

Efectos de la radiación ultravioleta natural y artificial (UVA/UVB) sobre la concentración plasmática de calcio y fósforo y el crecimiento en crías de *Caiman latirostris*

Effects of natural and artificial ultraviolet radiation (UVA/UVB) on calcium and phosphorus plasmatic concentrations and growth in *Caiman latirostris* yearlings

FERNÁNDEZ, L.¹; POLETTA, G.L.^{1,2,3}; IMHOF, A.¹; SIROSKI, P.A.^{1,3,4}

¹Proyecto Yacaré - Laboratorio de Zoología Aplicada: Anexo Vertebrados (FHUC-UNL / MASPMA) - A. del Valle 8700 (3000) Santa Fe, ²Cátedra de Toxicología, Farmacología y Bioquímica Legal (FBCB - UNL), ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), ⁴Laboratorio de Biología Celular y Molecular (FCV-UNL).

RESUMEN

La radiación ultravioleta interviene en la síntesis de vitamina D₃, indispensable para metabolizar calcio y fósforo. Naturalmente, la cantidad y calidad de radiación recibida por los individuos depende de numerosos factores. En condiciones artificiales es posible manipular la radiación e inferir los efectos producidos por dicha exposición sobre el crecimiento y la concentración plasmática de calcio y fósforo en diferentes organismos. En este trabajo se utilizaron 96 crías de *C. latirostris* de 4 meses de edad, provenientes de nidos cosechados en la naturaleza. Los tratamientos fueron: oscuridad total, 8 y 16 h de radiación ultravioleta artificial (A-B), y fotoperíodo natural (FN), durante 90 días. Se evaluó crecimiento (peso, longitud total y hocico-cloaca) y concentración de calcio y fósforo en plasma. No se observó efecto de los tratamientos sobre las concentraciones de calcio pero sí sobre las de fósforo, manifestándose un descenso significativo en el tratamiento de 16 h ($p < 0,05$). Podemos suponer que la exposición a la que se sometió a las crías no fue suficiente para producir un comportamiento generalizado del metabolismo fosfocálcico. Aquellos animales expuestos al FN presentaron el mayor crecimiento ($p < 0,05$). Estos resultados indicarían que la exposición natural sería la óptima para el crecimiento de crías de *C. latirostris*.

Palabras clave: (*C. latirostris*), (radiación ultravioleta), (crecimiento), (calcio), (fósforo).

Correspondencia e-mail: Lucía Fernández la_lufernandez@hotmail.com

Recibido: 01-05-2013

Aceptado: 01-07-2014

SUMMARY

The sun gives out essential radiations to many life cycles of organisms. Among them, it could be mentioned the synthesis of the D₃ vitamin, which is essential for the phosphorous - calcium metabolism. In the cases in which sun exposure is not possible, an alternative is to try to mimic those radiations by supplement of artificial UV light (ultraviolet, UVA- UVB). In order to identify the effect of different periods of exposure to artificial ultraviolet radiation on of *C. latirostris*, growth (weight, total length and snout-vent length), calcium and phosphorous concentration were measured. Ninety-six *C. latirostris* around 4 months old, from 4 different nests, were used. The treatments were: total darkness, 8, and 16 hours of UVA-UVB and natural photoperiod during 90 days. There was no difference in the calcium concentrations but phosphorous concentrations was significantly less in the 16 hours treatment ($p < 0.05$). We can assume that the exposure of yearlings to the different treatment were not enough to alter the mineral metabolism. The animals exposed to normal photoperiods showed the higher increase in size ($p < 0.05$). Based in the results, we can assume that a natural photoperiod would be ideal so as to achieve a greater growth in *C. latirostris*' breeding.

Keywords: (*C. latirostris*), (ultraviolet radiation), (growth), (calcium), (phosphorous).

INTRODUCCIÓN

Las radiaciones solares ofrecen la posibilidad a los organismos ectotermos de obtener una temperatura apropiada para que puedan llevar a cabo su metabolismo. Existen además, otros beneficios como por ejemplo la exposición a la radiación ultravioleta B, necesaria para la producción endógena de vitamina D₃⁷.

Dentro de las radiaciones solares, la fracción ultravioleta se manifiesta en tres bandas: UVA, UVB y UVC⁶. La cantidad y calidad de las radiaciones que llegan a la Tierra depende tanto de la energía solar emitida como de las características de la atmósfera en un sitio dado. Las bandas A y B penetran en la biosfera, pero solo la B es absorbida por el ozono atmosférico, por lo que la cantidad que alcanza la superficie terrestre aumenta como resultado de la disminución de este gas¹⁸. Solo el 1,3% de la luz ultravioleta emitida por el sol alcanza la superficie de la tierra, de ese porcentaje, el 98% corresponde a la banda A y el 2% a la B, mientras el resto de la luz ultravioleta es fuertemente absorbida en la atmósfera¹⁰. La radiación perteneciente a la franja B penetra en la piel, originando la fotólisis de 7-dehidrocolesterol (provitamina D) a precolecalciferol, y luego este último sufre

una serie de cambios convirtiéndose en Vitamina D₃⁹, esta última, se produce diariamente para controlar la absorción, transporte y depósito de calcio y, en menor proporción, de fósforo, interviniendo directamente en el mantenimiento óseo y la regulación del crecimiento¹⁹. Asimismo, es necesaria para el funcionamiento hormonal, el desarrollo de órganos y la embriogénesis¹³. Debido a la multiplicidad de funciones asociadas a estos minerales es necesario que su concentración se mantenga dentro de los parámetros que requiere el organismo.

En la actualidad, la preocupación por el bienestar de los reptiles ha cobrado un impulso importante en los proyectos de uso sustentable y conservación, como así también para el mascotismo, y en su utilización como modelos biológicos para la investigación científica⁴. En cualquiera de estos casos, para mantener a los animales en estado saludable, es importante proveerles del espectro de radiación UVB necesario para los procesos fotoquímicos involucrados en la síntesis de vitamina D. Si dicho proceso no se lleva a cabo correctamente, podrían producirse problemas de crecimiento y mantenimiento óseo relacionados con la mala absorción de calcio y fósforo¹⁵. De la misma

manera, aun cuando los animales se encuentren recibiendo una dieta adecuada y una temperatura óptima, si no se les provee el tipo de radiación necesaria para la producción de vitamina D, no podrán incorporar dichos minerales de manera apropiada⁴. Por todo lo mencionado, cualquier alteración en exceso o deficiencia de radiación ultravioleta podría provocar efectos adversos en los organismos.

Las investigaciones sobre los efectos de dichas radiaciones en los ecosistemas terrestres, directa o indirectamente, son relativamente nuevas¹⁸. Los estudios llevados a cabo en condiciones naturales presentan ciertas dificultades debido a la gran variación en la cantidad y calidad de radiación que llega a los organismos. Por tanto, este estudio fue diseñado con el fin de evaluar los efectos sobre el crecimiento y las concentraciones plasmáticas de calcio y fósforo en crías de *C. latirostris* luego de ser expuestos a diferentes periodos de radiación ultravioleta natural o artificial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio fue llevado a cabo siguiendo el Marco ético de referencia para las investigaciones biomédicas. Principios éticos para las investigaciones en animales de laboratorio, de granja y obtenidos de la naturaleza¹⁷, minimizando el estrés y sufrimiento de los animales mediante métodos de manejo apropiados.

Para este trabajo se utilizaron 96 crías de *C. latirostris* de 4 meses de edad, provenientes de 4 nidos cosechados por el programa de uso sustentable en esta especie "Proyecto Yacare" (Santa Fe, Argentina)¹⁴.

Cada ejemplar fue individualizado con caravanas numeradas en la membrana interdígital de ambas patas posteriores. Se realizó una extracción de sangre (0,5 ml) del seno de la vena espinal²⁴ con heparina, y luego se separó el plasma por centrifugación a temperatura ambiente, y se mantuvo refrigerado a -20°C hasta el momento de la realización de las determinaciones propuestas.

Posteriormente, los animales fueron

distribuidos al azar en cuatro grupos de 12 ejemplares con sus réplicas correspondientes. Se ubicaron en bateas plásticas (96 cm de largo, 41 cm de ancho y 42 cm de alto, con una superficie de base de $0,39\text{ m}^2$), con una cierta inclinación (70% seco – 30% agua con una profundidad de 15 cm), a una temperatura de $31 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y cubiertas con nylon negro para evitar la penetración de las radiaciones externas.

La exposición a radiación ultravioleta se realizó mediante lámparas de luz visible/ ultravioleta con un 30% de radiación ultravioleta A y 5% de B, de 18W de potencia, de 60 cm de longitud (Sylvania Reptistar®, Germaringen, Alemania), colocadas a 0,45 m de altura sobre la base de las bateas, produciendo una irradiancia de $45,73\text{ W/m}^2$. Los tratamientos fueron: oscuridad total - 24 h (OT), ocho (8 h) y dieciséis horas (16 h) por día de exposición artificial a luz UVA-UVB, y fotoperiodo natural (exposición solar) con aproximadamente 9.5-10.5 h de luz (FN).

Para el tratamiento FN, se consideró el promedio de radiación ultravioleta en la provincia de Santa Fe, Argentina, durante la época del año en que se realizó este trabajo, el mismo fue de 150 W/m^2 , aproximadamente⁵. En este caso, las bateas fueron cubiertas con nylon transparente de baja densidad con un filtro de radiación ultravioleta del 2% para evitar la pérdida de temperatura; la irradiancia obtenida fue de 147 W/m^2 (150 w/m^2 – el 2% filtrado por el nylon).

El experimental tuvo una duración de 90 días en que los animales fueron sometidos a sus respectivos tratamientos, y, una vez finalizado, los individuos fueron medidos, pesados y se les realizó una nueva extracción de sangre siguiendo la metodología inicial.

Para la determinación directa de calcio total plasmático se utilizó el método colorimétrico (Calcio Cc Kit SB - Sociedad de Bioquímicos de Santa Fe, Argentina) mientras que para la determinación de fósforo inorgánico fue utilizado el método directo UV (Fósforo UV AA Kit SB - Sociedad de Bioquímicos de Santa Fe, Argentina).

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el software SPSS 14.0 para Windows. La normalidad y homogeneidad de varianza de los datos se analizaron mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y test de Levene, respectivamente. Se determinó la diferencia en peso, largo total, largo hocico-cloaca, calcio y fósforo luego del experimento (valores finales – iniciales) para cada animal. Estos datos fueron analizados mediante un ANOVA seguido del test de Tukey para evaluar la diferencia entre tratamientos. Conjuntamente con estas variables, se determinó el efecto causado por la variabilidad genética existente entre los nidos denominada “efecto nido de origen” (“clutch effect”). Este último, es un factor de estudio importante en los cocodrilianos, debido a la variabilidad que presentan²².

RESULTADOS

Los resultados observados demuestran que los animales expuestos a fotoperiodo natural

presentaron el mayor crecimiento en longitud (largo total y largo hocico-cloaca) y peso ($p < 0,05$) respecto a los demás grupos. En cambio, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos de 8 h, 16 h y oscuridad total ($p > 0,05$) para las mismas variables (Gráfico 1 y 2).

En cuanto a las concentraciones de calcio, no se hallaron diferencias en ninguno de los tratamientos ($p > 0,05$; Gráfico 3). Sin embargo, con respecto a los valores de fósforo, se observó una disminución de la concentración en los animales expuestos a radiación por períodos de 16 horas diarias en comparación con los demás grupos ($p < 0,05$; Gráfico 4).

El efecto nido de origen mostró diferencias significativas para todas las variables, tanto las de crecimiento como las concentraciones de ambos minerales ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Antiguamente, se creía que el asoleamiento de los vertebrados ectotermos estaba solamente

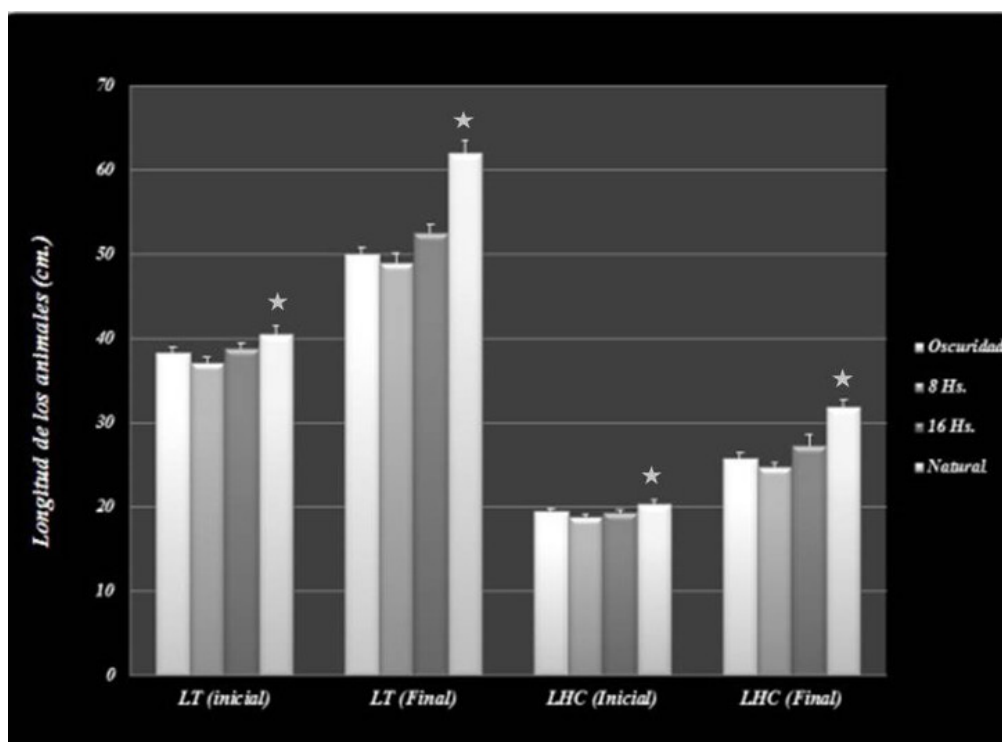


Gráfico 1. Datos iniciales y finales de crecimiento: Largo total (LT), Largo hocico-cloaca, (LHC) en los diferentes tratamientos durante 90 días en *C. latirostris*. La longitud en animales expuestos a FN, fue superior ($*p < 0,05$) respecto a los demás grupos.

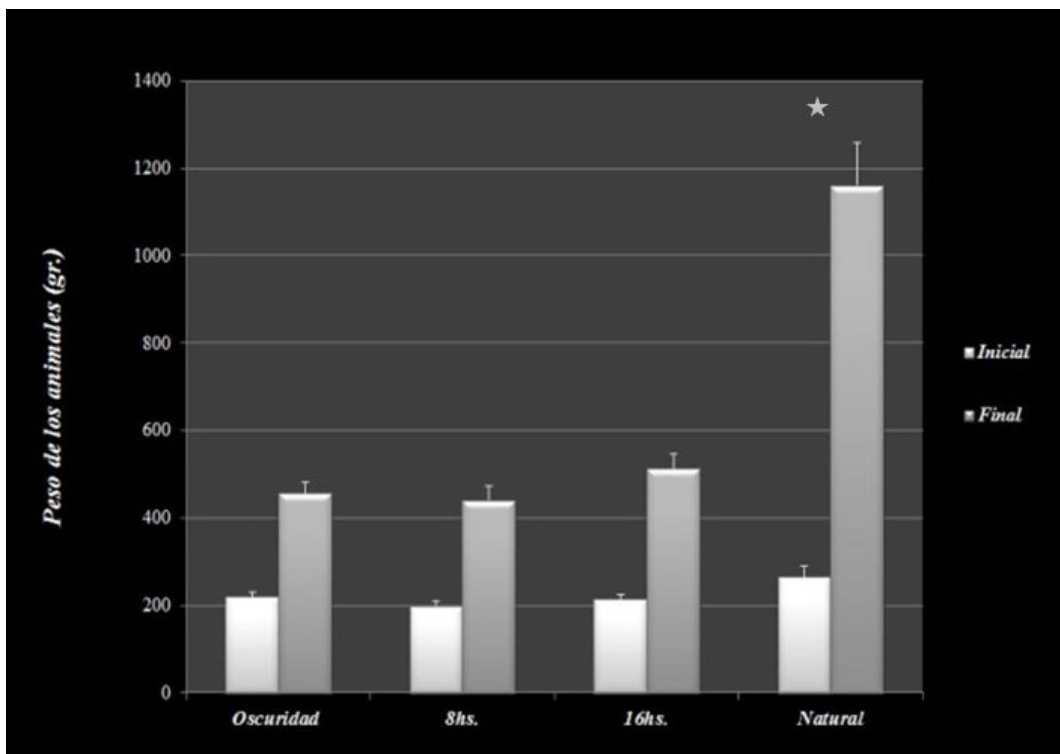


Gráfico 2. Datos iniciales y finales de crecimiento (Peso) en los diferentes tratamientos durante 90 días en *C. latirostris*. El peso en animales expuestos a FN, fue superior (* $p < 0,05$) respecto a los demás grupos.

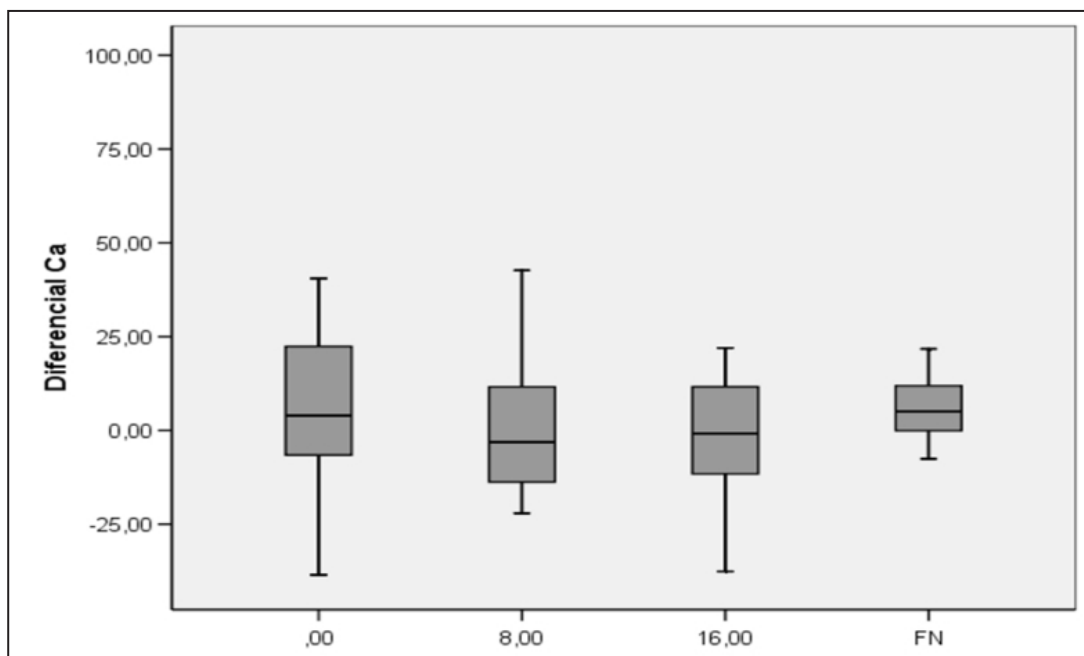


Gráfico 3. Datos diferenciales de los valores plasmáticos de Ca en los diferentes tratamientos luego de 90 días en *C. latirostris*. Los valores se presentan en un box-plot incluyendo la mediana, cuartiles y valores mínimos y máximos (rango de barras de error) de 24 animales por grupo.

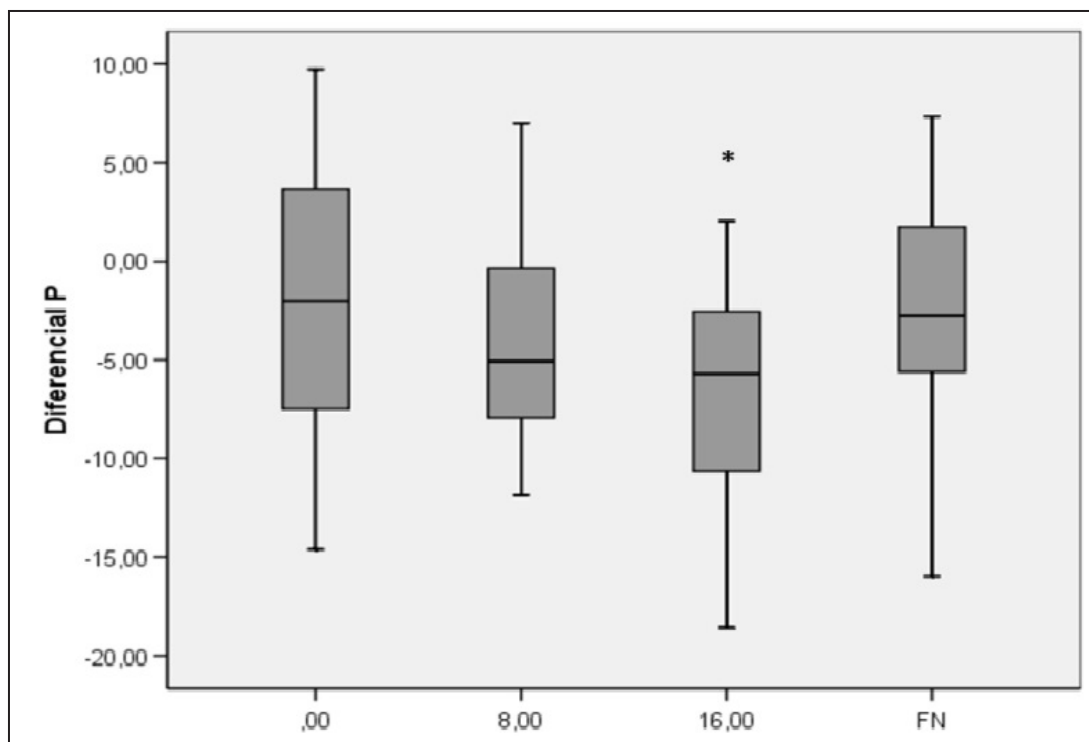


Gráfico 4. Datos diferenciales de los valores plasmáticos de P en los diferentes tratamientos luego de 90 días en *C. latirostris*. Los valores se presentan en un box-plot incluyendo la mediana, cuartiles y valores mínimos y máximos (rango de barras de error) de 24 animales por grupo. * Valor estadísticamente significativo respecto de los demás grupos (* $p < 0,05$).

relacionado con la regulación interna de la temperatura, hasta que se descubrieron otros efectos favorables de dicha exposición, como la fiebre en respuesta a las infecciones¹⁶, la remoción de parásitos externos y comensales¹¹, la promoción de la biosíntesis de la de vitamina D₃ de vital importancia⁷, entre otros. Los resultados evidenciados en este estudio, demuestran que la exposición a luz natural sería la aconsejable para obtener el mejor crecimiento de los organismos sometidos a condiciones de cautiverio. Coincidentemente, algunos estudios realizados en lagartos como *Anolis lineatopus merope*, *Anolis sagrei*⁸, y *Furcifer pardalis*¹³ demostraron que la radiación emitida por el sol es más conveniente que la emitida por la luz artificial para obtener un crecimiento eficiente de los animales. La radiación natural proporcionaría la cantidad y calidad necesaria de radiación ultravioleta para que los organismos desarrollen los procesos vitales relacionados de una manera eficaz.

Otros estudios reportaron la importancia de la luz solar y la temperatura para el crecimiento y supervivencia de *Crocodylus niloticus*²³, contradiciendo la hipótesis de que los cocodrilos se desarrollan mejor en la oscuridad al reducirse el estrés ya que poseen hábitos nocturnos². A partir de los resultados obtenidos en nuestro estudio, podemos deducir que un fotoperíodo natural sería la mejor opción, mientras que cuando esto no fuera posible, es aconsejable el suministro de luz artificial y no la permanencia en oscuridad total.

Las concentraciones de calcio registradas en este trabajo fueron similares a las encontradas por Barboza y col¹ en subadultos de *C. latirostris* cautivos y expuestos a radiación natural, mientras que en otras especies de cocodrilianos de granjas resultaron ser más elevadas (*Cr. niloticus*, *Alligator mississippiensis*, *Crocodylus porosus*, *Crocodylus moreletii*, *Tomistoma schlegelii*, *Caiman yacare*)¹² que las observadas en *C. latirostris*. Asimismo, los valores hallados en

especies de reptiles no pertenecientes al orden de los cocodrilos (*Corucia zebrata*, *Eunectes murinus* y *Geochelone radiata*)²⁰, mostraron ser superiores a las de este estudio. Por otra parte, Barboza y col¹ mencionan que los valores de algunos minerales, entre ellos calcio y fósforo, disminuyen con la edad y la temperatura. Según Bassetti³, los cocodrilianos seleccionan preferentemente un rango de temperatura entre 28 y 32 °C para su termorregulación y así pueden llevar a cabo procesos fisiológicos de manera óptima. Dicho rango de temperatura, es el que se intenta mantener en los programas de crianza intensiva para lograr el mayor crecimiento y, probablemente, también esté involucrado con la menor predisposición a las enfermedades¹⁴.

Los valores plasmáticos de fósforo obtenidos fueron superiores a los hallados por Barboza y col¹ para la misma especie y para algunas otras especies de cocodrilianos en cautiverio (*Cr. porosus*, *Cr. moreletii*, *T. schlegelii*, *C. yacare*)¹², pero en algunas otras, las concentraciones fueron mayores que las obtenidas en nuestra experiencia (*Cr. niloticus*, *A. mississippiensis*)¹². En relación a las tres especies mencionadas no pertenecientes al grupo de los crocodylia, nuestros valores de fósforo fueron superiores (*C. zebrata*, *E. murinus* y *G. radiata*)⁶. Es importante destacar que en ninguno de los trabajos antes mencionados, los animales estuvieron bajo la influencia de radiación ultravioleta artificial.

Teniendo en cuenta la importante influencia de la radiación ultravioleta sobre el metabolismo fosfocálcico, es razonable suponer que los diferentes períodos de exposición a los que fueron sometidos los yacarés no fueron suficientes para que se manifieste algún comportamiento generalizado sobre dicho metabolismo. En cambio, sí permitió detectar un menor crecimiento en los tratamientos expuestos a radiación artificial y a OT. Este menor crecimiento podría ser consecuencia de una alteración en la absorción de los iones relacionada con una síntesis inapropiada de la vitamina D₃.

El efecto “nido de origen” observado tanto en el crecimiento como en las concentraciones de

ambos minerales demuestra que los ejemplares de los diferentes nidos respondieron de manera distinta a la incidencia de los tratamientos.

Karsten y col¹³, demostraron que el camaleón pantera (*F. pardalis*) modifica su exposición a la radiación ultravioleta mediante estrategias comportamentales para alcanzar un equilibrio en la síntesis de vitamina D₃. En nuestro estudio, no se observaron comportamientos diferenciales, posiblemente porque no fueron brindadas las condiciones apropiadas para que los animales puedan regular por si mismos la recepción de rayos ultravioletas. Este hecho debería tenerse en cuenta para futuros estudios con animales cautivos en los que deberían proporcionarse áreas protegidas de la luz para que puedan regular su propia exposición por mecanismos adaptativos a los diferentes desafíos que su entorno les proporciona.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barboza, N.N.; Mussart, N.B.; Coppo, J.A.; Fioranelli; S.A.; Koza, G.A. El medio interno de *Caiman latirostris* en cautiverio. Influencia del sexo, crecimiento y estación del año. *Revista Veterinaria*. 2008; 19: 1,33-41.
2. Barrios-Quiroz, G.; Casas - Andreu, G. Crecimiento con diferentes dietas en crías de *Crocodylus moreletii* Dumeril Bibron & Dumeril 1851 (Crocodylia: Crocodylidae) en cautiverio, Tabasco, México. *Rev. Lat. Cons.* 2010; Vol. 1, 2: 104 – 111.
3. Bassetti, L. A. Comunicación personal: Tesis de Mestrado. (2002). Comportamento de termorregulação em jacarés-de-papo-amarelo (*Cáiman latirostris*) adultos em cativeiro. Esc. Super. Agri. Luiz de Queiroz, Univ. São Paulo, Piracicaba, SP, Brazil.
4. Brames, H. Aspects of Light and Reptile Immunity. *Iguana*. 2007,14: 18-23.
5. Ceballos, J.; Bottino, M.J.; Grossi Gallegos, H. Comunicación personal. (2005). Radiación solar en Argentina estimada por satélite: Algunas características espaciales y temporales. Buenos Aires,

- Argentina: Universidad Nacional de Luján press. Pp11.
6. Diffey, B.L. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Review in Physics in Medicine and Biology*. 1991; 363: 299-328.
 7. Ferguson, G.W.; Gehrman, W. H.; Karsten, K. B.; et al. Do Panther Chameleons Bask to Regulate Endogenous Vitamin D3 Production?. *Physiol. Biochem. Zool.* 2003; 76: 52-59.
 8. Ferguson, G.W.; Gehrman, W. H.; Karsten, K.B.; et al. Ultraviolet exposure and vitamin D synthesis in a sun-dwelling and a shade-dwelling species of Anolis: are there adaptations for lower ultraviolet B and dietary vitamin D3, availability in the shade?. *Physiological and Biochemical Zoology* 2005; 78:193-200.
 9. Holick, M.F. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D 1-3. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007. 61 (suppl):638S-645S.
 10. Honeyman, J. Efectos de las radiaciones ultravioletas en la piel. *Revista peruana de dermatología*. 2002; Vol. 12. N°2.
 11. Hutchinson, V. H. Thermoregulation. En: Harless, M., Morlock, H. (Eds). *Turtles: Perspectives and Research*. Krieger, Malabar, Fla. USA. 1989; 207– 228.
 12. Huchzermeyer, F.W. Crocodiles. Biology, Husbandry and Diseases. *CABI Publishing*, Cambridge, USA. 2003; 337.
 13. Karsten, K. B.; Ferguson, G.W.; Chan T. C.; Holick, M. F. Panther Chameleons, Furcifer pardalis, Behaviorally Regulate Optimal Exposure to UV Depending on Dietary Vitamin D3 Status. *Physiological and Biochemical Zoology*. 2009; 82(3):218-225.
 14. Larriera, A.; Imhof, A.; Siroski, P. Estado actual de los programas de conservación y manejo del género Caiman en Argentina. En: Castroviejo, J., Ayarzagüena, J., Velasco, A. (Eds.), *Contribución al conocimiento del Género Caiman de Suramérica*, Public. *Asoc. Amigos de Doña Ana 18*, Sevilla, España. 2008; 143-179.
 15. Lian, J. B.; Staal, A.; van Wijnen, A.; Stein, J. L.; Stein, G. S. Biologic and molecular effects of vitamin D on bone. En: Holick, M. F. (Ed.). *Vitamin D-Molecular Biology, Physiology, and Clinical Applications, Humana Press*, Totowa, New Jersey, USA. 1999; 175-193.
 16. Merchant, M. E.; Williams, S.; Trosclair, P. L. III; Elsey, R. M.; Mills, K. Febrile response to infection in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem. Physiol. A*. 2007; 148: 921–925.
 17. National Scientific and Technical Research Council – CONICET. 2005. Reference Ethical Framework for Biomedics Researches: ethical principles for research with laboratory, farm and wild animals.
 18. Nigel, D.P.; Gwynn Jones, D. Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology and Evolution* 2003; 18 (1): 48.
 19. Ribovich, M.; De Luca, H.F. 1, 25 Dihydroxy vitamin D3 metabolism. The effect of dietary calcium and phosphorous. *Archive Biochemistry and Biophysics*. 1978; 188: 164-171.
 20. Silvestre, A. Hematología y Bioquímica en reptiles. *Argos: Informativo veterinario*. 2006; 72: 32-35.
 21. SPSS for Windows. 2005. SPSS for Windows, Version 14.0. Chicago: SPSS Inc. Available at: <http://www.spss.com>.
 22. Poletta, G.L., Kleinsorge, E., Paonessa, A., Mudry, M.D., Larriera, A., Siroski, P.A. Genetic, enzymatic and developmental alterations observed in *Caiman latirostris* exposed in ovo to pesticide formulations and mixtures in an experiment simulating environmental exposure. *Ecotoxicol. Environm. Saf.* 2011.74: 852-859.
 23. Zilber, A.; Popper, D.N.; Yom-Tov, Y. The effect of direct sun light and temperature on growth and survival of captive young Nile crocodiles, *Crocodylus niloticus*. *Aquaculture*. 1991; 94:291-295.
 24. Zippel, K.C.; Lillywhite, H.B.; Mladnich, C.R. Anatomy of the crocodilian spinal vein. *Journal of Morphology*. 2003; 258: 327– 335.