	91.60	40.30	68.50	92.50	83.00	135.00	257.00	30.00	29.50	32.90	59.00
17/03/2015	Seca	23	H	Sub adulto	18.20	26.10	37.00	48.50	41.90	94.50	180.00	28.80	28.50	29.70	75.00
17/03/2015	Seca	1	H	Sub adulto	33.20	30.00	47.00	60.00	53.00	100.00	189.00	26.60	24.30	32.80	42.00
17/03/2015	Seca	2	M	Adulto	38.20	31.00	54.00	64.00	58.50	109.00	209.00	27.00	24.30	34.90	37.00
17/03/2015	Seca	218	M	Adulto	41.40	32.00	55.00	71.50	57.00	117.00	215.00	NA	NA	36.90	30.00
17/03/2015	Seca	4	M	Adulto	52.30	35.00	60.00	74.50	62.00	121.00	227.00	27.30	24.50	34.50	31.00
17/03/2015	Seca	304	H	Adulto	52.90	37.00	62.50	72.00	62.00	125.00	230.00	NA	NA	NA	NA
17/03/2015	Seca	3	M	Adulto	66.40	37.00	63.00	82.00	68.00	132.00	248.00	28.70	24.50	33.10	34.00
17/03/2015	Seca	24	M	Adulto	67.80	40.00	68.00	75.00	65.50	102.00	212.00	26.20	24.50	33.80	39.00
17/03/2015	Seca	70	H	Adulto	68.30	38.00	62.00	76.00	67.00	138.00	253.00	NA	NA	33.40	32.00
17/03/2015	Seca	897	H	Adulto	90.00	46.00	77.00	95.00	80.00	116.00	256.00	26.80	24.50	34.90	35.00
07/07/2015	Lluviosa	3M	M	Sub adulto	34.00	27.00	52.00	57.00	54.00	99.00	181.00	28.70	NA	29.50	74.00
07/07/2015	Lluviosa	2M	M	Sub adulto	37.30	30.00	49.00	38.00	54.00	102.00	196.00	29.10	NA	29.90	74.00
07/07/2015	Lluviosa	1M	M	Adulto	81.00	37.00	76.00	88.00	82.50	134.00	251.00	28.80	NA	30.70	73.00

LT = Longitud total del cráneo; LHC = longitud hocico cloaca; LT = Longitud total; CCu = circunferencia de cuello; CPC = circunferencia de pecho; CCL = circunferencia de cola. NA = no aplica, sin registro de dato.

Anexo 2. Resultados hematológicos

Fecha de captura	Estación	ID	Sexo	CGR (x10 ⁶ /μl)	Hematocrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (g/dl)	Trombocitos (x10 ³ /μl)	CGB (x10 ³ /μl)	Heterófilos (%)	Linfocitos (%)	Basófilos (%)	Eosinófilos (%)	Monocitos (%)
08/07/2014	Lluviosa	15	M	0.69	23.00	6.90	333.33	100.00	30.00	0.00	9.65	27.00	65.00	3.00	3.00	2.00
09/07/2014	Lluviosa	367	M	0.94	23.00	7.20	244.68	76.60	31.00	14.00	7.70	13.00	80.00	0.00	3.00	4.00
09/07/2014	Lluviosa	930	M	0.63	24.00	7.90	380.95	125.40	32.92	0.00	4.75	27.00	58.00	10.00	3.00	2.00
20/08/2014	Lluviosa	35	M	0.62	24.00	7.80	387.10	125.81	33.00	0.00	5.00	19.00	68.00	7.00	6.00	0.00
20/08/2014	Lluviosa	930H	H	0.65	26.00	9.10	400.00	140.00	35.00	0.00	6.00	18.00	68.00	6.00	6.00	2.00
23/09/2014	Lluviosa	68	M	0.60	20.00	5.90	336.13	99.16	29.50	0.00	8.55	30.00	60.00	2.00	5.00	3.00
23/09/2014	Lluviosa	99	M	0.74	20.00	6.80	270.27	91.89	34.00	0.00	8.00	30.00	62.00	3.00	2.00	3.00
23/09/2014	Lluviosa	31	M	0.56	23.00	7.20	414.41	129.73	31.30	0.00	10.80	15.00	73.00	1.00	8.00	3.00
23/09/2014	Lluviosa	135	H	0.78	22.00	7.80	282.05	100.00	35.45	0.00	10.15	17.00	74.00	2.00	4.00	3.00
23/09/2014	Lluviosa	947	H	0.71	28.00	9.80	394.37	138.03	35.00	0.00	9.00	25.00	67.00	0.00	8.00	0.00
18/11/2014	Lluviosa	102	H	0.37	22.00	6.80	602.74	186.30	31.00	7.00	2.65	10.00	80.00	8.00	2.00	0.00
18/11/2014	Lluviosa	119	M	0.69	26.00	7.60	379.56	110.95	29.00	11.00	4.25	25.00	64.00	7.00	2.00	2.00
18/11/2014	Lluviosa	100	M	0.55	23.00	7.30	418.18	132.73	32.00	4.00	5.10	26.00	67.00	2.00	4.00	1.00
18/11/2014	Lluviosa	701	M	0.85	20.00	5.80	235.29	68.24	29.00	0.00	12.70	33.00	47.00	17.00	3.00	0.00
18/11/2014	Lluviosa	7	M	0.60	26.00	7.90	436.97	132.77	30.00	18.00	4.85	13.00	70.00	6.00	7.00	4.00
18/11/2014	Lluviosa	17	M	0.53	27.00	8.00	514.29	152.38	30.00	14.00	8.35	15.00	77.00	2.00	4.00	2.00
19/11/2014	Lluviosa	76	H	0.94	27.00	7.90	288.77	84.49	29.00	0.00	10.50	22.00	72.00	4.00	0.00	2.00
19/11/2014	Lluviosa	63	M	0.57	25.00	7.40	438.60	129.82	30.00	4.00	4.30	14.00	78.00	2.00	3.00	3.00
19/11/2014	Lluviosa	133	M	0.57	28.00	8.80	495.58	155.75	31.00	9.00	5.30	44.00	50.00	2.00	3.00	1.00
19/11/2014	Lluviosa	106	H	0.45	16.00	4.90	359.55	110.11	31.00	7.00	2.05	33.00	47.00	17.00	3.00	0.00
19/11/2014	Lluviosa	56	M	0.52	19.00	6.80	365.38	130.77	36.00	5.00	7.30	14.00	77.00	1.00	5.00	3.00
19/11/2014	Lluviosa	108	M	0.57	21.00	6.30	371.68	111.50	30.00	18.00	4.55	13.00	79.00	2.00	6.00	0.00
19/11/2014	Lluviosa	105	H	0.63	25.00	6.70	396.83	106.35	27.00	0.00	3.15	20.00	77.00	1.00	2.00	0.00
19/11/2014	Lluviosa	276	M	0.91	23.00	7.60	252.75	83.52	33.00	24.00	3.00	27.00	65.00	3.00	4.00	1.00
17/03/2015	Seca	23	H	0.97	24.00	8.20	248.70	84.97	34.00	6.00	5.25	25.00	60.00	6.00	7.00	2.00
17/03/2015	Seca	1	H	0.71	25.00	7.60	354.61	107.80	30.00	29.00	8.90	21.00	68.00	3.00	6.00	2.00
17/03/2015	Seca	2	M	0.63	23.00	6.60	365.08	104.76	29.00	0.00	13.15	17.00	64.00	7.00	9.00	3.00
17/03/2015	Seca	218	M	0.69	27.00	7.90	394.16	115.33	29.00	9.00	8.95	20.00	65.00	6.00	7.00	2.00
17/03/2015	Seca	4	M	0.83	26.00	7.80	313.25	93.98	30.00	28.00	9.30	19.00	68.00	5.00	6.00	2.00
17/03/2015	Seca	304	H	0.54	27.00	8.10	500.00	150.00	30.00	17.00	5.40	17.00	72.00	2.00	7.00	2.00
17/03/2015	Seca	3	M	0.54	25.00	7.30	462.96	135.19	29.00	17.00	6.50	14.00	66.00	10.00	7.00	3.00
17/03/2015	Seca	24	M	0.51	11.00	3.60	217.82	71.29	33.00	18.00	5.05	10.00	80.00	8.00	2.00	0.00
17/03/2015	Seca	70	H	0.83	30.00	8.80	363.64	106.67	29.00	38.00	6.75	14.00	65.00	6.00	12.00	3.00
17/03/2015	Seca	897	H	0.91	31.00	8.90	342.54	98.34	29.00	23.00	8.05	24.00	70.00	2.00	3.00	1.00
17/03/2015	Seca	20H	H	0.76	29.00	8.90	381.58	117.11	31.00	18.00	8.25	22.00	69.00	4.00	3.00	2.00
17/03/2015	Seca	240	M	0.71	27.00	7.90	380.28	111.27	29.00	15.00	8.85	24.00	67.00	2.00	5.00	2.00
17/03/2015	Seca	48	SS	0.71	29.00	8.60	411.35	121.99	30.00	2.00	3.60	39.00	52.00	3.00	5.00	1.00
17/03/2015	Seca	53	SS	0.63	28.00	10.30	444.44	163.49	37.00	13.00	3.70	26.00	69.00	2.00	3.00	0.00
17/03/2015	Seca	77	SS	0.62	19.00	7.60	306.45	122.58	33.00	15.00	10.90	20.00	72.00	0.00	8.00	0.00
07/07/2015	Lluviosa	3M	M	0.49	25.00	7.80	515.46	160.82	31.20	5.00	2.75	13.00	79.00	2.00	6.00	0.00
07/07/2015	Lluviosa	2M	M	0.59	24.00	8.00	410.26	136.75	33.33	4.00	4.10	23.00	67.00	4.00	6.00	0.00
07/07/2015	Lluviosa	1M	M	0.81	22.00	7.40	271.60	91.36	33.64	6.00	4.85	20.00	73.00	3.00	0.00	4.00

Anexo 3. Resultados químicos plasmáticos

Fecha de captura	Estación	ID	Sexo	Proteínas totales	Albúmina	Globulina	A/G	Glucosa	Colesterol	Ácido úrico	AST	CK
				(g/dl)	(g/dl)	(g/dl)		(mg/dl)	(mg/dl)	(UI/L)	(UI/L)	(UI/L)
08/07/2014	Lluviosa	15	M	5.90	1.90	4.00	0.48	146.00	156.00	5.50	48.00	2570.00
09/07/2014	Lluviosa	367	M	5.70	2.50	3.20	0.78	152.00	190.00	2.50	68.00	41.00
09/07/2014	Lluviosa	930	M	5.70	3.00	2.70	1.11	128.00	140.00	6.40	36.00	389.00
20/08/2014	Lluviosa	35	M	5.60	2.80	2.80	1.00	117.00	186.00	9.00	67.00	7053.00
20/08/2014	Lluviosa	930H	H	5.60	2.80	2.80	1.00	123.00	187.00	2.70	27.00	717.00
23/09/2014	Lluviosa	68	M	5.80	2.80	3.00	0.93	95.00	113.00	6.30	58.00	2262.00
23/09/2014	Lluviosa	99	M	4.50	2.00	2.50	0.80	90.00	125.00	4.20	39.00	1788.00
23/09/2014	Lluviosa	31	M	5.50	2.80	2.70	1.04	105.00	135.00	4.80	52.00	1311.00
23/09/2014	Lluviosa	135	H	5.40	2.50	2.90	0.86	132.00	166.00	14.20	57.00	3066.00
23/09/2014	Lluviosa	947	H	5.90	2.80	3.10	0.90	85.00	231.00	9.20	36.00	1252.00
18/11/2014	Lluviosa	102	H	5.60	2.40	3.20	0.75	85.00	136.00	4.30	58.00	915.00
18/11/2014	Lluviosa	119	M	7.20	2.90	4.30	0.67	46.00	204.00	5.30	160.00	1119.00
18/11/2014	Lluviosa	100	M	5.40	2.60	2.80	0.93	100.00	162.00	4.90	34.00	702.00
18/11/2014	Lluviosa	701	M	5.50	2.30	3.20	0.72	95.00	175.00	5.10	64.00	635.00
18/11/2014	Lluviosa	7	M	5.20	2.60	2.60	1.00	93.00	157.00	3.80	46.00	742.00
18/11/2014	Lluviosa	17	M	6.00	2.70	3.40	0.79	110.00	169.00	4.40	42.00	208.00
19/11/2014	Lluviosa	76	H	8.40	3.10	5.30	0.58	151.00	268.00	4.70	59.00	707.00
19/11/2014	Lluviosa	63	M	6.60	2.70	3.90	0.69	166.00	127.00	3.60	99.00	5549.00
19/11/2014	Lluviosa	133	M	6.40	3.40	3.00	1.13	107.00	142.00	3.90	48.00	456.00
19/11/2014	Lluviosa	106	H	7.30	3.10	4.20	0.74	152.00	449.00	3.30	89.00	639.00
19/11/2014	Lluviosa	56	M	6.90	2.80	4.10	0.68	122.00	194.00	4.40	38.00	784.00
19/11/2014	Lluviosa	108	M	6.10	2.30	3.80	0.61	138.00	129.00	2.80	57.00	NA
19/11/2014	Lluviosa	105	H	5.40	2.40	3.00	0.80	93.00	139.00	5.30	44.00	2405.00
19/11/2014	Lluviosa	276	M	7.00	2.50	4.50	0.56	105.00	136.00	5.30	46.00	1381.00
17/03/2015	Seca	23	H	6.60	3.00	3.60	0.83	142.00	99.00	8.70	72.00	664.00
17/03/2015	Seca	1	H	7.40	2.70	4.70	0.57	95.00	254.00	5.30	45.00	906.00
17/03/2015	Seca	2	M	8.60	3.00	5.60	0.54	79.00	125.00	5.50	43.00	222.00
17/03/2015	Seca	218	M	8.40	2.90	5.50	0.53	91.00	150.00	6.10	52.00	1358.00
17/03/2015	Seca	4	M	7.10	2.70	4.40	0.61	75.00	293.00	3.80	39.00	1076.00
17/03/2015	Seca	304	H	7.40	2.80	4.60	0.61	90.00	177.00	4.10	54.00	394.00
17/03/2015	Seca	3	M	8.50	2.80	5.70	0.49	86.00	178.00	4.20	75.00	1364.00
17/03/2015	Seca	24	M	6.60	2.30	4.30	0.53	79.00	220.00	3.40	35.00	468.00
17/03/2015	Seca	70	H	8.40	3.00	5.40	0.56	81.00	170.00	5.80	67.00	257.00
17/03/2015	Seca	897	H	8.10	3.00	5.10	0.59	92.00	344.00	3.20	71.00	950.00
17/03/2015	Seca	20H	H	7.20	2.90	4.30	0.67	90.00	162.00	3.10	57.00	1130.00
17/03/2015	Seca	240	M	6.80	2.50	4.30	0.58	58.00	176.00	3.40	62.00	1241.00
17/03/2015	Seca	48	SS	0.10	0.00	0.10	0.00	150.00	165.00	4.10	10.00	689.00
17/03/2015	Seca	53	SS	6.90	3.00	3.90	0.77	153.00	258.00	7.80	72.00	90.00
17/03/2015	Seca	77	SS	6.60	3.10	3.50	0.89	129.00	139.00	4.50	46.00	807.00
07/07/2015	Lluviosa	3M	M	2.50	1.10	1.40	0.79	43.00	85.00	1.90	36.00	2076.00
07/07/2015	Lluviosa	2M	M	9.60	3.50	6.10	0.57	124.00	172.00	8.90	81.00	1421.00
07/07/2015	Lluviosa	1M	M	5.50	2.20	3.30	0.67	112.00	177.00	1.80	51.00	2823.00

Anexo 4. Datos hidrológicos y climáticos

AÑO	PARÁMETRO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	PROMEDIO
2000 - 2010	Caudal Promedio (m ³ /s) La Guardia	20.28	14.01	9.55	8.88	15.76	28.66	26.24	30.52	58.14	96.86	39.03	22.75	30.89
2000 - 2010	Caudal Máximo (m ³ /s) La Guardia	30.47	17.03	12.97	11.45	71.17	72.81	45.97	81.70	227.68	360.91	132.90	32.98	91.50
2000 - 2010	Caudal Mínimo (m ³ /s) La Guardia	15.78	11.98	8.98	7.86	8.10	15.64	19.46	18.48	25.62	34.09	22.66	18.92	17.30
2000 - 2014	Temperatura Promedio Mujica	28.00	28.70	29.30	30.10	29.30	28.30	28.20	28.00	27.60	27.30	27.20	27.70	28.31
2000 - 2014	Temperatura Máxima (°C) Mujica	31.50	32.60	33.60	34.70	34.00	32.40	32.30	32.60	32.30	31.60	31.20	31.40	32.52
2000 - 2014	Temperatura Mínima (°C) Mujica	24.50	24.80	25.00	25.40	24.50	24.10	24.10	23.50	22.80	22.90	23.20	23.90	24.06
2014 - 2015	Temperatura Promedio (°C) OET	28.11	28.49	29.26	30.04	29.92	29.01	28.40	26.29	25.31	26.16	26.75	27.48	27.94
2014 - 2015	Temperatura Máxima (°C) OET	33.79	35.66	36.09	38.17	36.81	36.71	34.18	34.94	33.59	33.56	33.12	33.83	35.04
2014 - 2015	Temperatura Mínima (°C) OET	23.76	21.95	21.42	24.61	23.15	23.34	21.39	18.73	19.24	22.40	21.96	21.39	21.95

Datos hidrológicos: Estación hidrométrica “La Guardia” del Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) (período en año civil 2000 – 2010)

Datos ambientales: Estación meteorológica “Mojica” del Instituto Nacional de Meteorología (INM) (período en año civil 2000 – 2014) y estación meteorológica de la Organización para Estudios Tropicales (OET) (período en año civil 2014 – 2015)

Anexo 5. Instrucciones para los autores

Guidelines for authors

The Journal of Herpetological Medicine and Surgery, Volume 29, No. 3–4, 2019 pp. 128–129

The Journal of Herpetological Medicine and Surgery (JHMS) is designed to be a source of information for veterinarians and others involved in the health of reptiles and amphibians. JHMS is interested in all aspects of care for these species, including natural history and maintenance in captivity as well as particular medical and surgical problems.

Manuscripts are expected to be original works that have not been previously published (with the exception of abstracts of 250 words or less). All authors are welcome to submit manuscripts for consideration. Student authors (including undergraduate, veterinary, graduate, residents, interns, etc.) enrolled in a full-time education program will be granted a complimentary 1-year online student membership to the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians once they have completed the submission process. Please contact the Managing Editor, Dana Varble, at dvarble@navc.com for further information.

English language editing is available through Charlesworth Author Services at a discounted price for JHMS authors through cwauthors.com/BioOne.

Authors may submit manuscripts for publication in the following sections:

In My Experience: Brief clinical experiences regarding adverse or unusual drug reactions, empirical drug dosages, therapeutic modalities, diagnostic aids, disease trends, species idiosyncrasies, and herpetological medicine care and husbandry in general.

Brief Communication: Brief Communications provide substantive information on research observations or clinical cases (case reports). Reports of single cases should include novel information or insights, for example, description of a novel diagnostic or therapeutic approach, a disease process not previously described in a given species, a previously undescribed etiology, or a disease not well described in the literature.

Case Series: Reports of clinical cases with detailed introduction, signalment, history, captive care, laboratory and pathologic data, diagnosis, therapy and results. Cases should be unusual or novel; however, they do not have to have a successful outcome. They should be informative to veterinary practitioners. The discussion should emphasize the important clinical, pathologic, and therapeutic features, as well as identify what is

new and not previously appreciated. A complete and up-to-date review of literature should be included on the topic in the discussion.

Original/Review/Roundtable Articles: In-depth articles of discussions focusing on a specific disease or topic, review of literature relating to a specific topic, and clinical data and research concerning specific diseases or species. An approved Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) protocol number must be provided for manuscripts involving animal research. If a protocol number is not available, an explanation should be forwarded with the manuscript. JHMS reserves the right to decline manuscripts for any animal safety and welfare concerns.

Manuscript Submission: Manuscripts should be submitted electronically at jhms.allentrack2.net. Before you use the JHMS website, you must first register on the site. There is online help to assist you or you can contact the Editor-in- Chief, Mark A. Mitchell, DVM, MS, PhD at mmitchell@lsu.edu. Manuscript files should be submitted in Microsoft Word format. Tables should be in XLS or doc formats. Figures and images should be 300 dpi, TIFF, EPS, PDF, or JPG formats.

- 1) An abstract is required for all manuscripts, except In My Experience. The abstract should be no longer than 250 words and summarize your key points.
- 2) A list of six key words should precede all articles. Key words should include genus and species.
- 3) Species mentioned should be listed by common name and then italicized taxonomic name (e.g., inland bearded dragon, *Pogona vitticeps*). Where applicable, sex, age, whether wild caught or captive born, and length of time in which its history can be documented should be included.
- 4) All measurements should be given in the metric system. Biochemical values should be listed in International System (SI) units with conventional units in parentheses, or on the next line (if in a table). Temperatures should be in Celsius, with Fahrenheit in parentheses.
- 5) Abbreviations may be used in the text if the full meaning was previously stated but should not be used to begin a sentence. Standard pharmaceutical abbreviations need not be explained. Numbers less than 10 should be spelled out.
- 6) Drugs and all other products should be listed by generic or chemical name followed by, in parentheses, trade name, concentration, manufacturer, city, state two-letter

abbreviation, and country. Dosages of all drugs should be given in mg/kg or ml/kg (if mg unit is inappropriate), not how many milligrams or milliliters were given to an individual animal. Route of administration (abbreviated), frequency of dosage, and duration of treatment should be indicated. For example, 2.5 mg/kg amikacin (Amiglyde V, 250 mg/ml, Fort Dodge Laboratories, Fort Dodge, IA, USA) SC q 72 hr for six treatments.

7) When preparing the manuscript and literature cited, peer-reviewed journal papers or published book chapters are considered most impactful, whereas non-peer-reviewed, unpublished, or poorly available proceedings papers are considered less valuable and should be avoided.

8) Literature should be cited by author and year, in parentheses, and then listed in alphabetical order at the end of the text. For references with three or more authors, citations in text need to include only the first author followed by et al.; all authors should be listed under Literature Cited. Journal titles should be abbreviated in a consistent manner. Use the following style: (Wellehan, 2019) then (Schumacher et al., 1994) then (Sladky and Mans, 2019).

Chapter or Article in a Book

1. Sladky KK, Mans C. 2019. Analgesia. In Divers SJ, Stahl SJ (eds): *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. Elsevier, St. Louis, MO, USA: 465–474.

Article in Journal

2. Schumacher J, Jacobson ER, Homer BL, Gaskin JM. 1994. Inclusion body disease in boid snakes. *J Zoo Wild Med*, 25(4):511–524.

Proceedings

3. Stöhr AC, Nevarez JG. 2019. Blood transfusions in reptiles: Why don't we do more? *Proc ExoticsCon*, 915.

In Press

4. Kolesnik E, Hyndman TH, Müller E, Pees M, Marschang RE. 2019. Comparison of three different protocols for the detection of ferlaviruses. *BMC Vet Res*, in press.

Thesis/Dissertation

5. Floyd RB. 1983. Thermal Physiology of *Bufo marinus* Embryos and Larvae: The Ecological Significance of Laboratory Observations. PhD. Diss., School of Australian Environmental Studies, Griffith University, Queensland, Australia.

URL

6. OIE World Organization for Animal Health. *Batrachochytrium salamandrivorans*. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/International_Standard_Setting/docs/pdf/Aquatic_Commission/A_BSAL_Disease_card.pdf. Accessed 2019 Aug 06.

Personal Communications: If personal communications are referenced in a manuscript, the first initial(s), last name, highest academic degree of the source of the information, “personal communication”, and the year in which the information was obtained should be listed in the text (D. Varble, DVM, personal communication, 2019). Personal communications should not be listed under Literature Cited.

9) There is no charge for submitting color images, and color images are preferred. Short figure legends should be provided for each figure that includes the species, stain, and original magnification or bar scale. Each figure, table, or photograph should be submitted as a separate file with a corresponding file name.

10) For digital art, the screen display of an image is much different from the printed version. The resolution of an image on the computer screen, which is usually 70–90 dpi, is too low for adequate quality in a final printed form. For publication purposes, images must be at least 1,200 dpi or 50 pixels/mm for line art and 300 dpi or 12 pixels/mm for grayscale or color illustrations or photographs. Combination art (illustrations/photographs with text) should be saved at a resolution of 600 dpi or 25 pixels/mm. Digital art should be cropped as close as possible to the image boarder (1 or 2 points).

11) All manuscripts are submitted with the understanding that all authors have seen the article. JHMS reserves the right to reject any manuscript. Submitted manuscripts are subject to anonymous peer review. Authors are expected to respond to reviewers' comments and make revisions within 30 days. Revised manuscripts may be sent out for review again. Manuscripts that pass peer review are accepted for publication once the author has addressed all questions and concerns raised by reviewers and editorial staff.

12) Acknowledgments should be limited to persons who have contributed materially to the content.

13) If funding or support for an article was provided, it should be stated. Any potential conflict of interest or financial disclosures should also be include