

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ASPECTOS HERPETOLOGICOS Y BIOMEDICOS DE Lachesis muta
LINNAEUS Y Bothrops asper (GARMAN) DE PANAMA

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Biología para optar al grado de Magister Scientiae

VICTOR MANUEL MARTINEZ CORTES

Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio" Costa Rica.

1981

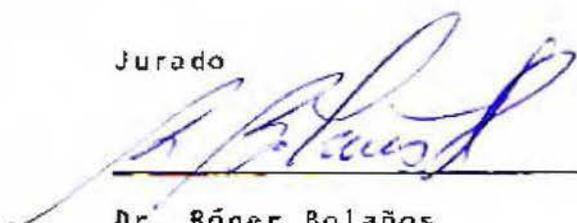
A Melissa, mi hija,
A Libsía, mi esposa,
A mis padres.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Róger Bolaños H. por su excelente guía, sus valiosos y atinados consejos por los cuales fue posible el presente trabajo. A los Dres. Douglas Robinson y Carlos Valerio. A todos los amigos y compañeros del Instituto Clodomiro Picado, en especial a los Dres. Luis Cerdas, José Ma. Gutiérrez y Olga Arroyo; a los Sres. Alvaro Flores, Guillermo Flores, Gerardo Serrano y Sra. Hilda H. de Solera, por su incalculable cooperación.

"Esta tesis ha sido aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado de Magister Scientiae"

Jurado



Profesor Consejero

Dr. Róger Bolaños



Miembro del Comité

Dr. Douglas Robinson



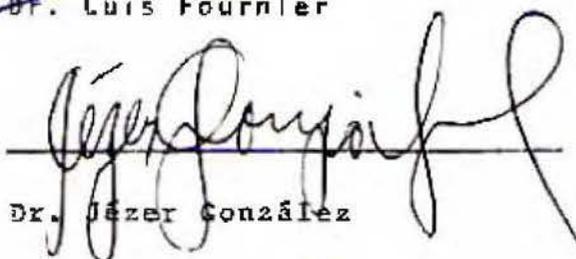
Miembro del Comité

Dr. Carlos Valerio



Director del programa
de Posgrado en Biología

Dr. Luis Fournler



Decano del Sistema
de Estudios de Posgrado

Dr. Jézer González



Candidato

Víctor Manuel Martínez Cortés

INDICE

	Página
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	4
MATERIAL Y METODOS.....	5
A.- Serpientes.....	5
B.- Cariotipo.....	5
C.- Venenos y Antivenenos.....	7
D.- Animales de Experimentación.....	7
E.- Letalidad: Cálculo de las Dosis Letales 50 % (DL ₅₀).....	7
F.- Electroforesis e Inmunolectroforesis de los Venenos.....	8
G.- Neutralización: Cálculo de las Dosis Efecti- vas 50 % (DE ₅₀).....	9
H.- Edema.....	9
I.- Hemorragia.....	10
J.- Mionecrosis.....	10
RESULTADOS.....	12
A.- Escamación General del cuerpo.....	12
B.- Hemipenes.....	18
C.- Cariotipo.....	18
D.- Características Toxinológicas.....	22

	Página
1.- Letalidad: Dosis Letales 50 % (DL ₅₀).....	22
2.- Electroforesis e Inmunolectroforesis.....	22
3.- Neutralización del Efecto Letal (DE ₅₀).....	25
E.- Aspectos Fisiopatológicos de los Venenos	
de <u>Bothrops</u> y <u>Lachesis</u>	25
1.- Actividad Edematizante.....	25
2.- Actividad Hemorrágica.....	30
3.- Efecto Mionecrotico.....	30
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	33
LITERATURA CITADA.....	40
APENDICE 1 <u>Lachesis muta muta</u> (Linnaeus), en Pa-	
namá: Nueva Localidad.....	50
APENDICE 2 Datos estadísticos sobre la esca-	
mación general del cuerpo de <u>Bothrops</u>	
<u>asper</u> y <u>Lachesis muta</u> de Panamá y	
características biomédicas de sus	
venenos.....	57

RESUMEN

En este trabajo se analizan las principales características herpetológicas (escamación general del cuerpo y hemipenes) de Bothrops asper y Lachesis muta de la República de Panamá y de Costa Rica, como base para el esclarecimiento del ámbito de distribución de estas poblaciones. Se presentan además las pruebas toxinológicas (dosis letales 50 %, dosis efectivas 50 %, electroforesis e inmunoelectroforesis), con la finalidad de caracterizar por primera vez los venenos de las especies panameñas y observar la eficacia del suero producido en el Instituto Clodomiro Picado de Costa Rica. Se incluyeron por primera vez algunos datos experimentales sobre los efectos biomédicos del veneno (edema, hemorragia y mionecrosis).

LISTA DE CUADROS

Cuadro No.	Título	Página
1	Variación en el número de escamas en <u>Bothrops asper</u> de tres localidades.....	13
2	Diferencia en el número de escamas entre hembras y machos de <u>Bothrops asper</u> de tres localidades (datos promedio	14
3	Variación en el número de escamas en <u>Lachesis muta</u> de cuatro localidades.....	15
4	Diferencia en el número de escamas entre hembras y machos de <u>Lachesis muta</u> de cuatro localidades (datos promedio	17

LISTAS DE FIGURAS

Figura No.	Título	Página
1	Sitios de colecta de <u>Bothrops asper</u> y <u>Lachesis muta</u> en la República de Panamá.....	6
2	Hemipenes de <u>Lachesis muta</u> de Panamá.....	19
3a	Cariotipo de <u>Bothrops asper</u> (macho) de Manaca, Chiriquí.....	20
3b	Cariotipo de <u>Bothrops asper</u> (hembra) de Manaca, Chiriquí.....	21
4	Curva dosis-respuesta para el cálculo de las dosis letales 50 % (DL ₅₀) de los venenos de <u>Lachesis muta</u> de Playa Chuzo, Darién; Campamento, Bocas del Toro y Limón, Costa Rica; y <u>Bothrops asper</u> de Manaca, Chiriquí.....	23
5	Electroforegrama e inmunoelectroforegrama del veneno de <u>Bothrops asper</u> de Manaca, Chiriquí y Cárdenas, Panamá, frente al suero del Instituto Clodomiro Picado.....	24
6	Electroforegrama e inmunoelectroforegrama del veneno de <u>Lachesis muta</u>	

	de Playa Chuzo, Darién; Quepos, Costa Rica; Campamento, Bocas del Toro y Limón, Costa Rica.....	26
7	Curva dosis-respuesta para el cálculo del poder de neutralización del efecto letal (DE_{50}) del veneno de <u>Bothrops asper</u> de Manaca, Chiriquí.....	27
8	Curva dosis-respuesta para el cálculo del poder de neutralización del efecto letal (DE_{50}) del veneno de <u>Lachesis muta</u> de Campamento, Bocas del Toro.....	28
9	Relación entre diferentes dosis de veneno de <u>Lachesis muta</u> de Playa Chuzo, Darién; Campamento, Bocas del Toro y <u>Bothrops asper</u> de Manaca, Chiriquí y el efecto edematizante.....	29
10	Relación entre diferentes dosis de veneno de <u>Lachesis muta</u> de Playa Chuzo, Darién; Campamento, Bocas del Toro; <u>Bothrops asper</u> de Panamá y la cuantificación (\bar{x}) del área hemorrágica en piel	

	de ratones de 16-18g de peso.....	31
11	Relación entre diferentes dosis de veneno de <u>Lachesis muta</u> de Campamento, Bocas del Toro; <u>Bothrops asper</u> de Manaca, Chiriquí y el incremento de creatinafos foquinasa (C.F.Q.) en suero de ra- tones de 16-18g de peso.....	32

ASPECTOS HERPETOLOGICOS Y BIOMEDICOS DE Lachesis muta
(Linnaeus) Y Bothrops asper (GARMAN) DE PANAMA.

INTRODUCCION

En el Istmo Centroamericano existe una variada y abundante fauna herpetológica (Duellman, 1966; Savage, 1966; Stuart, 1966) la cual se estableció allí, fundamentalmente en virtud del evento orogénico que permitió la conexión entre Norte y Sur América, luego de haber permanecido separadas por un portal marino ubicado en el "Eslabón Istmico" formado por Costa Rica y la parte oeste de Panamá (Lloyd, 1963; Savage, 1974). Dicho evento favoreció la diversidad fisiográfica y ecológica de la zona, e igualmente permitió el desplazamiento de variados grupos animales en forma bidireccional entre Norte y Sur América, utilizando para ello las principales vías de dispersión animal, tanto de tierras altas como bajas (Johnson, 1956; Stuart, 1957; Lloyd, 1963; Dixon, 1979).

Dentro de este contexto, Panamá representa una interrogante de interés porque, por un lado, en su orogenia no participó su parte este llamada "Espolón de Panamá", la cual permaneció unida a Colombia; igualmente notable es la discontinuidad territorial, según los informes antes citados, desconociéndose la intergradación que pudiese ocurrir en algunas zonas de importancia como la región de Chocó en la Provincia de Darién, y su correspondiente en Colombia

(Hoge y Romano, 1973; Dixon, 1979).

Las investigaciones sobre serpientes venenosas y sus venenos deben ocupar un lugar relevante dentro de los estudios herpetológicos porque el ofidismo constituye un problema de plena vigencia en el área, por el elevado número de accidentes, en humanos muchos de los cuales está de por medio la vida (Picado, 1931; Vallejo-Freire, 1967; Jiménez y García, 1969; Bolaños, 1971). En Panamá, la mayoría de las investigaciones sobre ofidios forman parte de listas e informes de tipo general (Schimidt, 1920; Barbour, 1923; Dunn, 1931-1949; Breder, 1946; Evans, 1947; Smith, 1958; Sexton y Heatwole, 1965; Heatwole y Sexton, 1966; Myers y Rand, 1969), y algunas muestran registros sobre serpientes venenosas, donde describen en forma general las de mayor importancia médica e incluyen tratamientos y cuidados que deben tomarse a fin de evitar accidentes (Bates, 1928; Clark, 1942; Grocott y Sadler, 1958; Núñez, 1959; Sass, 1979). Por el contrario, en Costa Rica los ofidios venenosos y sus venenos han sido investigados ampliamente. Algunos trabajos tienen especial interés en aspectos taxonómicos (Picado, 1931; Taylor, 1951 a y 1951 b; Bolaños, 1971; Taylor et al., 1974; inmunológicos (Bolaños, Cerdas y Abalos, 1978; Bolaños, Muños y Cerdas, 1978; Gutiérrez, Arroyo y Bolaños, 1981; Gutiérrez, Chaves y Bolaños, 1980); biomédicos (Vallejos-Freire, 1967; Jiménez y García, 1969; Bolaños, 1972, Gutiérrez y Chaves,

1980); ecológicos (Savage, 1966; Vial y Jiménez-Porras, 1967); citogenéticos (Gutiérrez, Taylor y Bolaños, 1979) y bioquímicos (Jiménez-Porras, 1964a y 1964b). Algunas investigaciones recientes que comparan las serpientes venenosas de las vertientes Atlántico y Pacífico de Costa Rica, han mostrado diferencias que van desde la morfología externa, comportamiento en cautiverio (agresividad), hasta en aspectos inmunológicos y biomédicos (Bolaños, Muñoz y Cerdas, 1978; Gutiérrez, Chaves y Bolaños, 1980; Gutiérrez y Chaves, 1981).

Las serpientes venenosas de Sudamérica también han sido objeto de adecuado estudio, tanto en aspectos de distribución geográfica y taxonómica (Hoge, 1965; Roze, 1966; Peters y Orejas-Miranda, 1970; Hoge y Romano, 1971), como también en relación al envenenamiento ofídico (Rosenfeld, 1971; Mandelbaum et al., 1976).

Por todos los motivos antes señalados y por estar conscientes de la plena vigencia que tiene el problema del ofidismo en la salud pública de Panamá, decidimos realizar algunas investigaciones tendientes a encontrar las principales características herpetológicas y biomédicas de Bothrops asper (Garman) y Lachesis muta (Linnaeus), dos de las más importantes serpientes venenosas de Panamá, con el objeto de relacionarlas con el conocimiento actual de la fauna de Colombia y Costa Rica.

OBJETIVOS:

- 1.- Recolectar e identificar ejemplares de diversas localidades en la República de Panamá.
- 2.- Comparar las especies colectadas con aquellas de Costa Rica en sus características básicas: escamación general del cuerpo y estructura de los hemipenes.
- 3.- Investigar los cariotipos de las especies.
- 4.- Investigar algunas características toxicológicas de los venenos: dosis letal 50 % (DL_{50}), electroforesis e inmunoelectroforesis y neutralización del efecto letal (DE_{50}).
- 5.- Investigar algunas características fisiopatológicas de los venenos como son: edema, hemorragia y mionecrosis, en animales de laboratorio.

MATERIAL Y METODOS

SERPIENTES

Para el desarrollo de esta investigación se coleccionaron serpientes venenosas vivas (Bothrops asper y Lachesis muta) en las siguientes localidades y Provincias (en paréntesis), de la República de Panamá: Manaca (Chiriquí), Cárdenas (Panamá) y Playa Chuzo (Darién) en la vertiente del Pacífico; Gamboa (Colón) y Campamento (Bocas del Toro) en el Atlántico (Fig. No.1).

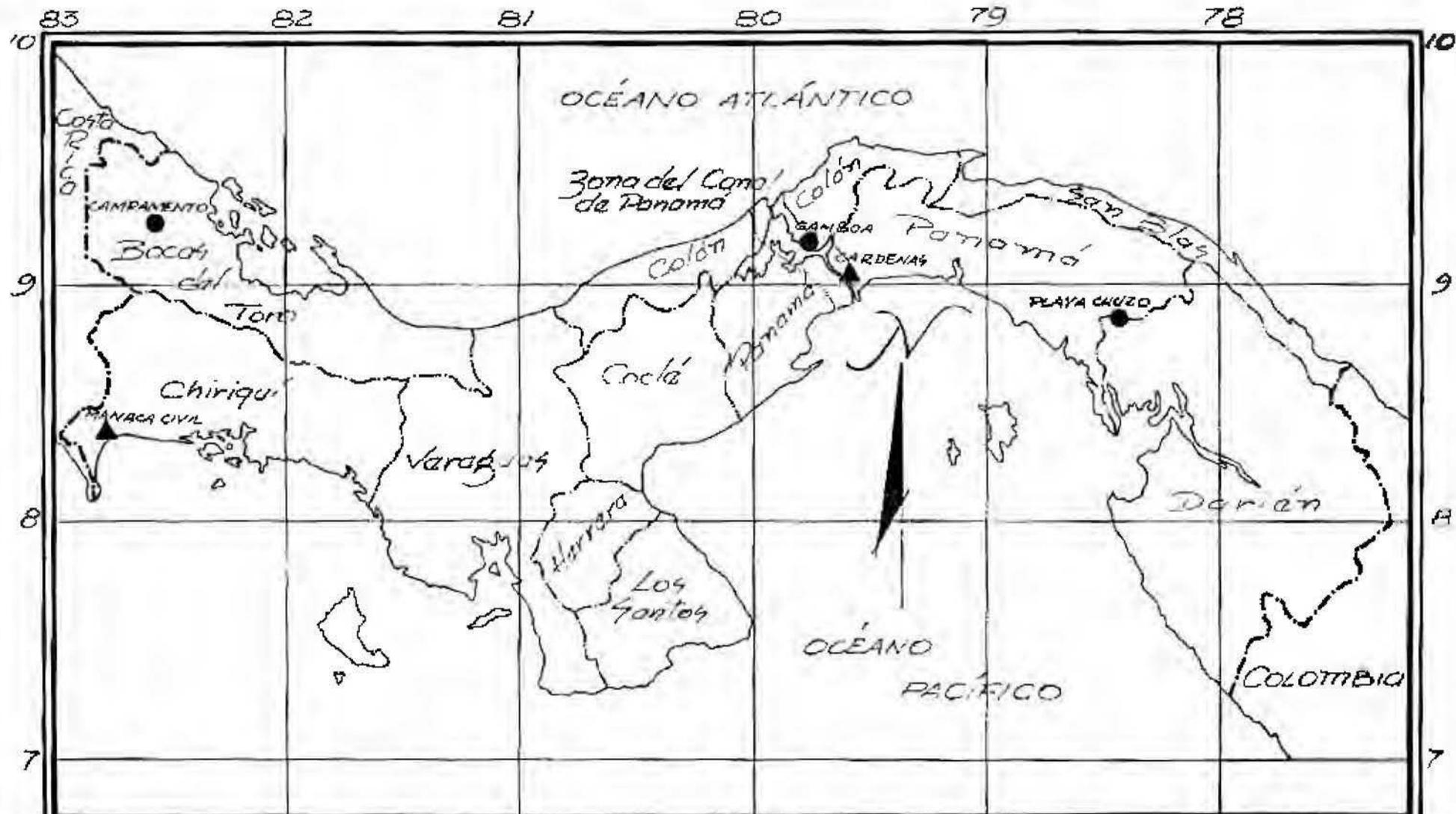
Posteriormente fueron transportadas hasta el serpentario del Instituto Clodomiro Picado en Costa Rica, donde fueron mantenidas en condiciones adecuadas.

A todos los especímenes se les estudió la escamación general del cuerpo según (Dowling (1951) y Williams, (1978); la dentición y en los machos la estructura básica de los hemipenes, utilizando la metodología de Dowling y Savage (1960).

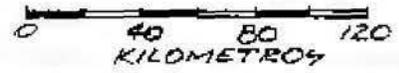
CARIOTIPOS

Para el estudio de los cromosomas se utilizó el método desarrollado por Taylor y Bolaños (1975), que consiste en inocular "in vivo", fitohemaglutinina cruda en proporción de 0,1 ml por cada 34 gramos de peso corporal y

FIGURA N° 1



REPÚBLICA DE PANAMÁ



SITIOS DE COLECTA DE:

- ▲ BOTHROPUS ASPER
- LACHESES MUTA

simultáneamente 1ml de colchicina al 5% por cada 100 gramos de peso corporal; los ejemplares se sangran 48 horas después de la inoculación, obteniéndose las placas cromosómicas mediante un choque hipotónico con metanol-ácido acético (3:1) y se colorearon con Giemsa. Los cromosomas así obtenidos se ordenaron por tamaño decreciente y se clasificaron de acuerdo a la posición del centrómero (Beçak, 1965 y Levan et al., 1964).

VENENOS

A todos los ejemplares colectados se les extrajo su veneno, el cual se congeló inmediatamente y posteriormente se liofilizó, conservándose a -70°C hasta su uso.

ANTIVENENO

Se utilizó suero polivalente de la producción del Instituto Clodomiro Picado (lote No.107), reconstituido con 40 ml de agua destilada.

ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Se utilizaron ratones blanco de 16 a 18 gramos de peso sin selección de sexo, con alimento y agua ad libitum.

LETALIDAD

Las dosis letales 50 por ciento (DL₅₀) se establecieron inoculando diferentes dosis de venenos (diluido con solución salina amortiguada a pH 7.2) por vía intraperito-

neal en grupos de 10 ratones, con un período de observación de 72 horas. Se calcularon mediante el trazo de la línea de regresión log-próbito según programa de la Organización Mundial de la Salud para mini computadora; en cada caso se inocularon controles utilizando veneno de serpientes costarricenses, con DL_{50} conocidas.

ELECTROFORESIS E INMUNOELECTROFORESIS

La composición de los venenos sus semejanzas y diferencias se estudiaron practicando pruebas de electro e inmunolectroforesis, utilizando láminas de vidrio de 7,5 cm de longitud por 2,5 cm de ancho con 10 ml de ionagar # 2 (Colab Lab) al 0,5% en amortiguador de barbituratos 0,1 molar y pH 8,2. Para la electroforésis los venenos a una concentración de 60 mg/ml fueron separados mediante una corriente de 7,5 mA/cm de sección durante 2 1/2 horas; algunas láminas se tiñeron por 10 minutos con negro de almidón (Allied Chemical Corporation), se lavaron posteriormente con ácido acético al 5%. Para el desarrollo de la inmunolectroforesis se hizo una hendidura longitudinal en el centro de cada placa donde se adicionó el antiveneno, se dejaron reaccionar a temperatura ambiente por 24 horas; se lavaron varias veces con salina amortiguada a pH 7,2 y luego con agua destilada; se colorearon con negro de almidón por 10 minutos y por último se eliminó el exceso de colorante con ácido acético al 5%.

NEUTRALIZACION

Las pruebas de neutralización se hicieron mezclando cantidades constantes de venenos con cantidades variables de antiveneno, diluidos en solución salina amortiguada a pH 7,2 hasta un volumen final apropiado según la DL₅₀ del veneno y se incubaron en baño maría a 37°C por 30 min; a cada uno de 5 ratones se le inoculó, por vía intraperitoneal 0,5 ml de las mezclas de veneno y suero. En cada dosis se inocularon al menos 3DL₅₀ (250 µg de veneno si la DL₅₀ se encontraba entre 50 y 60 µg y 500 µg si la DL₅₀ estaba entre 150 y 160 µg). Los controles se hicieron inoculando solución salina amortiguada a pH 7,2 y veneno solo.

EDEMA

La actividad edematizante se determinó mediante la técnica de Yamakawa et al. (1976), inyectando 0,03 ml en la planta del pie izquierdo de la extremidad posterior en grupos de 6 ratones, de soluciones que contenían 5, 10, 20 y 30 µg de veneno, diluido en solución salina amortiguada a pH 7,2; en la planta del pie derecho se inyectó 0,03 ml de solución salina como control. Los ratones fueron sacrificados con cloroformo a las 24 horas; ambos pies fueron cortados a la altura de la articulación en la rodilla y pesados en balanza analítica. El efecto edematizante

se expresó como el aumento porcentual en peso del pie inyectado con veneno en relación con aquél inyectado con salina. Siguiendo el método de Yamakawa et al. (1976) se tomó como dosis mínima edematizante (DME) aquella cantidad de veneno que produce un 30% de efecto.

HEMORRAGIA

La hemorragia se determinó mediante la técnica de Kondo et al. (1960), modificada mediante el uso de ratones en vez de conejos (Gutiérrez, Chaves y Bolaños, 1980), la que consiste en inocular intradérmicamente a cada uno de un grupo de cinco ratones 0.1 ml de soluciones que contienen 1,25; 2,5 y 10 µg de veneno en solución salina amortiguada a pH 7,2. Dos horas después se sacrificaron con cloroformo, se removió la piel y se estimó el área hemorrágica copiando el área de la lesión en papel milimétrico, según Gutiérrez y Chaves (1981). La cantidad de veneno que produjo un área hemorrágica de 10mm de diámetro en dos horas, se consideró como una dosis hemorrágica mínima (DHM).

MIONECRISIS

Gutiérrez et al. (1980) demostraron una correlación entre la magnitud de la mionecrosis causada por el veneno de Bothrops asper y los niveles séricos de la enzima creatinafosfoquinasa (CFQ). En el presente estudio se midió la concentración de la enzima colorimétricamente (Espectrofotómetro Bausch & Lomb, Spectronic

20), de la creatina formada en la reacción ADP/fosfocreatina (Sigma Technical Bulletin No.520, 1978) en suero de grupos de cinco ratones inoculados intramuscularmente en la extremidad posterior con dosis de 0,1 ml de soluciones que contenían 5, 10, 20 y 40 μg de veneno diluidos en solución salina amortiguada a pH 7,2. Después de tres horas se sangraron de la cola se recogió la sangre en capilares heparinizado para microhematocrito, se centrifugó y se tomó 1 μl * de plasma para cada prueba.

(*) Por haber utilizado 1 μl , el resultado se multiplicó por 10 a fin de adecuar los valores obtenidos a la escala de la Sigma Technical Bulletin No.520, 1978.

RESULTADOS

ESCAMACION GENERAL DEL CUERPO

En Bothrops asper de Manaca, Chiriquí (N=18), Cárdenas, Panamá (N=8) y Puriscal, Costa Rica (N=25), colección del Instituto Clodomiro Picado, la fórmula modelo de escamas supralabiales más frecuentes es 7-7, con valores porcentuales que oscilan entre 83,0; 87,5; y 96,0 respectivamente, de igual forma el modelo de infralabiales más frecuentes es 10-10 (Cuadro No.1).

Los ejemplares hembra de Manaca muestran un promedio de 201,9 en las escamas ventrales, las de Cárdenas 200,4 y las de Puriscal 202,2; para los machos 202,0; 197,0 y 202,1 respectivamente. El promedio de escamas caudales para las hembras de Manaca es 61,4; las de Cárdenas 64,9 y las de Puriscal 65,2; en los machos 64,8; 63,0 y 69,2 respectivamente (Cuadro No.2).

Siguiendo la secuencia anterior los promedios de escamas dorsales para las hembras son 26,6; 26,7 y 26,7 y en los machos 26,7; 25,0 y 25,8. Los promedios de escamas que separan las supraoculares en las hembras son 7,3; 7,6 y 7,2; en los machos 6,7; 8,0 y 7,1 (Cuadro No.2).

CUADRO No. 1
 VARIACION EN EL NUMERO DE ESCAMAS EN Bothrops asper DE TRES
 LOCALIDADES.

Escamas	Fórmula modelo*	Localidades (% de escamas)		
		Manaca	Cárdenas	Puriscal (I.C.P.)**
	7-7	83,0	87,5	96,0
Supralabiales	7-8	11,0	02,5	04,0
	8-8	05,5	0,0	00,0
	9-9	00,0	12,5	00,0
	9-10	22,2	12,5	08,0
	9-11	05,5	00,0	04,0
Infralabiales	10-10	33,3	62,5	80,0
	10-11	16,7	00,0	04,0
	10-12	00,0	12,5	00,0
	11-11	11,1	00,0	04,0
	11-12	11,1	00,0	00,0

* De izquierda a derecha

** I.C.P. para todos los cuadros = Colección del Instituto
 Clodomiro Picado.

CUADRO No. 2

DIFERENCIAS EN EL NUMERO DE ESCAMAS ENTRE HEMBRAS Y MACHOS DE Bothrops asper
 DE TRES LOCALIDADES
 (datos en promedio)

LOCALIDAD	N		VENTRALES		CAUDALES		DORSALES		ENTRE LAS SUPRAOCULARES	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Manaca	9	9	201,0	202,9	61,4	64,8	26,6	26,7	7,3	6,7
Cárdenas	7	1	200,4	197,0	64,9	63,0	26,7	25,0	7,6	8,0
Puriscal (I.C.P.)	12	13	202,2	202,1	65,2	69,2	26,7	25,8	7,2	7,1

CUADRO No.3

VARIACION EN EL NUMERO DE ESCAMAS EN Lachesis muta DE CUATRO LOCALIDADES

ESCAMAS	Fórmula	LOCALIDADES (% DE ESCAMAS)				
	Modelo*	GAMBOA	CAMPAMENTO	LIMON (I.C.P.)	QUEPOS (I.C.P.)	PLAYA CHUZO
Supralabiales	8-8	00,0	33,3	42,9	25,0	
	8-9	20,0	33,3	14,3	75,0	
	9-9	60,0	33,3	35,7	00,0	100,0
	9-10	00,0	00,0	07,1	00,0	
	10-10	20,0	00,0	00,0	00,0	
Infralabiales	12-12				25,0	
	12-13			14,3		
	12-14			07,1		
	12-15				25,0	
	13-13	20,0		21,4	50,0	
	13-14	40,0		28,6		
	13-15			07,1		
	14-14	40,0	33,3	14,3		
	14-15			66,7		100,0
15-15			07,1			

* De izquierda a derecha.

Las fórmulas de escamas supralabiales más observadas en Lachesis muta de Panamá son, L. m. muta 9-9 y L. m. stenophrys 8-9, en tanto que para las de Limón, Costa Rica 8-8 y para las de Quepos, 8-9; si comparamos las poblaciones de hembras de Costa Rica y Panamá, 9-9 es más frecuente (Cuadro No.3). Asimismo, las fórmulas más comunes de escamas infralabiales para los ejemplares de Panamá son 14-14 y 14-15, en tanto que para los de Costa Rica 13-13, para ambos países 14-14. El ámbito en el número de escamas ventrales en hembras de Panamá (N=3) es 203-209, en las de Costa Rica (N=10), 200-216; en los machos de Panamá (N=6) 200-211 y en los de Costa Rica (N=8) 202-216; resalta que en hembras y machos de Panamá y Costa Rica sea 200-216 y para el ejemplar de Playa Chuzo, Darién 226 (Cuadro No.9, Apéndice 2). El ámbito del número de escamas caudales en hembras de Panamá es de 47 a 49; en las de Costa Rica de 44 a 52; y en los machos de 42 a 52 y de 42 a 51; en tanto que para las hembras de Costa Rica y Panamá es de 44 a 52 y en machos de 42 a 52; el ejemplar de Playa Chuzo tiene 53 (Cuadro No.4). El ámbito en el número de hileras de escamas dorsales para hembras y machos de Panamá es 35-37, para las hembras de Costa Rica 34-39; y para los machos 34-38; para las hembras de Costa Rica y Panamá 34-39 y los machos 34-38. El número de escamas entre las supraoculares en las hembras de Panamá es 10-12, en las de Costa Rica 11-12; en las hembras de ambos países 10-11 y en los machos 10-12 (Cuadro No.4 y Cuadros Nos. 10, 11 y 12, Apéndice 2).

CUADRO No. 4

DIFERENCIAS EN EL NUMERO DE ESCAMAS ENTRE HEMBRAS Y MACHOS DE Lachesis muta DE CUATRO LOCALIDADES
(DATOS EN PROMEDIO)

LOCALIDAD	N		VENTRALES		CAUDALES		DORSALES		ENTRE LAS SUPRAOCULARES	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
GAMBOA	1	4	209,0	209,5	49,0	48,2	37,0	36,7	11,0	10,7
CAMPAMENTO	2	1	203,0	200,0	47,0	52,0	35,0	35,0	11,0	12,0
LIMON (I.C.P.)	7	7	204,3	204,1	48,1	49,6	36,3	34,6	10,8	11,3
QUEPOS (I.C.P.)	3	1	215,3	216,0	47,6	52,0	38,3	38,0	10,7	11,0
PLAYA CHUZO	-	1		226,0		53,0		35,0		12,0

HEMIPENES

Se encontró que Bothrops asper y Lachesis muta de Costa Rica y Panamá presentan el órgano dividido, con ornamentación espínosa, zurco espermático bifurcado y estructura apical desnuda. En B. asper, con ámbitos de largo total entre 0,94 y 1,59 m, la longitud promedio de los hemípenes es de 2,6 cm. En Lachesis muta de Costa Rica y Panamá se encontró que la longitud del hemipene, cola y cuerpo es como sigue: L. muta de Quepos, Costa Rica 3,7; 20,0 y 198,1 cm; L. muta de Playa Chuzo, Darién 4,0; 22,0 y 220,2 cm; L. muta de Limón, Costa Rica 5,2; 20,6 y 203,2 cm; y L. muta de Campamento, Bocas del Toro 6,3; 21,3 y 208,0 cm respectivamente. Excepto por la longitud del hemipene, no se notó otra diferencia Fig. No. 2 (a y b).

CARIOTIPO

El cariotipo de Bothrops asper de Panamá está constituido por un juego diploide de 36 cromosomas, de los cuales 16 son macrocromosomas y 20 microcromosomas. En las hembras los pares de macrocromosomas 1,3,4,6 y 7 son metacéntricos; 2,5 y 8 submetacéntricos; en tanto que en los machos los pares 1,2,3,4,6 y 7 son metacéntricos; 5 y 8 submetacéntricos (Fig. No. 3a y 3b)



Fig.No.2 Hemipenes de Lachesis muta de Panamá.

A- Lachesis muta (derecho) de Playa Chuzo, Darién

B- Lachesis muta de Campamento, Bocas del Toro



Fig. No.3a Cariotipo de Bothrops asper (macho)
de Manaca, Chiriquí (Cuadro No.13,
Apéndice 2).



Fig. No. 3b Cariotipo de Bothrops asper (hembra)
de Manaca, Chiriquí (Cuadro No. 13.
Apéndice 2).

Los cariotipos determinados son similares a aquellos encontrados por Beçak (1965) y Beçak y Beçak (1969) para la familia Viperidae; como también por Gutiérrez, Taylor y Bolaños (1979) para 10 especies costarricenses de la subfamilia Crotalinae. El cariotipo de Lachesis muta no se investigó.

CARACTERISTICAS TOXINOLÓGICAS

LETALIDAD

Las dosis letales 50 % (DL₅₀) con ratones de 16-18 g de peso para Bothrops asper de Manaca, Chiriquí; Lachesis muta de Campamento, Bocas del Toro; Limón, Costa Rica y Playa Chuzo, Darién son 3,58; 8,65; 8,66 y 8,99 mg de veneno por kg de ratón respectivamente (Fig. No.4; y Cuadro No. 14, Apéndice 2).

ELECTROFORESIS E INMUNOELECTROFORESIS

En el electroforegrama del veneno de Bothrops asper de Manaca, Chiriquí y Cárdenas, Panamá se observa una fracción anódica y dos en la región catódica; asimismo en el inmunoelectroforegrama se aprecian las diferencias en movilidad de las fracciones (Fig. No.5), al observar las bandas de precipitación formadas al reaccionar con suero polivalente preparado en el Instituto Clodomiro Picado de Costa Rica. Los electroforegrama de Lachesis muta de Playa Chuzo,

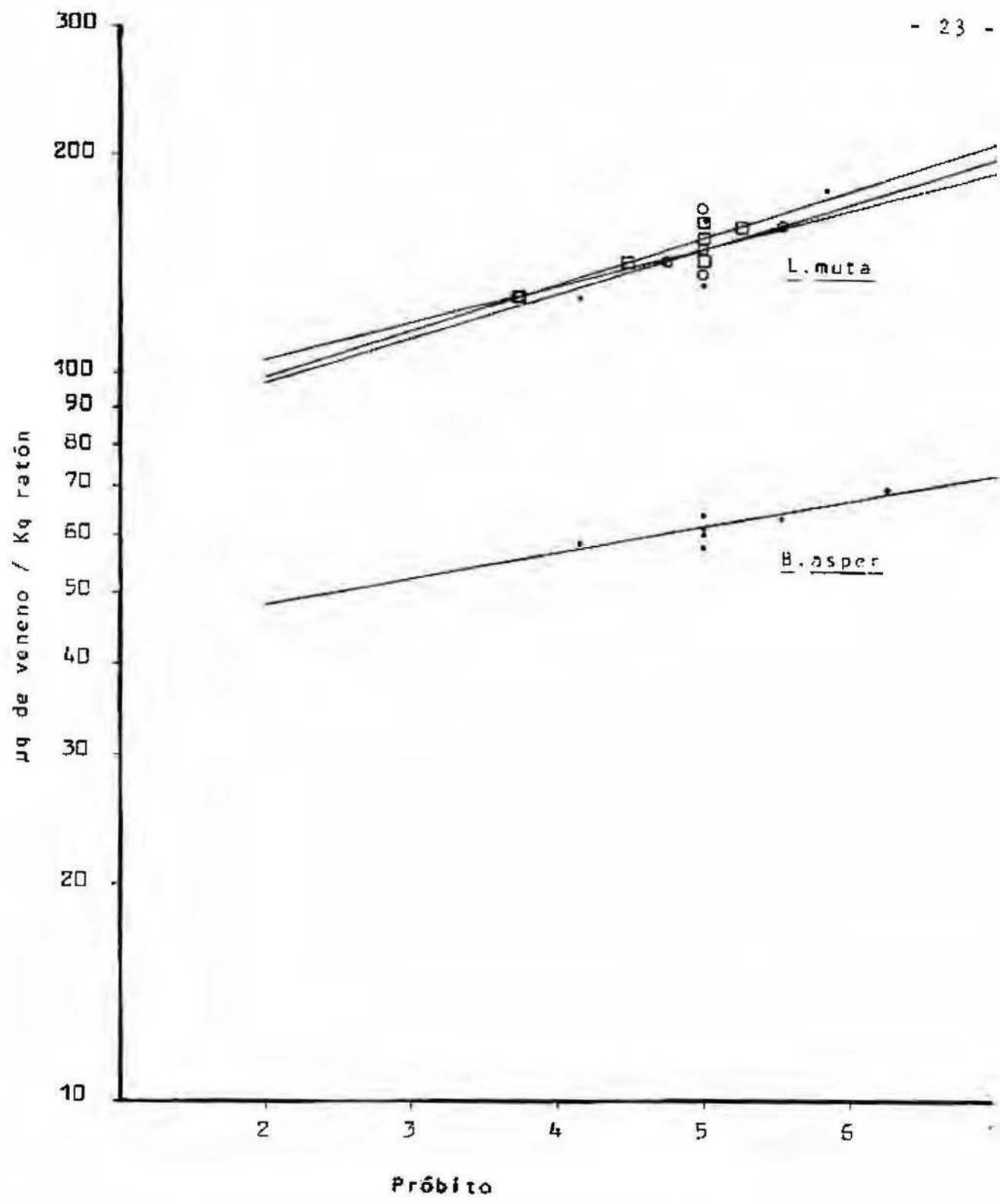


Fig.No.4 Curva dosis- respuesta para el cálculo de las dosis letales 50 (DL₅₀) de los venenos de *Lachesis muta* de Playa Chuzo: Darién (□); Campamento, Bocas del Toro (○) y Limón, Costa Rica (●) y *Bothrops asper* de Manaca, Chiriquí (Cuadro No.14, Apéndice 2).

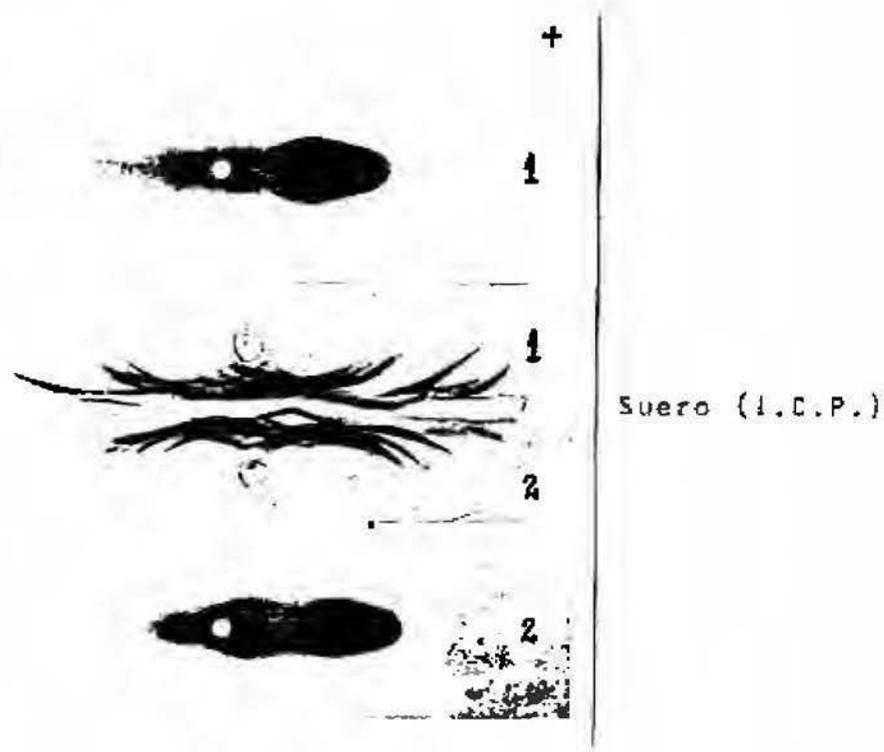


Fig. No.5 Electroforegrama e inmunolectroforegrama del veneno de Bothrops asper de Manaca, Chiriquí (1), y Cárdenas, Panamá (2), frente al suero del Instituto Clodomiro Picado.

Darién y Quepos, Costa Rica muestran dos fracciones catódicas, por otra parte, el de Quepos muestra dos fracciones anódicas que no están en el de Playa Chuzo. Los electroforegramas del veneno de la provincia de Limón, Costa Rica y Campamento, Bocas del Toro son semejantes. Los respectivos inmunolectroforegramas destacan las bandas de precipitación formadas frente al suero costarricense (Fig. No. 6).

NEUTRALIZACION DEL EFECTO LETAL (DE₅₀)

El suero polivalente costarricense tiene un poder neutralizante de 3,71 y 3,43 mg de veneno por ml de antiveneno, para Bothrops asper y Lachesis muta ambas de Panamá (Figs. No.7 y 8; y Cuadro No.15, Apéndice 2).

CARACTERISTICAS FISIOPATOLOGICAS DE LOS VENENOS

ACTIVIDAD EDEMATIZANTE

El veneno de Bothrops asper tiene una dosis mínima edematizante (DME) de 30 µg; Lachesis muta de Campamento, Bocas del Toro y Playa Chuzo, Darién 10 y 5 µg respectivamente (Cuadro No.16 Apéndice 2). El veneno del ejemplar de Playa Chuzo tiene una DME doble que aquél de Campamento y a la vez seis veces más que el de Bothrops asper de Manacá (Fig. No.9).

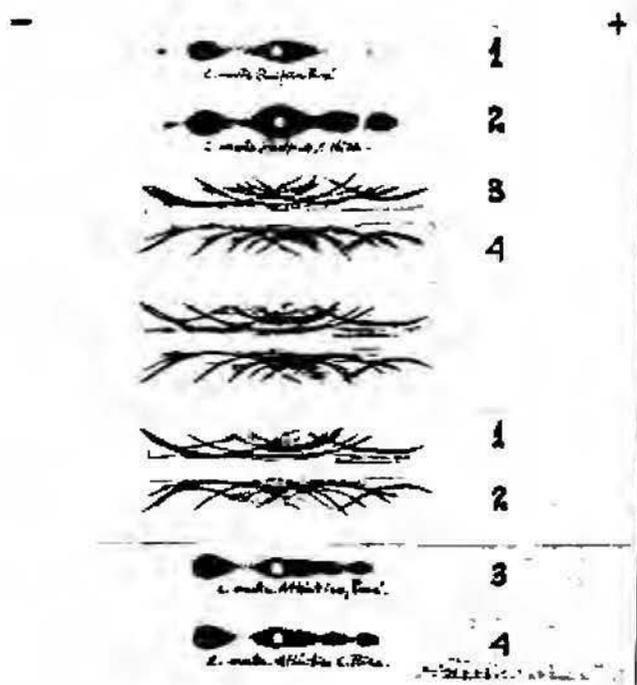


Fig. No.6 Electroforegrama e inmunoelectroforegrama del veneno de Lachesis muta de Playa Chuzo, Darién (1); Quepos, Costa Rica (2); Campamento, Bocas del Toro (3) y Limón, Costa Rica (4).

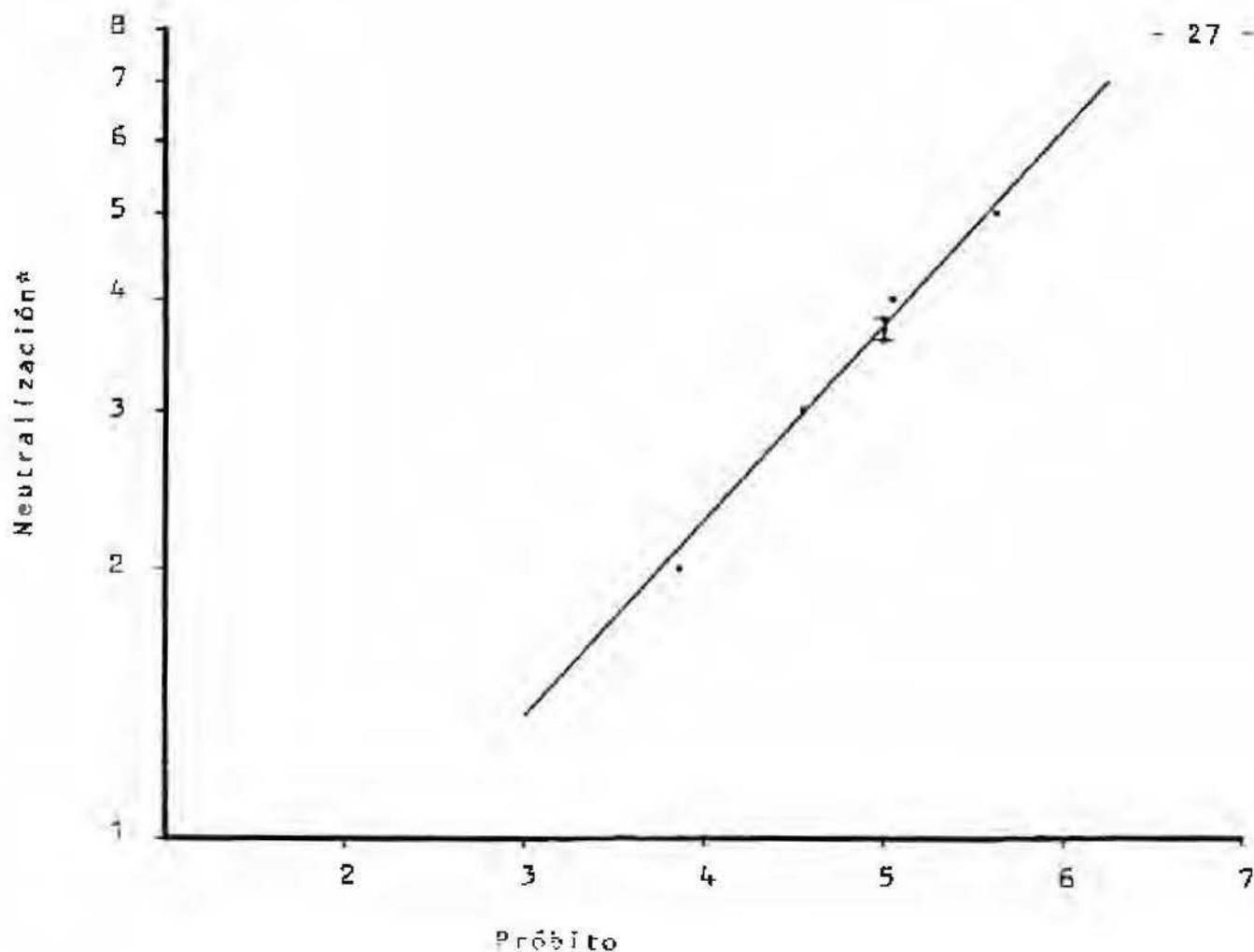


Fig. No. 7 Curva dosis-respuesta para el cálculo del poder de neutralización del efecto Letal (DE_{50}) del veneno de Cothrops asper de Manaca, Chiriquí.

* mg de veneno por ml de antiveneno.

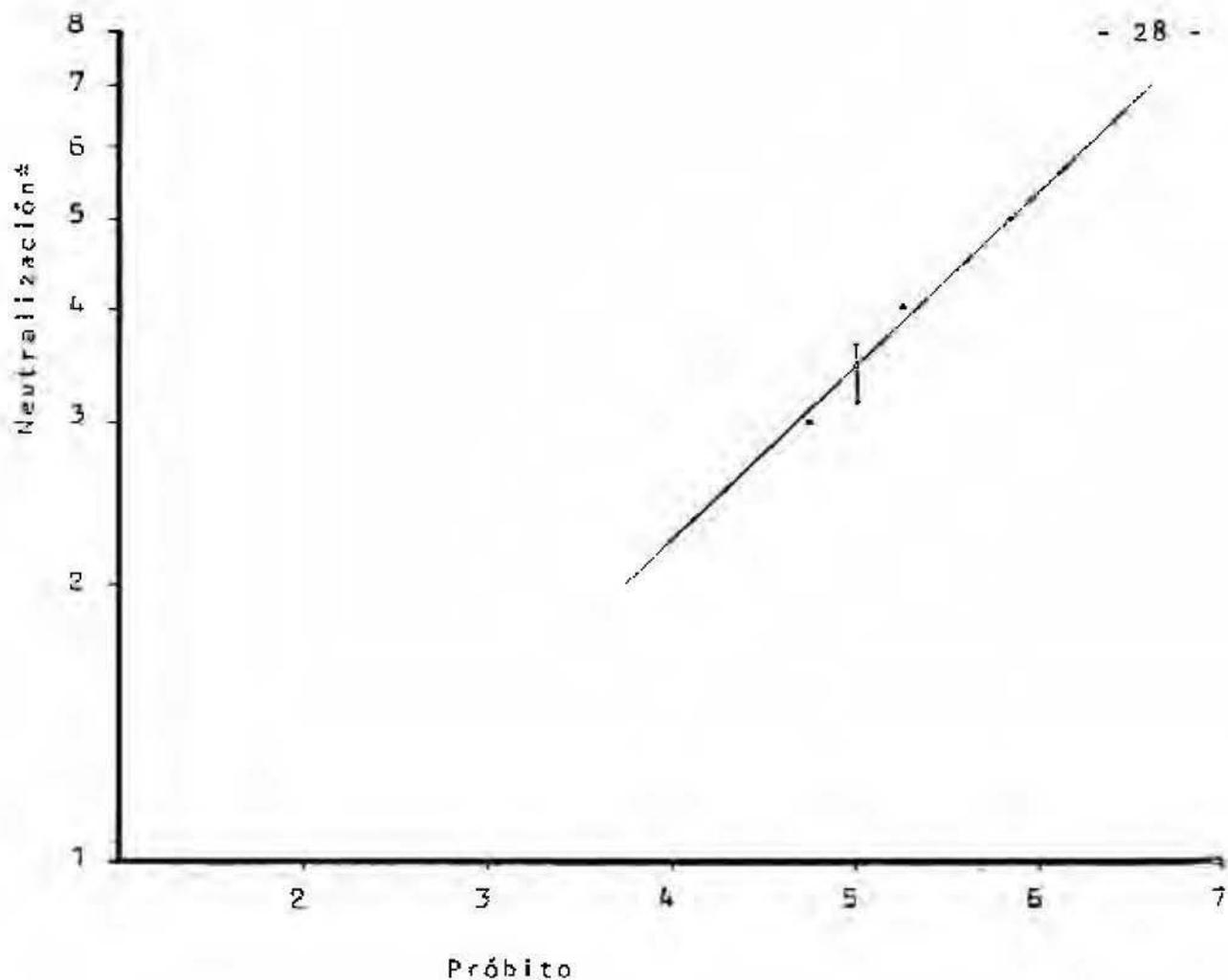


Fig. No. 8 Curva de dosis-respuesta para el cálculo del poder de neutralización del efecto letal (DE_{50}) del veneno de Lachesis muta de Campamento, Bocas del Toro.

* mg de veneno por ml de antiveneno.

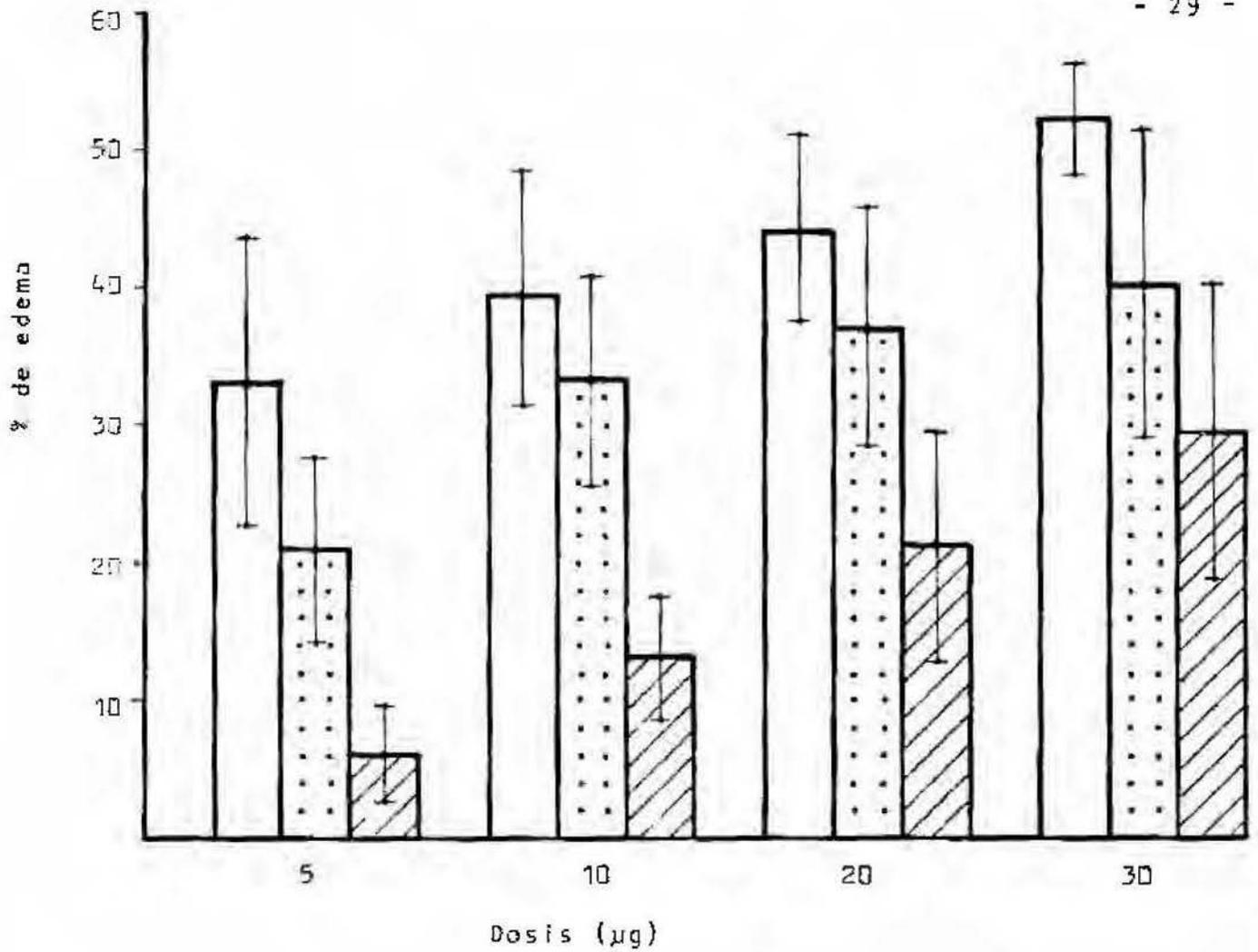


Fig.No.9 Relación entre diferentes dosis de veneno de Lachesis muta de Playa Chuzo, Darién (□); Campamento, Bocas del Toro (▣) y Bothrops asper de Manaca, Chiriquí (▨), y el efecto edematizante.

I = Límites de confianza al 95%

ACTIVIDAD HEMORRAGICA

El veneno de Bothrops asper de Manaca, Chiriquí tiene una dosis hemorrágica mínima (DHM) de 2,5 µg; los de Lachesis muta de Playa Chuzo, Darién y Campamento, Bocas del Toro 1,25 ambos (Cuadro No.17 Apéndice 2). El resultado con veneno de Bothrops asper es semejante al obtenido por Gutiérrez et al., 1980b para la misma especie del Pacífico y bastante similar al del Atlántico de Costa Rica, 2,5 y 1,5 respectivamente. Lachesis muta de Panamá produjo un efecto hemorrágico mayor que aquél obtenido por Gutiérrez y Chaves (1980) para ejemplares costarricenses (Fig. No.10).

EFEECTO MIONECRÓTICO

La mayor dosis ensayada (40 µg) de veneno de Bothrops asper de Manaca, Chiriquí produjo un efecto mionecrótico mayor que aquél obtenido por Gutiérrez, Chaves y Bolaños (1980b) utilizando 50 µg de veneno de B. asper tanto del Atlántico como del Pacífico de Costa Rica (Fig.No.11). El veneno de Lachesis muta de Campamento, Bocas del Toro produjo un efecto mionecrótico menor que el veneno de B. asper de Panamá (Cuadro No.18, Apéndice 2).

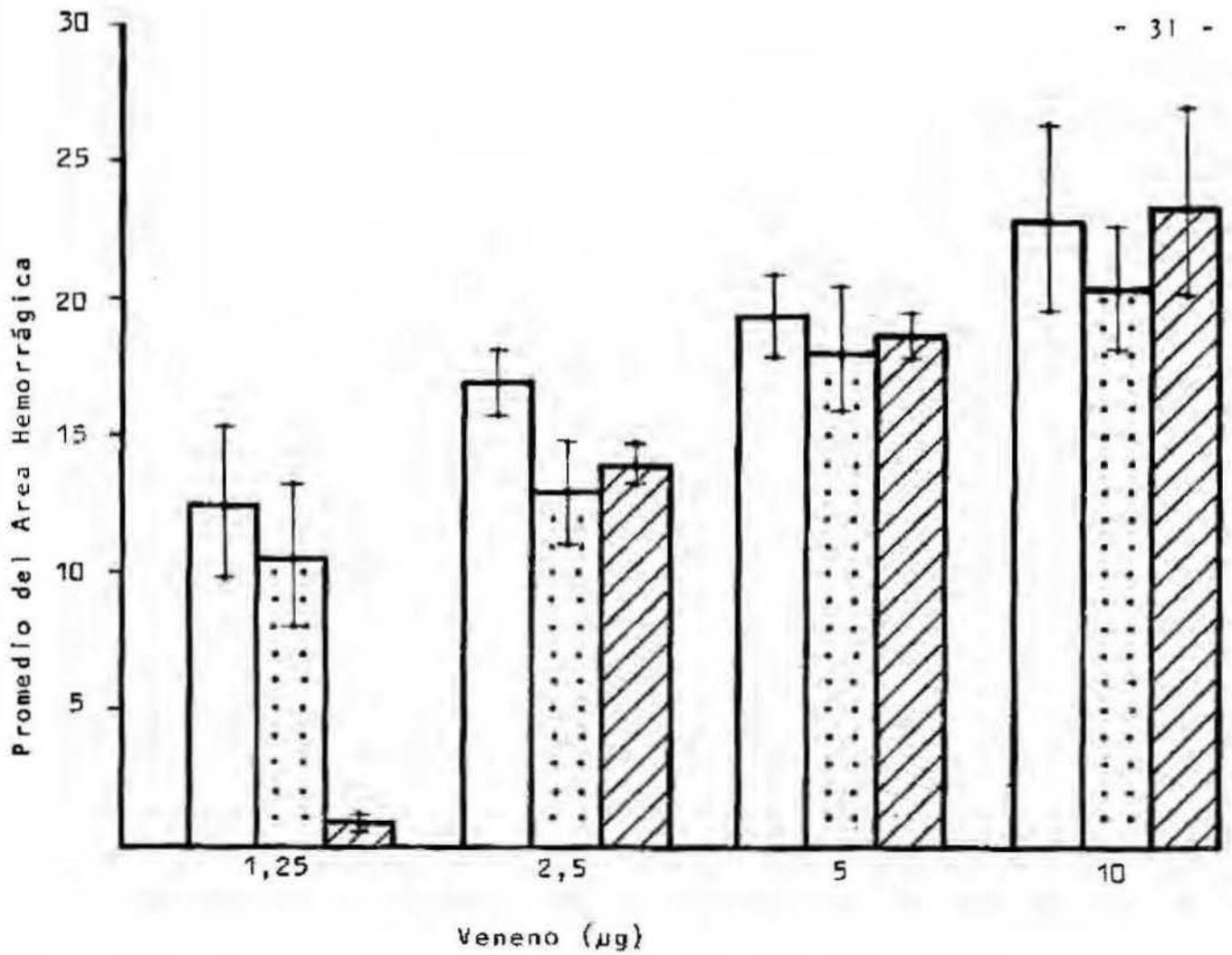


Fig. No.10 Relación entre diferentes dosis de veneno de Lachesis muta de Playa Chuzo, Darién (□); Campamento, Bocas del Toro (▤); Bothrops asper (▨) de Panamá y la cuantificación (\bar{x}) del área hemorrágica en piel de ratones de 16-18g de peso.

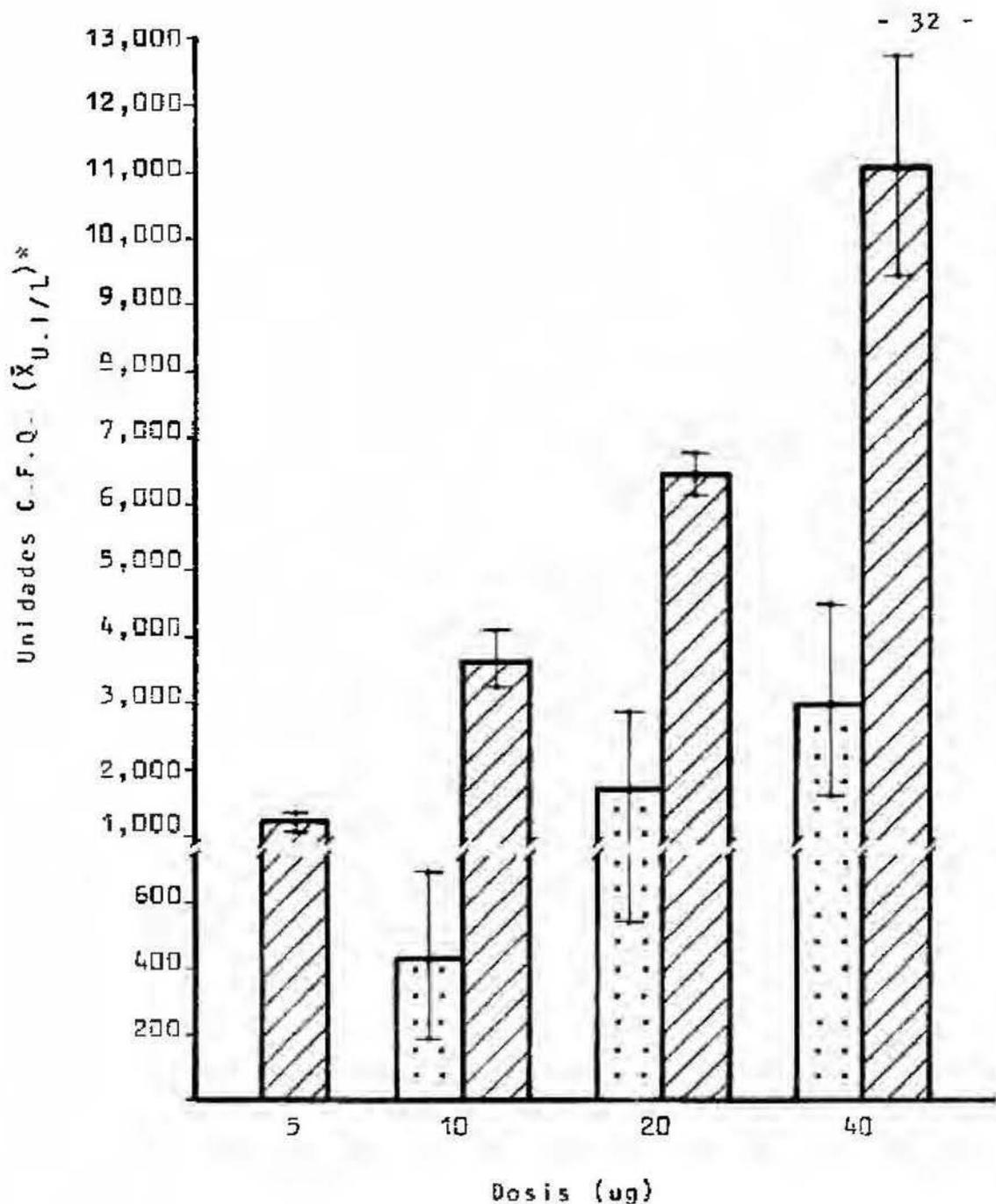


Fig.No.11 Relación entre diferentes dosis de veneno de Lachesis muta de Campamento, Bocas del Toro (■); Bothrops asper de Manaca, Chiriquí (▨) y el incremento de creatinafosfoquinasa (C.F.Q.) en suero de ratones de 16-18g de peso.

* $\bar{X}_{U.I./L}$ Promedio de (C.F.Q.) en unidades internacionales por litro.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Bothrops asper

En Costa Rica y Panamá, en diferentes épocas, se han utilizado tanto el nombre B. asper (Garman) como B. atrox (Linnaeus) para designar la serpiente "Ter-ciopelo". Los trabajos de Hoge (1965) y Peters y Orejas-Miranda (1970) señalan para B. asper una distribución desde México hacia el sur bordeando las tierras del Pacífico de Colombia hasta Guayaquil e Isla Gorgona en Ecuador. Los citados autores y Roze (1966) señalan que B. atrox habita los bosques ecuatoriales de Colombia, Venezuela, Guayanas, Brasil, Perú, Ecuador, Bolivia y Misiones en Argentina.

Al examinar las principales características de la escamación general del cuerpo (Cuadros No. 1 al 12, Apéndice 2), y el tipo de hemipenes de B. asper de Costa Rica y Panamá, se encontró una gran semejanza en ambas poblaciones; además el número diploide de cromosomas $2N=36$, con 16 macrocromosomas (5 pares metacéntricos y 3 submetacéntricos), y 20 microcromosomas se corresponde con el cariotipo presentado por Beçak (1965) para la familia Viperidae, y a la vez semejante al reportado por Gutiérrez, Taylor y Bolaños (1979) para las especies costarricenses de la subfamilia Crocailinae.

Asimismo, la letalidad (DL_{50}) calculada para el veneno de los ejemplares de Panamá (3,58mg de veneno por Kg de ratón), es comparable a aquella encontrada por Bolaños (1972) (3,70mg por Kg de ratón), y también por Gutiérrez, Chaves y Bolaños (1980) (3,82 mg por Kg de ratón) para B. asper de Costa Rica. El patrón electroforético e inmuno-electroforético de las mezclas de los venenos de ejemplares de Panamá, resulta semejante a la observada por Gutiérrez, Chaves y Bolaños (1980) para los venenos de B. asper de Costa Rica. Para el veneno de ejemplares panameños se encontró que el suero polivalente preparado en el Instituto Clodomiro Picado de Costa Rica, tiene un poder neutralizante de 3,71 mg por ml de antiveneno, lo cual es muy satisfactorio máxime que Gutiérrez, Chaves y Bolaños (1980) encontraron para el veneno de B. asper de Costa Rica 2,65mg por ml de antiveneno.

En cuanto a las características fisiopatológicas investigadas con el veneno de los ejemplares de Panamá, encontramos que la dosis mínima edematizante (DMH) 30 mg de veneno, es la misma que la obtenida por Gutiérrez, Arroyo y Bolaños (1980) con el veneno de B. asper de Costa Rica; el análisis de la actividad hemorrágica muestra que la dosis hemorrágica mínima (DHM) es semejante para B. asper de Panamá y Costa Rica; al cuantificar el incremento de creatinafosfoquinasa se encontró que éste es dos veces mayor, con el veneno de Panamá (11,099 U.I. por litro)

que el observado por Gutiérrez, Chaves y Bolaños, 1980 (6. 756 U.I. por litro) para B. asper de Costa Rica.

Con base en estos resultados se puede concluir que el suero producido por el Instituto Clodomiro Picado es adecuado para las necesidades de Panamá, pues sus niveles de neutralización para el veneno de "Terciopelo" son adecuados.

Por otro lado, en cuanto al ámbito de distribución geográfica de B. asper y B. atrox, se considera que la literatura existente no facilita los elementos necesarios que permitan discriminar ambas especies; en ese sentido como se señaló en la introducción, durante la orogenia del Istmo Centroamericano, Panamá ha jugado un papel relevante ya que ha sido la ruta de dispersión tanto para la fauna como la flora del continente, por lo que es necesario investigar aspectos herpetológicos, cariológicos, fisiopatológicos e inmunológicos utilizando suficientes ejemplares de las diferentes zonas de vida de Panamá y Colombia para definir mejor la taxonomía de estas dos poblaciones.

Lachesis muta

En su estudio ecogeográfico de 1967, Vial y Jiménez-Porras establecen que Lachesis muta tiene una distribución que va desde el sur de Nicaragua hasta el

Brasil, Hoge (1965) y Hoge y Romano (1971) reconocen tres subespecies: L.m. stenophrys (Cope), presente en Costa Rica y Panamá, aunque señala que se desconoce la intergradación que pudiese ocurrir en la región del Chocó; L. m. muta en Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Trinidad y Guayanas; y L.m. noctivaga en la región del Atlántico de Brasil. En 1974 Taylor et al. informaron que L. m. stenophrys habita la zona del Atlántico y el sur del Pacífico de Costa Rica; en 1977 Bolaños, Muñoz y Cerdas al presentar los resultados sobre su investigación inmunológica con venenos de ejemplares del Atlántico y Pacífico de Costa Rica y el de ejemplares Colombianos, señalaron que sus dos poblaciones de L. muta (Atlántico y Pacífico) difieren tanto en sus características morfológicas como en su comportamiento; además que entre el veneno de ejemplares de la región sur del Pacífico y el de Colombia no existen diferencias significativas en cuanto a toxicidad y neutralización, no así con el veneno de ejemplares del Atlántico. Al comparar los patrones inmunoelectroforéticos, encontraron semejanza entre los venenos de Colombia y del Sur del Pacífico de Costa Rica, y ambos con pequeñas diferencias respecto al del Atlántico. Asimismo señalaron que los resultados obtenidos con sueros anti-Lachesis costarricense y de Brasil, indican que las diferencias encontradas dependen de los componentes del veneno y no de la especificidad del antisuero.

Con base en las características de la escamación general del cuerpo, morfología externa y hemipenés, hemos informado sobre la presencia en Playa Chuzo, Darién, Panamá, de L. m. muta (Linnaeus) (Apéndice 1). Por otro lado, los resultados de las electroforésis e inmunoelectroforésis indican que existe una gran semejanza entre el veneno de ejemplares del Pacífico de Costa Rica y el de L. m. muta de Panamá, e igualmente entre el veneno de ejemplares del Atlántico de Costa Rica y de Campamento, Bocas del Toro; en éste sentido, estas observaciones son concordantes con aquellas de Bolaños, Muñoz y Cerdas (1978), utilizando venenos de L. m. stenophrys de Costa Rica (Atlántico y Pacífico) y L. m. muta de Colombia. Asimismo, resulta interesante que el veneno de L. m. muta de Playa Chuzo, Darién tenga un efecto edematizante doble, que aquél de Campamento, Bocas del Toro y a su vez aproximadamente seis veces el de B. asper de Panamá; se puede señalar que al menos para B. asper, nuestros resultados son comparables con los obtenidos por Gutiérrez, Chaves y Bolaños (1980) y Gutiérrez, Arroyo y Bolaños (1980) con veneno de ejemplares costarricenses.

Los resultados obtenidos al investigar la actividad hemorrágica con veneno de L. m. muta y L. m. stenophrys de Panamá, no muestran diferencias e inclusive la dosis hemorrágica mínima es semejante; en cambio, los resultados de Gutiérrez y Chaves (1980) indican que el veneno de

L.m. stenophrys de Costa Rica muestra una actividad hemorrágica ligeramente menor.

Las investigaciones sobre el efecto mionecrótico se limitaron al veneno de L. m. stenophrys, debido a que se agotó el de L.m. muta; no podemos establecer relaciones de resultados con venenos de ejemplares costarricenses puesto que no utilizamos el mismo método de cuantificar el efecto y en Panamá es la primera vez que se investiga nuestros venenos.

La presencia en Panamá de L.m. muta y L.m. stenophrys, las semejanzas entre el veneno de ejemplares de Colombia, Playa Chuzo (Darién) y los del sur del Pacífico de Costa Rica; y entre L.m. stenophrys de Costa Rica y Panamá corroboran el hecho de que Panamá ha sido ruta de dispersión, para la fauna y flora del continente.

En cuanto al impacto del ofidismo como problema de salud en Panamá, puedo señalar que debemos mostrar mayor interés al respecto porque, con las diferencias anotadas, se hace imperante la adquisición de sueros adecuados que neutralicen eficientemente los venenos de nuestras variedades de serpientes. En ese sentido recomiendo aquél producido en el Instituto Clodomiro Picado de Costa Rica, ya que en su elaboración se utilizan venenos de L. muta, con lo cual se logran títulos satisfactorios de neutralización. Se hizo el anterior comentario debido a que en Panamá se existe un criterio técnico para la escogencia de sueros,

dándose inclusive el caso de compras de suero "Polivalente" de la casa Min de México, el cual no es anti-lachésico.

LITERATURA CITADA

1. Barbour, T. (1923). Notes on reptiles and amphibians from Panama. Occas. Pap. Mus. Zool Univ. Mich. 129:1-16.
2. Bates, L.B. (1928). Snakes and snake-bite accidents of the Panama Canal Zone. Bull. Antivenin Inst. Amer. 1:31-32.
3. Beçak, W. (1965). Constituição cromossômica e mecanismos de determinação do sexo em ofídios sul-americanos. 1. Aspectos cariotípicos. Mem. Inst. Butantan, São Paulo, 32:37-78.
4. Bolaños, R. (1971). Nuevos recursos contra el ofidismo en Centro América. Departamento de Publicaciones, Universidad de Costa Rica, 2a. ed.
5. Bolaños, R. (1972). Toxicity of Costa Rican snake venoms for the white mouse. Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 21: 360-363.
6. Bolaños, R., G. Muñoz & L. Cerdas. (1978). Toxicidad, neutralización e inmunoelectroforésis de los venenos de Lachesis muta de Costa Rica y Colombia. Toxicon 16:296-300.

7. Bolaños, R., L. Cerdas & J. W. Abalos. (1978). Venenos de las serpientes coral (Micrurus spp). Informe sobre un antiveneno polivalente para las Américas. Boletín, Oficina Sanitaria Panamericana. 84: 128-133. 3.
8. Breder, C.M. (1946). Amphibians and reptiles of the Rio Chucunaque drainage, Darien, Panama. With notes on their life history and habits. Bull. Amer. Mus. Natur. Hist. 86:379-435.
9. Clark, H.C. (1942). Venenous snakes. Some Central American records. Incidence of snake-bite accidents. Amer. J. Trop. Med. 22: 37-49.
10. Dixon, J. R. (1979). Origin and distribution of reptiles in lowland tropical rainforests of South America, No.7, p. 217-240. En: W. E. Duellman (ed). The South America herpetofauna: its origin. Evolution and dispersal. Monog. Mus. Natur. Hist. Kansas No.7.
11. Dowling, H.G. (1951). A proposed standard system of counting ventrals in snakes, Brit. J. Herpetol. 1:97-99.

12. Dowling, H.G. & J. M. Savage. (1960). A guide to the snake hemipenis: A survey of basic structure and systematic characteristics. *Zoologica (NY)* 45:17-31.
13. Duellman, W.E. (1966). The Central America herpetofauna; an ecological perspective. *Copeia* 1966:700-719.
14. Dunn, E.R. (1931). Preliminary list of the reptiles and amphibians of the Canal Zone and the provinces of Panama and Colon, R.P., Report Barro Colorado Island Lab. 7:15-18.
15. Dunn, E.R. (1940). New and noteworthy herpetological material from Panama. *Proc. Acad. Natur. Sci. Philadelphia*, 92:105-122.
16. Dunn, E.R. (1949). Relative abundance of some panamanian snakes. *Ecology* 30: 39-57.
17. Dunn, E.R. & J.R. Bailey. (1939). Snakes from the uplands of the Canal Zone and of Darien. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 86:1-22.
18. Evans, H.E. (1947). Notes on Panamanian reptiles and amphibians. *Copeia* 1947:166-170

19. Grocott, R. y Sadler, G.G. (1958). The poisonous snakes of Panama. Canal Zone, Panama Canal printing plant.
20. Gutiérrez, J. M., R.T. Taylor & R. Bolaños. (1979). Cariotipos de las serpientes costarricenses de la familia Viperidae. Rev. Biol. Trop. 27 (2):309-319.
21. Gutiérrez, J. M. y F. Chaves. (1980). Efectos proteolíticos, hemorrágicos y micnecróticos de los venenos de serpientes costarricenses de los géneros Bothrops, Crotalus y Lachesis. Toxicon 18:315-321.
22. Gutiérrez, J. M., O. Arroyo y R. Bolaños. (1980a). Mionecrosis, hemorragia y edema inducidos por el veneno de Bothrops asper en ratón blanco. Toxicon 18:603-610.
23. Gutiérrez, J. M., F. Chaves y R. Bolaños. (1980b). Estudio comparativo de venenos de ejemplares recién nacidos y adultos de Bothrops asper. Rev. Biol. Trop. 28 :341-351.
24. Hearwole, H. & O.J. Sexton. (1966). Herpetofaunal comparisons between two climatic zones in Panama. Amer. Midland Natur. 75: 45-60.

25. Hoge, A.R. (1965). Preliminary account on neotropical Crotalinae Serpentes: Viperidae. Mem. Inst. Butantan Sao Paulo, 32:109-184.
26. Hoge, A.R. & S.A.R.W.D.L. Romano. (1971). Neotropical pit vipers, sea snakes and coral snakes, p.211-293. En: W. Bücherl & E. Buckley (eds). Venomous animals and their venoms Vol. II: Venomous vertebrates. Academic. Press. New York.
27. Jiménez, E. & I. García. (1969). Análisis de 86 casos de ofidismo en niños. Rev. Med. Hosp. Nal. Niños 4:91-99.
28. Jiménez-Porras, J. M. (1964a). Intraspecific variations in composition of venom of the jumping viper, Bothrops nummifer. Toxicon 2:187-195.
29. Jiménez-Porras, J.M. (1964b). Venom proteins of the fer-de-lance, Bothrops atrox, from Costa Rica. Toxicon 2:155-166.
30. Kondo, H., S. Kondo, I. Ikesawa, R. Murata & A. Oshaka. (1960). Studies of the quantitative method for the determination of hemorrhagic activity of Habu snake venom. Jap. J. Med. Sci. Biol. 13:43-51.

31. Levan, A., K. Fredga & A.A. Sandberg. (1964).
Nomenclature for centromeric positions in chromosomes. *Hereditas*. 52: 201-220.
32. Lloyd, J.J. (1963). Tectonic history of the South Central America orogen. *Mem. Assoc. Petrol. Geol.* 2:88-100.
33. Mandelbaum, F.R., A.P. Reichl y M.T. Assaujura. (1976).
Some physical and biochemical characteristics of HF₂, one of the hemorrhagic factors in the venom of Bothrops jararaca. En: Animal, Plant and Microbial Toxins, Vol. 1. Biochemistry, p. 111. (Ohsaka, A., K. Hayashi y Y. Sawai, Eds.). New York and London. Plenum Press.
34. Myers, C.W. & S.A. Rand. (1969). Checklist of amphibians and reptiles of Barro Colorado Island, Panama, with comments on faunal change and sampling. *Smithson. Contrib. Zool.* No. 10
35. Núñez, Q.J. M. (1959). Algo sobre las serpientes venenosas de Panamá. *Pub. Rev. Lotería* No. 10.
36. Peters, J., & B. Orejas-Miranda. (1970). Catalogue of the Neotropical Squamata: Part I. Snakes. *Bull. U.S. Natl. Mus.*, No. 297, p. i-viii+347.

37. Picado, C. (1931). Serpientes Venenosas de Costa Rica, sus venenos, Seroterapia Antiofidica. Imprenta Alsina, San José, Costa Rica.
38. Rosenfeld, G. (1971). Symptomatology, pathology and treatment of snake bites in South America. En: Venomous animals and their venoms, vol. II, Venomous vertebrates, p. 345. (Bucherl, W. y E. Buckley, Eds.). Academic Press, New York.
39. Roze, J. (1966). La taxonomía y zoogeografía de los ofidios en Venezuela. Caracas, Univ. Central Venezuela,
40. Sass, J.K. (1979). Snake bite in the Canal Zone: an update north review of cases from September 1975 to August 1978. Laboratory Medicine, 10:77-79.
41. Savage, J.M. (1966). The origins and history of the Central America herpetofauna. Copeia 1966:719-766
42. Savage, J.M. (1973). The geographic distribution of frogs: Patterns and predictions. p. 351-445. En Vial, J.L. (ed) Evolutionary biology of the anurans. Univ. Mo. Press.
43. Savage, J.M. (1974). The isthmian link and the evolution of neotropical mammals. Contributions in Science, Los Angeles 260:1-51

44. Schnudt, K.P. (1920). Amphibians and reptiles collected by the Smithsonian Biological Survey of the Panama Canal Zone. *Smithson. Misc. Collect.* 69:1-20.
45. Sexton, O.J., & H. Heatwole. (1965). Life history notes on some panamanian snakes. *Carib. J. Sci.* 5 (1-2):39-43.
46. Smith, H. M. (1958). Handlist of the snakes of Panama. *Herpetologica* 14:222-224.
47. Stuart, L.C. (1954). A description of a subhumid corridor across northern Central America, with comments on its herpetofaunal indicators. *Contrib. Lab. Vert. Biol. Univ. Mich.* 65:1-26.
48. Stuart, L.C. (1957). Herpetofaunal dispersal routes through northern Central America. *Copeia* 1957:89-94.
49. Stuart, L.C. (1966). The environment of the Central American cold blooded vertebrate fauna. *Copeia* 1966:684-699.
50. Taylor, E.H. (1951a). A brief review of the snakes of Costa Rica. *Univ. Kans. Sci. Bull.* 34:3-188.

51. Taylor, E.H. (1951b). Further studies on the serpents of Costa Rica. Univ. Kans. Sci. Bull, 36:673-801.
52. Taylor, R.T., A. Flores, G. Flores & R. Bolaños. (1974). Geographical distribution of Viperidae, Elapidae and Hydrophidae in Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 21:383-397.
53. Taylor, R.T. & R. Bolaños. (1975). Descripción de un método simple y económico para el estudio de cariotipos en serpientes. Rev. Biol. Trop. 23: 177-183.
54. Vallejo-Freire, A. (1967). Informe sobre condiciones para la elaboración de sueros antiofídicos y programas correlativos en Costa Rica. Organización Panamericana de la Salud, Oficina Sanitaria Panamericana.
55. Vial, J.L. & J.H. Jiménez-Porras. (1967). The ecogeography of the Bushmaster, Lachesis muta, in Central America. Amer. Midland. Natur. 78:182-187.

56. Williams, K.L. (1978). Systematics and Natural History of the American Milk Snake, Lampropeltis triangulum. Mil. Pub. Biol. Geol. No. 2.
57. Yamakawa, M., M. Nozaki & Z. Hokama. (1976). Fractionation of Sakishima haby (Trimeresurus elegans) venom and lethal, hemorrhagic and edema-forming activities of the fractions, V.l., p. 97-109. Ed: A. Ohsaka., K. Hayashi & Y. Sawai (eds). Animal Plant and microbial toxins. Plenum Press. New York.

APENDICE 1

Lachesis muta muta(Linnaeus), DE PANAMA:

NUEVA LOCALIDAD

Lachesis muta muta(Linnaeus), en Panamá:

Nueva Localidad.

Hasta la fecha la distribución geográfica de L.m.muta (Daudin) excluye Panamá (6), sin embargo Hoge y Romano (5) han señalado que se desconoce la intergradación zonal que pueda ocurrir entre el este de Panamá y el norte de Colombia, en cuanto a las subespecies L.m. stenophrys y L.m. muta.

El 6 de agosto de 1979 alrededor de las 23:00 horas capturamos vivo un ejemplar macho de 220.15 cm de largo en "Playa Chuzo" (coordenadas 1078250853), localidad distante 37 km al noroeste del poblado Santa Fe, en la Provincia de Darién, el cual corresponde a la subespecie L.m.muta. Según Tosi (9) la región corresponde a la zona de vida Bosque Tropical húmedo Transición a muy húmedo, con una elevación aproximada de 30m.

Escamación del cuerpo: Rostral trapezoidal; nasales divididas; 2 preoculares la superior mayor que la inferior; supraoculares más largas que anchas y que el largo del ojo; 12 escamas entre supraoculares; 2 posoculares; 1 subocular separada de supralabiales por 3 hileras de escamas pequeñas; 226 ventrales; 53 subcaudales; 35 dorsales en el medio del cuerpo; supralabiales de izquierda a derecha (9-9); infralabiales 14-15; anal entera.

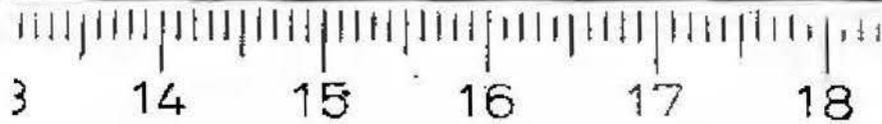
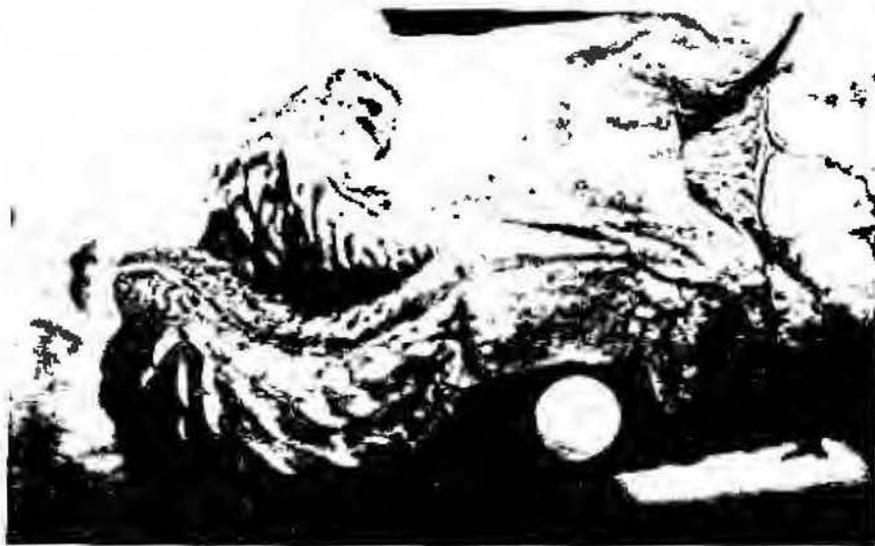


Fig. No. 1. Hemipene derecho de Lachesis muta muta de Playa Chuzo, Darién, Panamá,

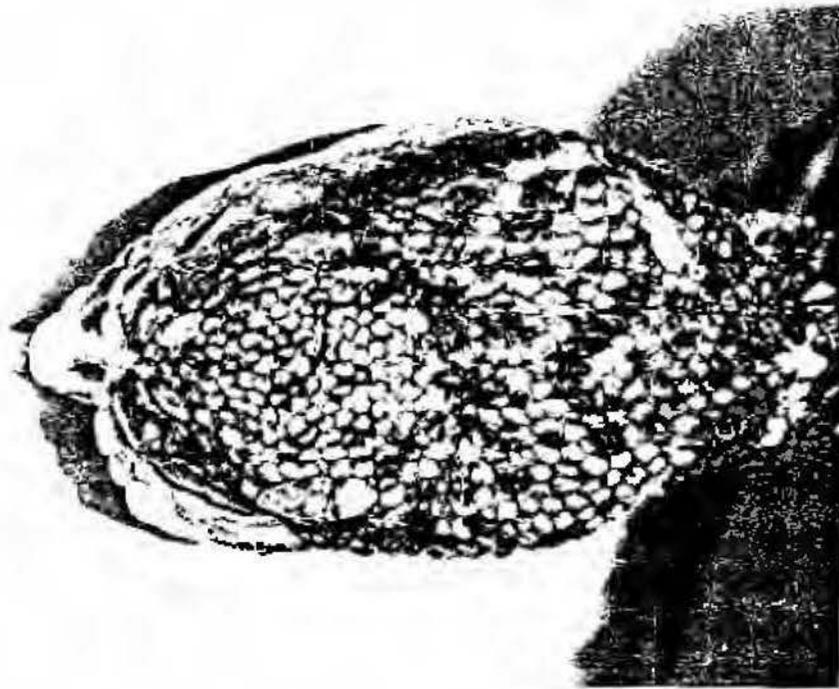


Fig. No. 2 Diseño de la cabeza de Lachesis muta muta de Playa Chuzo, Darién, Panamá.

Descripción del hemipene: La eversión se logró por inyección de formaldehído (10%). Siguiendo la clasificación de Dowling y Savage (3); la estructura básica es: órgano dividido con ornamentación espinosa en la porción mediana y longitud aproximada 40mm, surco espermático bifurcado y porción apical desnuda (Fig. No. 1).

Diseño de la cabeza: La superficie dorsal presenta manchas negras irregulares, en mayor proporción y más oscuras que aquellas de L.m.stenophrys (Fig.No.2); en vista lateral, se presentan dos bandas posoculares separadas por una zona de escamas claras, distinto de L.m.stenophrys (Fig. No.3).

El conteo de escamas de este ejemplar, comparación del diseño y coloración de la superficie dorsal y lateral de la cabeza (4), la ecogeografía del género en centroamérica (7,8,10), datos adicionales (sin publicar) obtenidos de ensayos sobre características inmunológicas (electro e inmunolectroforésis y algunos efectos fisiopatológicos de su veneno (Edema, hemorragia y mionecrosis) comparados con la correspondiente información para L.m. stenophrys y L.m.muta de Costa Rica y Colombia (2) apoyan nuestra identificación del ejemplar capturado como L. m. muta (Linnaeus), por lo cual sugerimos reconocer a Panamá como nueva localidad.



Fig.No.3 Vista Lateral de la cabeza de Lachesis muta muta de Playa Chuzo, Darién, Panamá, mostrando la banda posocular bordeada por escamas claras.

LITERATURA CITADA

- 1- Barbour, T. (1930). The bushmaster in the Canal Zone. En: Bull. of the Antivenin Inst. of Am. 4:11.
- 2- Bolaños, R., G. Muñoz & L. Cerdas (1978). Toxicidad, neutralización e inmunoelectroforésis de los venenos de Lachesis muta de Costa Rica y Colombia. Toxicon 16:296-300.
- 3- Dowling, H.G. & J.M. Savage (1960) A guide to the snake hemipenis: A survey of basic structure and systematic characteristics. Zoologica (NY). 45:17-31.
- 4- Hoge, A.R. (1965). Preliminary account on neotropical Crotalinae Serpentes: Viperidae. Mem. Inst. Butantan São Paulo, 32:109-184.
- 5- Hoge, A.R. & S.A.W.D.L. Romano (1971) Neotropical pit vipers, sea snakes and coral snakes, p.211-293. En: W. Bücherl & E. Buckley (eds). Venomous animals and their venoms Vol. II: Venomous vertebrates. Academic. Press. New York.
- 6- Peters, J., & B. Orejas-Miranda (1970) Catalogue of the Neotropical Squamata: Part I. Snakes. Bull. U.S. Natl. Mus., No.297, p. i-viii+i-347.

- 7- Taylor, E.H. (1951) A brief review of the snakes of Costa Rica. Univ. Kans. Sci. Bull., 34:3-188.
- 8- Taylor, R.T., A. Flores, G. Flores & R. Bolaños (1974). Geographical distribution of Viperidae, Elapidae and Hydrophidae in Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 21(2);383-397.
- 9- Tosi, J.A. (1971) Inventariación y demostraciones forestales. Panamá. Zonas de Vida. FO:SF/PANG. Informe Técnico 2 PNUD. FAO.
- 10- Vial, J. L. & J.M. Jiménez-Porras (1967). The ecogeography of the Bushmaster, Lachesis muta, in Central America. Amer. Midland. Natur. 78, 182-187.

APENDICE 2

DATOS ESTADISTICOS SOBRE LA ESCAMACION GENERAL DEL
CUERPO DE Bothrops asper y Lachesis muta DE PANAMA
Y CARACTERISTICAS BIOMEDICAS DE SUS VENENOS.

CUADRO No.1

Bothrops asper: VARIACION EN EL No. DE ESCAMAS SUPRALABIALES

No.	MANACA, CHIRIQUI				CARDENAS, PANAMA				PURISCAL, (I.C.P.)**			
	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%
7-7*	6	9	15	83,0	6	1	7	87,5	11	13	24	96,0
7-8	2	0	2	11,0	1	0	1	2,5	1	0	1	4,0
8-8	1	0	1	5,5	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
TOT.	9	9	18	99,5	7	1	8	100,0	12	13	25	100,0

CUADRO No.2

Bothrops asper: VARIACION EN EL No. DE ESCAMAS INFRALABIALES

No.	MANACA, CHIRIQUI				CARDENAS, PANAMA				PURISCAL, (I.C.P.)**			
	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%
9-9*	0	0	0	0,0	1	0	1	12,5	0	0	0	0,0
9-10	0	4	4	22,2	1	0	1	12,5	0	2	2	8,0
9-11	1	0	1	5,5	0	0	0	0,0	1	0	1	4,0
10-10	3	3	6	33,3	5	0	5	62,5	10	10	20	80,0
10-11	2	1	3	16,7	0	0	0	0,0	0	1	1	4,0
10-12	0	0	0	0,0	0	1	1	12,5	0	0	0	0,0
11-11	2	0	2	11,1	0	0	0	0,0	1	0	1	4,0
11-12	1	1	2	11,1	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
TOT.	9	9	18	99,9	7	1	8	100,0	12	13	25	100,0

*De izquierda a derecha

** I.C.P. para todos los cuadros = Colección del Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica.

CUADRO No. 3

Bothrops asper: DIMORFISMO SEXUAL EN EL No. DE ESCAMAS VENTRALES

	\bar{X}	E. E.	Rango	N	D. E.
♀					
MANACA, CHIRIQUI	201,9	1,0	197-205	9	2,9
CARDENAS, PANAMA	200,4	2,0	190-205	7	5,4
PURISCAL, I.C.P.	202,2	0,8	197-207	12	2,8
♂					
MANACA, CHIRIQUI	102,9	1,3	193-206	9	3,8
CARDENAS, PANAMA	197,0	0,0	197	1	
PURISCAL, I.C.P.	202,1	1,0	197-209	13	3,5

CUADRO No. 4

Bothrops asper: DIMORFISMO SEXUAL EN EL No. DE ESCAMAS CAUDALES

	\bar{X}	E. E.	Rango	N	D. E.
♀					
MANACA, CHIRIQUI	61,4	2,1	47-68	9	6,2
CARDENAS, PANAMA	64,9	1,6	58-72	7	4,3
PURISCAL, I.C.P.	65,2	0,9	61-70	12	2,9
♂					
MANACA, CHIRIQUI	64,8	1,1	61-70	9	3,2
CARDENAS, PANAMA	63,0		63	1	
PURISCAL, I.C.P.	69,2	0,8	66-76	13	2,8

CUADRO No.5

Bothrops asper: DIMORFISMO SEXUAL EN EL No. DE HILERAS DE ESCAMAS DORSALES

♀	\bar{X}	E. E.	Rango	N	D. E.
MANACA, CHIRIQUI	26,6	0,2	25-27	9	0,7
CARDENAS, PANAMA	26,7	0,5	25-28	7	1,2
PURISCAL, I.C.P.	26,7	0,3	25-29	12	1,0
♂	\bar{X}	E. E.	Rango	N	D. E.
MANACA, CHIRIQUI	26,7	0,5	25-30	9	1,5
CARDENAS, PANAMA	25,0		25	1	
PURISCAL, I.C.P.	25,8	0,3	25-27	13	1,0

CUADRO No.6

Bothrops asper: DIMORFISMO SEXUAL EN EL No. DE ESCAMAS ENTRE LAS SUPRADCULARES

♀	\bar{X}	E. E.	Rango	N	D. E.
MANACA, CHIRIQUI	7,3	0,2	7-8	9	0,5
CARDENAS, PANAMA	7,6	0,4	6-9	7	1,0
PURISCAL, I.C.P.	7,2	0,2	6-8	12	0,9
♂	\bar{X}	E. E.	Rango	N	D. E.
MANACA, CHIRIQUI	6,7	0,2	6-8	9	0,7
CARDENAS, PANAMA	8,0		8	1	
PURISCAL, I.C.P.	7,1	0,2	6-8	13	0,7

CUADRO No.7

Lachesis muta: VARIACION EN EL No. DE ESCAMAS SUPRALABIALES

No.	GAMBDA (COLON)				CAMPAMENTO (BOCAS DEL TORO)				LIMON (I.C.P.)				QUEPOS (I.C.P.)			
	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%
8-8*	0	0	0	00,0	1	0	1	33,3	5	1	6	42,9	1	0	1	25,0
8-9	1	0	1	20,0	1	0	1	33,3	0	2	2	14,3	2	1	3	75,0
9-9	0	3	3	60,0	0	1	1	33,3	2	3	5	35,7	0	0	0	0,0
9-10	0	0	0	00,0	0	0	0	00,0	0	1	1	07,1	0	0	0	0,0
10-10	0	1	1	20,0	0	0	0	00,0	0	0	0	00,0	0	0	0	0,0
TOT.	1	4	5	100,0	2	1	3	99,9	7	7	14	100,0	3	1	4	100,0

Un Ejemplar Macho de Playa Chuzo, Darién (9-9).

* Izquierda-Derecha.

CUADRO No.8

Lachesis muta: VARIACION EN EL No. DE ESCAMAS INFRALABIALES

No.	GAMBOA (COLON)				CAMPAMENTO (BOCAS DEL TORO)				LIMON (I.C.P.)				QUEPOS (I.C.P.)			
	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%	♀	♂	N	%
12-12*														1	1	25,0
12-13									2		2	14,3				
12-14									1		1	07,1				
12-15													1		2	25,0
13-13		1	1	20,0						3	3	21,4	2		2	50,0
13-14	1	1	2	40,0					2	2	4	28,6				
13-15										1	1	07,1				
14-14		2	2	40,0	1		1	33,3	1	1	2	14,3				
14-15					1	1	2	66,7								
15-15									1		1	07,1				
TOT.	1	4	5	100,0	2	1	3	100,0	7	7	14	99,9	3	1	4	100,0

Un ejemplar Macho de Playa Chuzo Darién (14-15)

*Izquierda-Derecha.

CUADRO No. 9

Lachesis muta: DIMORFISMO SEXUAL EN EL No. DE ESCAMAS VENTRALES

♀	\bar{x}	E.E.	Rango	N	D.E.
GAMBOA: COLON	209,0	0,0	209	1	0,0
CAMPAMENTO: B. DEL TORO	203,0	0,0	203	2	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	215,3	0,6	214-216	3	1,1
LIMON (I.C.P.)	204,3	0,9	200-207	7	2,4
♂					
GAMBOA: COLON	209,5	2,2	206-211	4	4,4
CAMPAMENTO: B. DEL TORO	200,0	0,0	200	1	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	216,0	0,0	216	1	0,0
LIMON (I.C.P.)	204,1	0,4	202-206	7	1,2
Un Ejemplar Macho de Playa Chuzo, Darién.	226,0	0,0	226	1	0,0

CUADRO No-10

Lachesis muta: DIMORFISMO SEXUAL EN EL No. DE ESCAMAS CAUDALES

	\bar{x}	E.E.	Rango	N	D.E.
♀					
GAMBOA: COLON	49,0	0,0	49	1	0,0
CAMPAMENTO: BOCAS DEL TORO	47,0	0,0	47	2	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	47,6	2,0	44-51	3	3,5
LIMON (I.C.P.)	48,1	0,7	46-52	7	1,9
♂					
GAMBOA: COLON	48,2	2,2	42-52	4	4,5
CAMPAMENTO: BOCAS DEL TORO	52,0	0,0	52	1	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	52,0	0,0	52	1	0,0
LIMON (I.C.P.)	49,6	1,3	42-51	7	3,4
Un Ejemplar Macho de Playa Chuzo, Darién.	53,0	0,0	53	1	0,0

CUADRO No. 11

Lachesis muta: DIMORFISMO SEXUAL EN EL No. DE HILERAS DE ESCAMAS DORSALES

♀	\bar{X}	E.E.	Rango	N	D.E.
GAMBOA: COLON	37,0	0,0	37	1	0,0
CAMPAMENTO: BOCAS DEL TORO	35,0	0,0	35	2	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	38,3	0,3	38-39	3	0,6
LIMON (I.C.P.)	36,3	0,7	34-39	7	2,0
♂					
GAMBOA: COLON	36,7	0,2	36-37	4	0,5
CAMPAMENTO: BOCAS DEL TORO	35,0	0,0	35	1	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	38,0	0,0	38	1	0,0
LIMON (I.C.P.)	34,6	0,2	34-35	7	0,5
Un Macho de Playa Chuzo, Darlén	35,0	0,0	35	1	0,0

CUADRO No. 12

Lachesis muta: DIMORFISMO SEXUAL EN EL NO. DE ESCAMAS ENTRE LAS SUPRADCULARES

	\bar{X}	E. E.	Rango	N	D. E.
♀					
GAMBOA: COLON	11,0	0,0	11	1	0,0
CAMPAMENTO: BOCAS DEL TORO	11,0	0,0	11	2	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	10,7	0,3	10-11	3	0,6
LIMON (I.C.P.)	10,8	0,1	10-11	7	0,4
♂					
GAMBOA: COLON	10,7	0,2	10-11	4	0,5
CAMPAMENTO: BOCAS DEL TORO	12,0	0,0	12	1	0,0
QUEPOS (I.C.P.)	11,0	0,0	11	1	0,5
LIMON (I.C.P.)	11,3	0,2	11-12	7	
Un Ejemplar Macho de Playa Chuzo, Darién.	12,0	0,0	12	1	0,0

CUADRO No. 13

CARIOTIPO DE Bothrops asper DE PANAMA

Par No.	1	2	3	4	5	6	7	8
HEMBRAS								
Longitud relativa (%) del cromosoma (cm).	51,5	38,0	29,9	18,5	19,6	13,4	14,4	14,4
Relación de los brazos (cm.).	1,1	1,6	1,2	1,2	1,1	1,2	1,3	1,8
Índice centromérico (cm).	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3
MACHOS								
Longitud relativa (%) del cromosoma (cm).	47,7	41,3	23,2	18,1	20,1	18,1	15,5	15,5
Relación de los brazos (cm).	1,2	1,3	1,2	1,3	1,7	1,3	1,4	2,0
Índice centromérico (cm).	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3

CALCULO DE LAS DOSIS LETALES 50% (DL₅₀)

	Dosis (ug). por ratón	Próbito de mortalidad	DL ₅₀ (mg veneno/Kg ratón)*
<u>Bothrops asper</u> (Manaca, Chiriquí)	58	4,16	
	60	5,00	3,6
	63	5,52	(3,4 - 3,7)**
	68	6,28	
<u>Lachesis muta</u> (Campamento, Bocas del Toro).	126	3,72	
	141	4,75	8,6
	158	5,52	(8,0 - 9,9)**
<u>Lachesis muta</u> (Limón, Costa Rica)	126	4,16	
	141	4,75	
	158	5,52	8,7
	178	5,84	(7,7 - 9,6)**
<u>Lachesis muta</u> (Playa Chuzo, Darién)	126	3,72	
	141	4,48	9,0
	158	5,25	(8,4 - 9,4)**

* mg de veneno/Kg ratón de 16-18g de peso

** Límites de Confianza al 95%

CUADRO No.15

CALCULO DEL PODER NEUTRALIZANTE DEL EFECTO LETAL (DE_{50})
 PARA RATON BLANCO POR EL VENENO DE Lachesis muta Y
Bothrops asper DE PANAMA

	Neut*	Vivos	N	%	Próbito	DE_{50}
<u>Bothrops asper</u>	3	4	10	40,0	4,75	3,4
(Manaca, Chiriquí)	4	6	10	60,0	5,25	(3,2 - 3,6)**
	5	8	10	80,0	5,84	
<u>Lachesis muta</u>	2	2	15	13,3	3,88	3,7
(Campamento, Bocas del Toro).	3	5	15	33,3	4,56	(3,6 - 3,8)**
	4	8	15	53,3	5,08	
	5	11	15	73,3	5,62	

*mg de veneno/ml de antiveneno

** Límites de Confianza al 95%

ACTIVIDAD EDEMATIZANTE POR VENENO DE Lachesis muta
Y Bothrops asper DE PANAMA.

	Dosis (μg)	\bar{x} (%)	DME*
<u>Bothrops asper</u>	5	6,1	
(Manaca, Chiriquí)	10	13,2	
	20	21,2	30 μg
	30	29,6	
<u>Lachesis muta</u>	5	21,0	
(Campamento, Bocas del Toro).	10	33,2	
	20	37,2	10 μg
	30	40,3	
<u>Lachesis muta</u>	5	33,2	
(Playa Chuzo, Darién)	10	40,4	
	20	44,4	5 μg
	30	52,2	

*DME= Dosis mínima edematizante en μg .

CUADRO No.17

ACTIVIDAD HEMORRAGICA PARA LOS VENENOS DE Bothrops asper
Y Lachesis muta DE PANAMA.

	Dosis (μ g)	\bar{X} mm	DHM*
<u>Bothrops asper</u>	1,25	1,1	
(Manaca, Chiriquí)	2,50	14,0	
	5,00	18,7	2,50 μ g
	10,00	23,4	
<u>Lachesis muta</u>	1,25	12,5	
(Playa Chuzo,	2,50	16,9	
Darián).	5,00	19,4	1,25 μ g
	10,00	22,9	
<u>Lachesis muta</u>	1,25	10,6	
(Campamento, Bocas	2,50	12,9	
del Toro).	5,00	18,1	1,25 μ g
	10,00	20,4	

*DHM= Dosis hemorrágica mínima, cantidad de veneno que produce un área hemorrágica de 10mm en dos horas.

EFFECTO MIONECROTICO PRODUCIDO POR VENENO DE
Bothrops asper Y DE Lachesis muta DE PANAMA.

	Dosis ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	C F Q \bar{x} (U.S./ml)	C F Q \bar{x} (U.I./l)	D.E.
<u>Bothrops asper</u>	5	146	1216,2	126,3
(Manaca, Chiriquí	10	440	3665,2	424,7
	20	770	6414,1	306,0
	40	1340	11099,7	1623,1
<u>Lachesis muta</u>	10	52	433,2	252,6
(Campamento, Bocas	20	204	1699,3	1168,6
del Toro).	40	360	2998,8	1402,5