



00387
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

Reconocimiento diferencial de los depredadores
y variación del comportamiento defensivo de
Heloderma horridum en una población de
la selva decidua de Jalisco, México

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

CARLOS JESÚS BALDERAS VALDIVIA

DIRECTOR DE TESIS: DR. AURELIO RAMÍREZ BAUTISTA

MÉXICO D. F.

OCTUBRE DE 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 21 de junio del 2004, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de DOCTOR EN CIENCIAS del alumno **Balderas Valdivia Carlos Jesús** con número de cuenta 85086296 y número de expediente 3981071, con la tesis titulada: **"RECONOCIMIENTO DIFERENCIAL DE LOS DEPREDADORES Y VARIACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEFENSIVO DE HELODERMA HORRIDUM EN UNA POBLACIÓN DE LA SELVA DECIDUA DE JALISCO, MÉXICO."**, bajo la dirección del **DR. AURELIO RAMÍREZ BAUTISTA**

Presidente:	Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo
Vocal:	Dra. Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea
Vocal:	Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza
Vocal:	Dr. Víctor Hugo Reynoso Rosales
Secretario:	Dr. Aurelio Ramírez Bautista
Suplente:	Dr. Constantino de Jesús Macías García
Suplente:	Dr. Eduardo Morales Guillaumin

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 6 de septiembre del 2004

Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología así como a la
Dirección General de Estudios de Posgrado- UNAM
por las becas otorgadas

Al comité tutorial:

Dr. Aurelio Ramírez Bautista
Dr. Constantino de Jesús Macías García
Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo

A la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales
por los permisos especiales:
DOO 750.-9225/98, DOO.02.-4347, DOO.02.-6048,
SGPA/DGVS1549 y SGPA/DGVS/03745

A LO MÁS VALIOSO DE MI VIDA

ANDREA JIMENA Y CARLOS JESÚS ALBERTO

AGRADECIMIENTOS

Por su contribución en comentarios y sugerencias que mejoraron notablemente este trabajo a Aurelio Ramírez, Carlos Cordero, Constantino Macías, Eduardo Morales, Irene Goyenechea, Víctor H. Reynoso y Raúl Cueva.

Por el invaluable apoyo con equipo e instalaciones a Julieta Fierro, Julia Tagüeña, Alejandra Alvarado y Concepción Ruiz.

Especialmente a mis padres Leonor Valdivia y Francisco Balderas, a mis hermanas Blanca y Laura por su constante apoyo.

A Ricardo Ayala, Felipe Noguera, Sra. Eva, Sra. Elena, Sr. Vidrios, Sr. Landín, Ignacio Ramírez y demás miembros del personal de la EBCH por hacer más agradable mi estancia en ese extraordinario lugar.

A Daniel Barreto, Alejandro Carvajal, Angel Santibañez, Víctor H. Reynoso y Noe Lozano por facilitarme material y ejemplares de las colecciones que resguardan.

A Enrique Pinzón, Ismael Torres y Víctor M. Salgado por el soporte con material biológico, pero ante todo, por su gran amistad.

Por su colaboración y entusiasmo transmitido a Carlos Madrid, Ana Montiel, Laura Contreras, Isabel Marroquín y Patricia Salas.

RESUMEN

Se desarrollaron tres experimentos que describen la habilidad quimiorreceptiva de *Heloderma horridum* para distinguir a serpientes potencialmente depredadoras. El método consistió en tomar muestras odoríferas de la piel de 15 especies de serpientes para evaluar su efecto en el comportamiento defensivo del lagarto. Nueve serpientes fueron simpátricas con el lagarto y seis fueron alopátricas.

El primer experimento permitió conocer el grado de especificidad de la respuesta aversiva del lagarto hacia cada depredador. Los resultados indicaron que serpientes simpátricas y alopátricas de las familia Boidae y Viperidae provocaron un comportamiento antidepredador intenso. De la familia Colubridae, solamente dos especies simpátricas causaron reacción antidepredadora, las demás especies simpátricas y alopátricas fueron inocuas. Ninguna serpiente simpátrica o alopátrica de la familia Elapidae causó respuesta aversiva.

El segundo experimento describió la variación de los mecanismos antidepredadores y su origen congénito. Los datos obtenidos mostraron que el comportamiento de escape no difiere en lagartos neonatos, subadultos sin experiencia y adultos con experiencia a depredadores. Otras conductas como ondular la cola, resoplar y aplanar el cuerpo mostraron mayores frecuencias en juveniles que en adultos.

El último experimento estableció la correlación entre rasgos de la presa y los depredadores por medio del método comparativo. Los resultados mostraron una correlación del comportamiento de escape del lagarto con los caracteres masa del cuerpo y rapidez de las serpientes. Otras conductas del lagarto fueron inconsistentes. Las respuestas aversivas más intensas y frecuentes de los lagartos fueron causadas por las serpientes que tienen una posición basal en su filogenia.

Se concluye que hay una respuesta adaptada de *H. horridum* a sus depredadores principales, el reconocimiento específico hacia éstos dirige la energía del comportamiento a situaciones reales de peligro. El comportamiento aversivo del lagarto tiene un origen congénito, siendo más vigoroso en etapas primarias del desarrollo, probablemente como una adaptación que compensa la vulnerabilidad en presas aún pequeñas. En los adultos, la reducción de pautas del comportamiento, posiblemente le permitan ahorrar energía para otras necesidades vitales. La variación de un rasgo del comportamiento aversivo puede predecirse por la medida de otro proveniente de los depredadores. La masa del cuerpo y la rapidez de las serpientes son los rasgos que mejor explican el comportamiento de escape del lagarto como una estrategia adaptativa. Los experimentos sugieren que el comportamiento defensivo de los lagartos se correlaciona con el cambio evolutivo de sus principales depredadores, las serpientes.

ABSTRACT

Were developed three experiments to describe the chemorreceptive ability of *Heloderma horridum* to distinguish potential predator snakes. The method consisted on obtaining odoriferous samples from the skin of 15 species of snakes to evaluate the effect in the defensive behavior of the lizard. Nine snakes were sympatric and six were allopatrics with the lizard.

The first experiment allowed to know the grade of specificity of the aversive response of the lizard toward each predator. The results indicated that sympatric and allopatric snakes of the family Boidae and Viperidae caused an intense predatory behavior. Of the family Colubridae, only two sympatric species caused predatory reaction, the other sympatric and allopatric species were innocuous. No sympatric or allopatric snake of the family Elapidae elicited aversive response.

The second experiment described the variation of the antipredatory mechanisms and its congenital origin. The obtained data showed that the escape behavior doesn't differ in neonate lizards, adults without experience, and adults with experience to predators. The behaviors wave the tail, strong blowhole, and flat the body showed bigger frequencies in juvenile than in adults.

The last experiment established the correlation between features of the prey and the predators with the comparative method. The results showed a correlation of the behavior of escape of the lizard with the characters mass and movement speed of the snakes. Other behaviors of the lizard were not consistent. The most intense and frequent aversive responses in the lizards were caused by snakes that have a basal position in the phylogeny.

The conclusion consists in that there is an adapted behavior of *H. horridum* to their main predators, the specific recognition toward these directs the energy of the behavior to real situations of danger. The aversive behavior of the lizard has a congenital origin, this is more vigorous in primary stages of the development, it is probably an adaptation that compensates the vulnerability in even small preys. In the adults, the reduction of behaviors, possibly allow them to save energy for other vital necessities. The variation of a feature of the aversive behavior can be predicted by the measure of another that comes from the predators. The body mass and the movement speed of the snakes are the features that better they explain the behavior of escape of the lizard like an adaptive strategy. The experiments suggest that the defensive behavior of the lizards is correlated with the evolutionary change of their main depredadores, the snakes.

CONTENIDO

CAPÍTULO 1	La quimiosensibilidad en los Squamata	1
	Las señales químicas y el sistema vomeronasal	2
	Evolución de la quimiorrecepción: forrajeo y antidepredación	9
	<i>Heloderma horridum</i> como objeto de estudio	14
CAPÍTULO 2	Evidencia del comportamiento defensivo de <i>Heloderma horridum</i> contra los depredadores	20
	Relaciones ecológicas: presa vs. depredadores	21
	Efecto de los depredadores potenciales en <i>Heloderma horridum</i> (Experimento I)	24
	Métodos	24
	Resultados	28
	Discusión y conclusión	37
CAPÍTULO 3	Variación del comportamiento defensivo en <i>Heloderma horridum</i>	41
	Origen y variación en el comportamiento antidepredador de los Squamata	42
	Comportamiento aversivo de <i>Heloderma horridum</i> en el desarrollo (Experimento II)	45
	Métodos	45
	Resultados	47
	Discusión y conclusión	50
CAPÍTULO 4	Respuesta adaptativa de <i>Heloderma horridum</i> a la depredación: su correlación con la filogenia de las serpientes potencialmente depredadoras	53
	Origen, evolución y diversidad de serpientes y helodermátidos	54
	Estimación de ajustes adaptativos por el método comparativo (Experimento III)	61
	Métodos	61
	Resultados	65
	Discusión y conclusión	73
	Conclusión general	76
	Literatura citada	77

CAPÍTULO 1

La quimiosensibilidad en los Squamata

La señales químicas y el sistema vomeronasal

La depredación es una fuerza contra la vida que la naturaleza tuvo que balancear desde que aparecieron los primeros seres vivos, y la irritabilidad o excitación celular en los organismos por las sustancias del medio se constituyó como un mecanismo para recibir información química adversa del ambiente. Este tipo de señalización se ha diversificado especialmente en los animales, quienes muestran una vasta diversidad de mecanismos en la comunicación química y quienes lograron adaptar estos cuando pasaron a poblar la tierra (Lowenstein, 1980; Agosta, 1992).

En el curso de la evolución los reptiles fueron los primeros vertebrados que pudieron vivir completamente en la tierra, lo cual ocasionó grandes cambios anatómicos, fisiológicos y modificaciones en los mecanismos de comunicación intra e interespecíficos (Agosta, 1992; Pough *et al.*, 2001; Zug *et al.*, 2001). La señalización química ha sido uno de estos aspectos que tuvo que evolucionar, no sólo para hacer más eficientes los eventos cruciales como la reproducción o la localización de presas, sino también, para otros aspectos del comportamiento de los que poco se sabe, como la detección de depredadores, la migración o el gregarismo, entre otros (Greene *et al.*, 2001).

El mecanismo que opera la habilidad de reconocer o diferenciar depredadores vía química en los reptiles Squamata ha recibido poca atención (Pough *et al.*, 2001). Por el contrario, mecanismos como la señalización química sexual en serpientes es de los más estudiados, siendo además un ejemplo que ilustra la operatividad de otros casos de discriminación química. El ejemplo de la comunicación sexual entre individuos refiere que hay sustancias químicas del cuerpo que se depositan en la endodermis de los animales tipificando a una especie, así como a los miembros de la misma. Sin embargo, en determinadas situaciones, la señalización química sexual puede tener un efecto secundario, ya sea porque hay un reconocimiento por parte de una presa que le permite discriminar las diferencias tegumentarias de sus enemigos con respecto a sus congéneres, o bien porque los depredadores interceptan las señales químicas que sus presas emiten.

En el mecanismo de la comunicación química sexual, la evolución favoreció el desarrollo de tres elementos esenciales. Uno de ellos es el mensajero químico especializado o feromona; el segundo elemento es la estructura anatómica especializada conocida como

órgano vomeronasal o de Jacobson, que en los reptiles ha tenido un desarrollo prominente; y finalmente la lengua, órgano además, con capacidad gustativa que captura y acarrea las moléculas portadoras de algún mensaje del medio exterior hacia el sistema vomeronasal (Halpern, 1987, 1992; Young, 1997).

Feromonas— La comunicación sexual química de algunas serpientes puede considerarse como un precedente a otras formas de la comunicación entre individuos, no sólo de una misma especie, sino entre especies distintas. Este fenómeno ha sido estudiado en *Thamnophis sirtalis*, serpiente que desarrolla una feromona que permite el reconocimiento de la hembra por parte de los machos de manera discriminatoria (Crews & Garstka, 1982; Crews *et al.*, 1984). La feromona, que forma parte de la porción lipídica de la vitelogenina (Mason *et al.*, 1990) es un compuesto no volátil que se deposita en la piel, desde donde es detectada por la acción extrusiva de la lengua y el órgano vomeronasal de los machos, quienes una vez excitados, inician un cortejo multitudinario para competir por pocas hembras (Crews *et al.*, 1984).

Para cuando una serpiente hembra sale de su refugio al final del invierno, una multitud de machos ya la están esperando para seguirla y cortejarla, generándose así un proceso de selección sexual (Crews *et al.*, 1984; Mason *et al.*, 1989). El proceso es desencadenado por una regulación hormonal, en el que el hipotálamo recibe el estímulo del aumento de la temperatura ambiental, lo que inicia consecuentemente la liberación de factores neuroendócrinos que elevan los niveles de la feromona en el cuerpo (Smith & Mason, 1997).

En otras especies de serpientes como la culebra arborícola *Boiga irregularis* (Greene *et al.*, 2001) y cascabel *Crotalus horridus* (Brown & McLean, 1983) también se ha visto que la feromona no solamente funciona a nivel del cuerpo, sino que además, es depositada en el sustrato por donde se desplazan (suelo, rocas, ramas de árboles, arbustos). De esta forma, sus respectivos conespecíficos pueden encontrar y seguir los rastros odoríferos hasta localizar a la hembra de su especie. Lo importante de este aspecto es que el rastro no solamente queda a disposición quimiorreceptiva de los conespecíficos, pues también es un medio de comunicación interespecífico. Otras especies, como las presas de las serpientes, pueden advertir la presencia de peligro, estableciéndose adaptaciones importantes contra los enemigos naturales, quienes generan una de las más fuertes

presiones de selección que hay en la naturaleza, la depredación (Gilbert, *et al.*, 1981; Abrams, 2000).

La feromona tiene una función específica, se ha demostrado que la vitelogenina de otras especies como lagartijas, gallinas y otras serpientes no tienen efecto en el comportamiento de cortejo de *Thamnophis sirtalis* (Crews & Garstka, 1982; Crews *et al.*, 1984; Agosta 1992). Otras serpientes han permitido confirmar que ocurre el mismo efecto de la especificidad hormonal, cada especie se reconoce entre sí a pesar de que existan condiciones de simpatria con otras serpientes (Ford, 1982).

Durante la evolución, los efectos de la señalización química sexual no sólo han servido para la comunicación intraespecífica, otras especies pudieron sacar ventaja de estas habilidades para fines adaptativos diversos como la depredación o la antidepredación. Esto se basa en el principio de que cada especie adquiere atributos propios en su composición química tegumentaria que las marcan permanente e independientemente de sus ciclos biológicos, y en que otras especies también son capaces de detectar o discriminar estas cualidades para su beneficio y sobrevivencia (Agosta, 1992; Schwenk, 1995; Young, 1997).

Varios trabajos que utilizan modelos reptilianos han demostrado las habilidades vomeronasales para distinguir depredadores potenciales o presas específicas (ver Burghardt, 1967; Cooper, 1995; Van Damme *et al.*, 1995). Un ejemplo es el lagarto enchaquirado o escorpión *Heloderma horridum*, el cual tiene la habilidad de discriminar de entre varias especies de serpientes a aquellas que constituyen sus depredadores potenciales, siendo notable el papel que juega el órgano vomeronasal y el comportamiento aversivo como estrategia antidepredadora (Balderas-Valdivia, 2002).

Sistema vomeronasal— El órgano vomeronasal o de órgano de Jacobson es una estructura quimiosensible que se ha desarrollado en muchos vertebrados terrestres, desde los anfibios hasta los mamíferos, mostrando una variación en el grado de elaboración según la naturaleza ecológica y conductual de las especies (Parsons, 1970; Cooper, 1995; Brennan, 2001). En las etapas adultas, el órgano vomeronasal está presente en muchos anfibios y reptiles, pero está ausente o es rudimentario en peces, cocodrilos, tortugas marinas y exclusivamente en mamíferos marinos. También es poco frecuente en vertebrados aéreos como las aves y algunos murciélagos. En humanos su aparición es sólo durante el desarrollo fetal (Brennan, 2001).

Con base en el desarrollo embrionario, se reconoce que el órgano vomeronasal es una homología entre los Amphibia, Chelonia, Rhynchocephalia, Squamata, Aves y Mammalia (Parsons, 1970; Halpern, 1987; Schwenk, 1995; Young, 1997). En estos grupos (excepto Amphibia y Chelonia), el órgano de Jacobson aparece como una pequeña abertura bilateral en la foseta nasal en la parte media-anterior de la coana. En el caso de Amphibia y Chelonia sólo se desarrollan pequeñas porciones del epitelio en el techo de la cavidad nasal asociadas con las glándulas de Bowman (con función humectante) que hay en todos los tetrápodos. Luego, en el desarrollo tardío del embrión desaparecen o en algunos casos se mantienen rudimentarias (Parsons, 1970).

En los Squamata, el aparato vomeronasal está separado de la cavidad nasal por la extensión del paladar primario y es el resultado de la retención de una porción anterior de la coana que no se fusiona. La primer región de la coana conecta al órgano de Jacobson con la cavidad oral. La estructura vomeronasal es de forma semiesférica con una invaginación ventral que forma una cámara que sirve de receptáculo para la punta de la lengua (Fig. 1-1; Parsons, 1970; Ernst & Zug, 1996; Young, 1997).

Haciendo una comparación del aparato vomeronasal en la evolución de los reptiles podemos observar que los lagartos escleroglosos como *Varanus*, así como todas las serpientes, tienen un amplio desarrollo; mientras que todos los iguaninos muestran una razonable disminución en la estructura (Pough *et al.*, 2001; Fig. 1-2). Sin embargo, en todos los casos podemos reconocer que el epitelio sensitivo forma la cavidad de la estructura, el cual está constituido por tres tipos de células que suelen tener un arreglo columnar y que sirven para la captura de moléculas, la humectación y la neurotransmisión hipotalámica (Halpern & Kubie, 1984; Halpern, 1992).

Se sabe también que la disposición estructural del órgano de Jacobson en *Varanus* desde el desarrollo embrionario hasta la madurez no es muy diferente a otros géneros como *Lacerta* y Serpentes (Parsons, 1970), aspecto que suele diferir en el caso de las tortugas y cocodrilos a nivel de complejidad y posición, más no en el origen celular (Brennan, 2001).

El órgano de Jacobson se ha especializado en detectar compuestos moleculares de alto peso, que son transportados hacia la cámara vomeronasal dentro de la boca por medio de la lengua. El mecanismo actúa para obtener señales a corta distancia como depredadores, alimento, compañeros sexuales y congéneres, entre otros (Halpern, 1992; Zug *et al.*, 2001).

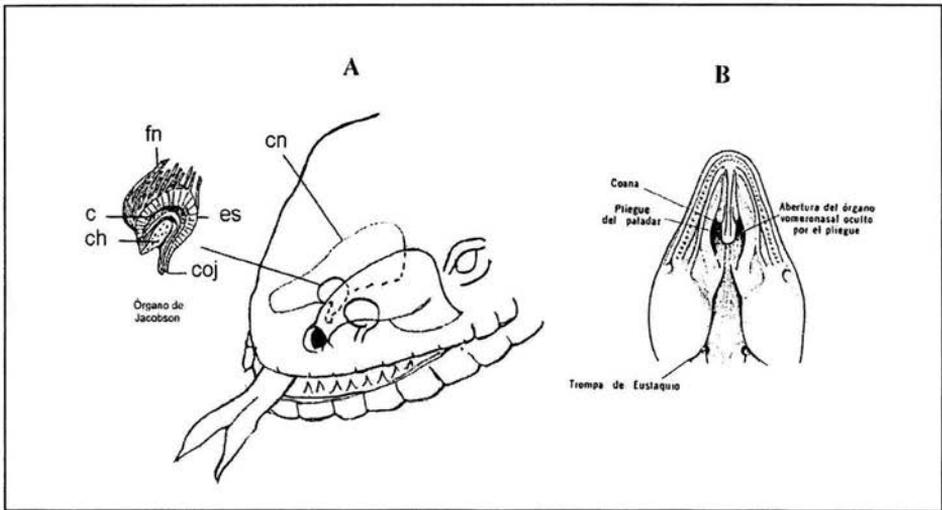


Fig. 1-1. Ubicación del órgano de Jacobson en el conducto nasal (cn) de helodermátidos (A) e iguaninos (B) que muestra su estructura principal: epitelio sensitivo (es), cámara (c), cuerpo del hongo (ch), conducto del órgano de Jacobson (coj) y fibras nerviosas (fn). Adaptaciones realizadas a partir de Parsons (1970), Romer & Parsons (1984) y Zug *et al* (2001).

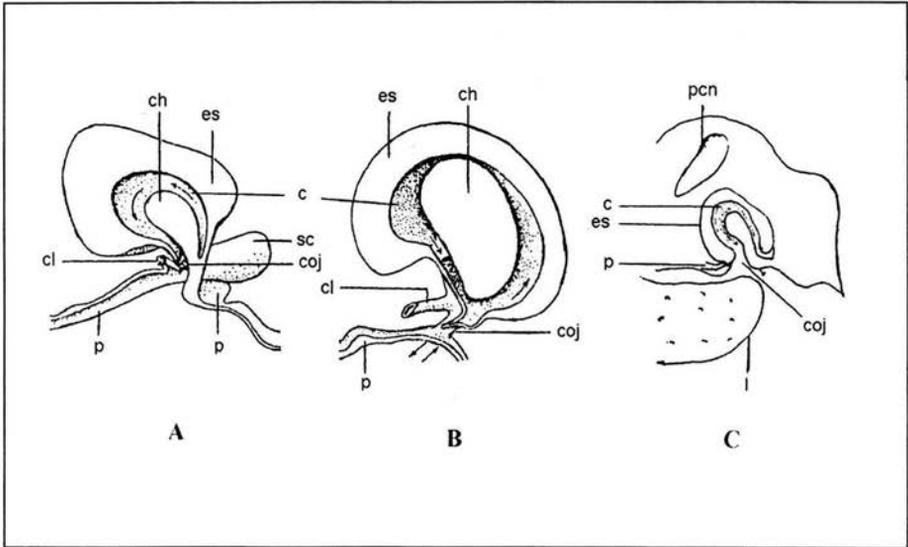


Fig. 1-2. Comparación estructural del órgano de Jacobson en Boidae (A), *Varanus bengalensis* (B) e *Iguana iguana* (C) que muestra la homología de sus componentes: epitelio sensitivo (es), cámara (c), cuerpo del hongo (ch), conducto del órgano de Jacobson (coj), conducto lagrimal (cl), surco coanal (sc), paladar primario (p), proceso de la cavidad nasal (pcn) y lengua (l). Tomado de Parsons (1970), Ernst & Zug (1996).

Seis hipótesis se han planteado para entender el mecanismo de traslado de partículas quimiorreceptivas al epitelio sensorial del órgano de Jacobson de acuerdo a Halpern & Kubie (1980), Young (1993) y Schwenk (1995): difusión, acción del capilar, corrientes ciliares, corrientes pinocíticas, inserción directa de la lengua y succión. Las dos primeras hipótesis son improbables, debido a que el alto peso molecular de las partículas que ingresan no difunden con la velocidad requerida para causar una respuesta hipotalámica inmediata, mientras que las corrientes ciliares y pinocíticas sólo juegan un papel secundario cuando la velocidad de traslado molecular no requiere rapidez, por ejemplo, durante la selección de alimento o de pareja en que exista en abundancia. De las dos hipótesis restantes, la inserción directa de la lengua sólo es funcional hasta el vestíbulo del conducto del órgano de Jacobson; la inserción de la lengua hasta la cámara no ocurre debido a una mayor dimensión de ésta. La hipótesis de la succión de partículas en los fluidos de secreción podría ser la principal forma en que actúan con más eficiencia la comunicación del medio químico externo. El mecanismo de traslado del estímulo involucra la generación de succión dentro del lumen del órgano de Jacobson, así como de su conducto. Se propone que esta succión es producida por la sutil presión de la lengua sobre el órgano vomeronasal, por ejemplo, en lenguas robustas y/o por los procesos linguales anteriores de las lenguas bifurcadas.

La importancia de la lengua en el mecanismo quimiorreceptivo de los reptiles forma parte de todo el complejo, debido a que es el primer mediador de la comunicación química que involucra el sistema vomeronasal (Schwenk, 1995; Zug *et al.*, 2001). La lengua, además de tener funciones de degustación (otra forma de quimiorrecepción) y colecta del alimento, sirve para la obtención de la información química del ambiente, que puede encontrarse en forma volatilizada en el aire, o bien, en la superficie de los elementos de alrededor (Schwenk, 1995).

Existe una gran variación en la forma de las lenguas reptilianas, pero en general, las más robustas tienen fusionados sus dos lóbulos y son accionadas principalmente por fuertes músculos; son típicas en reptiles con forrajeo de tipo emboscador y en herbívoros como Iguanidae además de Gekkonidae. En otros casos como en Chamaleonidae, existen adaptaciones excepcionales, donde se desarrollan glándulas adhesivas en la punta de la lengua y una protusión que puede igualar la longitud corporal, lo que ha permitido

optimizar las estrategias de emboscar a las presas sin alterar con grandes cambios la función gustativa (Huey *et al.*, 1983, Pough *et al.*, 2001).

Las lenguas de menor diámetro tienen por lo general divididos sus lóbulos en la punta y son movidas por fibras musculares finas y por la presión hidrostática sanguínea. Los forrajeros de tipo activos o buscadores como Helodermatidae, Varanidae y Serpentes presentan esta disposición y en ellos se observa la mayor adaptación lingual, permitiendo adherir a su superficie información química por medio de oscilaciones constantes que no se observan en otros vertebrados (Schwenk, 1995; Young, 1997).

El comportamiento oscilatorio de la lengua en los reptiles ha recibido frecuente atención en los estudios del comportamiento quimiorreceptor (por ejemplo, Burghardt, 1967; Chiszar & Radcliffe, 1976; Chiszar *et al.*, 1980 Cooper *et al.*, 1998), porque es a través de la observación de ésta y de las respuestas del comportamiento como se infiere la diversidad de adaptaciones al ambiente.

Evolución de la quimiorrección: forrajeo y antidepredación

La adaptación de un organismo a su ambiente es uno de los temas dominantes de los estudios evolutivos, siendo la quimiosensibilidad reptiliana una característica biológica tratada bajo el mismo contexto. La adaptación posee tres componentes: el origen, la diversidad y el mantenimiento de los caracteres (Brooks & McLennan, 1991). Los estudios se concentran en el primero de ellos, desarrollándose filogenias para comparar hipótesis adaptacionistas con relación a la diversificación y el mantenimiento de los diversos caracteres que confieren la existencia de una especie (Wanntorp, 1983; Carpenter, 1989; Baum & Larson, 1991; Andersen, 1995).

Los caracteres adaptativos son aquellos que poseen una utilidad actual, dando alguna ventaja para la sobrevivencia y que han sido generados histórica y principalmente por la selección natural para dicho uso (Gould & Vrba, 1982), concepto que corresponde ampliamente con la capacidad quimiosensible reptiliana (Schwenk, 1993; Cooper, 1995). Baum & Larson (1991) describen un protocolo que consta de tres pasos para reconocer adaptaciones: primero, identificar los linajes donde la transformación del carácter es evidente; segundo, representar la capacidad funcional sobre la hipótesis filogenética para

determinar la secuencia de transformación; tercero, determinar el cambio ambiental que habría alterado el régimen selectivo experimental por los taxones.

El objetivo es identificar la ocurrencia de los cambios en el régimen selectivo, el sitio en que éste cambió en la filogenia y si concuerda con la transformación del carácter y su función; así, esto permite distinguir entre tres posibles situaciones: una, si el carácter morfológico y su función aparecen simultáneamente, se puede definir como adaptación; dos, si el carácter morfológico aparece primero y su nueva función se desarrolla posteriormente, se puede definir como exaptación; tres, si la función aparece antes y el carácter morfológico asociado con ella después, la aparición de este último sería irrelevante para la explicación de la función.

Estudios en ecología permiten establecer el posible origen de los cambios y los posibles factores que influyeron en la transformación o aparición de caracteres, por otro lado permiten conocer los factores impulsores de la diversificación, si ésta diversidad es la única que ha sido favorecida o si hay otros grupos biológicos que también hayan sido sensibles a ese impulso como es el caso de las respuestas adaptativas recíprocas o coevolutivas (Brooks & McLennan, 1991).

El ajuste funcional que se estableció con la aparición de los órganos quimiorreceptores en las formas reptilianas modernas y el encuentro con su ambiente como el caso de las señales químicas, es un hecho indudable del que se han ocupado varios estudios. La observación de la historia evolutiva reptiliana muestra una vasta radiación de grupos y especies, muchos de ellos ya extintos y otros en menor número que aún sobreviven. De estos últimos, los Chelonia, Crocodylomorpha y Rhynchocephalia son los más antiguos, seguidos por los Squamata que están formados por los Iguania, Scleroglossa y los modernos Serpentes (Gauthier, *et al.*, 1988; Gauthier, 1994; Pough *et al.*, 2001; Zug *et al.*, 2001), mostrándose en ellos que la evolución quimiorreceptora está concatenada con la reptiliana, en un sentido en que la función ha surgido de lo generalista a lo especializado y multifuncional.

Quimiorrecepción y forrajeo— En los reptiles, el diseño más elaborado del órgano de Jacobson lo presentan las serpientes y luego los saurios escleroglossos (Parsons, 1970; Schwenk, 1995, Zug *et al.*, 2001). Su anatomía y ubicación física adquieren una variación causada por la forma de la cara, aspecto que ha trascendido hasta los amniotas más

recientes (Parsons, 1970; Brennan, 2001). Más aún, los métodos cladísticos han ayudado a establecer que los cambios obedecen a las necesidades adaptativas que han tenido los reptiles para poblar los diferentes ambientes, observándose una relación histórica sobre la discriminación de estímulos quimiosensibles de presas que tiende a la diversificación (Schwenk, 1988; Schwenk, 1993; Cooper, 1995).

Cooper (1995) verificó esta hipótesis con cerca de 20 grupos de Squamata, reconstruyendo los estados de carácter ancestrales para conocer la influencia de factores filogenéticos y ecológicos en la radicación reptiliana. Los resultados precisan que los reptiles forrajeros activos usan primariamente el sentido quimiorreceptivo para detectar su alimento en relación con los forrajeros con estrategias de emboscada, también se muestra que el comportamiento oscilatorio de la lengua y la conducta quimiorreceptora presentan una relación directa con la macroevolución de los esquamata (Fig. 1-3). Entre otros aspectos, la diversificación quimiorreceptiva en los escamados muestra que hay mayores ventajas cuando éstos buscan a sus presas y se anticipan a otras señales químicas (por ejemplo depredadores), que cuando esperan a que los factores aleatorios permitan la provisión de alimento y seguridad de los individuos. Se puede apreciar que los taxa de aparición temprana, usan más extensamente otros sentidos como la visión, mientras que los taxa de aparición reciente han extendido el uso combinado de la lengua como colector y degustador del entorno químico y el epitelio vomeronasal como el medio olfativo.

Durante la evolución de los Squamata, la dominancia del órgano vomeronasal, indica la presencia de un ancestro común, de hecho caracteres como el comportamiento oscilatorio de la lengua, cuerpo del hongo y conexión directa con la cavidad oral son sinapomorfías de los escamados (Schwenk, 1995). El análisis del desarrollo embrionario ayuda a corroborar las afirmaciones sobre el origen estos caracteres. En cladística, por ejemplo, se establece un criterio ontogenético para conocer los estados de carácter. Este criterio supone que el estado plesiomorfo de un carácter puede aparecer en las etapas más tempranas del desarrollo ontogenético de los organismos estudiados, mientras que el estado apomórfico lo hace en etapas más avanzadas (Nelson & Platnick, 1981). Con esta visión se establece que el aparato vomeronasal procede de un ancestro común mostrando una importancia adaptativa a un nivel macroevolutivo (Parsons, 1970; Cooper, 1995; Schwenk, 1995; Young, 1997).

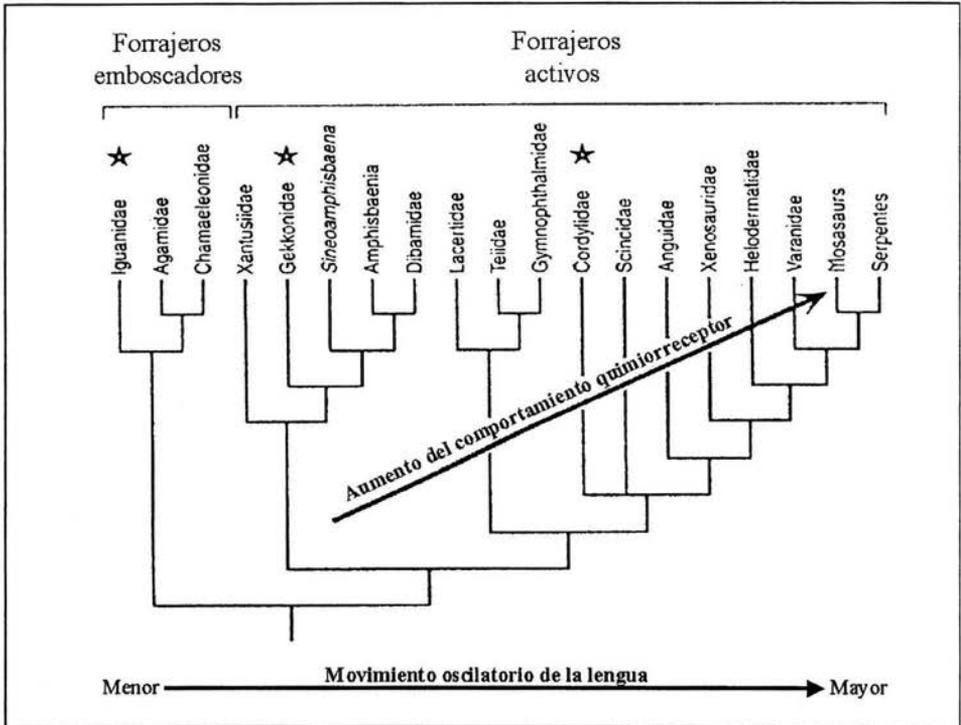


Fig. 1-3. Relación histórica del comportamiento quimiorreceptor de los Squamata en función de sus estrategias forrajeras: emboscada y activos. Las marcas indican posibles reversiones o excepciones no discutidas. Adaptado de Cooper (1995).

La filogenia de los reptiles modernos muestra que los grupos basales como los Iguania (*Chamaleo*, *Anolis*, *Sceloporus*) mantienen un comportamiento alimentario basado preponderantemente en el acecho de las presas y minoritariamente en la persecución de las mismas (Cooper & Habegger 2000; Cooper *et al.*, 2001). Lo anterior se refleja en un desarrollo y función menos elaborados del sistema vomeronasal. Familias con posición filogenética intermedia como eublefáridos y gecónidos muestran una adaptación intermedia, en la que se van alternando la emboscada y el forrajeo activo (Cooper & Habegger, 2000), mientras que su anatomía quimiorreceptora es más elaborada (Parsons, 1970). En las formas terminales (*Anguimorpha*, *Scincomorpha*) es donde el comportamiento forrajero se especializa como una táctica activa en la que es empleada la forma anatómica más elaborada del aparato quimiorreceptor (Parsons, 1970; Cooper, 1995) destacando una amplia variedad de capacidades receptoras de su medio.

Quimiorrecepción y antidepredación— Los reptiles detectan infinidad de estímulos dentro de su entorno ecológico como depredadores, presas, congéneres y otros, por medio de los sentidos del olfato, gusto, visión, termorrecepción, oído y mecanorreceptores esencialmente (Young, 1997), los cuales tienen una relevancia variada en su función (Cock Buning, 1983). El uso de uno u otro sentido depende de los hábitos de los organismos, reflejando adaptaciones a factores ecológicos y relaciones ancestrales con otros grupos (Schwenk, 1988; Pough *et al.*, 2001).

En reptiles forrajeros activos con hábitos diurno-crepusculares o nocturnos, la quimiosensibilidad tiene frecuentemente una importancia primaria (Grace, 1997; Young, 1997), siendo un medio para detectar estímulos específicos y permitiendo un ahorro de energía al evitar falsos ataques a objetos desconocidos (Nicoletto, 1985; Cooper, 1992; Cooper, 1995) o evitando encuentros con posibles depredadores.

La actividad quimiorreceptiva puede verse a través del comportamiento oscilatorio de la lengua, aspecto que ha sido utilizado para medir cambios por efecto de estímulos químicos, visuales y térmicos principalmente (Burghardt, 1967; Chiszar & Radcliffe, 1976; Chiszar *et al.*, 1980; Cooper *et al.*, 1998). Por ejemplo, cambios importantes de la tasa de extrusión de la lengua en un tiempo dado, permiten predecir otras pautas del comportamiento que están asociadas para resolver situaciones de depredación, alimentación, reproducción y estructura social, entre otros. Sin embargo, no todos estos

aspectos han recibido la misma atención, pues los estudios se han enfocado más en el comportamiento alimentario y escasamente en aspectos sobre las habilidades del sistema vomeronasal para detectar enemigos potenciales y las respuestas adaptativas antidepredadoras a éstos.

Los estudios demuestran que componentes químicos de la piel de algunas serpientes elevan la tasa de extrusión de la lengua de las lagartijas depredadas, causando respuestas antidepredadoras como escape inmediato, hiperactividad y posturas de miedo (Van Dame *et al.*, 1995). En algunas especies de las familias Colubridae (Weldon, 1982) y Crotalidae (Chiszar *et al.*, 1978; Burger, 1990) hay una habilidad para discriminar entre serpientes ofidiófagas de no ofidiófagas con el órgano vomeronasal. Otra manera de determinar el grado de la respuesta aversiva es midiendo la latencia de respuesta, que es el tiempo que transcurre en presentarse algún tipo de comportamiento después de recibir un estímulo. La latencia de escape (ESC) a un factor de riesgo es un estimador adaptativo del comportamiento aversivo utilizado en varios experimentos (Cooper, 1989a; Cooper & Alberts, 1990).

En lagartos helodermátidos y varánidos se ha señalado que el sentido vomeronasal es importante al evitar búsquedas innecesarias de recursos vitales (Cooper, 1989b), pero también en los helodermátidos se ha visto que la habilidad discriminativa de estímulos químicos les permite reconocer a sus depredadores más comunes, las serpientes (Balderas-Valdivia, 2002). Sin embargo, se sabe poco sobre los factores que influyen en el reconocimiento específico de los tipos de depredadores, sobre el desarrollo del comportamiento aversivo, sobre qué aspectos se relacionan con la variación del comportamiento defensivo y cómo los mecanismos adaptativos antidepredadores se correlacionan con el ambiente, entre otros.

***Heloderma horridum* como objeto de estudio**

El lagarto enchaquirado o escorpión *Heloderma horridum* es una especie de tamaño grande cuando es adulto, con una longitud hocico-cloaca (LHC) de 378 a 405 mm, mientras que los neonatos tienen tallas aproximadas de 115 a 127 mm. La longitud total del cuerpo alcanza en promedio 700 mm, pero pueden llegar a medir 1000 mm (Smith & Taylor, 1966;

Campbell & Lamar, 1989; Ramírez-Bautista, 1994). La cabeza es de forma triangular, posee garras largas y fuertes para excavar y trepar, la cola es robusta y relativamente prensil (Ramírez-Bautista, 1994). El cuerpo se cubre por escamas no imbricadas; en el dorso son redondeadas y convexas semejantes a cuentas de chaquira o gránulos, mientras que en el vientre son planas y rectangulares formando varias filas. Bajo las escamas dorsales de la cabeza, cuerpo, patas, cola y la región precloacal se forman procesos osteodérmicos distribuidos homogéneamente (Campbell & Lamar, 1989), esto da dureza y rigidez como protección contra sus depredadores y el entorno.

La coloración dérmica del lagarto es críptica, con un patrón reticulado de colores claros y oscuros que lo confunden con la de hojarasca, arena y rocas del suelo. Existen cambios ontogenéticos en la coloración de su cuerpo, observándose que los organismos juveniles muestran tonalidades amarillas más brillantes principalmente en su primer año de vida (Álvarez del Toro, 1982; Campbell & Lamar, 1989). Mientras los lagartos alcanzan su estado adulto, se van reduciendo algunas áreas de colores claros a oscuras. Se sabe que los adultos alcanzan esta etapa aproximadamente a los tres o cuatro años de edad, que es cuando presentan por primera vez actividad reproductiva y que coincide con los cambios de coloración permanentes (Álvarez del Toro, 1982; Applegate, 1991).

Los helodermátidos son los únicos saurios venenosos en el mundo. En cada lado del maxilar tienen una glándula lobulada productora de neurotoxinas y un sistema de conductos que vierten su contenido en la base de los dientes. Los dientes tienen un par de canales para escurrir la toxina por capilaridad hacia la víctima mientras se muerde con fuerza y tenacidad (Álvarez del Toro, 1982; Beck & Lowe, 1991).

En *Heloderma horridum*, la dosis letal 50 (DL₅₀) de su toxina es de 2 mg/kg para ratones de laboratorio y es más potente que la de otros reptiles (Alagón *et al.*, 1982). El lagarto proporciona cerca de 0.5 ml de veneno, conteniendo más o menos 40 mg que pueden matar cientos de ratones de 20 gr en menos de 20 h. Los síntomas de intoxicación son excitabilidad, convulsiones y espasmos neuromusculares, hemorragia ocular y gastrointestinal, disnéa, edema y fallas respiratorias, hipotensión arterial y vómito; es rara la necrosis tisular en las víctimas (Alagón *et al.*, 1982; Streiffer, 1986). A pesar de estas cualidades, su veneno no lo exime del peligro con sus depredadores naturales, de hecho el

lagarto enfrenta a serpientes, aves de presa y varios mamíferos carnívoros con los que cohabita (Ramírez-Bautista & Beck, 1996).

El lagarto enchaquirado ocurre en las selvas deciduas del oeste de México hasta Guatemala (Bogert & Martín del Campo, 1956; Álvarez del Toro, 1982; Campbell & Lamar, 1989), pero a pesar de su amplia distribución, hay indicios de que sus poblaciones naturales han sido afectadas principalmente por la alteración de los ecosistemas, por lo que las leyes de protección al ambiente la consideran como una especie amenazada (NOM-ECOL-059/2001). La experiencia en el campo durante este trabajo, ha permitido confirmar que *Heloderma horridum* es uno de los reptiles menos conspicuos de la selva decidua. Algunos factores que influyen en lo anterior, son que es poco abundante en relación a otras especies (García & Ceballos, 1994; Ramírez-Bautista, 1994), a que su actividad es corta y bimodal durante el día (Ramírez-Bautista, 1994; Beck & Lowe, 1991), a que su actividad no es diaria y es estacional (primavera-verano) durante el año (Beck & Lowe, 1991), a que se reproduce cada año con una nidada poco numerosa (Curtis, 1948; Bogert & Martín del Campo, 1956; Álvarez del Toro, 1982) y a que el período de incubación es muy largo (hasta un año) y sin cuidados parentales (Ramírez-Bautista, 1994).

Desde que nace, *H. horridum* es un forrajero activo que recorre áreas al descubierto, explora huecos y trepa árboles para encontrar refugio y alimento (Beck, 1990; Beck *et al.*, 1995), condiciones que favorecen encuentros con sus enemigos naturales. Otro aspecto, es que vive en ambientes estacionales donde transcurren épocas hostiles prolongadas durante el año, períodos en los que disminuye su actividad (Beck, 1990; Beck & Lowe, 1991; Beck & Ramírez-Bautista, 1991; Ramírez-Bautista & Beck, 1996). Lo anterior ocasiona una reducción de reservas energéticas en su cuerpo, hasta que el hambre, una vez mejoradas las condiciones ambientales, motiva a los animales a buscar alimento, y por lo tanto a exponerse por más tiempo a sus depredadores.

Los depredadores más comunes de *H. horridum* son las serpientes (Ramírez-Bautista & Beck, 1996). Por ejemplo, en la región de Chamela, Jalisco, cohabita con una comunidad de 33 a 34 especies de serpientes repartidas en seis familias terrestres (García & Ceballos, 1994; Ramírez-Bautista, 1994). Esta variedad de serpientes ocupan casi todos los hábitats (terrestres, arborícolas, semiacuáticos, rocosos, vegetación cerrada y abierta) de la zona.

Heloderma horridum, no es un corredor hábil, por lo que tiene mecanismos defensivos como sus hábitos discretos, aspecto críptico y un aparato venenoso para enfrentar a los depredadores (Bogert & Martín del Campo, 1956; Beck *et al.*, 1995). No obstante, todo indica que estas estrategias son exiguas, por lo que sus habilidades vomeronasales y el comportamiento aversivo parecen constituir una adaptación más para evitar a sus depredadores.

La respuesta aversiva de *H. horridum* se conforma por diferentes pautas del comportamiento, expresiones fenotípicas que son compartidas con otros reptiles, por ejemplo, ondular la cola, producir sonidos (resoplar), patear, aplanar el cuerpo, extruir con rapidez la lengua y correr, entre otras (Thoen *et al.*, 1990; Van Damme *et al.*, 1995; Van Damme & Quick, 2001; Head *et al.*, 2002). Como tales, estos caracteres debieron generarse históricamente por la selección natural porque poseen una utilidad para la sobrevivencia (ver Gould & Vrba, 1982). Cuando el lagarto reconoce el mensaje químico de alguna serpiente potencialmente depredadora, pueden distinguirse los siguientes comportamientos aversivos (Cuadro 1-1): escapar, que puede manifestarse con caminar hacia atrás o dar la vuelta en forma "U"; disuadir, que consiste en dos conductas, aplanar el cuerpo dorsoventralmente o resoplar (empujar el aire de los pulmones produciendo un fuerte sonido de siseo); atacar, que implica el contacto directo con la fuente de peligro para intoxicar; distraer, que emplea el movimiento ondulante de la cola, implicando la posibilidad de daño del apéndice por el enemigo con el beneficio de poder contraatacar.

Se sabe poco sobre el comportamiento antidepredador de *H. horridum*, pero recientemente se han hecho tres observaciones que pueden explicar algunas relaciones ecológicas del lagarto enchaquirado con sus depredadores: 1) *H. horridum* tiene una respuesta aversiva hacia algunas especies de serpientes depredadoras (los estímulos son sustancias del tegumento de las serpientes que afectan el sistema vomeronasal del lagarto), la aversión es semejante cuando las serpientes están emparentadas filogenéticamente y es diferencial con especies que pertenecen a otra familia., 2) la respuesta antidepredadora muestra variaciones en la estructura de la población, donde los juveniles tienen respuestas que difieren con los adultos y 3) el comportamiento antidepredador consiste en el escape, resoplar, ondular la cola, aplanar el cuerpo y atacar, donde el escape es el comportamiento más notable.

Cuadro 1-1. Estrategias y pautas del comportamiento antidepredador de *Heloderma horridum* causadas por estímulos químicos de serpientes potencialmente depredadoras.

Estrategia	Pauta conductual	Ventaja adaptativa
Escapar	Caminar hacia atrás	Evitar el contacto con el depredador
	Dar vuelta en "U"	Evitar el contacto con el depredador
Disuadir	Aplanar el cuerpo	Verse más grande que el depredador
	Resoplar	Ahuyentar con vibraciones mecánicas
Atacar	Morder	Intoxicar al enemigo
Distraer	Ondular la cola	No exponer regiones vitales y atacar

Lo anterior plantea algunas preguntas con las que se inicia el desarrollo de la presente investigación: ¿*Heloderma horridum* tiene un comportamiento antidepredador diferencial por efecto de rastros químicos de las serpientes depredadoras?, ¿ocurre lo mismo con serpientes alopátricas?, ¿cómo se asocia la respuesta antidepredadora con las serpientes emparentadas y no emparentadas?, ¿hay un origen congénito de la respuesta antidepredadora del lagarto o es una respuesta aprendida? y ¿hay alguna modificación adaptativa del lagarto en respuesta al cambio evolutivo de las serpientes? De esta manera, en los siguientes capítulos se desarrollan tres experimentos que retoman estas cuestiones para hacer una aproximación a los aspectos biológicos observados.

CAPÍTULO 2

Evidencia del comportamiento defensivo de *Heloderma horridum* contra los depredadores

Relaciones ecológicas: presa vs. depredadores

Los rastros odoríferos de los depredadores constituyen una fuente de advertencia para muchas lagartijas, debido a que ellos son identificadores del tipo de enemigo y una referencia de su ubicación, los que a su vez causan la ostentación de tácticas de escape o posturas antidepredadoras de la presa.

La habilidad para distinguir los rastros químicos de depredadores por medio del sentido vomeronasal ha sido documentada en varias especies de serpientes (Weldon & Burghardt, 1979; Weldon, 1982; Burger, 1990) y de lagartijas (Thoen *et al.*, 1986; Dial *et al.*, 1989; Cooper, 1990c; Thoen *et al.*, 1990; Van Damme *et al.*, 1995). Los estudios han mostrado que cuando los reptiles detectan las señales de peligro, manifiestan conductas características y predecibles, por ejemplo, decremento en la oscilación de la lengua, escape locomotor rápido, inflar y/o curvar el cuerpo, morder, enrollarse, esconder la cabeza y vibrar la cola, entre otras (Chiszar *et al.*, 1978; Weldon, 1982; Mori, 1990; Arnold, 1993; Bille, 1997). Sin embargo, todavía se desconoce el modo en que operan las relaciones presa-depredador cuando los reptiles ponen en juego sus habilidades quimiorreceptivas.

Se sabe que los componentes químicos cutáneos de la serpiente índigo *Drymarchon* sp., de la serpiente rey *Lampropeltis* sp (Chiszar *et al.*, 1978; Weldon, 1982), de la boa *Boa constrictor*, de la víbora cascabel *Crotalus* sp. (Balderas-Valdivia, 2002), del vipérido *Vipera verus* (Van Damme *et al.*, 1995) y otras especies, causan respuestas aversivas en diferentes lagartijas (Towers & Coss, 1991).

Durante el proceso de reconocimiento, la lengua bifurcada oscila constantemente, captura las moléculas de estos rastros y luego son llevadas al interior de la boca. Aquí son transferidas a los conductos vomeronasales y finalmente al epitelio vomeronasal que envía el impulso eléctrico codificado al hipotálamo (Halpern & Kubie, 1980; Halpern, 1992; Young, 1993, 1997; Schwenk, 1995). Este mecanismo es desarrollado en lagartijas de forrajeo activo y todas las serpientes, las cuales oscilan la lengua a tasas elevadas cuando buscan alimento, agua, pareja o exploran su vecindad. Familias como Helodermatidae, Varanidae, Scincidae, Anguidae y Teiidae representan algunas de las lagartijas que tienen

este comportamiento oscilatorio de la lengua (Cooper, 1990c, 1995; Graves & Halpern, 1991; Schwenk, 1995; Bofill & Lewis, 1999).

En el género *Heloderma* se han descrito aspectos relacionados con el comportamiento forrajero por efecto de estímulos químicos (Cooper, 1989b; Balderas-Valdivia, 2002) y solamente en *Heloderma horridum* se ha reportado un esbozo de las habilidades para identificar y discriminar algunos enemigos potenciales por medio de señales químicas (Balderas-Valdivia, 2002).

Heloderma horridum coexiste con una diversidad de más de 30 especies de serpientes (Ramírez-Bautista, 1994), por lo que en función de esta proporción de ocurrencia, la posibilidad de encuentros entre el lagarto como presa y algún depredador puede esperarse que sea alta. Se han observado escenas en condiciones naturales (sin publicar) donde las serpientes *Boa constrictor* y *Drymarchon corais* capturan individuos de *Heloderma horridum*; las serpientes, en ambos casos, mataron a los lagartos por constricción antes de tragarlas enteras. Por otra parte, también se han obtenido restos fecales de la serpiente de cascabel *Crotalus basiliscus* con restos de uñas y piel de escorpiones. Sin embargo, otro crotalino simpátrico, el cantil *Agkistrodon bilineatus*, no se sabe que depreda a estos lagartos en condiciones naturales.

Reportes de la serpiente primitiva tropical *Loxocemus bicolor* indican que ésta tiene una dieta muy amplia que incluye lagartijas de la familia Teiidae, Iguanidae, huevos de otros reptiles y pequeños mamíferos (Mora, 1987; Ramirez-Bautista, 1994). Durante un ensayo exploratorio (sin publicar), un ejemplar adulto de *L. bicolor* se colocó deliberadamente dentro de una caja de vidrio junto con un individuo juvenil de *H. horridum*, momentos después, la serpiente atrapó al lagarto por constricción, mostrando así su capacidad como depredador natural. Inmediatamente, ambos ejemplares fueron separados para evitar la muerte del lagarto.

Es importante señalar que no se ha documentado en otras serpientes cohabitantes con *H. horridum* que lo incluyan en su dieta, por ejemplo, la serpiente coralillo *Micrurus distans*, la serpiente lira *Trimorphodon biscutatus* y el bejuquillo *Oxybelis aeneus*, posiblemente porque se trata de serpientes pequeñas con respecto al lagarto.

Observaciones específicas en el laboratorio confirman que los rastros odoríferos de las serpientes *B. constrictor*, *L. bicolor*, *C. basiliscus*, *A. bilineatus*, *D. corais* y

Masticophis mentovarius causan un comportamiento aversivo en *H. horridum* (Balderas-Valdivia, 2002), encontrándose además, que algunas serpientes emparentadas con las anteriores causan respuestas antidepredadoras parecidas en el lagarto.

La emisión de olores similares por efecto de la cercanía filogenética de los depredadores es poco conocido en otras especies (Weldon & Burghardt, 1979; Burger, 1990), pero se ha descubierto que ocurre con algunas especies de este estudio, específicamente entre las boas *Charina trivirgata*, *Boa constrictor* y *Loxocemus bicolor* (ver filogenia en Heise *et al.*, 1995; Kluge, 1991), entre los crotalinos *Crotalus molossus*, *Crotalus triseriatus*, *Crotalus basiliscus* y *Agkistrodon bilineatus* (ver filogenia en Kraus *et al.*, 1996; Parkinson, 1999) y entre los colúbridos *Drymarchon corais*, *Masticophis mentovarius*, *Trimorphodon biscutatus* y *Oxybelis anenus* (ver filogenia en Kraus & Brown, 1998; Rodríguez-Robles, 1999). Sin embargo, otras serpientes no causan estas respuestas aversivas, como los elápidos *Micrurus distans*, *Micrurus limbatus* (ver filogenia en Keogh, 1998; Slowinski & Keogh, 2000) y los colúbridos *Pseudoelaphe flavirufa* y *Pituophis deppei*.

Para corroborar la relación entre presa-depredador, así como para conocer y describir la magnitud de la respuesta conductual aversiva de *H. horridum*, se desarrolló el siguiente experimento en el que se plantearon dos hipótesis: 1) que *H. horridum* puede discriminar entre señales químicas de depredadores de serpientes simpátricas de serpientes no depredadoras, y 2) que hay una extensión del comportamiento aversivo del lagarto hacia serpientes alopátricas que tienen relación de parentesco con las simpátricas. Comportamientos como la latencia de escape (ESC) y resoplar (RES) de *H. horridum* son causadas con los extractos odoríferos de las serpientes presentándolos en aplicadores de algodón al aparato vomeronasal del lagarto. Esta es una técnica ampliamente utilizada por Burghardt (1967), Burghardt & Hess (1968) y Cooper (1989a), entre otros autores. En helodermátidos, el método ha sido aplicado para estudios de discriminación de presas (Cooper, 1989b).

Efecto de los depredadores potenciales en *Heloderma horridum* (Experimento I)

Métodos

Generales— El experimento se dividió en dos partes. La primera consistió en un ensayo para determinar que no existiera un efecto de habituación a las variables independientes (estímulos químicos de serpientes) por *Heloderma horridum*. La segunda parte la constituyó el experimento principal, en la que se valoraron el tiempo (*s*) de latencia y la frecuencia de ESC, así como la frecuencia del comportamiento de RES de cada lagarto generadas por los estímulos químicos de varias especies de serpientes.

Especímenes— Para el experimento principal se colectaron temporalmente 22 ejemplares adultos (machos $n = 10$ y hembras $n = 12$) de *H. horridum*, cuyas tallas estuvieron entre 410 y 380 mm de LHC. La colecta se realizó de abril a agosto de 2000 y 2001 respectivamente, en la región de Chamela, Jalisco, donde esta especie ocurre naturalmente en las selvas deciduas de las costas del Océano Pacífico de México. Otros cuatro ejemplares de entre 170 y 210 mm de LCH fueron proporcionados por laboratorios particulares para realizar el ensayo de habituación.

Los organismos fueron trasladados e instalados en la Ciudad de México, donde se ubicaron en terrarios de vidrio con sustrato de aserrín, refugios de madera con tapaderas removibles, lámparas fluorescentes y radiadores de calor eléctricos. Todos los lagartos fueron aclimatados a las condiciones de laboratorio al menos un mes antes de los experimentos y todos ellos fueron comedores consistentes. Los lagartos fueron alimentados cada ocho días con ½ huevo de gallina y un neonato de roedor sacrificado (*Mus musculus*). Cada ensayo se realizó con al menos cuatro días de ayuno. Periódicamente se les adicionaron vitaminas, así como complementos minerales incorporados dentro de los ratones muertos. El agua para beber fue dispuesta *ad libitum*.

En la misma zona de colecta se capturaron 9 especies de serpientes adultas (según la talla máxima promedio reportada por Ramírez-Bautista, 1994 y García & Ceballos, 1994, para cada especie) tales como *Boa constrictor* ($n = 5$), *Loxocemus bicolor* ($n = 2$), *Crotalus*

basiliscus ($n = 3$), *Agkistrodon bilineatus* ($n = 3$), *Drymarchon corais* ($n = 5$), *Masticophis mentovarius* ($n = 4$), *Trimorphodon biscutatus* ($n = 2$), *Oxybelis aeneus* ($n = 3$) y *Micrurus distans* ($n = 4$). De otras zonas geográficas se obtuvieron 6 especies de serpientes adultas (según la talla máxima promedio reportada por Campell & Lamar, 1989; Uribe-Peña, *et al.*, 1999 y McPeak, 2000, para cada especie) por medio de zoológicos y laboratorios de otras instituciones. De las regiones montañosas del eje neovolcánico mexicano fueron *Crotalus molossus* ($n = 5$), *C. triseriatus* ($n = 4$) y *Pituophis deppei* ($n = 5$), de la costa del Golfo de México fueron *Pseudoelaphe flavirufa* ($n = 3$) y *Micrurus limbatus* ($n = 3$), y de la Península de Baja California fue *Charina trivirgata* ($n = 2$). Adicionalmente, como referencia, se definió la talla relativa de las quince especies de serpiente como el cociente de su masa (g) promedio entre su longitud (mm) total promedio (ambas medidas registradas directamente o documentadas) según el siguiente criterio: especie pequeña (P) $\leq 0.1 \text{ g / mm}$, especie mediana (M) $0.2 - 0.9 \text{ g / mm}$ y especie grande (G) $\geq 1 \text{ g / mm}$.

Ambos grupos de serpientes (alopátricas y simpátricas) fueron conservadas vivas en terrarios individuales de vidrio provistas de agua y alimento. Cada grupo de serpientes fue colocado en un diferente cuarto del laboratorio.

Diseño experimental— Para detectar cualquier habilidad de los lagartos en discriminar el aroma de los depredadores con respecto a los no depredadores, se empleó durante el experimento principal vaselina (petrolato puro, Vaseline®) como sustancia control. Las serpientes simpátricas como *M. distans*, *T. biscutatus* y *O. aeneus* también sirvieron como un control secundario para conocer el efecto diferencial en *Heloderma horridum* y no como un olor general de serpiente (Head *et al.*, 2002).

Previo al experimento principal se realizó el ensayo de habituación para verificar que no se diera un efecto de aprendizaje en los lagartos a los estímulos constantes y que alterara las variables de respuesta al transcurrir el tiempo. El método permitió determinar si la estimulación constante (repeticiones pareadas) con el olor de un depredador modificó la magnitud de la latencia de ESC como variable de respuesta en *H. horridum*. Si esto ocurrió, los lagartos no debieron emplearse en más de una prueba. El experimento exploratorio se condujo con dos lagartos vs. cinco serpientes de la especie *Boa constrictor* y otros dos lagartos vs. tres serpientes de *Crotalus basiliscus* utilizando un diseño de bloques al azar para cada par de comparaciones, donde los factores o tratamientos fueron las repeticiones

experimentales. Las serpientes fueron seleccionadas arbitrariamente por ser depredadores que producen un comportamiento de aversión típico en *Heloderm horridum* y para representar a dos de las familias (Boidae y Viperidae) de depredadores principales.

El ensayo verificó específicamente si la latencia de ESC se mantuvo constante desde la primera observación (R_1) o cambió durante el tiempo en diez repeticiones observadas (R_{10}) a intervalos de cuatro días. Un aumento de la latencia de ESC en el tiempo R_n , indicaría que los individuos pueden habituarse como parte de un proceso de aprendizaje frente a estímulos de peligro, que en este caso tienen como mensajeras a las sustancias químicas (Weldon, 1982; Towers & Coss, 1991; Cruells, 1991).

Este método de verificación se basa en un principio sensorial en el que ocurre un aumento del *umbral absoluto* de disparo de la respuesta locomotora. El *umbral absoluto* es el valor mínimo de un estímulo físico que produce una respuesta; es decir, la energía mínima perceptible por un sentido (Woodworth & Schlosberg, 1964; Ardila, 1986). Desde el punto de vista fisiológico, los receptores de la señales reducen su excitabilidad, requiriendo estímulos más intensos para alcanzar el umbral de acción motil (Lowenstein, 1980; Eckert, *et al.*, 1990), como resultado concreto ocurre una reducción en la intensidad de la respuesta o un retraso (aumento de la latencia) en la ejecución de la misma (Eckert, *et al.*, 1990). Si hubo cambios en la tasa de aprendizaje de los lagartos a los plazos señalados, los mismos individuos no se utilizaron en repeticiones experimentales posteriores para no alterar el valor real de la respuesta. En caso contrario, si no hubo aprendizaje en cada uno de los lagartos a los estímulos constantes, se continuó con el desarrollo del experimento principal.

Para el experimento de habituación y aprendizaje, así como para el experimento principal, los estímulos fueron preparados aleatoriamente rodando la punta de un aplicador de algodón en vaselina o frotando el aplicador sobre la piel de la serpiente en la superficie dorsal y abdominal. Los estímulos preparados fueron presentados a los lagartos sobre varillas de madera de 50 cm de largo (4 mm de diámetro). En cada observación, el experimentador se aproximó a la caja de un lagarto cuidadosamente, removió la tapa del refugio y lentamente acercó la punta del aplicador hasta aproximadamente 2 cm de la región anterior del hocico del lagarto durante 60 s. La valoración inició después de que fue emitida la primera oscilación de la lengua por cualquier individuo en el estudio. Cada

lagarto fue expuesto a un estímulo de serpiente por día entre las 0900 y las 1300 h del horario local de la Ciudad de México, de mayo a septiembre de 2001 a una temperatura de 28 a 30 °C, característica ambiental que prevalece en durante la actividad natural de las especies (Beck & Lowe, 1991). Para presentar los estímulos se empleó el método de *pruebas ciegas*, que consiste en que el experimentador no conoce la procedencia del estímulo o variable que someterá en ese momento, esto es con el fin de evitar el efecto del sesgo humano durante la obtención de los datos. Lo anterior puede ocurrir porque el conocimiento previo de un resultado en humanos es un refuerzo que actúa como un factor motivante para tomar decisiones, y si bien un individuo con conocimiento previo comete menos errores, también puede influenciar los resultados equívocamente (Ammons, 1956; Ardila, 1986).

El experimento principal se realizó bajo el mismo protocolo del diseño experimental por bloques al azar, en el que los factores fueron los estímulos químicos controles y de serpientes, en este caso las posibles variables de respuestas registradas fueron: 1) latencia de escape (ESC), tiempo en s que tardó el lagarto en escapar corriendo hacia los lados (vuelta en "U") o hacia atrás, 2) frecuencia de ESC y 3) frecuencia de la conducta de resoplido (RES).

Estimaciones—En el ensayo exploratorio, el análisis de correlación simple permitió verificar el efecto de cada repetición desde R_1 hasta R_{10} sobre la variable de respuesta latencia de ESC. El efecto de las repeticiones experimentales sobre la latencia de ESC en un mismo individuo fue estimado con un análisis de la varianza (ANDEVA) por bloques al azar para experimentos de un factor simple (medidas aleatorias pareadas), donde el factor fue cada repetición (Durán-Díaz *et al.*, 1986; Daniel, 1999; Pagano, 1999).

En el experimento principal, el análisis de los datos de la variable de respuesta latencia de ESC también respondió a un ANDEVA por bloques al azar, en este caso cada factor o tratamiento consistió en los estímulos químicos controles y de las serpientes. Previamente se usó la prueba de Hartley *F Max* (dos colas) para verificar la homogeneidad de la varianza entre las condiciones. Para analizar las comparaciones múltiples de los diferentes tratamientos se empleó la prueba de Tukey DHS (Durán-Díaz *et al.*, 1986; Daniel, 1999). Para balancear la varianza, el orden de presentación fue azaroso para todos los lagartos, donde igual número de animales fueron experimentados en todas las posibles

secuencias de estímulos o tratamientos. Los datos fueron presentados como la media \pm 1 DE.

Para determinar si el efecto de una familia de serpientes simpátricas fue igual o diferente a la de una familia alopátrica en los lagartos, se obtuvo una muestra retrospectiva aleatoria y excluyente de los 22 ejemplares de *Heloderma horridum* de las frecuencias observadas de los comportamientos ESC y de RES producido por los estímulos de las familias Boidae, Viperidae (particularmente crotalinos) y Colubridae. La muestra no incluyó familias que no causaron respuesta aversiva. Los datos fueron analizados con el estadístico no paramétrico *Q*-Cochran para la comparación de frecuencias observadas en dos o más muestras pareadas (en este caso, simpátricas vs. alopátricas para cada familia y para cada tipo de conducta), donde el código de respuesta fué 1 = con respuesta aversiva y 0 = sin respuesta aversiva (Durán-Díaz *et al.*, 1986). En todas las estimaciones, la significancia se fijó como $\alpha = 0.05$.

Resultados

Experimento de habituación— Se observó que no hay una correlación entre la latencia de ESC de *H. horridum* y la exposición repetida del estímulo químico de la serpiente *Boa constrictor* ($y = 2.63 + 0.021(x)$, $r = 0.043$, $P > 0.05$) y de la serpiente *Crotalus basiliscus* ($y = 2.86 + 0.051(x)$, $r = 0.099$, $P > 0.05$) en diez repeticiones sucesivas (Fig. 2-1 y Fig. 2-2). El resultado del ANDEVA indicó que no hay un aprendizaje de *H. horridum* que altere la latencia de ESC hacia *Boa constrictor* ($F_{(9, 9)} = 0.23$, $P > 0.05$) y hacia *Crotalus basiliscus* ($F_{(9, 9)} = 1.80$, $P > 0.05$) en exposiciones repetidas. Esto permitió continuar con el empleo del diseño experimental por bloques al azar para el análisis de la varianza, de manera que cada lagarto pudo ser experimentado más de una vez con una o más especies de serpiente.

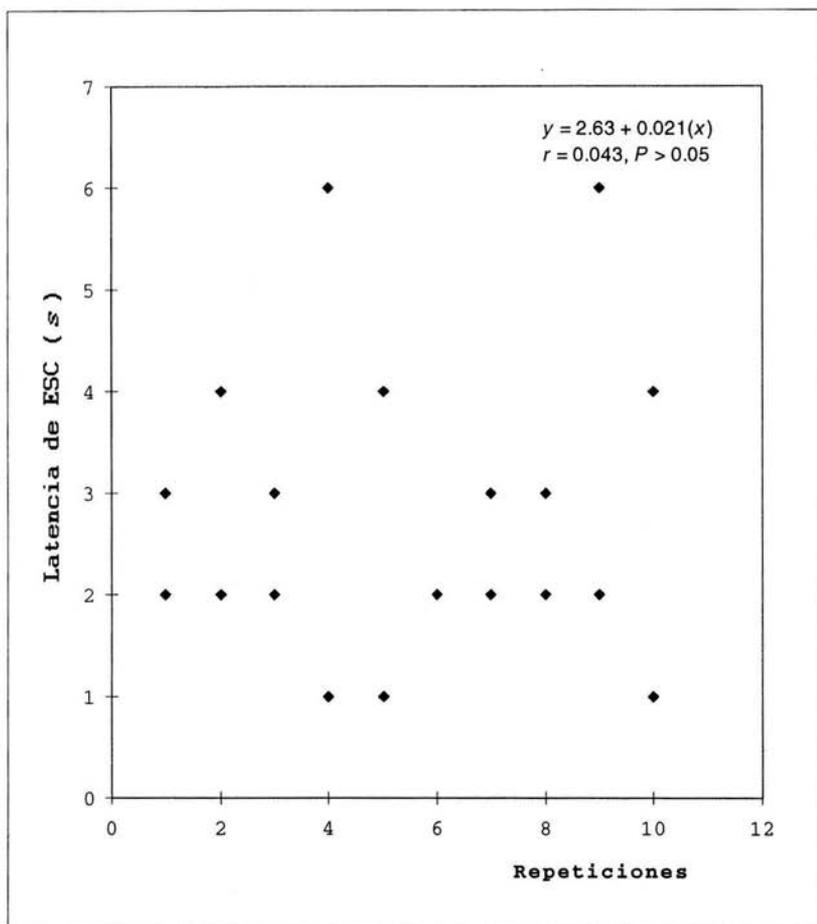


Fig. 2-1. Efecto del estímulo químico de *Boa constrictor* sobre la latencia de escape (ESC) de *Heloderma horridum* ($n = 2$) en 10 repeticiones a intervalos de 4 días.

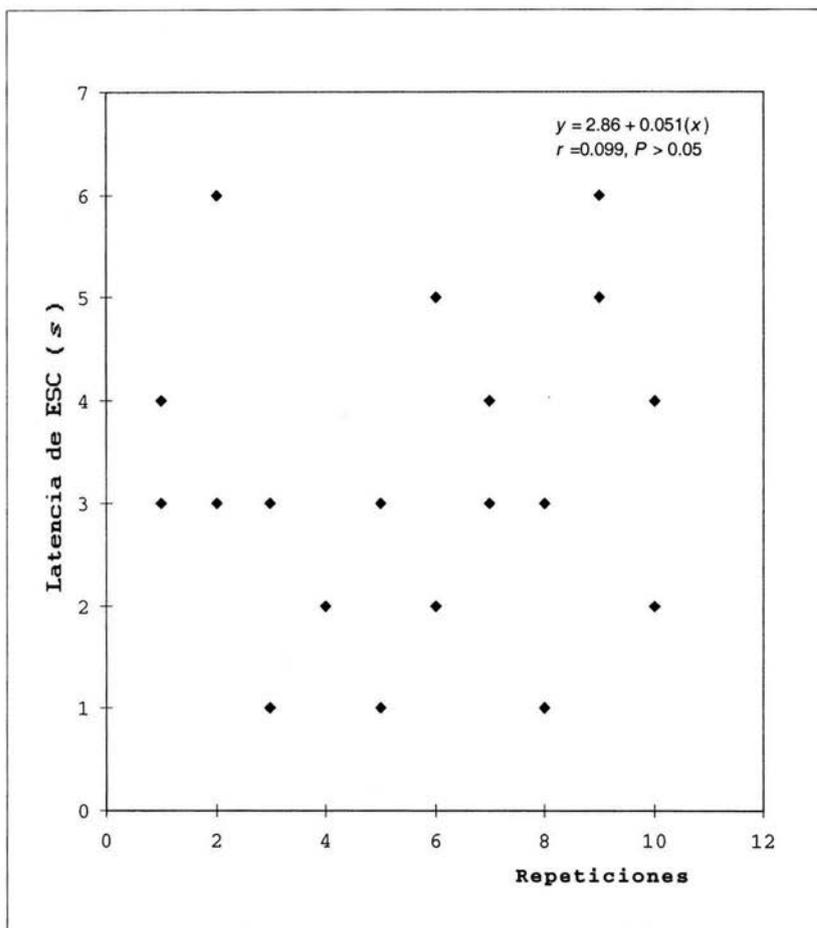


Fig. 2-2. Efecto del estímulo químico de *Crotalus basiliscus* sobre la latencia de escape (ESC) de *Heloderma horridum* ($n = 2$) en 10 repeticiones a intervalos de 4 días.

Experimento principal— Se obtuvieron los valores promedio de la latencia de ESC de los lagartos como resultado de la exposición a 15 estímulos químicos de serpientes y a un control principal por períodos de observación de 60 s (Cuadro 2-1), también se registró la talla relativa de la especie de serpiente como dato adicional. Como las varianzas de la latencia de ESC fueron homogéneas (Hartley $F_{MAX (16, 21)} = 2.00$ $P > 0.05$) los datos no fueron transformados, y de acuerdo con el ANDEVA, se encontró que esta variable de respuesta difirió significativamente entre al menos dos tratamientos ($F_{(15, 315)} = 7203.78$; $P < 0.001$). Las especies de serpientes que causaron un comportamiento de escape en el lagarto fueron *Agkistrodon bilineatus* (3.54 s), *Boa constrictor* (2.81 s), *Charina trivirgata* (16.27 s), *Crotalus basiliscus* (3.04 s), *Crotalus molossus* (6.36 s), *Crotalus triseriatus* (52.09 s), *Drymarchon corais* (10.77 s), *Loxocemus bicolor* (9.41 s) y *Masticophis mentovarius* (16.05 s). El estímulo control con vaselina no tuvo efecto en los lagartos y las serpientes que no causaron respuesta fueron *Micrurus distans*, *Micrurus limbatus*, *Oxybelis aeneus*, *Pituophis deppei*, *Pseudoelaphe flavirufa* y *Trimorphodon biscutatus* (60 s en todos los casos).

La comparación múltiple de la latencia de ESC (Cuadro 2-2) reveló que las respuestas hacia la vaselina (sustancia control principal), *M. distans*, *M. limbatus*, *O. aeneus* y *T. biscutatus* (segundos controles para distinguir entre depredadores potenciales y serpientes inofensivas), *P. deppei* y *P. flavirufa* fueron significativamente diferentes a las respuestas causadas por *A. bilineatus*, *B. constrictor*, *C. trivirgata*, *C. basiliscus*, *C. molossus*, *C. triseriatus*, *D. corais*, *L. bicolor* y *M. mentovarius* ($P < 0.001$, en todos los casos). Las similitudes y diferencias de otras comparaciones con importancia secundaria también pueden verse de forma combinada en el Cuadro 2-2.

Cuadro 2-1. Latencia de escape ($ESC \pm 1DE$ s) ocurrida en todos los individuos de *Heloderma horridum* con múltiples estímulos. Datos adicionales: Talla de la especie de serpiente, P = Pequeña, M = Mediana, G = Grande. Estímulos: Vas = vaselina, Ab = *Agkistrodon bilineatus*, Bc = *Boa constrictor*, Cb = *Crotalus basiliscus*, Cht = *Charina trivirgata*, Cm = *Crotalus molossus*, Ct = *Crotalus triseriatus*, Dc = *Drymarchon corais*, Lb = *Loxocemus bicolor*, Md = *Micrurus distans*, Ml = *Micrurus limbatus*, Mm = *Masticophis mentovarius*, Oa = *Oxybelis aeneus*, Pd = *Pituophis deppei*, Pf = *Pseudoelaphe flavirufa*, Tb = *Trimorphodon biscutatus*.

	Control	Serpientes simpátricas									Serpientes alopátricas					
	Vas	Ab*	Bc*	Cb*	Dc*	Lb*	Md	Mm*	Oa ^c	Tb ^c	Cht*	Cm*	Ct*	Ml	Pd	Pf
Promedio	60	3.54	2.81	3.04	10.77	9.41	60	16.05	60	60	16.27	6.36	52.09	60	60	60
ESC	0	1.60	1.68	1.59	2.31	1.99	0	2.17	0	0	1.88	1.73	2.31	0	0	0
$\pm 1DE$	0	1.60	1.68	1.59	2.31	1.99	0	2.17	0	0	1.88	1.73	2.31	0	0	0
Intervalo	60	2-7	1-7	1-7	6-14	6-12	60	12-20	60	60	13-20	4-10	49-56	60	60	60
Talla	—	G	G	G	G	M	P	M	P	M	M	G	P	P	G	M

Datos = 60 indican que no hay respuesta de ESC.

* Diferencias significativas (ANDEVA) $P < 0.05$.

^c Serpiente control secundario.

Cuadro 2-2. Comparación múltiple de Tukey DHS que muestra las diferencias significativas entre la latencia de escape (ESC) de *Heloderma horridum* causadas por todos los estímulos químicos controles y de serpientes. Las abreviaturas se indican en el Cuadro 2-1.

	Control	Serpientes														
	Vas	Ab	Bc	Cb	Cht	Cm	Ct	Dc	Lb	Md	Mm	Ml	Oa ^c	Pd	Pf	Tb ^c
Vas	—	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*					
Ab		—			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Bc			—		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Cb				—	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Cht					—	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Cm						—	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Ct							—	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Dc								—	*	*	*	*	*	*	*	*
Lb									—	*	*	*	*	*	*	*
Md										—	*	*	*	*	*	*
Mm											—	*	*	*	*	*
Ml												—	*	*	*	*
Oa ^c													—	*	*	*
Pd														—	*	*
Pf															—	*
Tb ^c																—

* $P < 0.001$

Las serpientes simpátricas así como las alopátricas constituyeron en conjunto cuatro taxa: boidos, vipéridos, elápidos y colúbridos, observándose que algunas serpientes alopátricas relacionadas filogenéticamente con las simpátricas causaron aversión en el lagarto enchaquirado. En Boidae fue *Charina trivirgata*, y en Viperidae fueron *Crotalus molossus* y *Crotalus triseriatus*. Contrariamente, ningún Colubridae o Elapidae causó respuesta defensiva en los lagartos (Fig. 2-3).

Las frecuencias observadas de ESC y RES de los lagartos fueron registradas de acuerdo al Cuadro 2-3 con excepción del efecto de la familia elapide debido a que ésta no causó respuesta aversiva. Las especies de boidos y vipéridos (simpátricas y alopátricas) dieron los siguientes porcentajes: el ESC causado por *C. molossus* y *C. triseriatus* fue de 86.36 % (cada especie), por *Loxocemus bicolor* y *C. trivirgata* fue de 90.91 % (cada especie), por *Boa constrictor*, *Agkistrodon bilineatus* y *Crotalus basiliscus* fue de 95.45 % (cada especie). El comportamiento de RES ocasionado por *C. triseriatus* fue de 4.55 %, por *C. basiliscus* y *C. molossus* fue de 9.09 % (cada especie), por *C. trivirgata* y *A. bilineatus* fue de 13.64 % (cada especie), por *L. bicolor* fue de 18.18 % y por *B. constrictor* fue de 22.73 %. De la familia de los colúbridos, solamente *Masticophis mentovarius* y *Drymarchon corais* generaron respuestas defensivas de ESC (81.82 y 90.91 %, respectivamente) y de RES (9.09 y 13.64 %, respectivamente).

Al comparar el efecto generado por los boidos simpátricos con respecto a los alopátricos no se encontraron diferencias significativas en la frecuencias de ESC de los lagartos (Q -Cochran = 0.2, $gl = 1$, $P > 0.05$). De manera similar, el efecto generado por los vipéridos simpátricos con respecto a los alopátricos tampoco fue significativamente diferente (Q -Cochran = 1.2, $gl = 1$, $P > 0.05$). Sin embargo, la frecuencia del comportamiento aversivo ocasionado por las especies de colúbridos simpátricos con respecto a los alopátricos fue significativamente diferente (Q -Cochran = 0.2, $gl = 1$, $P < 0.0001$). El efecto generado por los boidos, vipéridos y colúbridos simpátricos con respecto a los alopátricos en la frecuencia del comportamiento de RES de los lagartos tampoco mostraron diferencias estadísticas significativas (Q -Cochran = 0.66, 0.2 y 3 respectivamente, $gl = 1$ y $P > 0.05$ para todos los casos).

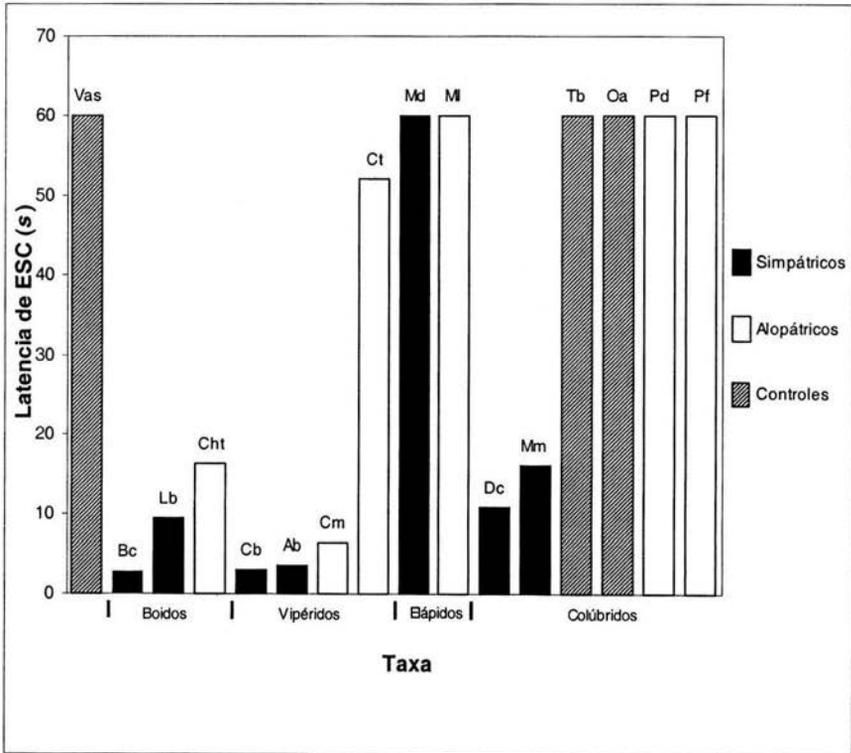


Fig. 2-3. Comportamiento aversivo (latencia de ESC) de *Heloderma horridum* causado por cuatro taxa de serpientes, siete especies simpátricos, dos control simpátricos y seis alopátricos. Las abreviaturas se indican en el Cuadro 2-1.

Cuadro 2-3. Frecuencias observadas de la latencia de escape (ESC) y conducta de resoplido (RES) en *Heloderma horridum* ($n = 22$) causadas por las serpientes simpátricas y alopátricas experimentadas. Las abreviaturas se indican en el Cuadro 2-1.

Conducta	Boidos			Vipéridos				Colúbridos					Elápidos		
	Bc	Lb	Cht*	Ab	Cb	Cm*	Ct*	Dc	Pf*	Mm	Oa	Pd*	Tb	Md	MI*
ESC	21	20	20	21	21	19	19	18	0	20	0	0	0	0	0
%	(95.45)	(90.91)	(90.91)	(95.45)	(94.45)	(86.36)	(86.36)	(90.91)	(0)	(81.82)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
RES	5	4	3	3	2	2	1	3	0	2	0	0	0	0	0
%	(22.73)	(18.18)	(13.64)	(13.64)	(9.09)	(9.09)	(4.55)	(13.64)	(0)	(9.09)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)

*Serpientes alopátricas

Discusión y conclusión

Los resultados obtenidos parecen indicar que *Heloderma horridum* puede distinguir entre los extractos químicos de la piel de las serpientes y los estímulos control, pero el aspecto notable, es que el experimento revela la habilidad de los helodermátidos para discriminar señales químicas entre diferentes depredadores potenciales. El género *Heloderma* usa el sistema vomeronasal en el que se destaca la actividad de la lengua para localizar rastros químicos ocultos durante el comportamiento forrajero (Bogert & Martín del Campo, 1956; Cooper, 1989b), pero en este estudio también se ha demostrado que su sentido vomeronasal es un importante medio para localizar y reconocer depredadores como lo hacen otros Squamata y de lo cual poco se sabe (Van Damme, *et al.*, 1995; Weldon, 1982; Van Damme & Quick, 2001).

El lagarto enchaquirado tuvo un comportamiento antidepredador con las señales químicas de serpientes simpátricas como *Loxocemus bicolor*, *Boa constrictor*, *Agkistrodon bilineatus*, *Crotalus basiliscus*, *Drymarchon corais* y *Masticophis mentovarius*. Estas serpientes presentan cuerpos de talla grande que pueden igualar o exceder la masa corporal de ejemplares adultos de *H. horridum* (excepto *L. bicolor*, de talla mediana) y que son depredadores potenciales del lagarto. Sin embargo, también serpientes alopátricas como *Charina trivirgata*, *Crotalus molossus* y *Crotalus triseriatus* causaron respuesta antidepredadora en el lagarto.

Lo anterior indica que la habilidad del sistema vomeronasal para detectar un factor de riesgo funciona como una extensión del comportamiento hacia otras especies que tienen relación filogenética. Biológicamente, además de ampliar el rango de reconocimiento de depredadores en una comunidad, es una estrategia que permite a una presa anticipar y distinguir el peligro potencial. Una posibilidad es que si *H. horridum* poblara otros habitats, llevaría consigo un mecanismo defensivo potencial para reconocer nuevos enemigos; por el contrario, si un nuevo depredador se introduce en su hábitat, lo podría reconocer con más facilidad como un nuevo integrante del repertorio de enemigos.

Algunos reportes señalan que el efecto que tiene una relación filogenética cercana entre serpientes, puede resultar en emisiones odoríferas similares. Se ha sugerido que serpientes ofiófagas como *Lampropeltis triangulum* y *L. guetulus* son reconocidas por

Pituophis melanoleucus debido a la estrecha relación filogenética entre el género *Lampropeltis*, facilitando el comportamiento defensivo de la presa (Burger, 1990). Esta hipótesis coincide con los resultados de este trabajo, mostrando que otras serpientes alopátricas emparentadas ocasionan una respuesta aversiva en *Heloderma horridum*. Por ejemplo, *Crotalus molossus* y *Crotalus triseriatus* no coexisten con *H. horridum*, pero activaron la respuesta de aversión en los lagartos. Este comportamiento puede deberse a que los géneros *Crotalus* y *Agkistrodon* pertenecen a la misma familia. Resultados similares fueron encontrados en boidos, donde *Boa constrictor* y *Loxocemus bicolor* están emparentadas con *Charina trivirgata* y todas fueron evitadas por los lagartos en condiciones experimentales.

Se ha sugerido que la ventaja quimiosensorial en los reptiles para discriminar factores de riesgo no autóctonos, es un mecanismo evolutivo que combina adaptación y exaptación de caracteres con una tendencia a establecerse cuando ocurre una variación en las condiciones ecológicas (Withgoot, 1996).

Otro aspecto de la detección química de los depredadores en los lagartos muestra en general que la magnitud de la latencia de ESC es menor con Boidae y Viperidae, mientras que solo con algunos Colubridae hubo respuesta y con ningún Elapidae se observó aversión (Fig. 2-3).

Es bien conocido que las serpientes de coralillo del género *Micrurus* y otros elápidos en el mundo son principalmente ofiófagos (Campbell & Lamar, 1989; Greene, 1997). En varios experimentos se ha reportado que muchos elápidos son detectados vía señales químicas por sus presas naturales (Shine, 1984; Head *et al.*, 2002). Sin embargo, las cualidades químicas de estas serpientes, no parecen tener el mismo significado para *H. horridum*, el cual no respondió al elápidos simpátrico *Micrurus distans* y tampoco a la serpiente alopátrica *M. limbatus*.

El resultado con ambas serpientes podría explicarse nuevamente por la relación filogenética de las especies, solo que en este caso con serpientes que no se alimentan de *H. horridum*. Por otro lado, desde el punto de vista de las interacciones presa-depredador, la falta de asociación ecológica parece tener sentido entre elápidos y helodermátidos; una serpiente pequeña no podría comer un lagarto de grandes dimensiones, aún tratándose de

individuos juveniles, por lo que no se ha creado una presión de selección en las presas para que detecten una variable hasta el momento irrelevante.

En colúbridos, los resultados muestran que las señales químicas de *Drymarchon corais* y *Masticophis mentovarius* fueron evitadas por los lagartos. En contraste, *Trimorphodon biscutatus* y *Oxybelis aeneus* no causaron respuesta de ESC, hecho que puede ser explicado porque éstas dos últimas especies de serpientes no comen grandes lagartos como *Heloderma horridum*, lo que muestra la importancia del componente trófico para desarrollar habilidades de detección química entre la presa y el depredador. La idea es apoyada por los experimentos con lagartijas Scincidae *Eulamprus heatwolei*, que han mostrado la importancia de la ecología del depredador en la evolución de los mecanismos de detección de enemigos potenciales, donde existe una asociación entre la quimiorrecepción de la presa y la magnitud del riesgo; es decir, si el depredador se especializa en esa presa, la respuesta aversiva de la misma será más intensa, y si el depredador no come a esa especie o su dieta es más generalizada la respuesta de la presa es menos intensa (Head *et al.*, 2002). En pocos casos se ha revelado que la discriminación de enemigos potenciales tiene tanta precisión en los reptiles. En uno de ellos (Bealor & Kjekorian, 2002) se investigó que *Dipsosaurus dorsalis* distingue con notable exactitud entre las serpientes que pueden causar daño de aquellas que son inocuas, y que la función vomeronasal coordinada con la respuesta conductual proveen mecanismos antidepredadores que le confiere más oportunidades de sobrevivencia.

Mecanismos antidepredadores de este tipo coinciden con la relación *H. horridum*-*D. corais*-*M. mentovarius*, debido a que el lagarto escapó a los estímulos químicos de estas serpientes en condiciones experimentales, además de existir congruencia con las escenas observadas durante el estudio en estado silvestre, en las que *D. corais* capturó y comió individuos de *H. horridum*. En general ambas serpientes son peligrosos depredadores para varios saurios de gran tamaño, por ejemplo para *Ctenosaura* sp. e *Iguana iguana*, además de que pueden capturar una gran variedad de otros vertebrados (Ruben, 1977; Weldon, 1982; Ramírez-Bautista, 1994).

La comparación entre colúbridos simpátricos y alopátricos indica que no interviene o no es clara la relación filogenética de las serpientes, posiblemente porque las especies comparadas podrían no estar muy relacionadas filogenéticamente como sucede con los

Boidae y Viperidae. Otra especulación podría ser porque los Colubridae se manifiestan como un grupo más reciente en la evolución de las serpientes, lo que probablemente no ha dado tiempo a *Heloderma horridum* para perfeccionar sus mecanismos adaptativos de detección.

Específicamente, los lagartos no extendieron el comportamiento aversivo hacia las serpientes alopatricas *Pituophis deppei* y *Pseudoelaphe flavirufa*, por lo que aspectos como el tamaño de la serpiente o su dieta (no referida) fueron irrelevantes para interpretarse y debido a que no se sobreponen geográficamente con el lagarto.

El efecto de la magnitud de la sobreposición geográfica entre presa y depredador ha sido documentado en la serpiente de cascabel *Crotalus viridis* y el mocasín *Agkistrodon piscivurus* (Chizar *et al.*, 1978). Ambos crotalinos son presas de la serpiente rey *Lampropeltis getulus*, una serpiente ofiófaga. Sin embargo, *A. piscivurus* exhibe una mayor adaptación defensiva a *L. getulus* por el supuesto de que se sobreponen completamente en su área de ocurrencia, *Crotalus viridis*, en contraste, tiene un rango pequeño de sobreposición geográfica con la serpiente rey.

En general, esta parte del estudio prueba una habilidad en helodermátidos para reconocer, discriminar y evitar serpientes peligrosas empleando el sistema vomeronasal. Los datos sugieren que aspectos ecológicos asociados a la simpatria como el tamaño y hábitos alimentarios del depredador, son importantes en el desarrollo de mecanismos adaptativos antidepredadores en los lagartos, mientras que las relaciones filogenéticas entre depredadores podrían darle una ventaja de tipo exaptativa en la evolución futura debido a la similitud de olores.

Aunque Weldon & Burghardt (1979) y Burger (1990) también han mencionado este posible efecto de la filogenia, este nuevo análisis se aproximó a la hipótesis al incluir en los cuatro taxones (boidos, vipéridos, elápidos, y colúbridos) serpientes de diferente geografía, permitiendo apreciar que este fenómeno fue consistente para boidos, vipéridos y elápidos porque las especies alopatricas causaron el mismo efecto aversivo en *H. horridum* que las especies simpátricas, ya sea en forma positiva o negativa pero dentro de esa familia.

CAPÍTULO 3

Variación del comportamiento defensivo en *Heloderma horridum*

Origen y variación en el comportamiento antidepredador de los Squamata

Muchos vertebrados, entre ellos los reptiles, experimentan cambios en su comportamiento durante su desarrollo para ajustarse a la variación de factores ecológicos que afectan su sobrevivencia, tales como los depredadores, alimento, pareja, refugio, la fisico-química ambiental, entre otros. La naturaleza de algunos de estos factores tienen que ver con las relaciones de carácter trófico, que son los elementos de las teorías sobre la relación presa-depredador que analizan los costos y beneficios cuando hay ajustes en los mecanismos adaptativos de las especies (Arnold, 1993; Cooper, 1999; Shine & Downes, 1999; Pough *et al.*, 2001).

En general, los ajustes más notorios para contrarrestar el efecto de la depredación se observa principalmente en organismos metamórficos dada su reestructuración anatómica (Chivers *et al.*, 1999). Sin embargo, aunque menos espectaculares, también ocurren cambios del comportamiento antidepredador en animales no metamórficos para la misma finalidad, evitar la muerte por enemigos naturales. En los Squamata, se puede ver que las respuestas adaptativas a la depredación se han diversificado ampliamente, no obstante, todavía se intenta determinar cómo los procesos de adaptación involucran mecanismos que balancean los costos y beneficios de los recursos biológicos de una especie, y que permiten fijar sus estrategias de sobrevivencia como parte de su historia de vida (Warkentin, 1995; Cooper, 1998).

Aunque la quimiorrecepción reptiliana es uno de los mecanismos más importantes para que las especies reconozcan y aprovechen su entorno, la mayoría de los estudios se han concentrado en aspectos del comportamiento forrajero, mientras que su función para otros aspectos como la antidepredación permanecen poco conocidos (Van Damme & Quick, 2001). Uno de estos aspectos consiste en determinar cómo los reptiles integran sus expresiones fenotípicas para las circunstancias de sobrevivencia, las cuales pueden tener un origen innato o bien formar parte de un proceso de aprendizaje basado en experiencias específicas. Ha quedado establecido que en algunas lagartijas como *Lacerta bedriagae* se producen respuestas antidepredadoras de origen innato hacia su depredador natural, la serpiente *Natrix maura* (Van Damme & Quick, 2001). Los neonatos de esta lagartija, que

no tienen ninguna experiencia previa con su depredador, expresan incrementos en la oscilación de la lengua, hiperactividad locomotora (caminar, correr), ondulan la cola, agitan la patas y excavan en el suelo cuando por medio de los órganos quimiorreceptores detectan la presencia de rastros olorosos de *Natrix maura*. También se ha documentado que *Lacerta vivipara* tiene la habilidad congénita de reconocer los rastros químicos de la serpiente *Vipera berus*. La lagartija, en su primer estado de vida y sin experiencia previa, se comporta activamente al alejarse de las señales de peligro y excavando para refugiarse del riesgo potencial (Van Damme *et al.*, 1995).

La evidencia de los procesos de aprendizaje en los reptiles para entender los aspectos adaptativos de antidepredación no es muy amplia y los casos existentes ponen énfasis en el análisis de órganos para la percepción distintos al quimiorreceptivo, marcando apenas el contexto para estudiar a los otros sentidos. En uno de estos estudios, Marcellini & Jenseen (1991) demostraron la capacidad de aprendizaje por efecto pavloviano de la lagartija *Leiocephalus screibersi*, la cual puede asociar dos estímulos visuales, uno de ellos como fuente de peligro y otro sin relevancia a la presencia del depredador natural. Después de varias repeticiones con los estímulos simultáneos, *L. screibersi* aprende a reconocer de manera independiente que el estímulo irrelevante es una señal anticipada a la presencia de sus enemigos naturales, las serpientes de los géneros *Alsophis* e *Hypsirhynchus*.

También se ha documentado que en los reptiles existen mecanismos biológicos que promueven la variación de los mecanismos de defensa frente a depredadores durante el desarrollo de un individuo. En la lagartija vivípara *Pseudemoia pagenstecheri* se probó que hay un comportamiento antidepredador innato hacia los rastros químicos de la serpiente *Drysdalia coronoides* que come exclusivamente este grupo de lagartijas, Experimentalmente, quedó corroborado que el factor momento de exposición al depredador modifica la intensidad de la respuesta de escape de la lagartija (Shine & Downes, 1999). El experimento también muestra que la conducta antidepredadora programada puede modificarse para hacerse más eficiente si existe una experiencia previa en los neonatos, incluso desde antes de nacer a través de la percepción química de la madre.

En las especies ovíparas como *Heloderma horridum* no existen condiciones tan estrechas entre madre y descendencia en el vientre, por lo que las posibles variaciones del comportamiento deben ocurrir después de nacer. La cuestión es cómo aparece el

comportamiento aversivo y si éste sufre algún cambio ante la interacción presa-depredador durante su vida.

Es útil recordar que el resultado evolutivo de las interacciones presa-depredador es que la depredación constituye un recurso de mortalidad, lo que promueve la evolución de mecanismos antidepredadores en diferentes caracteres (conductuales, anatómicos, fisiológicos). Al mismo tiempo estos mecanismos se modifican en función de aspectos intrínsecos de un individuo como la edad, temperatura corporal y condición reproductiva, entre otros, además de factores extrínsecos como la abundancia del alimento, temperatura y humedad ambiental o dispersión de la colonia (Huey *et al.*, 1983; Labra & Leonard, 1999). Como consecuencia, se espera que la selección natural no favorezca caracteres que tengan costos mayores a la adecuación, por lo que en la naturaleza lo que vemos son estados o proporciones de estos caracteres (morfología, fisiología, comportamiento, desarrollo) que tienden a ser equilibradas en sobrevivientes sexualmente maduros; es decir, con potencial heredable (Begon *et al.*, 1990; Abrams, 2000).

En este sentido, si los rasgos del comportamiento que ostenta *Heloderma horridum* se predicen por la influencia de algún factor, entonces puede ser el resultado de la selección natural que resuelven un problema de depredación. Se sabe que los rasgos del comportamiento asociados a la defensa contra los depredadores en *H. horridum* son ondular la cola, producir sonidos (resoplar), patear, aplanar el cuerpo, variar la extrusión la lengua y correr, entre otras, mismos que se determinan como adaptaciones porque son compartidas con otros saurios (Thoen *et al.*, 1990; Van Damme *et al.*, 1995; Van Damme & Quick, 2001; Head *et al.*, 2002). Sin embargo, no se sabe qué ventajas le confiere modificar su conducta en la relación presa-depredador bajo diferentes condiciones de su desarrollo. Si los rasgos de la conducta del lagarto se asocian a una variable intrínseca como lo es su estado del desarrollo, se esperaría observar un patrón que permita discutir las posibles ventajas adaptativas.

Para establecer esta discusión, se desarrolló el siguiente experimento, en el cual se verificaron dos hipótesis: la primera planteó que los diferentes comportamientos antidepredadores en *H. horridum* tienen un origen innato y que no son adquiridos por experiencia y la segunda planteó que se dan cambios en los componentes del comportamiento aversivo en las principales etapas de vida del lagarto.

Comportamiento aversivo de *Heloderma horridum* durante el desarrollo (Experimento II)

Métodos

Generales— Para determinar el origen innato o aprendido, así como la variación del comportamiento aversivo de *Heloderma horridum* se emplearon tres grupos de lagartos de acuerdo a su etapa de desarrollo, los cuales fueron sometidos a las mismas condiciones experimentales. El primer grupo consistió en ocho individuos juveniles (neonatos de LHC = 110-119 mm) que no tuvieron experiencia con depredadores, esta muestra permitió obtener respuestas del comportamiento innatas o en blanco, aspecto que permite verificar la capacidad de aprendizaje en los individuos en este tipo de estudios (Ford & Burghardt, 1993). Los individuos fueron colectados temporalmente en la región de Chamela, Jalisco y observados en laboratorio. El segundo grupo consistió en una muestra de nueve subadultos de aproximadamente 2 años de edad (LHC = 170-210 mm), los ejemplares nacieron en laboratorio y estuvieron alejados de otras especies de serpientes, lo que permitió que no tuvieran experiencia con posibles depredadores. Estos individuos fueron proporcionados por otros laboratorios y particulares. La tercer muestra consistió en 22 adultos (LHC = 410-380 mm) con experiencia a depredadores, capturados temporalmente en la misma zona de colecta y analizados en laboratorio.

Las serpientes que se emplearon como estímulos depredadores fueron *Boa constrictor* (Boidae) $n = 5$, *Crotalus basiliscus* (Viperidae) $n = 3$ y *Drymarchon corais* (Colubridae) $n = 5$. Cada una de estas especies se conoce como depredador potencial confirmado que genera un comportamiento antidepredador en la presa estudiada y otras especies (Weldon, 1982; Balderas-Valdivia, 2002).

Las condiciones de mantenimiento, ubicación, alimentación y manipulación de los lagartos y serpientes depredadoras fueron iguales a las realizadas en el experimento número I de este trabajo.

Diseño experimental— De cada ejemplar de las tres especies de serpientes se obtuvo una muestra quimiorreceptible para los lagartos por medio de aplicadores de algodón y colocados sobre varillas de madera de 50 cm de largo (4 mm de diámetro). El

método es el descrito en el capítulo anterior y que ha sido ampliamente utilizado en reptiles incluyendo helodermátidos (Burghardt, 1967; Burghardt & Hess, 1968; Cooper, 1989a; Cooper, 1989b).

Para realizar una prueba, el investigador se aproximó a la caja de un lagarto cuidadosamente, removió la tapa del refugio, y lentamente acercó la punta del aplicador hasta aproximadamente 2 cm de la región anterior del hocico del animal durante 60 s. El experimento inició después de que fue emitida la primera oscilación de la lengua por el lagarto.

Las variables de respuesta registradas fueron las frecuencias con las que aparecieron los siguientes cuatro comportamientos aversivos (ver Cuadro 1-1): 1) escapar, 2) ondular la cola, 3) resoplar y 4) aplanar el cuerpo.

Las pruebas fueron conducidas entre las 0900 y las 1300 h con el uso de horario local de la Ciudad de México, durante mayo a septiembre de 2001. Cada lagarto fue expuesto a un estímulo de serpiente por día y la temperatura se mantuvo entre los 28 y 30 °C durante el tiempo que se realizó el estudio, considerando las características ambientales naturales de la especie (Beck & Lowe, 1991). El estudio fue realizado con un intervalo de 20 min entre cada lagarto y siguiendo el método de muestreo de *pruebas ciegas*.

Estimaciones— Para establecer si hubo diferencias significativas en la frecuencia con que aparece cada comportamiento aversivo en cada grupo de lagartos, las variables se analizaron con métodos estadísticos no-paramétricos debido a que la variable de respuesta (proporción de aparición de cada comportamiento) se comporta con una distribución de frecuencia asimétrica Poisson. Para ello se empleó la prueba de Kruskal-Wallis que permitió comparar si varias muestras independientes tienen la misma distribución de probabilidad o mediana (Durán-Díaz *et al.*, 1986). De esta manera, la variable “tipo de comportamiento” (proporción de respuestas) se comparó con cada grupo de lagartos (juveniles, subadultos y adultos), formando bloques aleatorios en los experimentos y que ayudan a distribuir el error en muestras poco numerosas (Cooper, 1990a, b; Cooper & Alberts, 1990); es decir, cada grupo de lagartos recibió el estímulo de cinco ejemplares de *Boa constrictor*, tres ejemplares de *Crotalus basiliscus* y cinco ejemplares de *Drymarchon corais* de manera aleatoria.

Las hipótesis de significancia se plantearon en términos de igualdad, suponiendo la forma bilateral $H_0: \theta = \theta_0$, donde θ = cualquier parámetro y θ_0 = valor supuesto del parámetro; es decir, que el efecto de algún factor no cambió el valor de alguna de las variables. Fueron importantes las diferencias significativas entre medianas comparadas cuando $P < \alpha$, fijando el nivel de $\alpha = 0.05$, grados de libertad $gl = N-1$, donde N es el número de grupos de lagartos comparados.

Resultados

El efecto de los rastros químicos de los depredadores sobre el comportamiento en las diferentes condiciones de desarrollo de *Heloderma horridum* fue el siguiente: La frecuencia observada de la conducta de escape, no presentó diferencias significativas entre las poblaciones de juveniles sin experiencia (94.41 %), subadultos sin experiencia (93.81 %) y adultos con experiencia hacia sus depredadores (95.45 %, Kruskal-Wallis, $H = 0.62$, $P = 0.73$, $gl = 2$). Este comportamiento fue la frecuencia observada más elevada en los tres grupos (Cuadro. 3-1). La frecuencia del comportamiento ondular la cola en los lagartos juveniles sin experiencia (42 %), subadultos sin experiencia (28 %) y adultos con experiencia (7.07 %) causado por las serpientes tuvo diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $H = 6.05$, $P = 0.04$, $gl = 2$). La frecuencia de la conducta de resoplar también mostró diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $H = 6.4$, $P = 0.03$, $gl = 2$) entre el grupo de lagartos juveniles sin experiencia (63.9 %), subadultos sin experiencia (50.62 %) y adultos con experiencia (21.20 %). Finalmente, la frecuencia de la conducta aplanar el cuerpo en lagartos juveniles sin experiencia (52.75 %), subadultos sin experiencia (34.5 %) y adultos con experiencia (7.06 %) hacia sus depredadores mostró diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $H = 6.49$, $P = 0.04$, $gl = 2$).

De los tres grupos de lagartos analizados, los juveniles y subadultos tuvieron las mayores frecuencias observadas en las cuatro conductas descritas. Distintamente, los adultos desarrollaron bajas frecuencias en ondular la cola, resoplar y aplanar el cuerpo (Fig. 3-1).

Cuadro 3-1. Número promedio de respuestas observadas en tres etapas del desarrollo y diferente condición de experiencia de *Heloderma horridum* hacia serpientes depredadoras potenciales. Entre paréntesis aparece la proporción (%) en relación al total de observaciones = *n*. Se emplearon 8 juveniles, 9 subadultos y 22 adultos del lagarto. Los depredadores lo conformaron tres especies de serpientes (*Boa constrictor*, *Crotalus basiliscus* y *Drymarchon corais*).

Grupo	Escapar	Ondular la cola*	Resoplar*	Aplanar el cuerpo*	<i>n</i>
Juveniles sin experiencia	22.66 (94.41)	10 (42)	15.30 (63.90)	12.66 (52.75)	24
Subadultos sin experiencia	25.33 (93.81)	7.7 (28)	13.67 (50.62)	9.33 (34.50)	27
Adultos con experiencia	63 (95.45)	4.67 (7.07)	14 (21.20)	4.66 (7.06)	66

* $P < 0.05$ (Kruskal-Wallis, $\alpha = 0.05$) entre grupos y para el comportamiento señalado en esa columna.

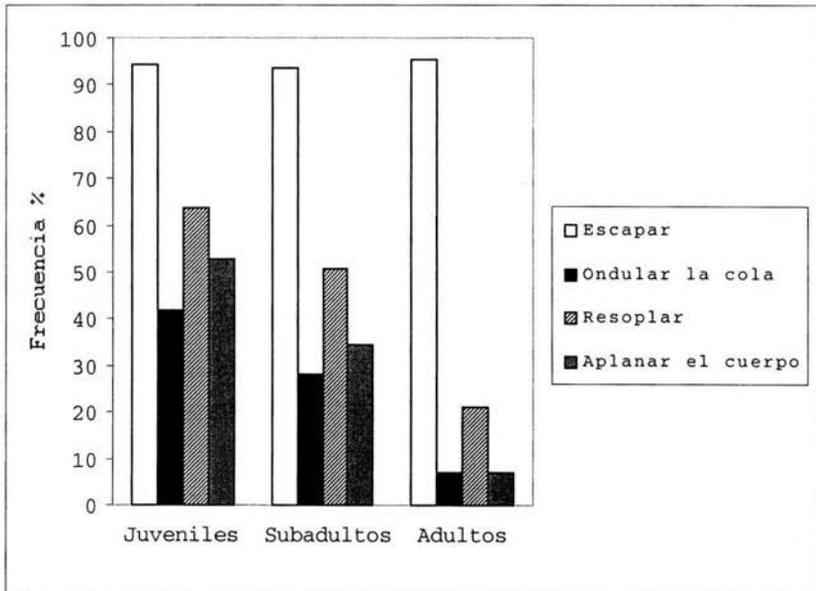


Fig. 3-1. Representación gráfica de la frecuencia de comportamientos aversivos observados en individuos juveniles sin experiencia, subadultos sin experiencia y adultos con experiencia de *Heloderma horridum* hacia estímulos químicos de las serpientes *Boa constrictor*, *Crotalus basiliscus* y *Drymarchon corais*.

Discusión y conclusión

De acuerdo con la comparación entre los ejemplares de *Heloderma horridum* sin experiencia con aquellos que tuvieron experiencia con sus depredadores potenciales, el comportamiento aversivo en su conjunto, parece ser una respuesta innata, que en sus primeras etapas, es más intensa porque sus componentes (las diferentes pautas conductuales) se ostentan con mayor frecuencia.

El factor experiencia previa o aprendizaje de reconocimiento hacia los depredadores no parece ocurrir en *H. horridum*, debido a que las formas juveniles y subadultas, que nunca fueron expuestas a estas experiencias, mostraron la misma gama de comportamientos que los adultos. Uno de los argumentos que apoya este supuesto, es que en estos dos grupos, los comportamientos aversivos fueron los más frecuentes, lo que hace pensar en una mayor posibilidad de que selección natural actúe ventajosamente desde las primeras etapas de vida. En especies que necesitan aprender a reconocer las fuentes de peligro durante su desarrollo el mecanismo se vuelve más complejo y puede tener efectos letales importantes. Para que la selección natural actúe sobre las características antidepredadoras, una parte de los individuos deben sobrevivir y heredar el rasgo que hizo posible su trascendencia, y esto solo ocurre cuando la depredación tiene efectos no letales en una parte de la población (Lima, 1998).

El aprendizaje en los reptiles es favorecido cuando las experiencias se dan repetidamente, permitiendo que se desarrollen las habilidades de rapidez e intensidad en la respuesta (Burghardt, 1977). En este mecanismo la memoria juega un papel muy importante en el aprendizaje, debido a que los animales pueden hacer discriminaciones finas por encima de muchas experiencias (Shettleworth, 2001). Sin embargo, es probable que este mecanismo opere con menor frecuencia en las presas, dado que aquellas que sobreviven es porque la exposición a sus enemigos es baja, de lo contrario no existirían. En sentido opuesto, el mismo mecanismo opera con eficiencia en los depredadores, puesto que alimentarse es una experiencia cotidiana a lo largo de toda su vida, lo que favorece el perfeccionamiento de la captura de sus presas con el tiempo.

En la mayoría de los estudios realizados con lagartijas y otros vertebrados los mecanismos conductuales para evitar a los depredadores muestran una trama ecológica

muy compleja, donde son mencionados componentes innatos importantes (Curio, 1976; Marcellini & Jenssen, 1991), aspecto contrario con los pocos casos conocidos donde las respuestas antidepredadoras son adquiridas (por ejemplo, Marcellini & Jenssen, 1991).

La anatomía y la longevidad de una lagartija muestran una variación en la evolución adaptativa de las estrategias antidepredadoras. Algunas especies viven poco, tienen tallas relativamente pequeñas y no muestran capacidad de aprendizaje para reconocer depredadores. Por ejemplo, varias especies de *Anolis* (Powell, 1967, 1968; Powell & Mantor, 1969) fueron sometidas experimentalmente a depredadores, con quienes sus respuestas de escape siempre fueron constantes desde la primera exposición. Sin embargo, estrategias como la urotomía y la regeneración del tejido caudal les brindan un contrapeso contra la falta de aprendizaje para reconocer la fuente de peligro. Las respuestas antidepredadoras innatas y los procesos de autotomía, parece que balancean la incapacidad de adquirir experiencias, de ahí que una alta proporción de los Squamata posean estas estrategias a nivel macroevolutivo (Vitt, 1983).

Otra combinación de estrategias se observa en las especies que viven varios años, que tienen tallas grandes y que también desarrollan respuestas defensivas sin necesidad de experiencias previas con los depredadores, solo que en este caso no poseen estrategias de autotomía y algunas tienen partes de cuerpo acorazadas como *Heloderma horridum*.

Lagartos como *Heloderma* sp., *Iguana iguana*, *Ctenosaura* sp. y *Phrynosoma* sp., entre otros, no tienen mecanismos de autotomía típicos, pero sus tallas corporales relativamente grandes en comparación con otros grupos de saurios, y sus cuerpos cubiertos con escamas protectoras en algunos casos, compensan los efectos depredatorios a falta de mecanismos de aprendizaje; en este caso, el reconocimiento de los depredadores y las respuestas programadas desde el nacimiento constituyen el mecanismo que ha sido favorecido por la selección natural.

En *H. horridum* es posible que el aumento de la talla del lagarto en la etapa adulta también compense la disminución en la intensidad de las otras pautas del comportamiento observadas. Blomberg & Shine (2000) y Vitt & Cooper (1986) han detectado en lagartijas con el sistema quimiorreceptor bien desarrollado como Scincidae, que la vulnerabilidad de las presas disminuye al aumentar sus tallas durante el desarrollo como ocurre en otros animales; sin embargo, aspectos morfológicos y conductuales no permanecen constantes y

se van ajustando a las exigencias ecológicas. Esto significa que en las primeras etapas de vida, los despliegues del comportamiento antidepredador como puede ser la simple huida o movimientos persuasivos, son un gasto de energía que puede ahorrarse en etapas más avanzadas de su desarrollo; en este caso, para otras necesidades como la búsqueda de alimento, pareja sexual, refugio, entre otros.

CAPÍTULO 4

Respuesta adaptativa de *Heloderma horridum* a la depredación: su correlación con la filogenia de las serpientes potencialmente depredadoras

Origen, evolución y diversidad de serpientes y helodermátidos

La biología ha tratado de definir la relación de parentesco entre los grupos de seres vivos conocidos, y las serpientes son uno de éstos grupos a pesar de su complejidad en comparación con otros Squamata. La filogenia de las serpientes es una herramienta para este estudio porque puede ayudar a explicar las posibles correlaciones entre mecanismos adaptativos de los helodermátidos hacia éstas, permitiendo comprender patrones de la interacción presa-depredador. Sin embargo, para entender estos procesos desde el punto de vista evolutivo o para describir la trayectoria de aspectos adaptativos de una especie, se requiere resolver previamente las relaciones de ancestría de las especies estudiadas (Harvey & Pagel, 1991; Polly, 2001).

Los diferentes autores han decidido definir a las serpientes con base en características faltantes más que en caracteres existentes, ésto es debido a que hay muchos grupos de reptiles cuyas historias evolutivas han resultado en morfologías y características muy parecidas a las de las serpientes, sin ser ésto evidencia de ancestría común (Goin & Goin, 1971; Pough *et al.*, 2001). Distintamente, linajes como los que dieron origen a los varanoideos, en los que se incluyen los helodermátidos, parecen ser mejor conocidos, donde incluso han surgido hipótesis en las que se propone que hay una relación de ancestría con las serpientes (Pregill *et al.*, 1986; Norell *et al.*, 1992; Cifelli & Nydam, 1995; Cifelli *et al.*, 1997).

Las características que definen al grupo Serpentes son las siguientes (Bellaris & Underwood, 1951; Cundall *et al.*, 1993; Scanlon & Lee, 2000; Tchernov *et al.*, 2000):

- No tienen extremidades, en la mayoría se han reducido la cintura pélvica y los huesos que forman parte de esas extremidades hasta su completa desaparición, las especies con vestigios pélvicos presentan huesos asociados como fémur, fíbula, calcáneo, metatarsal y falanges que se observan como un par de espolones a ambos lados de la cloaca. Esta morfología se observa en grupos de temprana aparición en la evolución de las serpientes como tiflópidos, boidos, *Anhlius*, *Cylindrophis* y *Anomochilus*.
- Poseen cuerpo cilíndrico, característica compartida con otros reptiles que les permite movimientos más ágiles y rápidos que en lagartos con extremidades, ésto favorece la depredación.

- Poseen gran número de vértebras, de 130 en algunos vipéridos hasta 400 en boas y atractápidos, que le permiten realizar entre 100 y 200 movimientos dorsoventrales y hasta 250 movimientos laterales, necesarios para manejar presas.
- No presentan párpados, los ojos están cubiertos por escamas modificadas o espectáculos, no poseen membrana nictitante, pero en algunas especies del género *Typhlops* se reconoce un estructura similar.
- Poseen lengua bífida, la división de los lóbulos linguales es profunda y aumenta el área superficial para la quimiorrecepción, aunque existen otros reptiles como los varanoideos *Heloderma*, *Varanus* y *Lanthanotus* que poseen lengua bífida muy semejante, aspecto que recuerda una posible relación de parentesco con las serpientes.

En las serpientes, los restos fósiles más antiguos de que se tiene registro datan de 120 a 125 millones de años (m. a.), del cretácico temprano al medio (Fig. 4-1). Durante algún tiempo, tres ejemplares fosilizados, relativamente bien conservados, dieron lugar a la idea de que el origen de las serpientes estuvo relacionado con un grupo de lagartos marinos ya extintos conocidos como mosasauridos (Caldwell, 1999; Scanlon & Lee, 2000; Tchernov *et al.*, 2000), contraponiéndose a la visión clásica de un origen terrestre. Sin embargo, recientemente resurge la hipótesis de este origen terrestre, en la que lagartijas del cretácico redujeron sus extremidades sobre la tierra (Vidal & Hedges, 2004).

Estudios relacionados también proponen que los lagartos varanoideos actuales (varánidos, lanthonátidos, helodermátidos) están cercanamente emparentados con los mosasauridos (Schwenk, 1994; Cohn & Tickle, 1999; Lee *et al.*, 1999; Scanlon & Lee, 2000; Tchernov *et al.*, 2000; Rieppel & Zaher, 2000), excluyéndose su parentesco directo con las serpientes hasta una posición más basal en la filogenia de los Esquamata (Vidal & Hedges, 2004).

Actualmente se reconocen entre 2700 y 3000 especies de serpientes distribuidas en el mundo (selvas, sabanas, desiertos, bosques, vegetación riparia, vegetación secundaria, océanos, ríos, lagos y ciudades) excepto los polos (Pough *et al.*, 2001, Gravlund, 2001). Cerca del 80%, son colubroideos que incluye a las familias Viperidae, Colubridae, Elapidae y el género *Atractaspis* (Kraus & Brown, 1998), el 20% restante está representado por los escolecofidios (serpientes gusano o serpientes ciegas), boidos y grupos poco conocidos (xenopeltidos, uropéltidos, anfíidos).

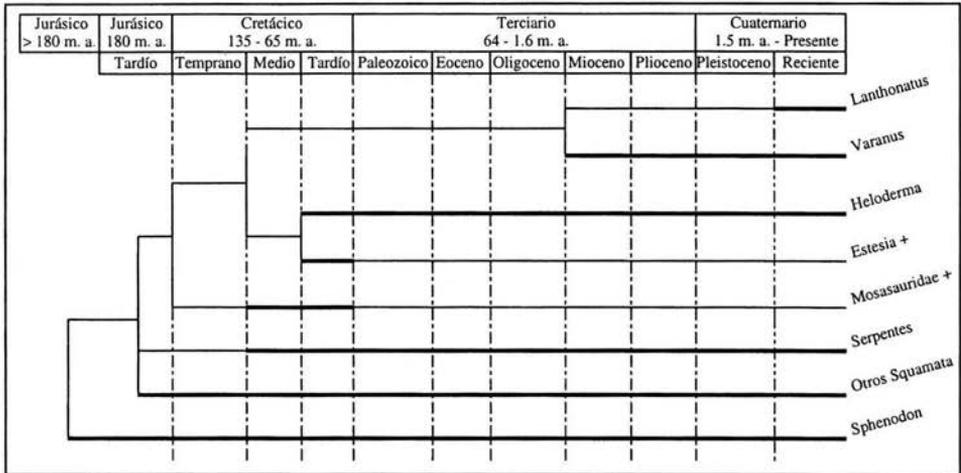


Fig. 4-1. Representación de los helodermátidos, serpientes y taxa afines actuales en el contexto de la escala de tiempo geológico (en millones de años = m. a.). Se incluyen algunos relativos extintos más cercanos (+). Las líneas delgadas indican el momento estimado de aparición durante el proceso de cladogénesis y las líneas gruesas representan los hallazgos fósiles existentes. Información tomada de Pregill *et al.* (1986), Norell *et al.* (1992), Cifelli & Nydam (1995), Coates & Ruta (2000), Pough *et al.* (2001) y Vidal & Hedges (2004).

Dada la diversidad de ambientes que han logrado colonizar también han explotado una gran cantidad de hábitos. Así, existen especies que son terrestres, arborícolas, rupícolas, cavadoras, dulceacuícolas, marinas o bien aquellas que suele encontrarse en más de uno de éstos (Pough, *et al.*, 2001).

Todas las serpientes son carnívoras y muchas de ellas están adaptadas para capturar presas difíciles que incluyen a los helodermátidos. Son conocidas por su capacidad de engullir presas de diámetro mayor al suyo debido a modificaciones en el cráneo, característica que no poseen los lagartos (Frazetta, 1966; Lee *et al.*, 1999). Se alimentan de los huevos de anfibios, reptiles o aves, también de invertebrados o vertebrados como lagartijas, aves, mamíferos e incluso de otras serpientes que además pueden ser tóxicas. Algunas se especializan en alimentarse de grandes cantidades de termitas como los leptoilópidos y escolecófidios (Kley & Brainerd, 1999).

Las serpientes actuales se clasifican en cerca de 20 familias (Underwood, 1967; Greene, 1997; Pough *et al.*, 2001) y difieren en cuanto a qué taxón o taxones deben considerarse como tales (por ejemplo, *Anomochilius*, *Cylindrophis*, *Loxocemus*, *Atractaspis* y otros) o como subfamilias (por ejemplo, Pythoninae). El problema radica en encontrar apomorfías que definan a los grupos y en un gran número de caracteres que pueden ser el resultado de convergencias y que dificultan una clasificación estable (Heise *et al.*, 1995; McDowell, 1987; Underwood, 1967). No obstante, existe un esquema de clasificación general (Pough *et al.*, 2001; Cuadro 4-1) en el que se basó este trabajo, con la única excepción de que el género *Loxocemus* fue considerado como parte de la familia Boidae por la relación estrecha que mantienen éste grupo (ver Underwood, 1967; Knight & Mindell, 1994; Heise *et al.*, 1995; Graham & McGonnell, 1999; Tchernov *et al.*, 2000; Vidal & Hedges, 2004). Para completar y establecer las relaciones filogenéticas dentro de las familias de serpientes actuales se consideraron las filogenias propuesta por Knight & Mindell (1994), Heise *et al.* (1995) y Vidal & Hedges (2004) representada en la Fig. 4-2.

Para la clasificación general de las serpientes dentro de los Squamata, los trabajos han tratado el tema desde el punto de vista morfológico (Bellaris & Underwood, 1951; Dowling, 1959; Dowling & Duellman, 1978; Underwood, 1967; McDowell, 1987; Cundall *et al.*, 1993; Greene, 1997; Scanlon & Lee, 2000; Tchernov *et al.*, 2000) y en menor número consideran caracteres moleculares (Heise *et al.*, 1995; Vidal & Hedges, 2004).

Cuadro 4-1. Resumen de la clasificación de Serpentes existentes de acuerdo a Pough, *et al.* (2001).

Familias	Infraordenes
Leptotyphlopidae Typhlopidae Anomalepididae	SCOLECOPHIDIA
Anomochilidae Uropeltidae Aniliidae Xenopeltidae Loxocemidae* Boidae* Bolyeriidae Xenophidiidae Tropidophiidae Acrochordidae Viperidae Colubridae Elapidae Atractaspididae	ALETHINOPHIDIA

* En este estudio consideradas juntas como Boidae.

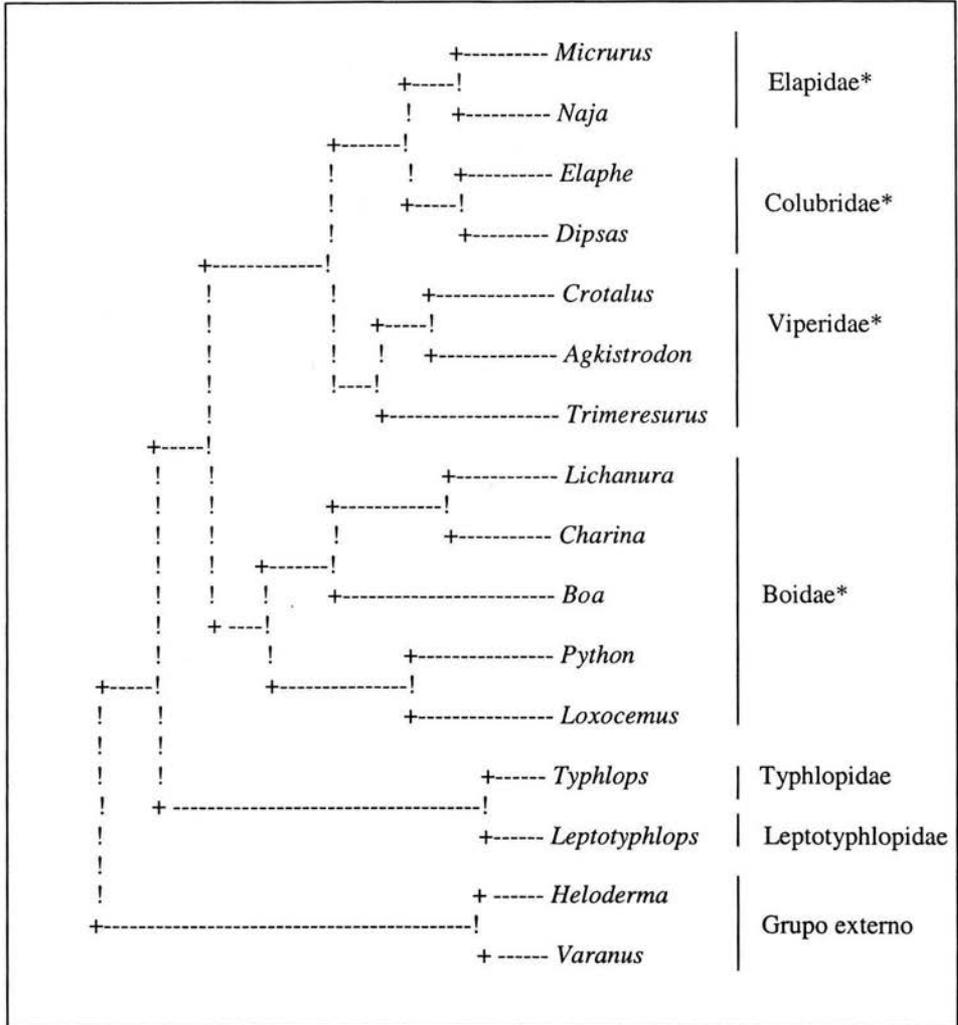


Fig. 4-2. Relación filogenética basada en Knight & Mindell (1994), Heise *et al.* (1995) y Vidal & Hedges, 2004) que incluye a géneros representantes de las principales familias de serpientes. Se señalan con asterisco los linajes que son de interés para este estudio.

En el caso de la clasificación de linajes específicos como los Boidae (Heise *et al.*, 1995; Graham & McGonnell, 1999; Tchernov *et al.*, 2000), Viperidae (Cadle, 1992; Knight *et al.*, 1992; Werman, 1992; Kraus *et al.*, 1996; Parkinson, 1999), Elapidae (Keogh, 1998; Keogh *et al.*, 1998; Slowinski & Keogh, 2000) y Colubridae (Rodríguez-Robles & De Jesús-Escobar, 1999; Kraus & Brown, 1998), las hipótesis recientes se han basado en caracteres morfológicos, moleculares y fósiles, mejorando la comprensión de las relaciones de parentesco.

Las hipótesis filogenéticas son muy importantes porque facilitan la ubicación de otras especies en una clasificación. Por ejemplo, las especies que cohabitan con *Heloderma horridum* como *Boa constrictor*, *Loxocemus bicolor* (Boidae), *Crotalus basiliscus*, *Agkistrodon bilineatus* (Viperidae), *Micrurus distans* (Elapidae), *Drymarchon corais*, *Masticophis mentovarius*, *Trimorphodon biscutatus*, *Oxybelis aeneus* (Colubridae) o las de otra geografía como *Charina trivirgata* (Boidae), *Crotalus molossus*, *Crotalus triseriatus* (Viperidae), *Micrurus limbatus* (Elapidae), *Pituophis deppei* y *Pseudoelaphe flavirufa* (Colubridae) empleadas en esta parte del estudio, pueden posicionarse como parte de una reconstrucción filogenética si no fueron consideradas en las hipótesis previas.

Una filogenia puede mostrar el camino evolutivo que ha seguido un grupo de seres vivos, y que a su vez, puede ayudar a conocer el camino de otras especies que han interactuado con este grupo. Una de estas posibles interacciones que ocupa este trabajo, es la correlación establecida entre algunos rasgos que han evolucionado en las serpientes y algunos rasgos de *H. horridum* que le permiten enfrentar la depredación de éstas; es decir, determinar si los rasgos analizados en el lagarto son una adaptación al ambiente. Con este fin, los estudios comparativos modernos se han interesado en determinar si la variación de un carácter influye en la variación de otro durante la evolución coexistente de las especies, permitiendo predecir el grado de variación (Martins & Hansen, 1997).

En el desarrollo del presente estudio, se elaboró un experimento para conocer este tipo de relaciones interespecíficas, y así establecer la correlación entre el cambio de la respuesta adaptativa de *H. horridum* y algunos rasgos de sus depredadores potenciales usando el método comparativo por contrastes filogenéticamente independientes propuesto por Felsenstein (1985). Esta herramienta usualmente estima la correlación entre el cambio

evolutivo en dos o más rasgos de un grupo filogenético (Harvey & Pagel, 1991); sin embargo, es posible evaluar la significancia estadística entre estos rasgos en respuesta a la evolución del ambiente (Martins & Hansen, 1997). El método toma en cuenta que los datos usados en estos modelos lineales no son independientes, pero sí su diferencia o contraste, además de tener un componente filogenético de efecto desconocido que incrementa la correlación en ambos rasgos comparados. El método transforma los fenotipos de las especies medidas en contrastes independientes estandarizados suponiendo que la evolución fenotípica puede ser descrita usando un modelo de movimiento Browniano y aplicando un algoritmo que considera la filogenia.

En este experimento se planteó la hipótesis de que existe una correlación evolutiva entre caracteres del comportamiento antidepredador de *Heloderma horridum* y caracteres de los depredadores potenciales, discutiéndose que esta correlación muestra una posible adaptación que dirige el esfuerzo defensivo a circunstancias de peligro real.

Estimación de ajustes adaptativos por el método comparativo (Experimento III)

Métodos

En el experimento se utilizaron cuatro caracteres como variables de respuesta, dos del comportamiento de *Heloderma horridum* y dos caracteres de las serpientes (Cuadro 4-2). Los caracteres del lagarto fueron: (1) latencia de ESC, que se obtuvo promediando el tiempo (*s*) que tardó en aparecer la respuesta aversiva en 22 individuos de *H. horridum* causada por 15 especies de serpientes. Los datos fueron tomados del experimento del capítulo 2. (2) cantidad de respuestas aversivas (RA) del lagarto, variable compuesta que fue el valor promedio de cuatro tipos de pautas conductuales producidas las serpientes en la muestra de 22 lagartos. Cuando el promedio fue igual a cero se asignó arbitrariamente el valor = 0.01 porque los algoritmos para el análisis de correlación solicitan entradas $X \neq 0$, donde *X* es el valor del fenotipo. Las conductas que conformaron esta variable compuesta fueron escapar, resoplar, aplanar el cuerpo y ondular la cola. Las mismas están descritas en el capítulo 1 de este trabajo y los datos también provienen del experimento del capítulo 2.

Cuadro 4-2. Valores crudos promedio de cada carácter evaluado ($\pm 1 DE$). ESC = latencia de escape y RA = número de respuestas aversivas de *Heloderma horridum*. RAP = rapidez de desplazamiento y MAS = masa, ambos de las serpientes depredadoras potenciales.

TAXA	Caracteres			
	ESC (s)	RA (#)	RAP (s)	MAS (g)
Ab	3.54 (1.60)	1.72 (0.98)	4.10 (0.85)	2030 (0.00)
Bc	2.81 (1.68)	2.90 (1.02)	6.40 (1.67)	10075 (0.00)
Cb	3.04 (1.59)	2.00 (0.62)	4.62 (0.55)	8055 (0.00)
Cm	6.36 (1.73)	1.54 (0.74)	4.59 (1.30)	3005 (0.00)
Ct	52.09 (2.31)	1.36 (0.85)	3.40 (1.33)	225 (0.00)
Dc	10.77 (2.31)	1.36 (0.66)	3.10 (1.10)	3150 (0.00)
Pf	60.00 (0.00)	0.01 (0.00)	3.95 (1.08)	700 (0.00)
Lb	9.41 (1.99)	2.45 (0.91)	5.10 (1.56)	450 (0.00)
Cht	16.27 (1.88)	1.54 (0.86)	5.45 (0.14)	355 (0.00)
Md	60.00 (0.00)	0.01 (0.00)	1.66 (0.46)	40 (0.00)
Ml	60.00 (0.00)	0.01 (0.00)	1.80 (0.74)	30 (0.00)
Mm	16.05 (2.17)	1.36 (0.50)	3.25 (1.26)	970 (0.00)
Oa	60.00 (0.00)	0.01 (0.00)	3.90 (1.15)	60 (0.00)
Pd	60.00 (0.00)	0.01 (0.00)	3.30 (1.22)	1150 (0.00)
Tb	60.00 (0.00)	0.01 (0.00)	5.05 (0.21)	620 (0.00)

Abreviaturas: Ab = *Agkistrodon bilineatus*, Bc = *Boa constrictor*, Cb = *Crotalus basiliscus*, Cm = *Crotalus molossus*, Ct = *Crotalus triseriatus*, Dc = *Drymarchon corais*, Pf = *Pseudoelaphe flavirufa*, Cht = *Charina trivirgata*, Lb = *Loxocemus bicolor*, Mm = *Masticophis mentovarius*, Md = *Micrurus distans*, Ml = *Micrurus limbatus*, Oa = *Oxybelis aeneus*, Pd = *Pituophis deppei*, Tb = *Trimorphodon biscutatus*.

Los caracteres de las serpientes fueron: (3) rapidez de desplazamiento de la serpiente (RAP), que consistió en el tiempo (*s*) promedio que tardó cada serpiente en pasar por un orificio de una caja de cartón a una temperatura de 28 a 30 °C. Cada serpiente fue estimulada suavemente por el mismo experimentador y con la misma intensidad, con una varilla de madera en el dorso del último tercio del cuerpo con el fin de que el desplazamiento fuera ininterrumpido, lo anterior permitió estimar su capacidad locomotora, y a su vez, inferir su habilidad depredadora. (4) masa de la serpiente (MAS) en g, que indica el grado de corpulencia de un depredador adulto. Los datos del carácter para las serpientes simpátricas representan el valor registrado de los ejemplares adultos colectados u obtenidos de Campbell & Lamar (1989), García & Ceballos, (1994), Ramírez-Bautista (1994) y Uribe-Peña *et al.* (1999). Para las serpientes alopátricas MAS constió en el valor registrado en los ejemplares adultos experimentados. En todos los casos se experimentó con 22 lagartos adultos y las diferentes especies de serpientes también fueron ejemplares adultos variando el número de individuos según lo descrito en el experimento del capítulo 2.

La filogenia de las serpientes experimentadas fue reconstruida tomando como base los trabajos de Knight & Mindell (1994), Heise *et al.* (1995) y Vidal & Hedges (2004). A nivel específico, si alguna de las 15 especies o géneros de este trabajo no fue incluida en un estudio filogenético citado, se colocó en el nodo de una familia o género similar reportado en Heise *et al.*, (1995), Graham & McGonnell (1999), Tchernov *et al.* (2000), Cadle (1992), Knight *et al.* (1992), Werman (1992), Kraus *et al.* (1996), Parkinson (1999), Keogh (1998), Keogh *et al.* (1998), Slowinski & Keogh (2000), Rodríguez-Robles & De Jesús-Escobar (1999) y Kraus & Brown (1998), el árbol filogenético resultante se consideró como la filogenia resuelta (Fig. 4-3). En la filogenia se emplearon nueve especies simpátricas con el lagarto y seis alopátricas. Las especies alopátricas relacionadas filogenéticamente con las simpátricas permitieron verificar que la respuesta del lagarto también ocurriera con serpientes emparentadas pero sin relación geográfica.

Para estimar la correlación entre caracteres, los valores de ESC y MAS se transformaron en sus logaritmos neperianos (\ln , base 2.7182) para rectificar la dispersión de puntos sobre la curva generada del modelo lineal estandar: $y = mx + b$, donde y es el carácter A, m es la pendiente de la recta, x es el carácter B, y b es la ordenada al origen (Daniel, 1999; Pagano, 1999). Para los caracteres RA y RAP se usaron los valores crudos.

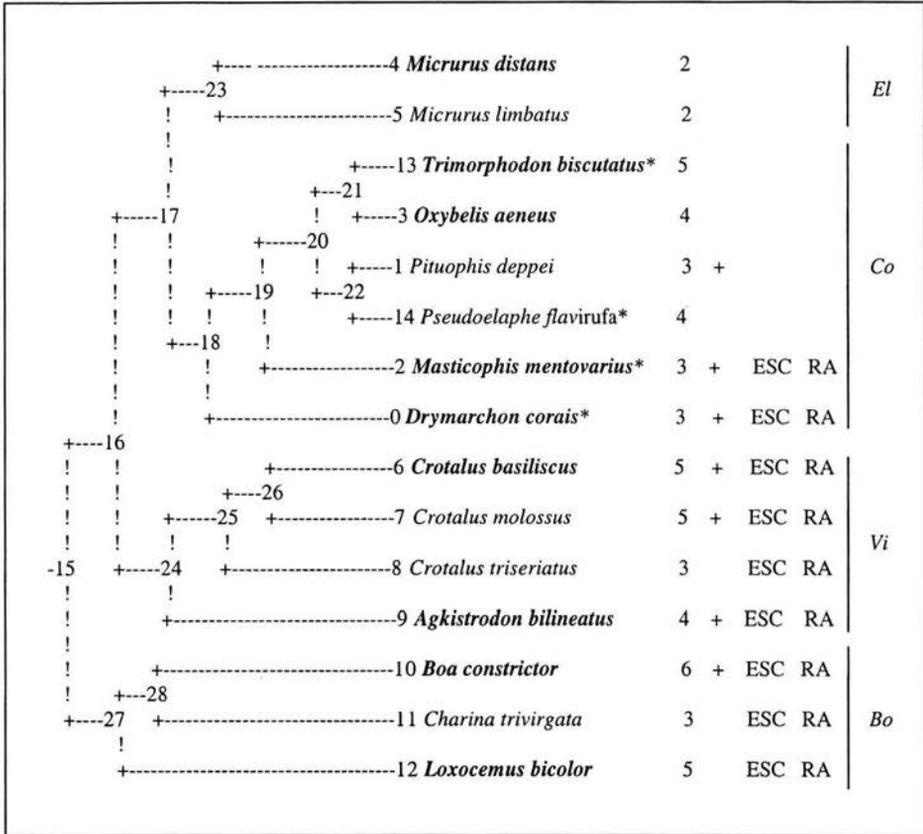


Fig. 4-3. Reconstrucción filogenética de las especies de serpientes simpátricas (en negritas) y alopátricas con *Heloderma horridum*. El asterisco indica las especies que fueron colocadas artificialmente en la filogenia (ver texto). Los números en los nodos y ramas terminales son una referencia para calcular los contrastes filogenéticamente independientes. Sobre la rama de cada especie se mapea la rapidez (*s*; redondeada a una cifra) de la serpiente, la masa ≥ 1000 g con el símbolo +, así como la presencia de las respuestas defensivas ESC (latencia de escape) y RA (cantidad de respuestas aversivas) causadas por esa serpiente en el lagarto. *El* = Elapidae, *Co* = Colubridae, *Vi* = Viperidae y *Bo* = Boidae.

Para saber si la respuesta aversiva de *Heloderma horridum* se adapta en respuesta al tipo de depredador se empleó como herramienta el método comparativo por contrastes filogenéticamente independientes (Felsenstein, 1985). Los contrastes fueron obtenidos y estandarizados con el programa Compare 4.4 (Martins, 2001; Cuadro 4-3). El paquete computó los datos implementando el método de contrastes independientes como un modelo lineal generalizado, comparando las combinaciones posibles de pares de rasgos y calculando los coeficientes de correlación r con la filogenia resuelta (Martins & Hansen, 1997). Finalmente se estimó la significancia de r -Pearson a $n - 2$ grados de libertad, donde $n = 14$ pares de contrastes y con un nivel de $\alpha = 0.05$ (Pagano, 1999).

Resultados

Las correlaciones entre los valores de los caracteres no contrastados Ln ESC vs. RAP, Ln ESC vs. Ln MAS y Ln ESC vs. RA indicaron que hubo una relación negativa entre rasgos ($y = -0.53x + 5.05$, $r = 0.56$, $P < 0.05$; $y = -0.53x + 6.38$, $r = 0.78$, $P < 0.001$ y $y = -1.08x + 4.10$, $r = 0.88$ respectivamente; $P < 0.001$ y t -Student = -0.53 , $gl = 12$ para los tres casos; Fig. 4-4, 4-5 y 4-6), mientras que las correlaciones entre los rasgos RA vs. Ln MAS y RA vs. RAP mostraron una relación de tipo positiva ($y = 0.36x - 1.28$, $r = 0.65$ y $y = 0.49x - 0.85$, $r = 0.63$ respectivamente; $P < 0.05$ y t -Student = -0.53 , $gl = 12$ para los dos casos, Fig. 4-7 y 4-8).

Los resultados obtenidos con la técnica de contrastes filogenéticamente independientes indicaron que los coeficientes de correlación para los 14 pares de contrastes estandarizados varían en cada caso de acuerdo a lo siguiente (Cuadro 4-4): se observó que hubo una correlación inversa y significativa entre ESC vs. RAP, ESC vs. MAS y entre ESC vs. RA ($r = -0.53$, $P < 0.05$; $r = -0.82$, $P < 0.001$ y $r = -0.79$, $P < 0.001$ respectivamente; t -Student = -0.53 , $gl = 12$ para los tres casos). La correlación positiva entre RA vs. MAS mostró diferencias significativas ($r = 0.70$, $P < 0.01$, t -Student = -0.53 , $gl = 12$); sin embargo, las variables RA vs. RAP mostraron una correlación sin diferencias significativas ($r = 0.51$, $P > 0.05$, t -Student = -0.53 , $gl = 12$). Únicamente la correlación RA vs. RAP mostró diferencias significativas con la correlación lineal simple, pero no fue significativa con el método de contrastes filogenéticamente independientes.

Cuadro 4-3. Contrastes estandarizados para cada par de contrastes de cada carácter. Incluye ± 1 desviación estandar (*DE*). El número en la columna del taxón representa el nodo de la filogenia reconstruida en la Fig. 4.3. Las abreviaturas se indican en el Cuadro 4-2.

Taxón I	Taxón II	<i>DE</i>	Caracteres			
			ESC	RA	RAP	MAS
Tb	Oa	1.414214	0.000000	0.000000	0.813173	1.654630
Pd	Pf	1.414214	0.000000	0.000000	-0.459619	0.353553
21	22	1.732051	0.000000	0.000000	0.490748	-0.889119
20	Mm	1.658312	0.795990	-0.814081	0.482418	-0.512569
19	Dc	1.623688	0.535817	-0.302342	0.271548	-0.910945
Md	Ml	1.414214	0.000000	0.000000	-0.098995	0.205061
18	23	1.766547	-0.781185	0.658795	0.870195	2.232584
Cb	Cm	1.414214	-0.523259	0.325269	0.021213	0.692965
26	Ct	1.581139	-1.562165	0.259307	0.762109	1.954288
25	Ab	1.612452	1.055536	-0.121554	-0.135198	-0.597847
17	24	1.842387	0.820712	-0.583603	-0.839812	-0.976186
Bc	Cht	1.414214	-1.244508	0.961665	0.671751	2.368808
28	Lb	1.581139	-0.208710	-0.145465	0.521776	0.907574
16	27	1.856509	0.283439	-0.659884	-1.158187	-0.161959

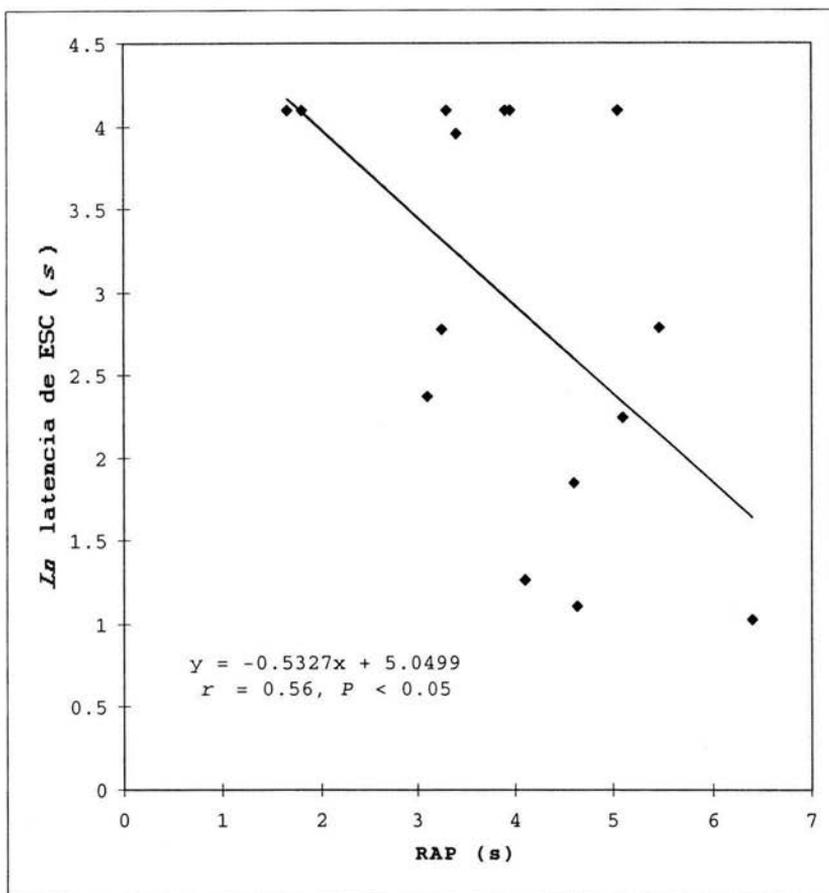


Fig. 4-4. Relación entre el Ln de la latencia de escape (ESC) de *Heloderma horridum* (abscisa) y la rapidez de desplazamiento (RAP) en segundos de 15 especies serpientes (ordenada). La ecuación lineal por mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación *r*-Pearson están indicados.

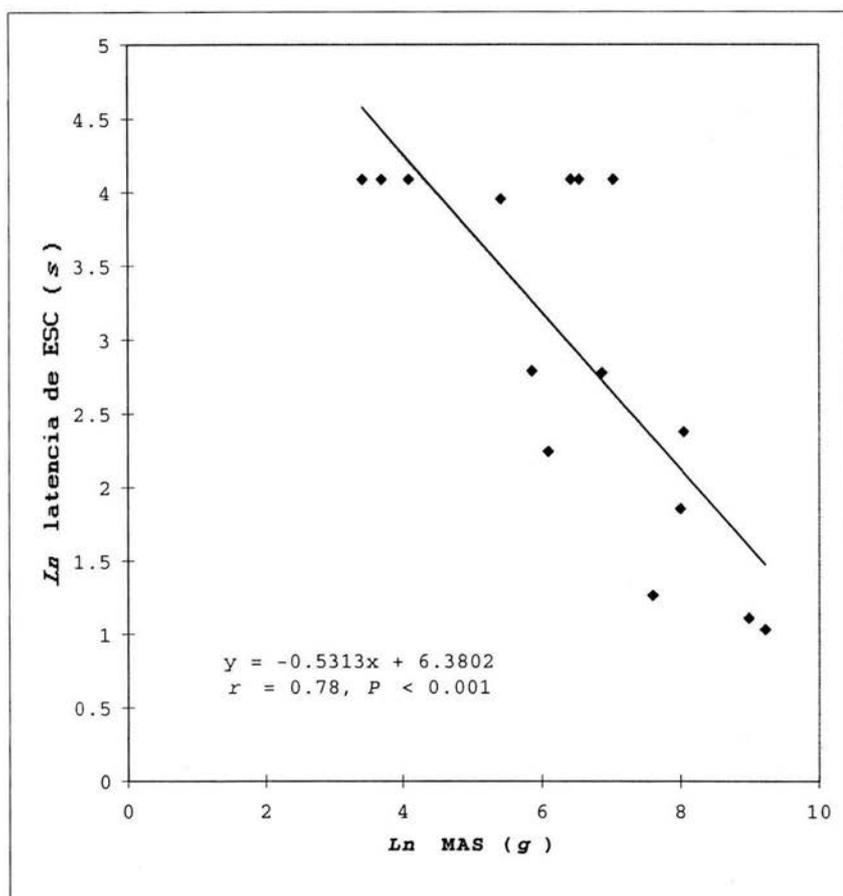


Fig. 4-5. Relación entre el Ln de la latencia de escape (ESC) en segundos de *Heloderma horridum* (abscisa) y el Ln de la masa del cuerpo (MAS) en gramos de las serpientes (ordenada). La ecuación lineal por mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación *r-Pearson* están indicados.

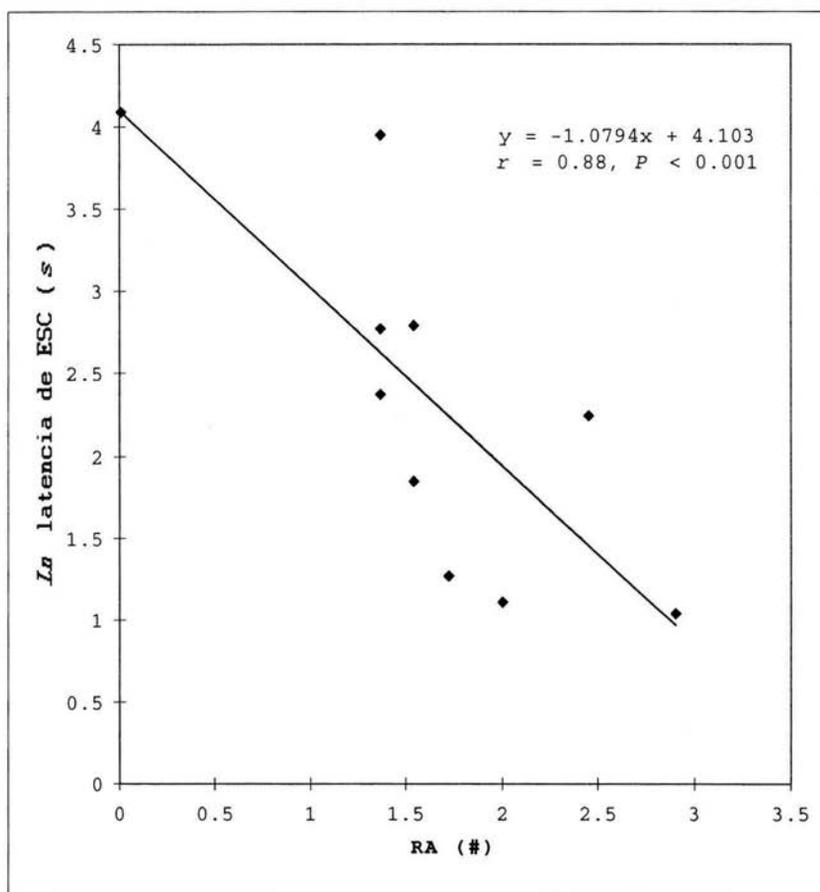


Fig. 4-6. Relación entre el Ln de la latencia de escape (ESC) en segundos (abscisa) y la cantidad de respuestas aversivas (RA) de *Heloderma horridum* (ordenada). La ecuación lineal por mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación *r*-Pearson están indicados.

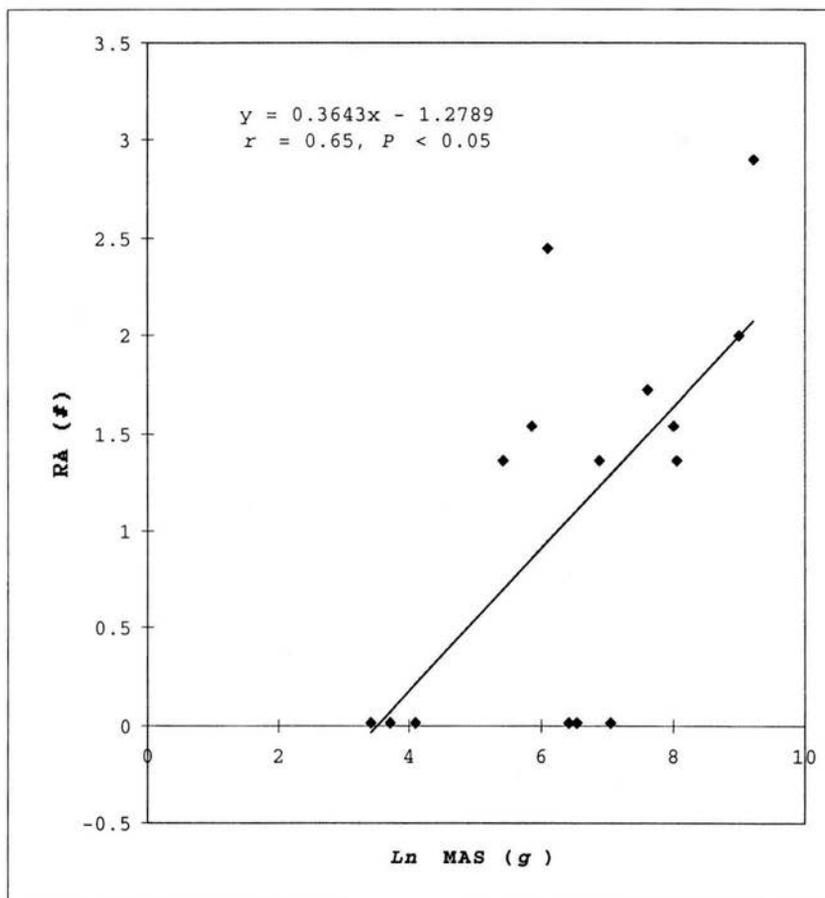


Fig. 4-7. Relación entre la cantidad de respuestas aversivas (RA) de *Heloderma horridum* (abscisa) y el Ln de la masa del cuerpo (MAS) en gramos de las serpientes (ordenada). La ecuación lineal por mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación *r-Pearson* están indicados.

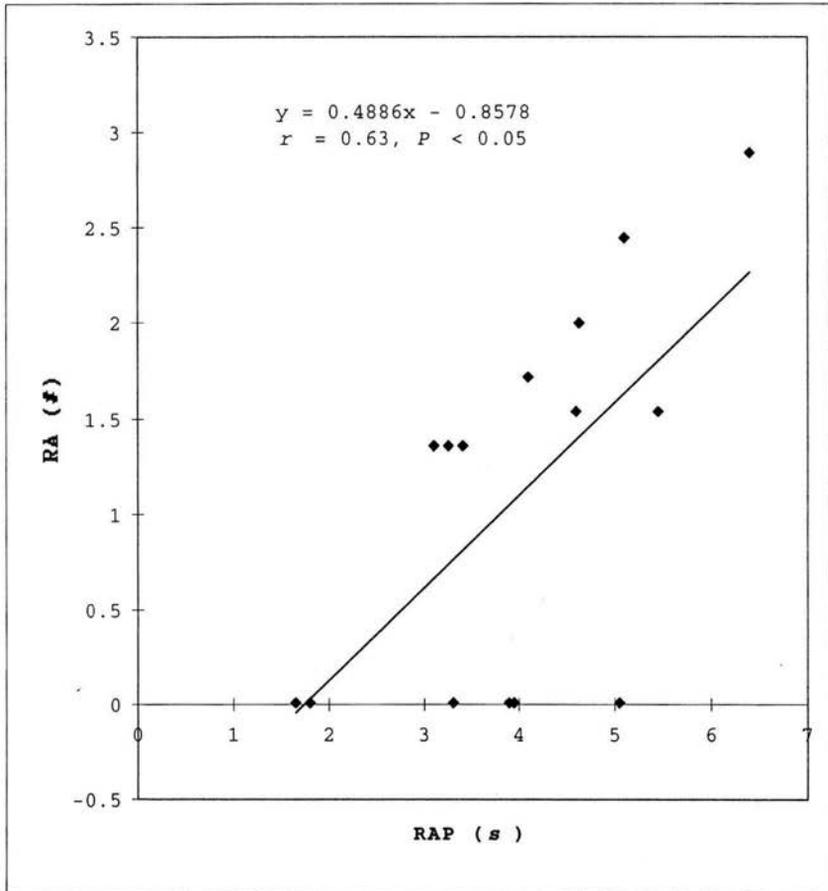


Fig. 4-8. Relación entre la cantidad de respuestas aversivas (RA) de *Heloderma horridum* (abscisa) y la rapidez de desplazamiento (RAP) en segundos de 15 especies serpientes (ordenada). La ecuación lineal por mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación *r-Pearson* están indicados.

Cuadro 4-4. Coeficientes de correlación r calculados con los datos crudos y contrastados en todas las combinaciones de caracteres comparados. ESC = latencia de escape y RA = cantidad de respuestas aversivas de *Heloderma horridum*; RAP = rapidez de desplazamiento y MAS = masa corporal de las serpientes.

Carácter		r	
A	B	(Datos crudos)	(Contrastes)
ESC	RAP	0.56 *	-0.53 *
ESC	MAS	0.78 ***	-0.82 ***
ESC	RA	0.88 ***	-0.79 ***
RA	MAS	0.65 *	0.70 **
RA	RAP	0.63 *	0.51

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.
 t -Student = 0.53, $gl = 12$, $\alpha = 0.05$.

Discusión y conclusión

El comportamiento de un individuo requiere como base biológica un sistema neurológico para la percepción de su entorno y para ejercer la acción motora correspondiente, y éste tiene como origen en todos los seres vivos el principio: comer, sin ser comido (Begon, *et al.*, 1990; Cruells, 1991; Abrams, 2000). En términos históricos, significa que la presa y el depredador han evolucionado uno a costa del otro, donde el legado de estrategias de cada uno reflejan su larga coexistencia (Krebs & Davies, 1991).

De forma análoga, la competencia por sobrevivir en la relación presa-depredador se ha visto como la carrera armamentista en la biología evolutiva (Krebs & Davies, 1991; Begon, *et al.*, 1990), implicando que hay una acción constante y cambiante de aquellos rasgos o fenotipos que favorecen la sobrevivencia y que conocemos como adaptación (Nelson & Platnick, 1981; Wiley, 1981). En correspondencia, las variables estímulo *vs.* respuestas aversivas de *Heloderma horridum* analizadas se muestran como un indicador del valor adaptativo porque se observa una correlación de una causa contra su efecto, condición señalada el método comparativo (Felsenstein, 1985; Krebs & Davies, 1991; Martins & Hansen, 1997) y también porque el método de análisis convencional de correlación de caracteres lo refleja. En el experimento, las serpientes fungen como la causa emisora de peligro y *H. horridum* como el receptor, sin ser casualidad que los caracteres de la presa y del depredador muestren correspondencia entre sí.

Los coeficientes de correlación obtenidos con los métodos convencionales y comparativos (Cuadro 4-4) indicaron una tendencia significativa, permitiendo establecer que la latencia de ESC en el lagarto es menor cuando la RAP disminuye y la MAS de las serpientes incrementa. Es posible que una respuesta de huida lenta del lagarto hacia un enemigo poco peligroso, podría beneficiarla en un ahorro de energía, quizá más necesaria para continuar la búsqueda de otros recursos necesarios. Contrariamente, una respuesta de huida más rápida en contra de un depredador con mayor afinidad a su presa, puede garantizar la sobrevivencia del lagarto, de manera que la selección natural pueda favorecer caracteres que trasciendan en la descendencia de la especie (ver Begon *et al.*, 1990; Abrams, 2000).

Heloderma horridum, al igual que otros forrajeros activos, es un lagarto que usa estrategias antidepredadoras económicas como la quimiorrecepción y su aspecto críptico porque evitan los riesgos más que invertir recursos para enfrentarlos (Bogert & Martín del Campo, 1956; Beck *et al.*, 1995). Esto resulta congruente con la hipótesis de que el reconocimiento previo y preciso de los estímulos quimiosensibles que poseen varias formas reptilianas permiten ahorrar energía al evitar falsos ataques a estímulos inocuos o desconocidos (Nicoletto, 1985a; Nicoletto, 1985b).

Los resultados con los dos métodos de comparación permitieron observar que hay una correlación significativa entre la respuesta de ESC y RA. Las conductas de escape, resoplido, cuerpo aplanado y ondular la cola resumidas en RA parecen combinarse cuando disminuye el riesgo por depredación. Si la magnitud del peligro no es muy importante, entonces es posible que otras estrategias pueden desempeñar una función únicamente para persuadir al depredador. Cuando el riesgo es inminente, es probable que los lagartos concentren la mayor parte de su energía para escapar y evitar la depredación. Esta interpretación basada en los resultados, también se observa en escincos, en quienes sus mecanismos para detectar señales químicas están asociados con la intensidad de los factores de riesgo por depredación (Head *et al.*, 2002).

Si bien el comportamiento de escape rápido del lagarto se expresa con variabilidad en su intensidad (ver Cuadro 4-2), esta respuesta corresponde con los grandes depredadores como boidos y crotádos, pero no con los ágiles y modernos colúbridos. La respuesta aversiva en *Heloderma horridum* parece ser gradual a la posición filogenética de las serpientes si se considera que ESC fue más vigorosa con serpientes depredadoras primitivas como boidos y que poseen cuerpos robustos; mientras que el escape de los lagartos con serpientes modernas como los colúbridos tuvo una tendencia a ser lento. Es probable que un mayor tiempo de coexistencia con las serpientes primitivas favoreciera una mejora en los mecanismos de reconocimiento de los depredadores. Datos fósiles, por ejemplo con los Boidae americanos, muestran una coexistencia de por lo menos 38 m. a. (Kluge, 1993), mientras que las serpientes más modernas tienen menos de 10 m. a. (Zug, 1993; Holman, 2000).

El efecto del tamaño de las serpientes sobre sus presas ya es conocido, y se ha sugerido que la talla grande es un factor que ha estimulado la evolución de habilidades de

reconocimiento de presas reptilianas (Ernest & Zug, 1996). Este efecto desde luego guarda semejanza en la comparación de RA vs. MAS debido a que el número de conductas aversivas tuvo correlación con el tamaño de las serpientes, suceso en el que se pudo ver que cuando aumentó el factor riesgo, todas las estrategias antidepredadoras se activaron gradualmente.

La aparición de estrategias defensivas simultáneas para equilibrar la presión selectiva del enemigo es comúnmente vista en la relación depredador-presa en saurios (Greene, 1988). Escape locomotor rápido, disminución de la tasa de oscilación de la lengua, morder, curvar el cuerpo, resoplar, enrollar el cuerpo en la cabeza, vibración de la cola, entre otros son ejemplos ya mencionados (Chiszar *et al.*, 1978; Weldon, 1982; Mori, 1990; Arnold, 1993; Bille, 1997). Con estas adaptaciones se ha propuesto que la presa intenta causar ineficacia en las estrategias de localización, ataque y dominio que su enemigo ha desarrollado (ver Mori, 1991; Russell, 1999; Van Heest & Hay, 2000). No obstante, los análisis con el método convencional y comparativo no son estrictamente consistentes cuando se comparó el número de respuestas aversivas (RA) contra la rapidez de las serpientes (RAP). La correlación convencional mostró diferencias significativas en el valor de la pendiente ($r = 0.63$, $P < 0.05$), pero en la correlación de contrastes, el coeficiente indicó una diferencia que no es significativa ($r = 0.51$, $P > 0.05$). Sin embargo, la proximidad al punto crítico (t -Student = 0.53) con el método comparativo sugiere un estudio a futuro para verificar posibles errores de método o incorporar más información de la varianza. Si fuera el último caso, en el problema debe considerarse que hay varios factores involucrados no contemplados y que generan patrones irregulares del comportamiento. Por ejemplo, alrededor del 70% de las familias de serpientes tienen intervalos muy amplios en su capacidad de movimiento durante el desarrollo ontogénico (Ernest & Zug, 1996), y que se dan como respuesta para mejorar la captura de su presa (Arnold, 1993).

Si un depredador puede desarrollar una preferencia genética diferente por determinados tipos de presa como se ha visto en algunos colúbridos (Arnold, 1981a, 1981b), entonces es muy probable que también las presas desarrollen adaptativamente respuestas a fuerzas selectivas específicas. Por ejemplo, los escorpiones mostraron una respuesta aversiva a vipéridos simpátricos y cualquier serpiente emparentada de

distribución alopatrica de una misma forma porque descubrieron un peligro potencial. Con el mismo mecanismo, pero con el efecto contrario, los lagartos no mostraron conducta aversiva a elápidos simpátricos o serpientes alopatricas relacionadas porque el riesgo potencial no es el mismo o no existe con este grupo taxonómico.

El efecto del olor de colúbridos simpátricos como alopatricos no fue claro, debido a que sólo dos serpientes simpátricas causaron escape en *Heloderma horridum*, pero ninguna especie alopatrica tuvo efecto en los mismos. Una explicación parcial puede ser que la aparición de los colúbridos en el planeta es más reciente que la de otras serpientes. En America, por ejemplo, los colúbridos se muestran representados desde hace 6 m. a. (Zug, 1993; Holman, 2000), mientras que otros linajes como los vipéridos cuentan con 24 m. a. (Holman, 1964; Miller, 1980). Algunas sugerencias indican que sólo si el colúbrido ha mantenido una interacción depredador-presa en el pasado reciente, podría darse una conducta antidepredadora (Head *et al.*, 2002). Por esta razón puede esperarse que las serpientes modernas y los lagartos aún existentes, sin la relación ecológica, no muestren un patrón esperado.

Si bien el análisis convencional y el del método comparativo no coincidieron en un caso, en la mayoría de las correlaciones dan un enfoque para inferir que la respuesta defensiva de *Heloderma horridum* ha evolucionado en respuesta al tipo de depredadores que representan una fuente de peligro real. La conducta en los lagartos también parece estar correlacionada con el cambio evolutivo de los cinco taxa de depredadores con quien coexiste. Como ya se ha señalado, las estrategias antidepredadoras desplegadas hacia especies filogenéticamente relacionadas con los depredadores naturales del lagarto podrían verse como un mecanismo de exaptación, que podría beneficiar la distribución futura en otras áreas a estos lagartos. Sin embargo, esto requerirá un estudio más extenso con datos históricos para conocer la tendencia adaptativa de ésta y otras especies relacionadas.

Puede sorprender que un lagarto de talla grande y con armas químicas para su defensa como *H. horridum* requiera además de otros mecanismos antidepredadores, pero de hecho, ese conjunto de estrategias complejas es lo que le ha permitido enfrentar las circunstancias de peligro ante serpientes depredadoras en más de 38 m. a. de probable coexistencia según la información histórica (Pregill *et al.*, 1986; Kluge, 1993; Zug, 1993; Cifelli & Nydam, 1995; Scanlon & Lee, 2000).

Conclusión general

Se concluye que hay una respuesta adaptada de *H. horridum* a sus principales depredadores, en la que el reconocimiento específico de éstos dirige la energía del comportamiento a situaciones reales de peligro. Los datos indicaron que el comportamiento aversivo tiene un origen congénito y no necesitan ser aprendidos los componentes observados. La conducta es más vigorosa en etapas primarias del desarrollo, probablemente como una adaptación que compensa la vulnerabilidad en presas aún pequeñas. En los adultos, la reducción de pautas del comportamiento probablemente le permitan ahorrar energía para otro tipo de necesidades vitales.

El estudio indica que la variación de un rasgo del comportamiento aversivo puede predecirse por la medida de otro que proviene de los depredadores potenciales. La masa del cuerpo y la rapidez de las serpientes son los rasgos que mejor explican el comportamiento de escape del lagarto como una estrategia adaptativa.

La conducta aversiva parece estar mejor adaptada a serpientes que guardan una posición más basal en su filogenia que con descendientes más distantes. Lo anterior sugiere que el comportamiento defensivo en los lagartos se correlaciona con el cambio evolutivo de sus principales depredadores, las serpientes.

Un análisis a futuro de la biogeografía de los depredadores permitiría conocer si la intensidad del comportamiento es proporcional a la distribución de éstos. Finalmente, un estudio comparativo con otros saurios permitiría saber si el patrón conductual de *Heloderma horridum* tiene constantes o sólo es una característica con adaptaciones particulares dirigidas a la especialización antidepredadora en la evolución reptiliana.

Literatura citada

- Abrams, P. A. 2000. The evolution of predator-prey interactions: theory and evidence. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:79-105.
- Agosta W. C. 1992. Chemical communication. The language of pheromones. Scientific American Library. USA.
- Alagón, A. C., M. E. A. Maldonado, J. Z. Juliá, C. Sánchez, & L. D. Possani. 1982. Venom from two sub-species of *Heloderma horridum* (mexican beaded lizard): general characterization and purification of n-benzoyl-L-arginine ethyl ester hydrolase. *Toxicon* 20:463-475.
- Álvarez del Toro, M. 1982. Los reptiles de Chiapas. Colección. Instituto de Historia Natural, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Ammons, R. B. 1956. Effect of knowledge of performance: a survey and tentative theoretical formulation. *Journal of Genetic Psychology* 54:279-299.
- Andersen, N. M. 1995. Cladistic inference and evolutionary scenarios: Locomotory structure, function, and performance in water striders. *Cladistics* 11:279-295.
- Applegate, R. 1991. Tails of Gila monster and beaded lizard. Northern California herpetological society captive propagation and husbandry conference. Esp. Pub. No. 6.
- Ardila, R. 1986. Psicología experimental: manual de laboratorio. Trillas . México.
- Arnold, S. J. 1981a. Behavioural variation in natural populations. I. Phenotypic, genetic and enviromental correlations between chemoreceptive responses to prey in the garter snake *Thamnophis elegans*. *Evolution* 35:489-509.
- Arnold, S. J. 1981b. Behavioural variation in natural populations. II. The inheritance of a feeding response in crosses between geographic races of the garter snake *Thamnophis elegans*. *Evolution* 35:510-515.
- Arnold, S. J. 1993. Foraging theory and prey size-predator-size relations in snakes. *In*: Snakes. Ecology and Behaviour. R. A. Siegel & J. T. Collins (Eds). McGraw-Hill, Inc. USA. Pp. 87-115.
- Balderas-Valdivia, C. J. 2002. El papel de la quimiorrecepción y la visión en el reconocimiento del alimento y de los depredadores potenciales de *Heloderma*

- horridum* (Squamata: Helodermatidae). Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana 10:15.
- Baum, D. A. & A. Larson. 1991. Adaptation reviewed: A phylogenetic methodology for studying character macroevolution. Systematic Zoology 40:1-18.
- Bealor M. T. & C. O. Krekorian. 2002. Chemosensory identification of lizard-eating snakes in the desert iguana, *Dipsosaurus dorsalis* (Squamata: Iguanidae). Journal of Herpetology 36:9-15.
- Beck, D. D. 1990. Ecology and behavior of the Gila Monster in southwestern Utha. Journal of Herpetology 25:54-68.
- Beck, D. D. & A. Ramírez-Bautista. 1991. Combat behavior of the beaded lizard, *Heloderma h. horridum*, in Jalisco, México. Journal of Herpetology 25:481-484.
- Beck, D. D. & C. H. Lowe. 1991. Ecology of beaded lizard, *Heloderma horridum*, in a tropical dry forest in Jalisco, México. Journal of Herpetology 25:395-406.
- Beck, D. D., M. R. Dohm, T. Graland, Jr., A. Ramírez-Bautista & C. H. Lowe. 1995. Locomotor performance and activity energetics of helodermatid lizards. Copeia 1995:577-585.
- Begon, M., J. L. Harper & C. R. Townsend. 1990. Ecology. Individuals, Populations and Communities. 2nd. Ed. Blackwell Scientific Publications. Lodon.
- Bellaris, A. D. A. & G. Underwood. 1951. The origin of snakes. Biological Review. Cambridge Philosophical Society 26:193-237.
- Bille, T. 1997. *Barisia imbricata planifrons* (Oaxacan imbricate aligator lizard). Antipredator Behavior. Herpetological Review 28:202.
- Blomberg, S. P. & R. Shine. 2000. Size-based predation by kookaburras (*Dacelo novaeguineae*) on lizards (*Eulamprus tympanum*): what determines prey vulnerability?. Behavior Ecology and Sociobiology 48:484-489.
- Bofill, M. E. & A. R. Lewis, 1999. Detection of socially relevant chemical cues by the lizard *Ameiva exsul*. Journal of Herpetology 33:713-715.
- Bogert, C. M. & R. Martín del Campo. 1956. The gila monster and its allies. The relationships, habitats, and behavior of the lizards of the family Helodermatidae. Bulletin of the American Museum of Natural History 109:1-238.

- Brennan, P. A. 2001. The vomeronasal system. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58:546–555.
- Brooks, D. R. & D. A. McLennan. 1991. *Phylogeny, ecology and behavior: A research program in comparative biology*. Chicago. University of Chicago Press.
- Brown, W. S. & F. M. McLean. 1983. Conspecific scent-trailing by newborn timber rattlesnake, *Crotalus horridus*. *Herpetologica* 39: 430-436.
- Burger, J. 1990. Response of hatchling pine snakes (*Pituophis melanoleucus*) to chemical cues sympatric snakes. *Copeia* 1990:1160-1163.
- Burghardt, G. M. 1967. Chemical-cue preferences of inexperienced snakes: comparative aspects. *Science* 157:718-721.
- Burghardt, G. M. 1977. Learning processes in reptiles. *In: Biology of the reptilia*. Vol. 7. C. Gans & D. Tinkle (Eds.). Academic Press. N. Y. Pp. 555-681.
- Burghardt, G. M. & E. H. Hess. 1968. Factors influencing the chemical release of prey attack in newborn snakes. *Journal of Comparative Physiological Psychology* 2:289-295.
- Cadle, J. E. 1992. Phylogenetic relationships among vipers: immunological evidence. *In: Biology of the pitvipers*. J. A. Campbell & E. D. Brodie, Jr. (Eds.). Texas E. U. A. Selva. Pp. 41-48.
- Caldwell, M. W. 1999. Squamate phylogeny and the relationships of snakes and mosasauroids. *Zoological Journal of the Linnean Society* 125:115-147.
- Campbell, J. A. & W. L. Lamar, 1989. *The venomous reptiles of Latin America*. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York.
- Carpenter, J. M. 1989. "Testing scenarios: Wasp social behavior". *Londres. Cladistics* 5:131-144.
- Cifelli, R. L. & R. L. Nydam. 1995. Primitive helodermatid-Like platynotan from early cretaceous of Utha. *Herpetologica* 51:286-291.
- Cifelli, R. L., J. I. Kirkland, A. Weil, A. L. Deino, & B. J. Kowallis. 1997. High-precision $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ geochronology and the advent of North America's Late Cretaceous terrestrial fauna. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 94:11163-11167.
- Coates, M. & M. Ruta. 2000. Nice snake, shame about the legs. *Tree* 15:503-507.

- Cock Buning, T. de. 1983. Thermal sensitivity as a specialization for prey capture and feeding in snakes. *American Zoologist* 23:363-375.
- Cohn, M. J. & C. Tickle. 1999. Developmental basis of limblessness and axial patterning in snakes. *Nature* 399:474-479.
- Cooper, W. E. Jr. 1989a. Prey odor discrimination by the broad-headed skink (*Eumeces laticeps*). *Journal of Experimental Zoology* 249:11-16.
- Cooper, W. E. Jr. 1989b. Prey odor discrimination in the varanoid lizards *Heloderma suspectum* and *Varanus exanthematicus*. *Ethology* 81:250-258.
- Cooper, W. E. Jr. 1990a. Prey odor detection by teiid and lacertid lizard and the relationship of prey odor detection to foraging mode in lizard families. *Copeia* 1990:237-242.
- Cooper, W. E. Jr. 1990b. Prey odor discrimination by anguid lizards. *Herpetologica* 46:183-190.
- Cooper, W. E. Jr. 1990c. Chemical detection of predators by a lizard, the broad-headed skink (*Eumeces laticeps*). *Journal of Experimental Zoology* 256:162-167.
- Cooper, W. E. Jr. 1992. Prey odor discrimination and poststrike elevation in tongue flicking by a cordylid lizard, *Gerrhosaurus nigrolineatus*. *Copeia* 1992:146-154.
- Cooper, W. E. Jr. 1995. Foraging mode, prey chemical discrimination, and phylogeny in lizards. *Animal Behaviour* 50:973-985.
- Cooper, W. E. Jr. 1998. Conditions favoring anticipatory and reactive displays deflecting predatory attack. *Behavior Ecology* 9:598-604.
- Cooper, W. E. Jr. 1999. Tradeoffs between courtship, fighting, and antipredatory behaviour by lizard, *Eumeces laticeps*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 47:54-59.
- Cooper, W. E. Jr. & A. C. Alberts. 1990. Responses to chemical food stimuli by an herbivorous, actively foraging lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. *Herpetologica* 46:259-266.
- Cooper, W. E. Jr. & J. J. Habegger. 2000. Lingual and biting responses to food chemicals by some eublepharid and gekkonids geckos. *Journal of Herpetology* 34:360-368.

- Cooper, W. E. Jr., G. W. Ferguson, & J. J. Habegger. 2001. Response to animal and plant chemicals by several iguanian insectivores and the tuatara, *Sphenodon punctatus*. *Journal of Herpetology* 35:255-263.
- Cooper, W. E. Jr., J. A. Lemos-Espinal, & G. R. Smith. 1998. Presence and effect defensiveness or context on detectability of prey chemical discrimination in the lizard *Xenosaurus platyceps*. *Herpetologica* 53:409-413.
- Crews, D. & W. R. Garstka. 1982. The ecological physiology of reproduction in the garter snake. *Scientific American* 247:158-168.
- Crews, D., B. Camazine, M. Diamond, R. Mason, R. R. & Tokarz, W. R. Garstka. 1984. Hormonal independence of courtship behaviour in the male garter snake. *Hormones and Behavior* 18:29-41.
- Cruells, E. 1991. El comportamiento animal. Salvat. Epaña.
- Cundall, D., V. Wallach, & D. A. Rossman. 1993. The systematic relationships of the snake genus *Anomochilus*. *Zoological journal of the Linnean Society* 109:275-299.
- Curio, E. 1976. The ethology of predation. Springer Verlag, Berlin.
- Chiszar, D. & C. W. Radcliffe. 1976. Rate tongue flick by rattlesnakes during successive stages of feeding on rodent prey. *Bulletin of the Psychonomic Society* 7:485-486.
- Chiszar, D., C. W. Radcliffe, & K. Scudder. 1980. Use of vomeronasal system during predatory episode by bull snakes (*Pituophis melanoleucus*). *Bulletin of the Psychonomic Society* 15:35-36.
- Chiszar, D., K. Scudder; L. Knighth, & H. M. Smith. 1978. Exploratory behavior in prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis*) and water moccasins (*Agkistrodon pisciovorus*). *The Psychological Record* 28:363-368.
- Chivers, D. P., J. M. Kiesecker, E. L. Wildy, L. K. Belden, L. B. Kats, & A. R. Blaustein. 1999. Avoidance response of post-metamorphic anurans to cues of injured conspecifics and predators. *Journal of Herpetology* 33:472-476.
- Daniel, W. W. 1999. Bioestadística. Bases para el análisis de la ciencias de la salud. Limusa y Noriega. México.
- Dial, B. E., P. J. Weldon, & B. Curtis. 1989. Chemosensory identification of snake predators (*Phyllorhynchus decurtatus*) by banded geckos (*Coleonyx variegatus*). *Journal of Herpetology* 23:224-229.

- Dowling, H. G. & W. E. Duellman. 1978. Systematic herpetology: a synopsis of families and higher categories. New York, E.U.A. HISS publications.
- Dowling, H. G. 1959. Classification of the serpentes: A critical review. *Copeia* 1959:38-52.
- Durán-Díaz, A., A. E. Cisneros-Cisneros, M. A. Fernández-Araiza, J. R. Gersenowies-Rodríguez, S. Meraz-Martínez & A. Vargas-Vera. 1986. Manual de Técnicas Estadísticas. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Eckert, R., D. Randall & G. Augustine. 1990. Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones. Interamericana. McGraw-Hill. España.
- Ernest, C. H. & G. R. Zug. 1996. Snakes in question. Smithsonian Institution Press.
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist* 125:1-15.
- Ford, N. B. & G. M. Burghardt. 1993. Perceptual mechanisms and the behavioral ecology of snakes. *In: Snakes. Ecology and Behaviour*. R. A. Siegel & J. T. Collins (Eds). McGraw-Hill, Inc. USA. Pp. 117-163.
- Ford, N. B. 1982. Species specificity of sex pheromone trails of sympatric and allopatric garter snakes. *Copeia* 1982: 10-13.
- Frazetta, T. H. 1966. Studies on the morphology and function of the skull in the Boidae (Serpentes). *Journal of Morphology* 118:217-296.
- García, A. & G. Ceballos. 1994. Guía de Campo de los anfibios y reptiles de la costa de Jalisco, México. Fundación Ecológica de Cuixmala A. C. e Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Gauthier, J. A. 1994. The diversification of the amniotes. *In: Major features of vertebrate evolution*. D. R. Prothero & R. M. Schoch (Eds.). Knoxville, Tennessee. The Paleontological Society. Pp. 129-159.
- Gauthier, J. A., R. Estes & K. de Queiroz. 1988. A phylogenetic analysis of Lepidosauromorpha. *In: Phylogenetic relationship of the lizard families*. R. Estes & G. Pregil (Eds.). Standford University Press. Pp. 15-9.
- Gilbert, N. , A. P. Gutiérrez, B. D. Frazer & R. E. Jones. 1981. Relaciones ecológicas. Ed. Blume. Barcelona España.
- Goin, C. J. & O. B. Goin. 1971. Introduction to herpetology. E. U. A. Freeman.

- Gould, S. J. & E. S. Vrba. 1982. Exaptation a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8:4-15.
- Grace, M. S. 1997. The visual system and non-visual photoreception. *In: The biology husbandry and health care of reptiles. Vol. I The biology of reptiles.* L. Ackerman (Comp.). TFH Inc. USA. Pp. 325-341.
- Graham, A. & I. McGonnell, 1999. This side of paradise. *Current biology* 9:603-632.
- Graves, B. M. & M. Halpern, 1991. Discrimination of self from conspecific chemical cues in *Tiliqua scincoides* (Sauria: Scincidae). *Journal of Herpetology* 25:125-126.
- Gravlund, P. 2001. Radiation within the advanced snakes (Caenophidia) with special emphasis on African opisthopholid colubrids, based on mitochondrial sequence data. *Biological Journal of the Linnean Society* 72:99-114.
- Greene, H. W. 1988. Antipredator mechanisms in reptiles. *In: Biology of the reptilia. Vol. 16. Ecology B. Defense and life history.* C. Gans and R. B. Huey (Eds.). Alan Liss Inc., New York. Pp. 1-152.
- Greene, H. W. 1997. Snakes. The evolution of mystery in nature. University of California Press. Los Angeles California.
- Greene, M. J., S. L. Stark, & R. T. Mason. 2001. Pheromone trailing behaviour of the brown tree snake, *Boiga irregularis*. *Journal of Chemical Ecology* 21: 2193-2201.
- Halpern, M. 1987. The organization and function of the vomeronasal system. *Annual Review of Neuroscience* 10: 325-362.
- Halpern, M. 1992. Nasal chemical senses in reptiles: structure and function, *In: Biology of the Reptilia. Vol. 18. Hormones, brain, and behavior.* C. Gans & D. Crews (Eds.). University of Chicago Press, Chicago. Illinois. Pp. 423-523.
- Halpern, M. & J. L. Kubie. 1980. Chemical access to the vomeronasal organs of garter snakes. *Physiology and Behavior* 24:367-371.
- Halpern, M. & J. L. Kubie. 1984. The role of the ophidian vomeronasal system in species-typical behaviour. *Trends in Neurosciences* 7:472-477.
- Harvey, P. H. & Pagel M. D. 1991. The comparative method in evolutionary biology. Oxford University Press. Oxford.

- Head, M. L., J. S. Keogh, & P. Doughty. 2002. Experimental evidence of an age-specific shift in chemical detection of predators in a lizard. *Journal of Chemical Ecology* 28:541-554.
- Heise, P. J., L. R. Maxson, H. G. Dowling, & S. B. Hedges. 1995. Higher-level snake phylogeny inferred from mitochondrial DNA sequences of 12S rRNA and 16S rRNA genes. *Molecular Biology and Evolution* 12:259-265.
- Holman, J. A. 1964. Pleistocene amphibians and reptiles from Texas. *Herpetologica*. 20:73-83.
- Holman, J. A. 2000. Fossil snakes of North America. Origin, evolution, distribution, paleoecology. Indiana University Press.
- Huey, R. B., E. R. Pianka, & T. W. Schoener. 1983. Lizard Ecology. Studies of a model organism. Harvard University Press.
- Keogh, J. S. 1998. Molecular phylogeny of elapid snakes and a consideration of their biogeographic history. *Biological Journal of the Linnean Society* 63:177-203.
- Keogh, J. S., R. Shine, & S. Donnellan. 1998. Phylogenetic relationships of terrestrial Australo-Papuan elapid snakes (Subfamily Hydrophiinae) based on cytochrome b and 16S rRNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10:67-81.
- Kley, N. J. & F. L. Brainerd. 1999. Feeding by mandibular raking in snake. *Nature* 402:369-370.
- Kluge, A. G. 1991. Boine snake phylogeny and research cycles. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan* 178:1-58.
- Kluge, A. G. 1993. Calabaria and the phylogeny of erycine snakes. *Zoological Journal of the Linnean Society* 107:293-351.
- Knight, A. & D. P. Mindell. 1994. On the phylogenetic relationship of Colubrinae, Elapidae, and Viperidae and the evolution of front-fanged venom systems in snakes. *Copeia* 1994:1-9.
- Knight, A., D. D. Llewellyn III, & F. D. Rael. 1992. Molecular systematics of the *Agkistrodon* complex. *In: Biology of the pitvipers.* J. A. Campbell & F. D. Brodie, Jr. (Eds.). Texas, F. U. A. Selva. Pp. 49-70.

- Kraus, F. & W. M. Brown. 1998. Phylogenetic relationships of colubrid snakes based on mitochondrial DNA sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society* 122:455-487.
- Kraus, F., D. G. Mink, & W. M. Brown. 1996. Crotaline intergeneric relationships based on mitochondrial DNA sequence data. *Copeia* 1996: 763-773.
- Krebs, J. R. & N. B. Davies. 1991. *An Introduction to behavioural ecology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Labra, A. & R. Leonard, 1999. Intraspecific variation in antipredator responses of three species of lizards (*Liolaemus*): possible effects of human presence. *Journal of Herpetology* 33:441-448.
- Lee, M. S. Y., G. L. Bell Jr. & M. W. Cladwell. 1999. The origin of snake feeding. *Nature* 400:655-659.
- Lima, S. L. 1998. Nonlethal effects in ecology of predator-prey interactions. *Bioscience* 48:25-34.
- Lowenstein, O. E. 1980. *Los sentidos*. Fondo de cultura económica. México.
- Marcellini, D. L. & T. A. Jenseen. 1991. Avoidance learning by the curly-tailed lizard, *Leiocephalus schreibersi*: Implications for anti-predator behavior. *Journal of Herpetology* 25:238-241.
- Martins, E. P. & T. F. Hansen. 1997. Phylogenies and the comparative method: A general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. *American Naturalist* 149:646-667.
- Martins, E. P. 2001. COMPARE, version 4.4. Computer programs for the statistical analysis of comparative data. Distributed by the author via the WWW at <http://compare.bio.indiana.edu/>. Department of Biology, Indiana University, Bloomington IN.
- Mason, R. T., H. M. Fales; L. K. Pannell, J. K. W. Chinn, & D. Crews. 1989. Sex pheromones in snakes. *Science* 245: 290-293.
- Mason, R. T., T. H. Jones, H. M. Fales, L. K. Pannell, & D. Crews. 1990. Characterization, synthesis, and behavioral responses to sex attractiveness pheromones of red-sided garter snakes (*Tamnophis sirtalis parietalis*). *Journal of Chemical Ecology* 16:2353-2369.

- McDowell, S. B. 1987. Systematics. *In: Snakes, ecology and evolutionary biology*. R. A. Siegel, J. T. Collins, & S. Nowak (Eds.). New York, F. U. A. McMillan. Pp. 3-50.
- McPeak, R. H. 2000. Amphibians and reptiles of Baja California. Sea Challengers, C. A.
- Miller, E. W. 1980. The late Pleistocene Las Tunas local fauna from Southernmost Baja California, Mexico. *Journal of Paleontology*. 54:762-805.
- Mora, J .M. 1987. Predation by *Loxocemus bicolor* on the eggs of *Ctenosaura similis* and *Iguana iguana*. *Journal of Herpetology* 21: 334-335.
- Mori, A. 1990. Tail vibration of the Japanese grass lizard *Takydromus tachydromoides* as a tactic against a snake predator. *Journal of Ethology* 8: 81-88.
- Mori, A. 1991. Effects of prey size and type on prey-handling behaviour in *Elaphe quadrivirgata*. *Journal of Herpetology* 25:160-166.
- Nelson, G. & N. I. Platnick. 1981. Systematics and biogeography: Cladistics and vicariance. Nueva York. Columbia University Press.
- Nicoletto, P. F. 1985a. The relative roles of vision and olfaction in prey detection by the ground skink, *Scincella lateralis*. *Journal of Herpetology* 19:411-415.
- Nicoletto, P. F. 1985b. The roles of vision and the chemical senses in predatory behavior of the skink, *Scincella lateralis*. *Journal of Herpetology* 19:487-491.
- Norell, M. A., M. C. McKenna, & M. J. Novacek. 1992. *Estesia mongoliensis*, a new fossil varanoid from the Late Cretaceous Barun Goyot formation of Mongolia. *American Museum Novitates* 3045:1-24.
- Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL/2001, Protección ambiental –Especies nativas de México de flora y fauna silvestres –Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio –Lista de especies en riesgo. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. 25 de enero de 2002.
- Pagano, R. R. 1999. Estadística para las ciencias del comportamiento. International Thomson Editores.
- Parkinson, C. L. 1999. Molecular Systematics and biogeographical history of pitvipers as determined by mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Copeia* 1999:576-586.
- Parsons, T. S. 1970. The nose and Jacobson's organ. *In: Biology of the reptilia*. Vol. 2. C. Gans & T. S. Parsons (Eds.). Academic Press. U. K. Pp. 99-185.

- Polly, P. D. 2001. Paleontology and the comparative method: ancestral node reconstructions versus observed nodes values. *The American Naturalist* 157:596-609.
- Pough, F. H., R. M. Andrews, J. E. Cadle, M. L. Crump, A. H. Savitzky, & K. D. Wells. 2001. *Herpetology*. 2nd. Ed. Prentice Hall.
- Powell, R. W. 1967. Avoidance and escape conditioning in lizards. *Psychological Report* 20:583-586.
- Powell, R. W. 1968. A readily-available test chamber used in the study of shuttle escape and avoidance in the lizard *Anolis sagrei*. *Psychological Record* 18:585-590.
- Powell, R. W. & H. Mantor, 1969. Failure to obtain one-way shuttle *Anolis sagrei*. *Psychological Record* 19:623-627.
- Pregill, G. K., J. A. Gauthier, & H. W. Greene. 1986. The evolution of helodermatid squamates, with description of a new taxon and an overview of Varanoidea. *Transactions of the San Diego Society of Natural History* 21:167-202.
- Ramírez-Bautista, A. 1994. Manual de claves ilustradas de los anfibios y reptiles de la región de Chamela, Jalisco, México. Cuadernos 23. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Ramírez-Bautista, A. & D. D. Beck. 1996. El escorpión, lagartija venenosa de México. *Información Científica y Tecnológica* 18:24-28.
- Rieppel, O. & H. Zaher. 2000. The braincase of mosasaurs and Varanus, and the relationships of snakes. *Zoological Journal of the Linnean Society* 129:489-514.
- Rodríguez-Robles, J. A. & J. M. De Jesús-Escobar. 1999. Molecular systematics of the New World lamproleptinae snakes (Colubridae): implications for biogeography and evolution of food habits. *Biological Journal of the Linnean Society* 68:355-385.
- Romer, A. S. & T. S. Parsons. 1984. *Anatomía comparada*. 5a Ed. Interamericana. Mexico.
- Ruben, J. A. 1977. Morphological correlates of predatory modes in the coachwhip (*Masticophis flagelum*) and rosy boa (*Lichanura roseofusca*). *Herpetologica* 33:1-6.
- Russell, M. J. 1999. *Clelia clelia* (Mussurana) Attempted predation. *Herpetological Review* 30:43.
- Scanlon, J. D. & M. S. Y. Lee. 2000. The Pleistocene serpent *Wonambi* and the early evolution of snakes. *Nature* 403:416-420.

- Schwenk, K. 1988. Comparative morphology of the lepidosaur tongue and its relevance to squamate phylogeny. *In: Phylogenetic relationships of the lizard families: essays commemorating Charles L. Camp*. R. Estes & G. Pregill (Eds.). Stanford University Press, Stanford, California. Pp. 568-599.
- Schwenk, K. 1993. The evolution of chemoreception in squamate reptiles: A phylogenetic approach. *Brain Behavior and Evolution* 41:124-137.
- Schwenk, K. 1994. Why snakes have forked tongues. *Science* 263:1573-1577.
- Schwenk, K. 1995. Of tongues and noses: chemoreception in lizards and snakes. *Tree* 10:7-12.
- Shettleworth, S. J. 2001. Animal cognition and animal behaviour. *Animal Behaviour* 61:277-286.
- Shine, R. 1984. Reproductive biology and food habits of the Australian elapid snakes of the genus *Cryptophis*. *Journal of Herpetology* 18:33-39.
- Shine, R. & S. J. Downes, 1999. Can pregnant lizards adjust their offspring phenotypes to environmental conditions? *Oecologia* 119:1-8.
- Slowinski, J. B. & J. S. Keogh. 2000. Phylogenetic relationships of elapid snakes based on cytochrome *b* mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15:157-164.
- Smith, H. M. & E. H. Taylor. 1966. Herpetology of México. Annotated checklists and keys to the amphibians and reptiles. Repr. Bull. 187, 194, and 199 of de U. S. Nat. Mus. With a list of subsequent taxonomic innovations. Ashton, Md., Eric Lundber USA.
- Smith, M. T. & R. T. Mason. 1997. Gonadotropin antagonist modulates courtship behavior in male red-sided garter snakes *Tamnophis sirtalis parietalis*. *Physiology and Behavior* 61:137-143.
- Streiffner, R. H. 1986. Bite of the venomous lizard, the Gila monster. *Postgraduate Medicine* 79:297-302.
- Tchernov, E., O. Rieppel, H. Zaher, M. J. Polcyn, & L. L. Jacobs. 2000. A fossil snake with limbs. *Science* 287:2010-2012.
- Thoen, C., D. Bauwens, & R. F. Verheyen. 1986. Chemoreceptive and behavioural responses of the common lizard *Lacerta vivipara* to snake chemical deposits. *Animal Behaviour* 34:1805-1813.

- Toen, C., D. Bauwens, D. Vanderstighelen, & R. F. Verheyen. 1990. Responses of the lizard *Lacerta vivipara* to predator chemical cues: the effect of temperature. *Animal Behaviour* 40:298-305.
- Toen, C., D. Bauwens, D. Vanderstighelen, & R. F. Verheyen. 1990. Responses of the lizard *Lacerta vivipara* to predator chemical cues: the effect of temperature. *Animal Behaviour* 40:298-305.
- Towers, S. R. & R. G. Coss. 1991. Antisnake behavior of Columbian ground squirrels (*Spermophilus columbianus*). *Journal of Mammalogy* 72: 776-783.
- Underwood, G. 1967. A contribution to classification of snakes. Vol. 653. London. R. U. Trustees of the British Museum (Natural History).
- Uribe-Peña, Z., A. Ramírez-Bautista & G. Casas-Andreu. 1999. Anfibios y reptiles de las serranías del Distrito Federal. Cuadernos 32. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Van Damme, R. & K. Quick. 2001. Use of predator chemical cues by three species of lacertid lizards (*Lacerta bedriagae*, *Podarcis tiliguerta*, and *Podarcis sicula*). *Journal of Herpetology* 35:27-36.
- Van Damme, R., D. Bauwens, C. Thoen, D. Vanderstighelen, & R. Varheyen. 1995. Response of native lizard to predator chemical cues. *Journal of Herpetology* 29:38-43.
- Van Heest, R. W. & J. A. Hay. 2000. *Charina bottae* (Ruber boa). Antipredator behaviour. *Herpetological Review* 31:177.
- Vidal, N. & S. B. Hedges. 2004. Molecular evidence for a terrestrial origin of snakes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences (Suppl)*. 271:S226-S229.
- Vitt, L. J. 1983. Tail loss in lizards: The significance of foraging and predator escape modes. *Herpetologica* 39: 151-162.
- Vitt, L. J. & W. Cooper Jr. 1986. Tail loss, tail color, and predator escape in *Eumeces* (Lacertilia: Scincidae): age-specific differences in costs and benefits. *Canadian Journal of Zoology* 64: 583-592.
- Wanntorp, H. E. 1983. Historical constraints in adaptation theory: Traits and non-traits. *Oikos* 41:157-159.

- Warkentin, K. M. 1995. Adaptive plasticity in hatching age: a response to predation risk trade-offs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92:3507-3510.
- Weldon, P. J. 1982. Responses to ophiophagus snakes by snakes of the genus *Tamnophis*. *Copeia* 1982:788-794.
- Weldon, P. J. 1982. Responses to ophiophagus snakes by snakes of the genus *Tamnophis*. *Copeia* 1982:788-794.
- Weldon, P. J. & G. M. Burghardt. 1979. The ophiophage defensive response in crotaline snakes: extension to new taxa. *Journal of Chemical Ecology* 5:141-151.
- Werman, S. 1992. Phylogenetic relationships of Central and South American pitvipers of the genus *Bothrops* (sensu lato): Cladistic analysis of biochemical and anatomical characters. *In: Biology of the pitvipers*. J. A. Campbell & F. D. Brodie, Jr. (Eds.). Tyler, Texas. Selva. Pp. 21-40.
- Wiley, E. O. 1981. *Phylogenetics: The theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley and Sons. New York.
- Withgoot, J. H. 1996. Post-prandial chemosensory searching in black rat snakes. *Animal Behavior* 52:775-781.
- Woodworth, R. S. & H. Schlosberg. 1964. *Psicología experimental*. Eudeba. Buenos Aires.
- Young, B. A. 1993. Evaluating hypotheses for the transfer of stimulus particles to Jacobson's organ in snakes. *Brain Behavior and Evolution* 41:203-209.
- Young, B. A. 1997. Hearing, taste, tactile reception and olfaction. *In: The biology husbandry and health care of reptiles*. Vol. I The biology of reptiles. L. Ackerman (Comp.). TFH Inc. USA. Pp. 185-204.
- ZUG, G. R. 1993. Origin and evolution of reptiles. *In: Herpetology. An introductory biology of amphibians and reptiles*. G. R. Zug. Academic Press Inc. USA.
- Zug, G. R., L. J. Vitt, & J. P. Caldwell. 2001. *Herpetology. An introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic Press. USA.