



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
ECOLOGÍA

RESPUESTAS CONDUCTUALES A ESTÍMULOS QUÍMICOS EN *HELODERMA*
HORRIDUM

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

RIVERA HERNANDEZ OSCAR FABIAN

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANDRÉS GARCÍA AGUAYO, INSTITUTO DE
BIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: DR. FAUTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ, INSTITUTO DE
BIOLOGÍA

DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA, FACULTAD DE CIENCIAS

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE 2014



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
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
ECOLOGÍA

RESPUESTAS CONDUCTUALES A ESTÍMULOS QUÍMICOS EN *HELODERMA*
HORRIDUM

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

RIVERA HERNANDEZ OSCAR FABIAN

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANDRÉS GARCÍA AGUAYO, INSTITUTO DE
BIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: DR. FAUTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ, INSTITUTO DE
BIOLOGÍA

DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA, FACULTAD DE CIENCIAS

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE 2014

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 9 de junio de 2014, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **RIVERA HERNÁNDEZ OSCAR FABIAN** con número de cuenta **512026594** con la tesis titulada **"Respuestas conductuales a estímulos químicos en *Heloderma horridum*"**, realizada bajo la dirección del **DR. ANDRÉS GARCÍA AGUAYO**:

Presidente: DR. OSCAR ALBERTO FLORES VILLELA
Vocal: DR. GUSTAVO CASAS ANDREU
Secretario: DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ
Suplente: DRA. NORMA LETICIA MANRÍQUEZ MORÁN
Suplente: DRA. MARICELA VILLAGRAN SANTA CRUZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 30 de septiembre de 2014.

María del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación académica durante el desarrollo de la tesis y la Maestría en Ciencia Biológicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante el período de estudios de la maestría. CVU 44093 Número de registro de becario: 270038.

Al Parque Ecológico “El Palapo” por permitirme realizar los experimentos de este proyecto y otorgar todas las facilidades durante la estancia en el parque.

A los miembros del comité tutor:

Dr. Andrés García Aguayo (tutor principal)

Dr. José Jaime Zúñiga Vega

Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres, María Guadalupe Hernández Mar y Carlos Alberto Rivera Salamanca, por su apoyo incondicional en todo momento y en todo sentido, sin ellos esto no hubiera sido posible.

A mi hermano, Daniel Andrés Rivera Hernández, por ser mi inspiración y brindarme muchas enseñanzas de vida.

Al Dr. Andrés García Aguayo por permitirme realizar este proyecto y por su asesoría.

Al Dr. Daniel D. Beck por su asesoría y consejos para mejorar el proyecto.

A los Dres. José Jaime Zúñiga Vega, Fausto Roberto Méndez de la Cruz, Oscar Alberto Flores Villela, Maricela Villagrán Santacruz, Norma Manríquez Morán y Gustavo Casas Andreu, por sus revisiones y sugerencias para el proyecto y la tesis.

A Jesús Valencia Arceo por todo su apoyo en mi estancia en el parque ecológico "El Palapo".

Al personal del palapo, Oscar, Adrián, Primo, Canteado, por las experiencias compartidas.

A Bibiana Larios Llamas, Alana Pacheco Flores, Jesús Miguel Salazar Aguilar por su apoyo en los experimentos.

Al Biól. Salvador Wulfrano Ramírez Caba del Parque Regional de Colima por su apoyo fundamental para la realización de este proyecto.

Al M.V.Z. Armando Rodríguez Vázquez por el monitoreo y revisión de los animales.

A Taggert Butterfield por su apoyo, discusión de ideas y experiencias compartidas.

Al personal de la Estación de Biología Chamela por su apoyo durante los inicios de este proyecto.

A toda mi familia: tíos, primos y abuelos, por su apoyo incondicional y su amor.

A personas muy importantes en mi vida: Judith Alpizar López, Enrique Morán Herrera, Carlos Macip Reyes, Alejandro López Escalera.

Oscar Rivera.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.- ANTECEDENTES	2
2.1 Descubrimiento del órgano vomeronasal	2
2.2 Órgano vomeronasal en vertebrados	3
2.3 Sistema vomeronasal en Squamata	4
2.4 Estructura y mecanismo lingual en reptiles	6
2.5 Receptores vomeronasales y proceso de transducción	11
2.6 Importancia del vomerolfato en Squamata.....	15
2.7 Experimentos de respuesta quimiosensorial.....	16
2.8 Hipótesis	17
2.9 Predicciones.....	17
2.10 Objetivos	17
3.- ESPECIE DE ESTUDIO	18
3.1 Características de la especie	18
3.2 Filogenia	20
3.3 Hábitat de <i>Heloderma horridum</i>	24
4.- MÉTODOS	24
4.1 Sitio de estudio.....	24
4.2 Utilización de ejemplares	24
4.3 Experimentos	25
4.4 Análisis estadístico.....	27
5.- RESULTADOS	28
5.1 Datos de los individuos	28
5.2 Temperatura ambiental y corporal	30
5.3 Experimento de respuesta a estímulos alimentarios.....	30
5.4 Experimento de respuesta a conoespecíficos.....	33
5.5 Experimento de respuesta a depredadores potenciales	36
5.6 Controles y tiempo de latencia	40
6.- DISCUSIÓN.....	42
6.1.- Estímulos alimentarios	42
6.1.1.- Tasas de lengüetazos	42
6.1.2.- Estudios en especies emparentadas.....	43
6.1.3.- Forrajeo en <i>Heloderma horridum</i>	44
6.1.4.- Dieta de <i>Heloderma horridum</i>	45
6.1.5.- Relación discriminación química-dieta-hábitos de forrajeo.....	46
6.1.6.- Estudios en otras especies.....	47
6.2.- Estímulos de individuos conoespecíficos.....	47
6.2.1.- Tasas de lengüetazos	47
6.2.2.- Feromonas y comunicación social	48
6.2.2.- Estímulos químicos de conoespecíficos en <i>Varanus</i> y <i>Anguis</i>	49
6.2.3.- Observaciones en campo para la familia Helodermatidae	50
6.2.4.- Estudios en otras especies.....	51
6.3.- Estímulos de depredadores	51
6.3.1.- Tasas de lengüetazos	51
6.3.2.- Estudios previos en <i>H. horridum</i> y especies emparentadas.....	52
6.3.3.- Estudios en otras especies.....	53
6.4.- Temperatura y tiempo de latencia	54
7.- CONCLUSIONES.....	55
8.- LITERATURA CITADA	57

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

FIGURAS

Figura 1.- Placoda olfatoria de embrión de serpiente.

Figura 2.- Esquema órganos vomeronasales.

Figura 3.- Corte coronal del órgano vomeronasal de *Elaphe guttata*.

Figura 4.- Corte transversal de cabeza en *Coluber natrix*.

Figura 5.- Receptores vomeronasales.

Figura 6.- Proceso de transducción de señales recibidas por el vomerolfato.

Figura 7.- Relaciones filogenéticas de Squamata.

Figura 8.- Relaciones filogenéticas de Squamata (2).

Figura 9.- Relación de la temperatura corporal y ambiental.

Figura 10.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de huevo de paloma con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 11.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de huevo de tortuga con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 12.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de ratón con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 13.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo del individuo 8 con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 14.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo del individuo 10 con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 15.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo del individuo 14 con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 16.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo del individuo 17 con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 17.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de boa con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 18.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de águila con respecto a la temperatura ambiental.

Fig.19- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de agua destilada con respecto a la temperatura ambiental.

Fig. 20.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de vaselina con respecto a la temperatura ambiental.

CUADROS

Cuadro 1.- Datos de los animales utilizados en los experimentos.

Cuadro 2.- Media, error estándar, intervalo y tamaño de muestra (N) para las tasas de lengüetazos de los distintos experimentos.

Cuadro 3.- Valores de significación estadística para las tasa de lengüetazos estímulo-control.

Cuadro 4.- Datos estadísticos de las comparaciones del tiempo de latencia para el experimento 2 (individuos conespecíficos).

RESUMEN

Se realizó un estudio para evaluar la respuesta quimiosensorial de 20 individuos de *Heloderma horridum* ante tres clases de estímulos (alimentarios, conoespecíficos y depredadores), ya que se ha documentado la importancia del vomerolfato en la detección y discriminación de señales químicas con importancia biológica en varias especies de reptiles (Squamata). La respuesta a los estímulos presentados en torundas de algodón se determinó mediante la contabilización de lengüetazos emitidos por los individuos durante 60 segundos y comparando estadísticamente las tasas de lengüetazos entre estímulos y controles. *Heloderma horridum* puede detectar mediante el vomerolfato las sustancias químicas de alimentos potenciales, en este caso el huevo de paloma, huevo de tortuga y aparentemente ratón. En este trabajo se reflejó una relación de la habilidad quimiosensorial con la dieta y los hábitos de forrajeo. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de lengüetazos dirigidos hacia estímulos químicos de conoespecíficos en comparación con los estímulos control, esto pudo deberse a diversos factores, los más probables podrían ser la variación estacional en los componentes químicos que influyen en la comunicación social, la proporción de sexos y la variación en el estado reproductor de animales en cautiverio con respecto a datos observados. En este trabajo no se registraron diferencias significativas en las tasas de lengüetazos dirigidos hacia los estímulos de depredadores con respecto a los controles y las conductas antidepredación fueron escasas. Los individuos estuvieron en continua cercanía de boas y pudieron habituarse o quizá hay detección pero no se refleja en la tasa de lengüetazos. Por otro lado en el caso del estímulo de aguililla cola roja, tampoco se registraron diferencias de acuerdo a lo esperado; probablemente los individuos no tienen la capacidad de detectar los estímulos químicos de ese tipo de depredadores.

ABSTRACT

It's well known that the vomerolfaction plays a major role in the detection and discrimination of chemical cues in many species of reptiles (Squamata). Here, a study was made to assess the ability of 20 *Heloderma horridum* to detect and discriminate prey, conspecifics and predators odors from control odors. To assess the response of the lizards the tongue-flicks were counted during 60 seconds among conditions and the tongue-flick rate between the odor sources and the control odors was statistically compared. The odor stimulus was presented in cotton tipped applicators. *Heloderma horridum* was able to discriminate prey odors (dove eggs, tortoise eggs) from control stimulus. The data of this study support the relationship between the chemosensory discrimination and diet and the relationship between the chemosensory discrimination and the foraging habits. There was no statistical differences between the tongue-flick rates of the conspecific odors and the control odors, that could be attributed to the seasonal variance of the chemical compounds that are found in the skin, the sex ratio, and to the variance of the reproductive status of the captive animals. There was no statistical differences between the tongue-flick rates of the predator odors and the control odors and the antipredatory behaviours were scarce. The individuals of *H. horridum* was previously exposed to Boa scents because their enclosures were close, probably the animals habituated to the boa scents. In the red-tailed hawk condition the lack of statistical differences could be attributed to the type of predator, probably the individuals of *H. horridum* are not able to detect the chemical sources of this kind of predators in nature.

1.- INTRODUCCIÓN

Las señales más conocidas en la comunicación de Squamata son las químicas y visuales. La comunicación química permite la transferencia indirecta de información entre emisor y receptor (por medio de marcas olorosas), por lo que constituye la principal modalidad comunicativa y/o receptiva en determinados contextos. Las señales visuales, por otra parte, permiten una modulación temporal más rápida que las señales químicas, lo que las convierte en señales ideales para transmitir información acerca de aspectos más variables del emisor o del ambiente (Font et al. 2010). Una señal química es un compuesto químico producido por un individuo de una especie determinada y que es capaz de provocar una respuesta, efectuando un cambio en la fisiología o el comportamiento de otros individuos de la misma o diferente especie (Karlson & Luscher, 1959). La utilidad de señales químicas radica en que son muy eficientes energéticamente, ya que pueden transmitir la información mucho después de que el donante se haya ido, pueden funcionar en la oscuridad y ser percibidas a largas distancias (Huntingford & Turner 1987).

Los reptiles del orden Squamata son considerados entre los vertebrados más quimiosensibles y la quimiorrecepción desempeña un papel fundamental en muchos aspectos de su biología, las señales químicas pueden ser importantes para la búsqueda de alimento, la identificación de conespecíficos y la detección de depredadores (Font et al. 2010). Las señales químicas en estos reptiles pueden ser detectadas por el olfato y el vomerolfato, este último está conformado por un órgano especializado que se encuentra arriba del paladar y es usado para la “interpretación” de señales químicas. Las señales químicas llegan hasta este órgano por medio de lengüetazos que emiten los individuos para poder captarlas (Mason 1992).

En el presente estudio se evaluó la respuesta quimiosensorial de 20 individuos de *Heloderma horridum* a tres clases de estímulos químicos (alimentarios, de conespecíficos y depredadores potenciales). El trabajo se realizó en el parque ecológico “El Palapo” ubicado en Coquimatlán, Colima. Dicho parque tiene la misión de preservar la vida animal y ser un lugar de refugio para animales con el objetivo de promover la educación para el cuidado y conservación de la naturaleza, así como proveer espacios de recreación y convivencia familiar, además de proteger los componentes biológicos en vista de la importancia que

tienen varias especies vulnerables. A su vez el parque ha brindado facilidades para el desarrollo de diversos proyectos de investigación como el del presente estudio.

La elaboración de esta clase de trabajos representa un aporte para el conocimiento de la biología de *H. horridum* particularmente sobre la importancia del vomerolfato en diferentes interacciones de estos animales con su ambiente, en algunos casos brindan información sobre ciertos aspectos evolutivos. En este trabajo se aborda la importancia del vomerolfato en las interacciones depredador-presa, presa-depredador y entre conespecíficos.

Se presenta además la conformación del sistema vomeronasal, el posible mecanismo de toma de muestra de señales químicas y del transporte de dichas señales hasta el órgano vomeronasal, el proceso de transducción de las señales químicas, así como la comunicación vomerolfato-cerebro.

2.- ANTECEDENTES

2.1 Descubrimiento del órgano vomeronasal

En 1813, el anatomista danés Ludvig Jacobson (1783-1843) describió un órgano en la nariz de los mamíferos que no había sido notado anteriormente. Observó meticulosamente la gran cantidad de glándulas del órgano, la doble inervación y el suministro o irrigación sanguínea (Jacobson 1813). Este órgano descubierto fue nombrado órgano vomeronasal (Jacobsoni) por la *Anatomische Gesellschaft* en 1895. Jacobson asumió que la naturaleza del órgano era de secreción pero sospechaba que podía ser un órgano sensorial. Sólo con el descubrimiento de las nuevas técnicas histológicas del siglo XIX se pudo asumir que la función del órgano vomeronasal era sensorial. La función quimiosensorial se hizo evidente cuando Retzius (1894) demostró la similitud en la morfología de las neuronas receptoras de los órganos olfativo y vomeronasal en una preparación de Golgi de la placoda olfativa de un embrión de serpiente (Doving & Trotier 1998) (Fig. 1).

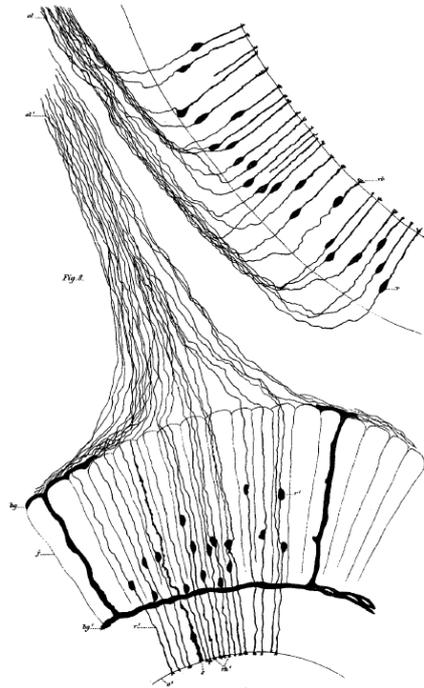


Fig. 1.- Placoda olfatoria del embrión de serpiente observada por Retzius (1894). Se observa la similitud morfológica entre las neuronas sensoriales del epitelio olfativo (derecha) y el vomeronasal (abajo).

2.2 Órgano vomeronasal en vertebrados

Parece que el órgano vomeronasal evolucionó primero en anfibios (Eisthen 1992). Es conspicuo con respecto al órgano olfativo en renacuajos (Burton 1990), pero el órgano olfativo se expande considerablemente después de la metamorfosis, mientras que el órgano vomeronasal permanece con el mismo tamaño, y se encuentra en posición medial por debajo del vestíbulo, es un órgano sensorial importante. En reptiles suele ser más grande que el órgano olfativo, por ejemplo, está bien desarrollado en serpientes. Las lagartijas y serpientes (orden Squamata) muestran un comportamiento característico el cual consiste en lengüetear constantemente, con esto pueden captar moléculas odoríferas. El órgano vomeronasal está involucrado en el rastreo de presas y detección de alimento en reptiles (Halpern 1987). En los mamíferos el órgano vomeronasal es sensorial y está involucrado en la reproducción mediante la detección de feromonas. Los peces, aves, cocodrilos no poseen órgano vomeronasal y no se ha encontrado en camaleones (Doving & Trotier 1998).

2.3 Sistema vomeronasal en Squamata

Los órganos vomeronasales (OVNs) son órganos quimiosensoriales pareados localizados en la base de la cavidad nasal, arriba del paladar (Bertmar 1981) (Fig. 2). Están bien desarrollados en los reptiles Squamata y la quimiorrecepción vomeronasal es una forma sensorial extremadamente importante en Squamata, y están involucrados prácticamente casi todos los comportamientos de relevancia, particularmente aquellos relacionados con el forrajeo, alimentación y reproducción (Burghardt 1970; Halpern 1992; Mason 1992; Cooper 1994; Schwenk 1995). Tienen un papel de mayor importancia en interacciones interindividuales (reconocimiento de feromonas y kairomonas) y para el reconocimiento ambiental (Houck 2009; Su et al. 2009).

En Squamata el sistema vomeronasal es funcional y anatómicamente distinto al sistema olfativo. Los OVNs pareados en Squamata, a diferencia de otros vertebrados, han perdido la conexión con el sistema olfativo y se comunican exclusivamente con la cavidad oral mediante dos aberturas pequeñas (fenestras vomeronasales) en el paladar anterior (Fig. 2) (Bellairs & Boyd 1950; Parsons 1970; Halpern 1992; Schwenk 1993, 1995). Además de estar estructuralmente aislado del sistema olfativo, los nervios vomeronasales se proyectan a una región diferente del bulbo olfativo (bulbo olfativo accesorio) y continúan separados dentro del sistema nervioso central hasta, al menos, los núcleos amigdalinos (Halpern 1976; Martínez-García et al. 1991; Halpern 1992; Martínez-Marcos et al. 1999). El órgano vomeronasal (OVN) u órgano de Jacobson contiene un neuroepitelio sensorial olfativo encerrado por una cápsula cartilaginosa u ósea en contacto con la base de la cavidad nasal. (Houck 2009; Su et al. 2009). Una diferencia funcional importante entre los dos sistemas quimiosensoriales, radica en que el sistema vomeronasal (SVN) puede ser estimulado por moléculas no volátiles grandes, las cuales normalmente no llegan al sistema olfativo mediante la inhalación, por lo tanto, el SVN frecuentemente es catalogado como especializado para la recepción de químicos no volátiles de alto peso molecular. Por otro lado el sistema olfativo es visto como especializado para partículas químicas volátiles pequeñas que se difunden fácilmente en el aire y viajan a mayor distancia. Sin embargo, esta es una generalización y en realidad puede existir una superposición en los dominios químicos a los cuales

cada sistema responde (Halpern 1992; Graves 1993; Schwenk 1995; Dial & Schwenk 1996; Wyatt 2003; Baxi et al. 2006; Eisthen & Schwenk 2008).

La cavidad nasal en Squamata tiene una organización relativamente simple, y en la mayoría de las especies es esencialmente un saco alargado en la superficie dorsal se encuentra el epitelio olfativo (Parsons 1959, 1967).

El OVN se desarrolla inicialmente como un divertículo nasal, pero se aísla de la cavidad nasal en Squamata. Cada órgano se encuentra ventromedial a la cavidad nasal adyacente y forma una esfera con su cara anteromedial invaginada por una estructura cartilaginosa llamada cuerpo fungiforme. El lumen, tiene comunicación con la cavidad oral a través de los conductos vomeronasales por medio de unas pequeñas aberturas en el paladar, las fenestras vomeronasales que están anteriores a la “internal naris”. El epitelio sensorial engrosado se encuentra dorsalmente y sus fibras nerviosas se proyectan a través del nervio accesorio olfativo hacia el bulbo accesorio olfativo (Figs. 3 y 4) Las partículas estimulantes (odoríferas) son llevadas a las fenestras vomeronasales mediante lengüetazos, ya sea directamente por la lengua o por la elevación y yuxtaposición de las plicas sublinguales después de ser limpiadas por la lengua. Las plicas (crestas debajo de la lengua) son elevaciones del piso de la boca que contienen a las glándulas salivales sublinguales (Schwenk 1988) (Fig. 2).

En las serpientes *Thamnophis sirtalis*, como en otros Squamata, el fluido de las glándulas harderianas fluye hacia el órgano vomeronasal (Rehorek 1997; Rehorek et al. 2000). Los productos de la glándula juegan un papel importante en la solubilización de una feromona lipofílica en esta especie, permitiendo que la feromona sea detectada por las neuronas receptoras vomeronasales (Huang et al. 2006). Las serpientes a las que se les removieron las glándulas tuvieron problemas en el cortejo y captura de presas, demostrando la importancia de las secreciones de las glándulas de Harder en la detección de señales en el sistema vomeronasal de serpientes (Mason et al. 2006).

Las lagartijas y serpientes sólo poseen neuronas vomeronasales receptoras con microvellosidades (Wang & Halpern 1980), el epitelio vomeronasal expresa $G\alpha_0$ y $G\alpha_{i2}$, los cuales también se encuentran en el epitelio de mamíferos (Labra et al. 2005; Luo et al. 1994). El epitelio vomeronasal de *Thamnophis* expresa la adenil-

ciclasa IV (Liu et al. 1998). El tracto accesorio olfativo, el cual lleva la información del OVN, se proyecta a tres porciones de la amígdala: el nucleus sphericus, amígdala media y al núcleo del tracto accesorio olfativo. La amígdala media recibe la proyección directa del bulbo accesorio olfativo, así como la señal vomeronasal indirecta vía el nucleus sphericus (Lanuza & Halpern 1997 1998, Martínez-Marcos et al. 1999). Debido a que la amígdala media se proyecta hacia el núcleo hipotalámico posterior, el cual a su vez se proyecta hacia el núcleo hipoglosal, se ha sugerido que esta ruta puede servir para controlar los lengüetazos en respuesta a la entrada quimiosensorial en serpientes (Martínez-Marcos 2001).

2.4 Estructura y mecanismo lingual en reptiles

En reptiles Squamata la lengua es una estructura muscular compleja que es muy variable tanto superficial como histológicamente. Contiene fibras musculares que se originan e insertan totalmente dentro de la lengua y otras que se originan a partir de los elementos esqueléticos del aparato hiobranquial y la mandíbula. En la mayoría de las especies, el cuerpo muscular de la lengua está soportado por una barra anteromedial del aparato hiobranquial, pero en serpientes y algunas lagartijas se encuentra “flotando”. Su musculatura compleja y la carencia de un soporte esquelético le da a la lengua una serie de propiedades biomecánicas únicas. Han sido llamadas “hidrostatos musculares” debido a que para efectuar el movimiento usan la contracción muscular y la incompresibilidad del fluido celular en una estructura de volumen constante (Smith & Kier 1989).

El mecanismo de estimulación vomeronasal en Squamata se lleva a cabo mediante lengüetazos (tongue-flick TF), en los cuales la lengua es utilizada para “muestrear” químicos ambientales, del aire o de alguna superficie, regresando hacia la boca para llevar los químicos hacia los órganos vomeronasales (Burghardt 1970; Graves & Halpern 1989; Halpern 1992; Cooper 1994; Schwenk 1995). Se sabe poco sobre la biomecánica de este proceso.

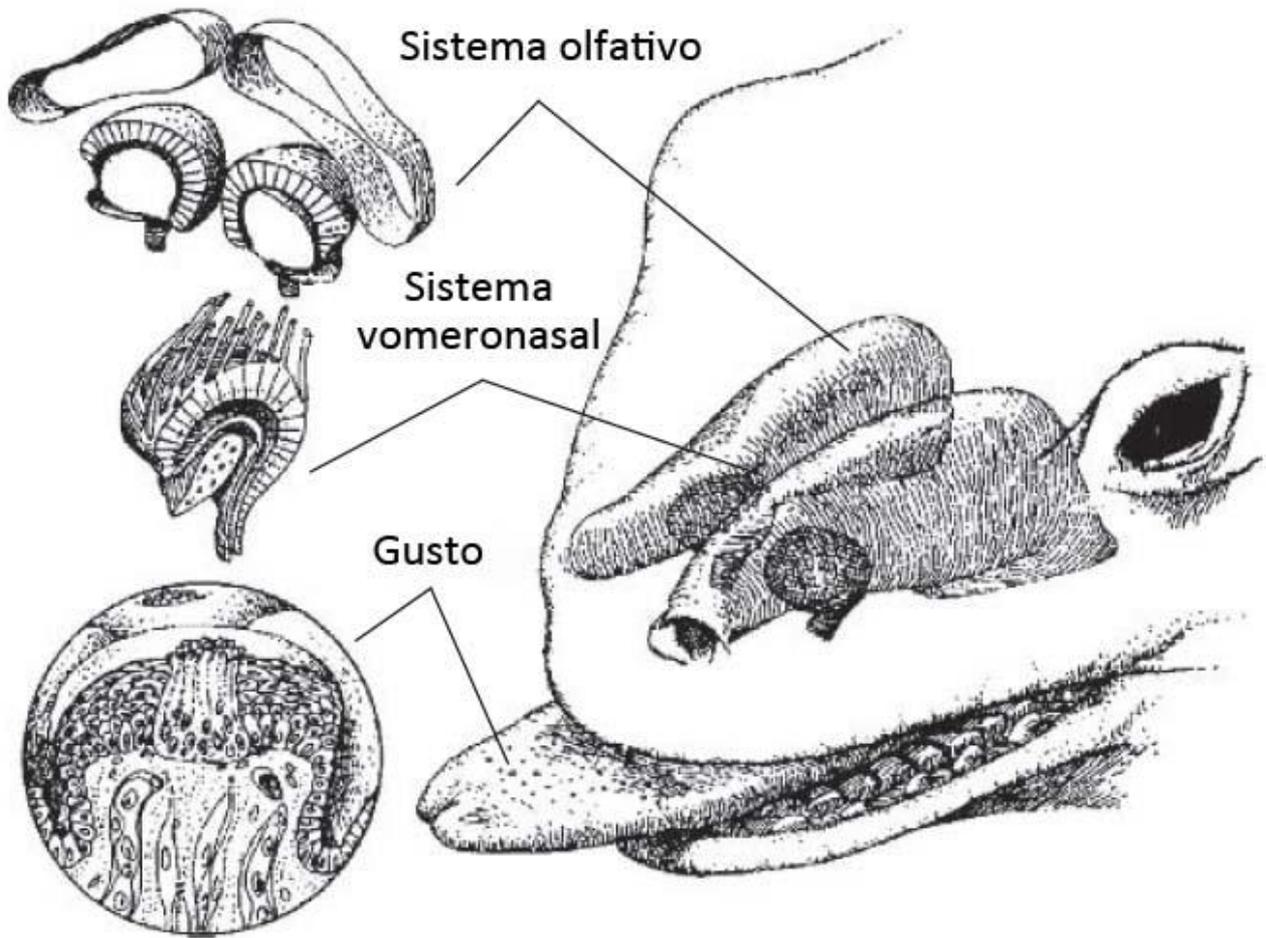


Fig. 2.- Esquema que muestra la ubicación de los órganos vomeronaesales, el cuerpo fungiforme (izquierda en medio) y el sistema olfativo. (Tomado de Schwenk 1995)



Fig. 3.- Corte coronal del órgano vomeronasal de una serpiente (*Elaphe guttata*) teñido con hematoxilina y eosina. SE=Epitelio sensorial, L= Lumen, NE=Epitelio no sensorial. (Tomado de Brykczynska et al. 2013).

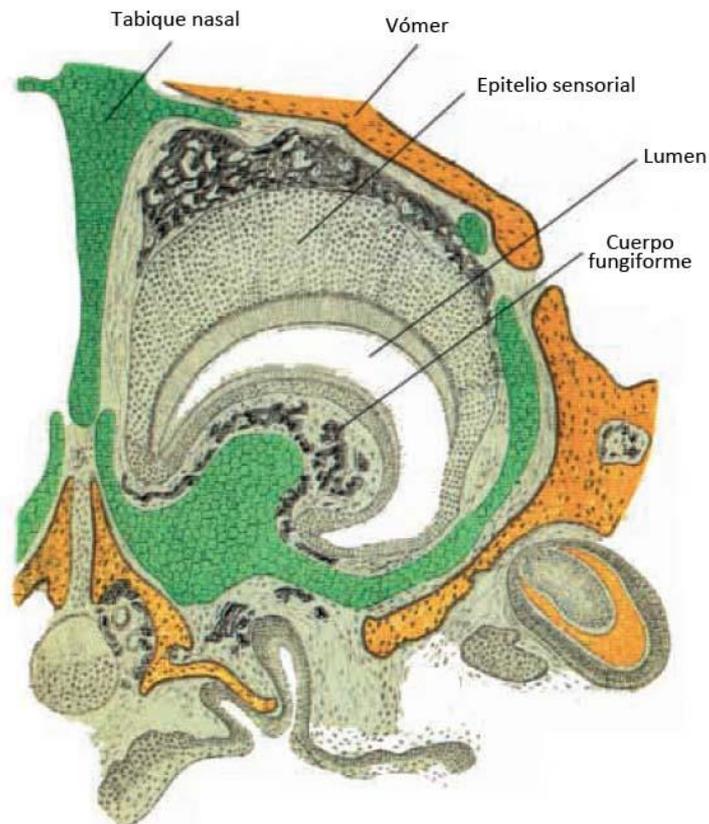


Fig.4.- Corte transversal de la cabeza de la serpiente *Coluber natrix*. Se muestran las partes del órgano vomeronasal. (Tomado de Mihalkovics 1899).

Schwenk (1994) señaló que el “muestreo químico” del ambiente y la entrega química a los OVNs son tareas mecánicamente distintas y deben ser consideradas por separado para dilucidar el mecanismo de quimiorrecepción y su relación con la evolución de la forma de la lengua en Squamata. Se sabe que están implicados poros microscópicos y “facetitas” que se encuentran en la superficie de la punta de la lengua (Mao et al. 1991). La lengua bífida de las serpientes y algunas lagartijas es utilizada como un detector quimiosensorial, principalmente para seguir rastros de feromonas de presas y parejas potenciales (Ford 1986; Schwenk 1994).

La entrega química a los OVNs puede ser dividida en dos fases: Fase I: es la transferencia del fluido cargado de químicos desde la superficie de la punta de la lengua hacia las fenestras vomeronasales; Fase II: es el movimiento del fluido a través de las fenestras vomeronasales hacia el lumen de los OVNs donde ocurre la transducción sensorial. Por lo tanto, si consideramos la toma de señales químicas con la lengua, serían tres fases de quimiorrecepción vomeronasal (muestreo, Fase I y Fase II). Generalmente se ha considerado que los lengüetazos oscilatorios sirven para incrementar el volumen de aire muestreado por la lengua, de esta manera se incrementa la exposición a los olores volátiles (Gove 1979; Gove & Burghardt 1983) De acuerdo con Schwenk (1996) el mecanismo de muestreo químico debe ser por difusión: durante los lengüetazos, las moléculas odoríferas se difunden en el fluido cubriendo la superficie de la punta de la lengua. Como la difusión es un proceso lento, los lengüetazos oscilatorios sirven para incrementar su tasa por medio de la ruptura de la barrera generada por la capa que se encuentra cerca de la superficie de la lengua, incrementando la velocidad del gradiente del aire que se mueve alrededor de la lengua e introduciendo nuevas moléculas a través de la mezcla “turbulenta” con el fin de mantener la concentración más alta posible del gradiente entre el aire circundante y la capa líquida en la superficie de la lengua. De cualquier manera, el resultado de los lengüetazos es el muestreo (disolución) de los químicos ambientales en la capa de fluido utilizando las puntas de la lengua.

La única hipótesis formal y ampliamente aceptada para la Fase I es la de Gillingham & Clark (1981). Estos autores propusieron que los químicos colectados en las puntas de la lengua son “limpiados” a través de unas “almohadillas” elevadas en el piso de la boca conocidas como plicas

sublinguales ("procesos anteriores") durante la retracción de la lengua. Después de esta transferencia, la lengua se retrae aún más y las almohadillas se elevan de tal forma que pueden hacer contacto directo con el paladar, transfiriendo los químicos, una vez más, a las fenestras vomeronasales donde, posiblemente, son succionadas hacia los OVN's (Fase II). La hipótesis nunca ha sido puesta a prueba y sólo se ha basado en observaciones en serpientes; sin embargo, la forma de la lengua y la cavidad oral en serpientes es altamente derivada y especializada en comparación con ciertos grupos lagartijas (McDowell 1972; Schwenk 1988; Filoramo & Schwenk 1998; Filoramo & Schwenk en prensa). La lengua de las serpientes es delgada, profundamente bifurcada y totalmente retráctil dentro de una vaina lingual que se encuentra debajo de la laringe (McDowell 1972), la cual está situada más anteriormente, en el piso de la boca en comparación con otros Squamata (McDowell 1972; Buchtova et al. 2007). Por lo tanto, al retraer la lengua hacia la boca después de un lengüetazo, la lengua puede ser retirada de la cavidad oral de tal forma que no haya nada entre las plicas sublinguales y el paladar (fenestras vomeronasales). En la mayoría de lagartijas es gruesa, no es bífida ni retráctil (Schwenk 1988, 1995). Después de la retracción de la lengua, esta permanece dentro de la cavidad oral, ubicada entre las plicas sublinguales y las fenestras vomeronasales. Finalmente, el piso de la boca y el paladar están modificados de forma particular en las serpientes, siendo diferentes substancialmente en la forma con respecto a lagartijas, incluyendo a las especies con lengua bífida (Iwasaki et al. 1996; Filoramo & Schwenk 1998; Filoramo & Schwenk en prensa).

Una lengua profundamente bífida es una adaptación para la tropotaxis (la habilidad de muestrear y sentir cualquier intensidad de señal relativa de cada lado del cuerpo de forma separada y simultánea) (Schwenk 1994), por lo tanto, hay un requerimiento adicional para el proceso de fase I de transferencia de químicos en esas especies. Se debe garantizar que los químicos concentrados en los fluidos del lado izquierdo y derecho de la lengua bífida sean entregados al OVN ipsilateral sin mezclarse. Esto es debido a que la tropotaxis requiere que la concentración y composición de los químicos captados por los extremos derecho e izquierdo puedan ser diferenciados con la finalidad de determinar la dirección en la cual la señal química es más fuerte.

Young (1993) sugirió que la succión generada dentro del lumen de los OVN es el mecanismo más probable para la Fase II. La succión sería generada por la elevación y relajación del piso de la boca, el cual causa un desplazamiento dorsal de un cartílago dentro del OVN conocido como “cuerpo fungiforme” (Parsons 1970). Este movimiento comprime el lumen del OVN, ocasionando que el contenido salga, entonces un retroceso elástico del cuerpo fungiforme hacia su posición de descanso, crea una presión negativa lo que lleva a los fluidos hacia el lumen (Young 1993).

2.5 Receptores vomeronasales y proceso de transducción

Las proteínas receptoras quimiosensoriales se encuentran en las microvellosidades de las dendritas de las neuronas vomeronasales e interactúan con las moléculas en la cavidad del OVN. Los receptores predominantes en el OVN de vertebrados son tres: receptores formil-péptido (RFP's), V1Rs y V2Rs (Fig. 5). Estos son receptores acoplados a proteínas G de los siete dominios transmembrana (7TM) (Dulac & Axel 1995).

En serpientes del género *Thamnophis* se han identificado componentes vomeronasales receptores de señales en la vía de transducción, tales como proteínas G y el mensajero secundario inositoltrifosfato (IP3) (Luo et al. 1994). En la misma especie los estímulos provocados por los químicos de presas generan la activación de las neuronas en el epitelio sensorial vomeronasal (Cinelli et al. 2002) así como un incremento en la tasa de codificación de las neuronas individuales en el bulbo accesorio olfativo (BAO); esto es, el sitio de proyección de las neuronas sensoriales vomeronasales en el cerebro (Jiang et al. 1990).

Por medio de secuenciación de RNA en la serpiente del maíz (*Pantherophis guttatus*) se encontraron una gran cantidad de receptores vomeronasales de tipo V2R compuestos de pequeñas pero múltiples expansiones específicas de serpientes y específicas de reptiles y sólo unos cuantos genes para receptores tipo V1R (Martini et al. 2001; Ishii & Mombaerts 2011).

El SVN de serpientes *Thamnophis* es el que mejor se ha caracterizado para entender el proceso de transducción de señales químicas (presas). La habilidad de estas serpientes para responder a químicos tomados de lombrices, su presa

preferida, depende de un SVN funcional (Halpern 1987). La aplicación de un quimioatrayente de 20 kDa en el epitelio sensorial vomeronasal, extraído de una secreción de la lombriz (ES20), provocó la generación de una corriente interna en las células receptoras vomeronasales (Taniguchi et al. 2000) e incrementó la frecuencia de descarga de células mitrales en el bulbo accesorio olfativo (Jiang et al. 1990). La unión de un ligando a un receptor acoplado a proteínas G (GPRs) (1) activa la fosfolipasa C incrementando el nivel intracelular de inositol-1,4,5-tri-fosfato (IP_3) y una disminución del AMPc intracelular (2) (Luo et al. 1994), lo que resulta en un aumento de los niveles citosólicos de Ca^{2+} por medio de dos mecanismos diferentes: La entrada de Ca^{2+} a través de la membrana plasmática (3) y liberación de Ca^{2+} de los sitios de almacenamiento dicha conductancia es mediada por IP_3 (4). Además de estos también se puede liberar Ca^{2+} a través del mecanismo CICR (liberación de calcio inducida por calcio) que es regulado por la sensibilidad a rianodina y la entrada de Ca^{2+} por medio de la activación de canales de calcio sensibles al voltaje (VSCC), siguiendo la despolarización de la membrana (5). Un “intercambiador” de Na^+/Ca^{2+} ayuda a limitar la magnitud y duración de los aumentos de Ca^{2+} en el citosol por medio de la salida de Ca^{2+} (6). Se ha clonado adenilato ciclasa (AC) tipo IV (AC_{vn}) del cDNA del OVN de serpientes *Thamnophis*, la cual es sensible al Ca^{2+} .

De esta forma, los elementos de transducción en estas serpientes incluyen: proteínas G, AC (adenilato-ciclasa) y PLC (fosfolipasa C), cambios en los segundos mensajeros (IP_3 y AMPc), CICR de sitios de almacenamiento sensibles a rianodina y proteínas de intercambio Na^+/Ca^{2+} (Cinelli et al. 2002; Wang et al. 2002) (Fig. 6).

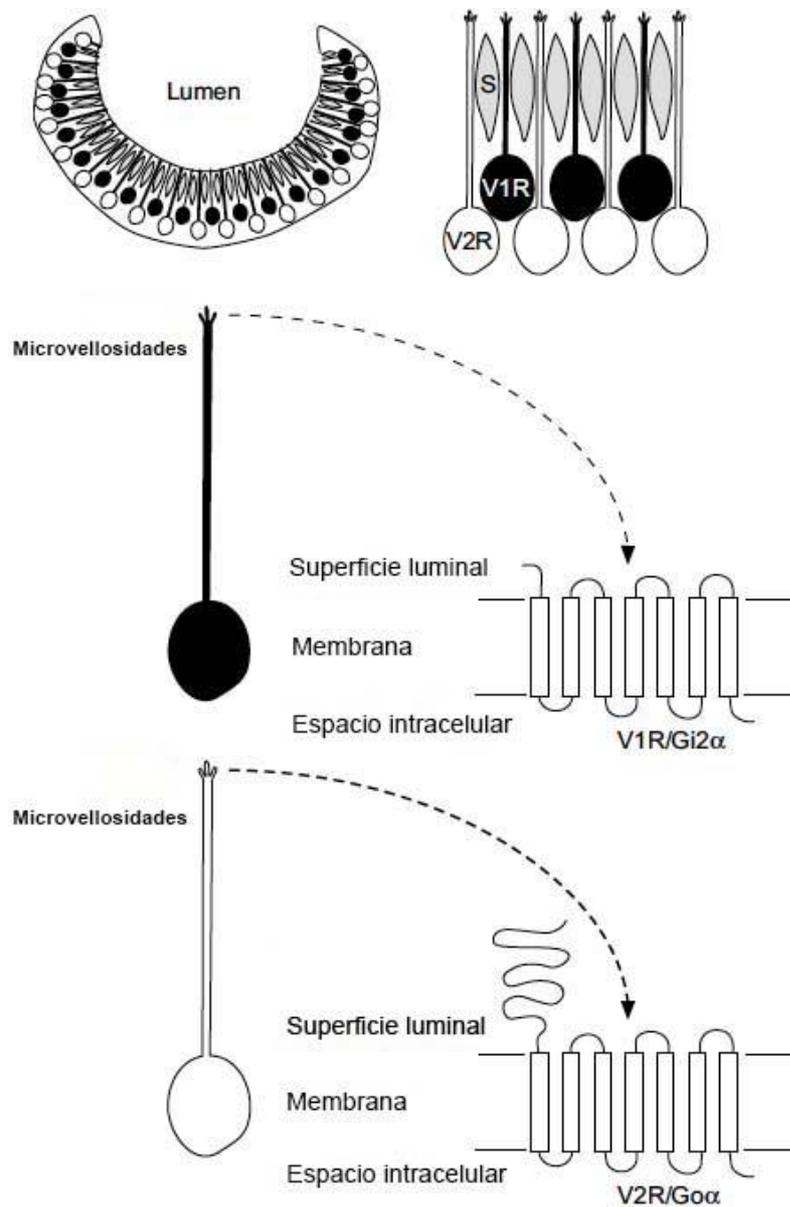


Fig. 5.- Receptores vomeronasales V1R, V2R y su ubicación (Tomado de Halpern & Martínez 2003).

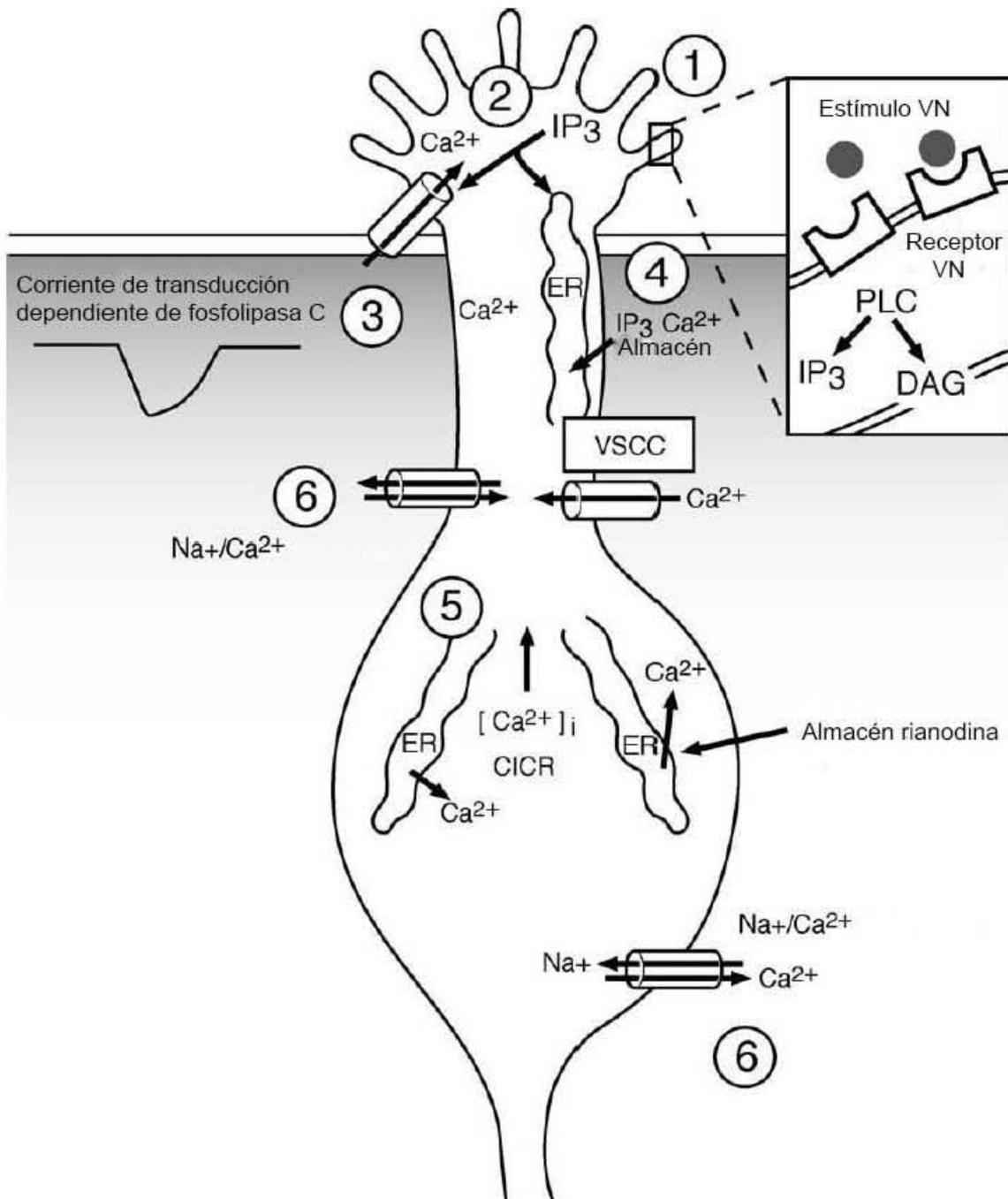


Fig. 6.- Proceso de transducción de las señales recibidas por el vomerolfato
(Tomado de Halpern & Martínez 2003).

2.6 Importancia del vomerolfato en Squamata

Está claramente establecida la diversidad de funciones y comportamientos en los cuales los sentidos quimiosensoriales juegan un papel crítico, así como la importancia de los órganos quimiosensoriales en la ecología de Squamata. Se sabe que la quimiorrecepción interviene en la elección y localización de presas, en los hábitos de forrajeo, reconocimiento propio e individual, reconocimiento de familiares, localización y elección de pareja, ubicación de refugio, seguimiento de rastros, agregaciones, identificación de depredadores, comportamiento exploratorio, comportamiento defensivo, cortejo, copulación y virtualmente todos los aspectos del comportamiento social en varios, si no es que en la mayoría de los linajes de reptiles (Burghardt 1970; Halpern 1992; Mason 1992).

Todas las evidencias sugieren que la función principal de los lengüetazos es quimiosensorial. Se ha demostrado que las lagartijas pueden detectar alimento, depredadores e individuos conespecíficos mediante los lengüetazos (Halpern 1992; Mason 1992; Cooper 1997; Downes & Shine 1998).

La hipótesis de Cowles y Phelan (1958) propone que la detección de las moléculas en el aire por medio del olfato provoca lengüetazos para el muestreo por medio del vomerolfato. Lesiones en los nervios olfativos impiden el aumento de la tasa de lengüetazos, la cual normalmente es provocada por partículas odoríferas, lo que parece confirmar esta hipótesis (Halpern 1997). Por otro lado, el olfato es insuficiente para la discriminación química de alimento en serpientes *Thamnophis sirtalis*, cuando los nervios vomeronasales son cortados (Halpern & Frumin 1979) y en iguanas (*Dipsosaurus dorsalis*) con los conductos vomeronasales tapados.

Aunque se conoce poco sobre el papel del gusto en lagartijas, algunos estudios sugieren que está involucrado en las decisiones de alimentación. Por ejemplo individuos de *Anolis carolinensis* rechazan la comida con bajas concentraciones de quinina (Stanger-Hall et al. 2001). En esta misma especie las sustancias dulces y amargas provocan respuesta aún cuando el vomerolfato esta bloqueado, sugiriendo fuertemente que el gusto es de importancia sin excluir al olfato. Por otra parte, las iguanas de desierto (*Dipsosaurus dorsalis*) con los conductos vomeronasales sellados no pudieron discriminar entre químicos de presas, plantas y controles a pesar de tener intactas las papilas gustativas,

mostrando que la discriminación química en este caso no es mediada por el gusto (Cooper & Alberts 1991).

El vomerolfato parece ser el principal sentido responsable de la discriminación química del alimento en Squamata, de acuerdo a estudios con *Thamnophis*, en serpientes recién nacidas normalmente discriminan entre químicos de presa y controles, pero fallan cuando se remueven las puntas de la lengua (Burghardt & Pruitt 1975). Lesiones en los nervios vomeronasales en serpientes adultas provoca que no ataquen a extractos de presas (Halpern & Frumin 1979) y pierden la habilidad para seguir rastros de presas (Kubie & Halpern 1979). Durante el forrajeo la utilidad más probable de la quimiorrecepción es la detección de sustancias químicas de presas en el ambiente externo. En esta parte, el muestreo de señales químicas con la lengua proporciona más información (Duvall 1985).

Se ha investigado el comportamiento y la quimiorrecepción de los helodermátidos en laboratorio, mediante la observación de los lengüetazos como respuesta a una variedad de estímulos químicos (Cooper 1989; Cooper et al. 1994; Cooper & Arnett 1995, 2001; Garrett et al. 1996).

2.7 Experimentos de respuesta quimiosensorial

Mediante la presentación de estímulos químicos en algodones, técnica implementada por Burghardt (1967) y Cooper (1989; 2001), que ha sido utilizada con éxito en varias especies y grupos de reptiles, se puede evaluar la respuesta quimiosensorial de los reptiles Squamata ante una gran variedad de estímulos, tales como presas potenciales, individuos conespecíficos, depredadores potenciales y materia vegetal (en especies herbívoras y no herbívoras). Con esta clase de experimentos se puede determinar si existe discriminación de los estímulos de interés en comparación con estímulos control y a su vez si existe discriminación entre diferentes estímulos de relevancia biológica. Lo anterior mediante el conteo de lengüetazos en respuesta a los estímulos y la comparación estadística de las tasas de lengüetazos entre los diferentes tratamientos (Cooper 1994, 1998; Cooper & Arnett 2001; Cooper & Habegger 2000, 2001; Cooper et al. 2001; Dial & Schwenk 1996; Mullin et al. 2004; Font & Desfilis 2002; Wall & Shine 2009; Weaver & Cardong 2010; Wilgers & Horne 2009)

En este estudio se evaluó la respuesta quimiosensorial de 20 individuos (en cautiverio) de *H. horridum* de regiones cercanas a Coquimatlán en el estado de Colima a estímulos ambientales. Los estímulos químicos utilizados fueron de alimento potencial, conespecíficos y depredadores potenciales .

Anteriormente en helodermátidos se utilizó la técnica de la presentación de estímulos mediante algodones. En *H. suspectum* se evaluó la respuesta a estímulos de ratón (Cooper 1989) y en *H. horridum* se evaluaron las conductas antidepredadoras ante estímulos químicos de depredadores (Balderas-Valdivia 2005).

2.8 Hipótesis

Considerando que en el monstruo de gila (*H. suspectum*) se ha documentado el reconocimiento de presas potenciales (Cooper 1989) y a que en *Heloderma horridum* está bien desarrollado el vomerolfato, éste es fundamental en *H. horridum* para la detección de estímulos de importancia biológica.

2.9 Predicciones

Se espera que haya diferencias estadísticamente significativas entre las tasas de lengüetazos emitidos como respuesta a estímulos químicos ambientales (alimentarios, individuos conespecíficos y depredadores) con respecto a los controles (agua destilada y vaselina), siendo mayor para los estímulos de importancia biológica. En el caso de la respuesta al estímulo de aguililla cola roja (*Buteo jamaicensis*) se espera que sea similar al control debido al tipo de depredador (ave rapaz), es decir, que no haya diferencias significativas entre las tasas de lengüetazos.

2.10 Objetivos

-Determinar las respuestas conductuales de los individuos de *H. horridum* a estímulos químicos de importancia biológica (alimentarios, conespecíficos y depredadores).

-Determinar la existencia de respuesta diferencial a estímulos químicos de importancia biológica con respecto a los controles (agua destilada y vaselina).

-Analizar desde un punto de vista ecológico la presencia/ausencia de respuesta a los estímulos químicos.

3.- ESPECIE DE ESTUDIO

3.1 Características de la especie

Heloderma horridum (Wiegmann 1829) pertenece a la familia Helodermatidae (Boulenger 1884), que incluye un sólo género y dos especies (*H. horridum* y *H. suspectum*); sin embargo, un estudio filogenético reciente propone elevar a nivel de especie las cuatro subespecies de *H. horridum* (*H. h. alvarezi*, *H. h. charlesbogerti*, *H. h. exasperatum* y *H. h. horridum*), tomando en cuenta caracteres morfológicos y moleculares (Reiserer et al. 2013). Las especies de esta familia tienen un aparato inoculador de veneno formado por una serie de glándulas venenosas y dientes acanalados (Beck 2005).

La distribución geográfica de la familia Helodermatidae se restringe a Centro y Norteamérica (Bogert & Martín del Campo 1956; Beck 2005). La distribución de *H. horridum* abarca desde el sur de Sonora hasta Chiapas a lo largo de las estribaciones de la costa del Pacífico así como en el sureste de Guatemala, a través de un intervalo altitudinal que va del nivel del mar hasta alrededor de 1600 msnm. Esta especie sólo es simpátrida con *H. suspectum* en el sur de Sonora; sin embargo, existen diferencias en cuanto a preferencia de microhábitat entre estas especies. Ambas especies se diferencian por la proporción de la longitud de la cola con respecto al cuerpo, al menos 65% en *H. horridum* y menos del 55% en *H. suspectum*. Se distinguen además por las escamas postanales, alargadas en *H. suspectum* y no alargadas en *H. horridum* (Beck 2005) con excepción de algunos individuos de Guatemala (Campbell & Vannini 1988). Las dos especies muestran diferencias en el número de escamas infralabiales que están en contacto con las placas mentonianas: un par en *H. suspectum* y dos pares en *H. horridum* (Bogert & Martín del Campo 1956).

Heloderma horridum se distribuye principalmente en bosque tropical caducifolio y en bosque espinoso aunque se puede encontrar con menor frecuencia en bosques de pino-encino. Frecuenta zonas abiertas, arroyos rocosos así como lugares “elevados” con densa vegetación y mesetas (Beck & Lowe 1991). Son lagartos grandes, robustos, terrestres y semiarborícolas, los jóvenes son de color negro o pardo oscuro con puntos, barras o manchas de color amarillo, la cola

está distintivamente bandeada alternando el color oscuro con amarillo. Los patrones de coloración son al mismo tiempo crípticos y aposemáticos, en adultos varían de reticulado con bandas amarillas hasta coloraciones casi totalmente oscuras, no existe dimorfismo sexual en cuanto a coloración, presentan osteodermos en la parte dorsal de la cabeza, tronco, cola y extremidades. Sus extremidades son relativamente cortas, la cola funciona como sitio de almacenamiento de energía de reserva. La robusta arquitectura esquelética, músculos mandibulares grandes y las glándulas de veneno dan a su cabeza una apariencia abultada (Beck 2005; Aguilar 2005). Tiene ojos pequeños y su lengua es bífida de color rosado (Álvarez del Toro 1982).

Los adultos alcanzan una longitud hocico-cloaca de 330 a 470 mm y una longitud total de 570 a 800 mm, con una masa promedio de 900g (Beck & Lowe 1991). Se han evaluado datos para dimorfismo sexual, resultando el tamaño de la cola significativamente mayor en machos que en hembras. En el caso del tamaño de la cabeza no se han evaluado datos para *H. horridum*; sin embargo para *H. suspectum* se encontraron diferencias significativas, teniendo los machos cabezas más largas y anchas, dichas diferencias pueden haber sido resultado de selección sexual, en el cual tales características son favorecidas para los combates entre machos, característicos de ambas especies (Gienger & Beck 2007). La reproducción de la especie aparentemente ocurre entre septiembre y diciembre, la ovoposición se efectúa entre octubre y diciembre, mientras que las crías emergen en junio-julio, por lo que la incubación parece llevarse a cabo durante toda la época seca pero se requieren de estudios más completos que comprueben esto (Beck 2005; Gienger 2005). *Heloderma horridum* muestra combates ritualizados entre machos, los cuales adquieren ciertas posturas y llegan a formar un arco, los combates se repiten en varias ocasiones iniciados por el ejemplar subordinado, el combate termina con la lagartija dominante encima de la subordinada, la primera muerde a la última en la mandíbula. Los machos de mayor tamaño son favorecidos, los ganadores pueden tener un acceso mayor a las hembras (Beck & Ramírez-Bautista 1991).

En la costa de Jalisco, *Heloderma horridum* ha mostrado un patrón de actividad diurno bimodal, con dos picos de actividad uno pequeño al iniciar el día (de 7:00 a 10:00 hrs.) y otro mucho más pronunciado hacia el final (de 16:00 a 20:00 hrs.), éste patrón es más marcado en la época de lluvias. Esta especie suele

encontrarse en refugios que varían de acuerdo con la época del año. En la época de lluvias utilizan con mayor frecuencia árboles (Beck & Lowe 1991). El pico de actividad anual, es al final de la temporada seca (marzo-mayo), aunque la actividad continúa a lo largo de junio y julio, decreciendo en los meses de septiembre y octubre. A lo largo de septiembre y octubre los animales han sido frecuentemente encontrados en la superficie después de fuertes lluvias. *Heloderma horridum* es un forrajeador activo con una dieta especializada en huevos y crías de vertebrados (huevos de aves y reptiles, polluelos y crías de mamíferos). Tiene el sistema auditivo y quimiosensorial bien desarrollados lo que le permite ubicar su alimento con facilidad. La utilidad del veneno es principalmente como mecanismo de defensa y no para someter a presas potenciales (Álvarez del Toro 1982; Beck 2005). Los objetivos principales de la actividad en *Heloderma* son encontrar alimento, pareja o refugios apropiados. La disponibilidad y la demanda de estos recursos cambian con la temporada. Encontrar recursos, puede ser más difícil y requieren de mayor búsqueda en determinados años (Beck 2005). El sistema vomeronasal parece ser de gran importancia para cubrir esas necesidades cuando los individuos de *H. horridum* están activos. En el presente estudio se evaluaron la respuesta a estímulos alimentarios, individuos conespecíficos y depredadores tratando de corroborar su importancia en la detección de estímulos ambientales.

3.2 Filogenia

Algunos análisis (Lee 1997; Gao & Norell 1998, 2000) han establecido la monofilia de Platynota y han redefinido al grupo como “el ancestro común más reciente de Monstersauria, Varanidae y todos sus descendientes” (Gao & Norell 1998). Como miembro de Platynota, *Heloderma* muestra un ancestro común más reciente con Varanidae y no con otros grupos de lagartijas existentes (Estes et al. 1998). Los Helodermátidos son similares a *Varanus* en muchos aspectos, tales como características esqueléticas, osteodermos (un carácter presente en *Heloderma* que se encuentra en muchas especies de *Varanus*), su sistema quimiosensorial especializado y su combate ritualizado entre machos (Pregill et al. 1986; Estes et al. 1988; Beck & Ramírez Bautista 1991). El precursor del aparato de veneno de *Heloderma*, la glándula de Gabe, está presente también en los varánidos (Kochva 1974; Gabe & Saint Girons 1976; Pregill et al. 1986). De acuerdo con estudios de elementos morfológicos los helodermátidos están

más relacionados con las serpientes que con cualquier otro grupo de lagartijas existente con excepción del taxón hermano Anguimorpha (familias como Varanidae y Anguidae), Platynota que incluye a *Heloderma*, muestra un gran número de características en común con serpientes. Ambos grupos presentan similitudes en su dentición, en el remplazo de los dientes, en la estructura de sus cráneos, presentan lengua bífida y características de comportamiento como su “combate-danza” entre machos (Estes et al. 1988; Beck & Ramírez Bautista 1991; Lee 1997). Análisis que incluyen fósiles de Mosasauridae han validado la relación filogenética entre serpientes y Platynota (Lee 1997; Gao & Norell 1998, 2000; Caldwell 1999). Los helodermátidos también se asemejan a las serpientes en sus hábitos de forrajeo, su habilidad para ingerir grandes cantidades de alimento y particularmente en sus combates ritualizados, los que incluyen muchas posturas observadas en combates de serpientes (Gillingham 1987; Beck & Ramírez-Bautista 1991); sin embargo, el sistema de veneno en *Heloderma* es muy diferente al de las serpientes y parece haber evolucionado independientemente (Beck 2005).

Estudios recientes que consideran secuencias de DNA nuclear y mitocondrial para los análisis filogenéticos han mostrado diferencias con respecto a los que utilizan caracteres morfológicos. La mayoría agrupa al taxón Anguimorpha integrado por Anguidae, Helodermatidae, Lanthanotidae, Varanidae, Xenosauridae y Anniellidae. Además se cita un mayor grado de parentesco entre Xenosauridae, Anguidae y Anniellidae con Helodermatidae. La relación de Anguimorpha con serpientes resulta controversial y se pone en entredicho que Helodermatidae está más emparentado con serpientes que con otros grupos de lagartijas (Pyron et al. 2013; Townsend et al. 2004; Vidal & Hedges 2005) (Figs. 7 y 8).

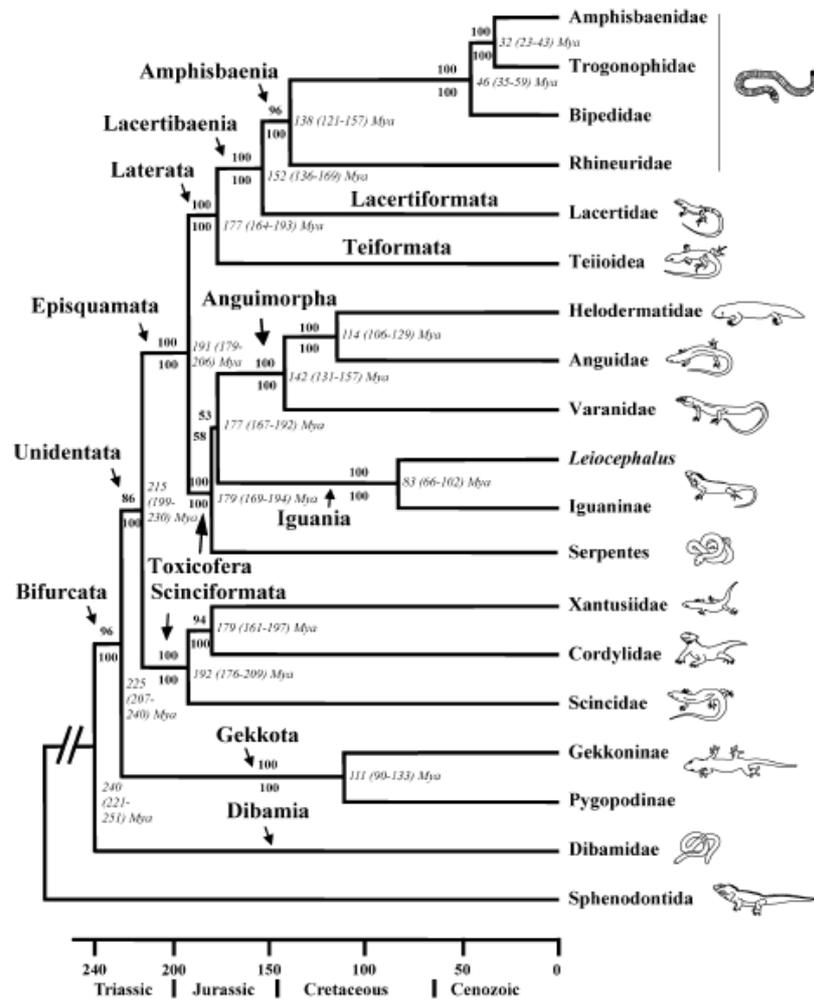


Fig. 7.- Relaciones filogenéticas de Squamata obtenidas con datos de secuencias de DNA nuclear (Tomado de Vidal & Hedges 2005).

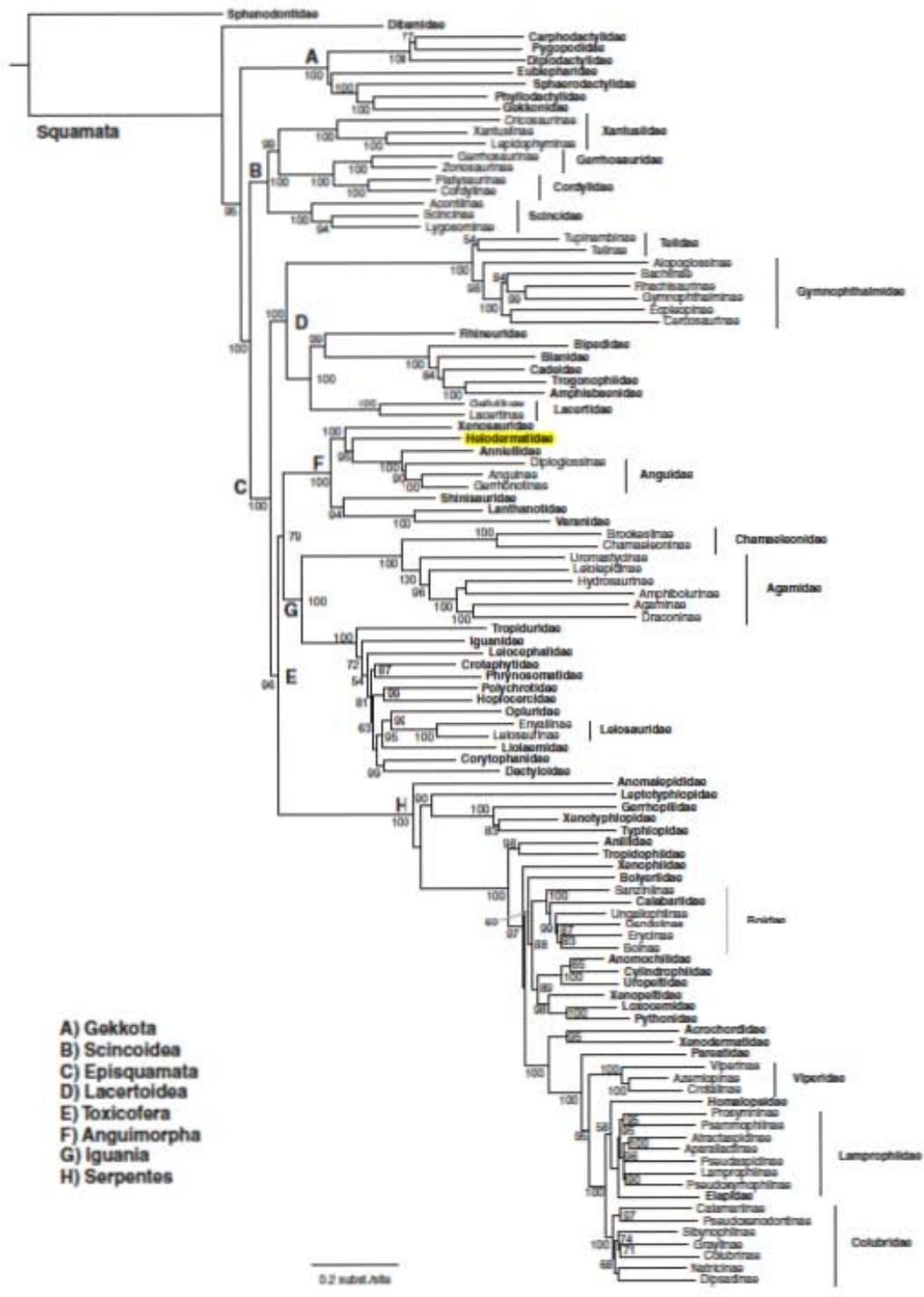


Fig. 8.- Relaciones filogenéticas de Squamata obtenidas con datos de secuencias de DNA (Tomado de Pyron et al. 2013).

3.3 Hábitat de *Heloderma horridum*

El principal tipo de vegetación en donde habita la especie de estudio es el bosque tropical caducifolio (BTC), el cual es un ecosistema propio de regiones de climas cálidos y dominados por especies arborescentes que pierden sus hojas en la época seca del año durante un lapso variable, que oscila alrededor de los seis meses. El BTC tiene una distribución geográfica que se extiende a través de la vertiente del Pacífico en México, donde cubre grandes extensiones prácticamente ininterrumpidas desde el sur de Sonora y el suroeste de Chihuahua hasta Chiapas y se continúa a Centroamérica. En México se encuentra entre 0 y 1900 m de altitud, con mayor frecuencia por debajo de 1500m. La temperatura media anual es del orden de 20 a 29 ° C. La precipitación media anual más frecuente va de 600 a 1200 mm, la cual se concentra entre los meses de julio a octubre por lo que la temporada de secas puede durar hasta 8 meses. Este tipo de vegetación se caracteriza por una marcada estacionalidad ambiental con profundos cambios en la disponibilidad de recursos y condiciones microclimáticas (Noguera et al. 2002; Rzedowsky 2005).

4.- MÉTODOS

4.1 Sitio de estudio

El proyecto se llevó a cabo en el parque ecológico “El Palapo”, el cual está ubicado en el municipio de Coquimatlán en el estado de Colima, cerca de la población Agua Zarca por la carretera federal 56. En esta se encuentra una desviación que conduce al parque. El tipo de vegetación circundante es el bosque tropical caducifolio con un clima Aw (Rzedowsky 2005) y una altitud aproximada de 280 m.s.n.m. Cabe señalar que hay zonas de cultivo en las áreas aledañas al parque.

4.2 Utilización de ejemplares

El presente estudio se realizó con animales en cautiverio del parque ecológico “El Palapo”. El parque cuenta con 20 ejemplares adultos, para los cuales se registró la longitud hocico-cloaca (LHC), la longitud total (LT), longitud de la cola (LC), peso, volumen de la cola (VC), el largo (LCa) y ancho (ACa) de la cabeza

(cuadro 1). El volumen de la cola se obtuvo al medir la cantidad de agua desplazada al sumergir la cola del animal en una probeta.

No fue posible determinar el sexo, debido a que no existe dimorfismo sexual evidente en estos reptiles. Se intentó protruir los hemipenes sin éxito, lo cual depende del estado reproductor en que se encuentren los individuos.

Los experimentos se llevaron a cabo del 2 de julio al 4 de septiembre de 2013. Cabe señalar que los ejemplares son de regiones cercanas a Coquimatlán y son producto de decomisos realizados por la PROFEPA.

4.3 Experimentos

Los experimentos se llevaron a cabo contando el número de lengüetazos ante la presencia de un determinado estímulo, lo cual es un reflejo de la respuesta quimiosensorial de los individuos (Cooper & Arnett 2001). Para evaluar la respuesta quimiosensorial se les situó en terrarios de 80 cm de largo por 48 cm de ancho por 40 cm de altura con periódico como sustrato, se les proporcionó agua *ad libitum* y se les alimentó semanalmente con huevo de gallina.

La presencia de humanos puede provocar un comportamiento de escape o inmovilidad como estrategia de defensa. Para este tipo de experimentos es recomendable mantener a los animales en cautiverio con las condiciones en las que serán sometidos a las pruebas por un período determinado, para que se acostumbren al sitio experimental y a la presencia de seres humanos (Cooper 1998). Antes de iniciar con los experimentos, se dejó pasar una semana en los terrarios para que se habituaran a las condiciones experimentales, se tuvo cuidado al momento de realizar las pruebas para perturbar a los animales lo menos posible. De esta forma se minimizó el posible efecto de comportamientos defensivos en los experimentos.

La presentación de los estímulos se hizo mediante aplicadores de 45 cm con una torunda de algodón en su extremo. La tapa de los terrarios se retiraba cuidadosamente y con el aplicador la torunda previamente tratada se colocó a 2 cm del hocico del ejemplar para evaluar su respuesta mediante el número de lengüetazos. El experimento se daba por iniciado al emitirse el primer lengüetazo, a partir de ese momento se contabilizaron los lengüeteos durante un período de 60s y se registró si se presentaba alguna conducta particular. En caso de no

haber respuesta por parte de los individuos se esperó un máximo de 5 minutos, en dichos casos se registraron cero lengüetazos, es decir, en los que no hubo respuesta pasados 5 minutos. Los controles utilizados fueron agua destilada (sin olor) y vaselina, la cual tiene olor pero no de relevancia biológica, su preparación consistió en sumergir la torunda en agua destilada y en vaselina respectivamente. La preparación de los demás estímulos se hizo sumergiendo la torunda en agua destilada y deslizándola en la superficie dorsal y ventral de los individuos de *Heloderma*, de los depredadores y de los estímulos alimentarios, tomando así una “muestra química”. Los experimentos se grabaron en video para su análisis, se realizaron en horarios en que los individuos se encontraban activos (de 9:30 a 11:00 h y de 16:00 a 20:00 h) lo cual coincide con los picos de actividad registrados su hábitat (Beck & Lowe 1991). Las pruebas se realizaron en intervalos de 20 minutos entre pruebas (Cooper & Arnett 2001). Se midió el tiempo de latencia (período que abarca desde la presentación del estímulo hasta que se emite el primer lengüetazo). El observador que contabilizaba no sabía cual era el estímulo que se estaba presentando, a fin de evitar sesgos.

Las tasas de lengüetazos pueden variar de forma marcada con la temperatura (Cooper & Vitt 1986; Van Damme *et al.* 1990), sin embargo, en este estudio no se pudo controlar ésta variable. Se registró la temperatura ambiental a la que se realizó cada prueba para posteriormente realizar un ajuste estadístico. Al final de cada grupo de pruebas se tomó la temperatura cloacal de los individuos con el fin de analizar la relación entre la temperatura ambiental y cloacal.

Se emplearon 3 clases de estímulos químicos: alimentarios, individuos conespecíficos y depredadores potenciales, por lo que se diseñaron 3 experimentos, el experimento 1 corresponde a estímulos alimentarios, el 2 a estímulos de individuos conespecíficos y el 3 a estímulos de depredadores.

Los individuos sometidos a pruebas de estímulos alimentarios no recibieron alimento 7 días antes de realizar los experimentos. Para los estímulos se tomaron muestras de huevos de paloma morada (*Patagioenas flavirostris*), huevos de tortuga (*Rhinoclemmys pulcherrima*) y ratones jóvenes (*Mus musculus*). Tanto las tortugas como las palomas moradas se encuentran en el hábitat natural de *H. horridum*. Se utilizó el estímulo de ratón a pesar de que no se encuentra en el hábitat de *H. horridum* ya que un estudio previo en *H. suspectum* y *Varanus exanthematicus* demostró que los individuos pueden

detectar este estímulo (Cooper 1989). Cada estímulo se le presentó a todos los individuos a fin de evaluar su respuesta (N=20).

En el caso de las respuestas a individuos conespecíficos se utilizaron 4 individuos, 3 de acuerdo a su condición corporal (baja, media y alta). La condición fue determinada considerando los valores LHC/peso y VC. Además se utilizó un cuarto individuo que no había tenido contacto con los individuos que se encontraban previamente en el parque. Los cuatro estímulos se les presentaron a todos los individuos para evaluar su respuesta. El tamaño de muestra para estas pruebas es de 19 para cada estímulo (N=19), debido a que no se evaluó la respuesta del mismo individuo al que se le tomó la muestra.

Finalmente los estímulos de depredadores potenciales provinieron de boa (*Boa constrictor*) y aguililla cola roja (*Buteo jamaicensis*), los cuales se encuentran en el área de distribución de *H. horridum*. Se han documentado observaciones en campo de boas alimentándose de *H. horridum* (Balderas-Valdivia, Ramírez-Bautista 2005) y la especie puede ser susceptible a aves rapaces, principalmente los individuos jóvenes (Beck 2005). Se evaluó la respuesta a ambos estímulos en todos los individuos (N=20).

Los estímulos se presentaron de forma aleatoria de tal forma que el orden de presentación para cada individuo no fuera el mismo para controlar sobre una posible habituación diferencial a varios estímulos en diferentes pruebas (Ford 1995; Mullin *et al.* 2004). La respuesta a los diferentes estímulos se midió una sola vez, para que los animales tuvieran la menor posibilidad de “aprender” ante la presentación de los estímulos (Cooper & Habegger 2001).

4.4 Análisis estadístico

Para evaluar las diferencias existentes entre las tasas de lengüetazos en respuesta a las clases de estímulos con respecto a los controles, se utilizó un análisis de covarianza (ANCOVA) en un diseño de medidas repetidas, la covariable en este diseño fue la temperatura ambiental tomada al momento de los experimentos. De esta forma se realizó la comparación estadística entre la respuesta estímulo-control ajustando por la temperatura. Debido a que los datos no presentaron una distribución normal, se recurrió a transformar mediante raíz cuadrada los datos de lengüetazos y a logaritmo natural los datos de

temperatura. Se empleó un ANCOVA de medidas repetidas para evaluar las diferencias con respecto a los tiempos de latencia entre tratamientos en los casos que no hubo respuesta el tiempo de latencia fue de 300 segundos (tiempo máximo). También se utilizó un ANOVA de Friedman (análisis no paramétrico) para todas las pruebas, sin embargo, en este caso no se hizo ajuste de los datos con respecto a la temperatura ya que este tipo de análisis no incluye una covariable.

Se realizaron regresiones simples con el fin de mostrar la relación temperatura ambiental-lengüetazos para cada estímulo y para evaluar la relación temperatura ambiental-temperatura cloacal, de esta forma se justifica el uso de la temperatura ambiental en el ANCOVA.

Para todas las pruebas se empleó el paquete estadístico IBM, SPSS Statistics.

5.- RESULTADOS

5.1 Datos de los individuos

En el cuadro 1 se muestran los datos de los veinte individuos utilizados en las pruebas. Estos datos incluyen el número de encierro en el que se encontraban los animales antes de realizar el estudio, su longitud hocico-cloaca (LHC), longitud total (LT), longitud de la cola (LC), largo de la cabeza (LCa), ancho de la cabeza (ACa), peso, volumen de la cola (VC), el tiempo aproximado que los animales han estado en el parque (aislamiento) y la relación LHC/peso. Como se mencionó anteriormente, de estos datos se utilizaron la relación LHC/peso y el volumen de la cola en el experimento de respuesta a conoespecíficos para la elección de un animal con condición alta (individuo 8), uno media (individuo 14) y uno baja (individuo 10). De la misma forma se tomó en cuenta al individuo que no tuvo contacto con los demás animales (individuo 17) ya que llegó al parque justo antes de iniciar las pruebas y se pudo evitar el contacto, cabe mencionar que la condición de este individuo era media-baja.

Considerando factores como el tamaño de muestra, que se utilizaron solamente individuos adultos para las pruebas y que no se pudo determinar el sexo de los animales, la mayoría de estos datos se utilizaron para llevar un registro e identificación de cada animal además de tener carácter informativo, ya que por

las limitantes mencionadas anteriormente no pudieron ser incorporadas a los análisis estadísticos.

Cuadro 1.- Datos de los animales utilizados en los experimentos.

# Individuo	Encierro	LHC mm	LT mm	LC mm	LCa mm	ACa mm	peso g	VC ml.	aislamiento	LHC/peso
1	1	350	610	260	60	55	760	140	6 años	2.17
2	1	360	600	240	55	58	820	120	6 años	2.27
3	1	370	623	253	64	56	875	203	6 años	2.36
4	1	410	660	250	68	70	1180	190	6 años	2.87
5	1	400	670	270	70	50	1215	185	6 años	3.03
6	1	410	725	315	80	70	1610	270	8 años	3.92
7	4	355	600	245	65	50	765	80	6 años	2.15
8	2	440	743	303	65	63	1685	320	8 años	3.82
9	3	390	670	280	62	55	875	120	6 años	2.24
10	3	385	662	277	63	60	805	85	6 años	2.09
11	3	425	655	230	70	65	1330	203	6 años	3.12
12	2	382	692	310	63	58	735	90	6 años	1.92
13	4	432	752	320	70	75	1250	170	8 años	2.89
14	4	410	700	290	60	58	1050	150	6 años	2.56
15	3	430	725	295	68	63	1235	190	6 años	2.87
16	3	385	646	261	60	51	705	90	6 años	1.83
17	NA	382	672	290	70	55	890	100	0 días	2.32
18	4	388	660	272	63	52	940	120	6 años	2.42
19	4	410	730	320	65	58	1295	170	6 años	3.15
20	2	373	603	230	60	55	770	110	6 meses	2.06

5.2 Temperatura ambiental y corporal

El intervalo de temperatura ambiental registrado en los diferentes experimentos fue de 24.5 a 34.7°C con una media de 29.06°C, mientras que el intervalo para la temperatura cloacal fue de 25.9 a 34°C con una media de 28.87°C. Los datos de temperatura corporal y ambiental en los experimentos tuvieron un valor de correlación de 0.77 y una R^2 de 0.60, es decir, existe una relación alta ($P=0.000$), en la que a mayor temperatura ambiental se registra una mayor temperatura cloacal (Fig. 9).

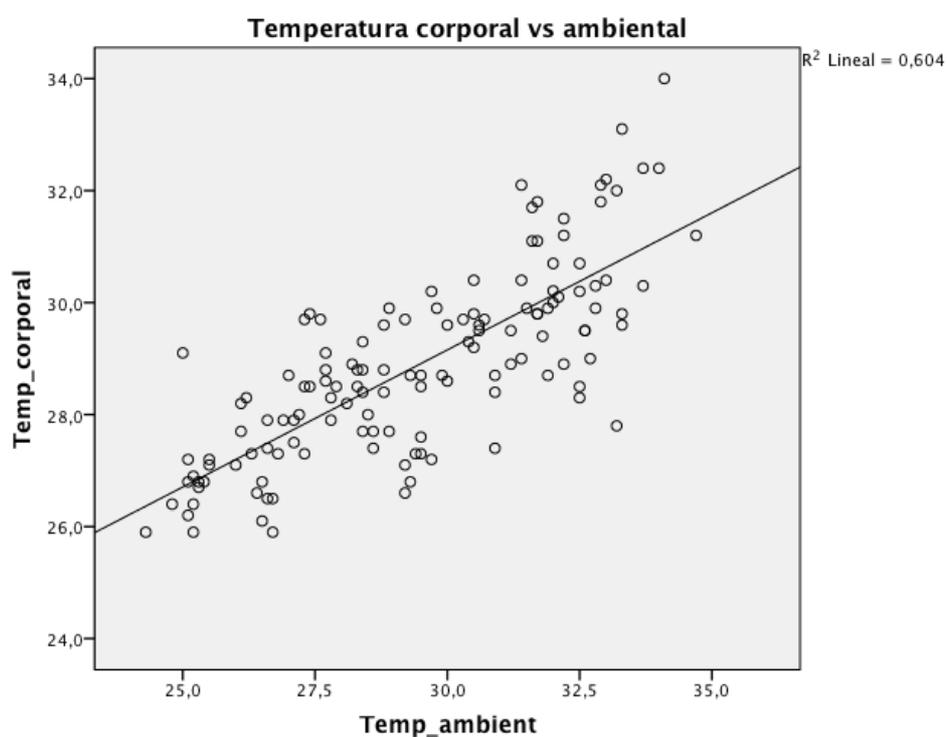


Fig. 9.- Relación de la temperatura corporal con respecto a la ambiental

Correlación= 0.777 $R^2= 0.604$ $P= 0.000$

5.3 Experimento de respuesta a estímulos alimentarios

En el experimento uno, en el que se determinó la respuesta a estímulos alimentarios, se registró una mayor tasa promedio de lengüetazos para todos los estímulos (huevo de paloma, huevo de tortuga y ratón) en comparación con los controles, el valor más alto fue registrado para huevo de tortuga (15.45). En el análisis multivariado (ANCOVA) se registraron diferencias significativas entre los

diferentes estímulos ($F=2.81$, $g.l.=4$, $P<0.05$), también se registraron diferencias significativas en la tasa de lengüetazos dirigidos hacia los algodones con el estímulo de huevo de paloma en comparación a los algodones con agua destilada ($F=4.86$, $g.l.=1$, $P<0.05$), de la misma forma para los algodones con estímulo de huevo de tortuga con respecto a los algodones con agua destilada ($F=11.56$, $g.l.=1$, $P<0.05$) y vaselina ($F=12.59$, $g.l.=1$, $P<0.05$); sin embargo, para los algodones con estímulos de ratón no se registraron diferencias significativas en comparación con los dos controles. Por otro lado al usar la prueba de Friedman, se registraron diferencias significativas entre estímulos en el análisis multivariado ($\chi^2=11.08$, $g.l.=4$, $P<0.05$), de la misma manera en la tasa de lengüetazos dirigidas hacia los algodones con estímulo de huevo de paloma, en comparación a los algodones con agua destilada ($\chi^2=6.25$, $g.l.=1$, $P<0.05$), también hacia los algodones con estímulos de huevo de tortuga en comparación con los algodones con agua destilada ($\chi^2=5.55$, $g.l.=1$, $P<0.05$) y los que tenían vaselina ($\chi^2=3.55$, $g.l.=1$, $P<0.05$). A diferencia del ANCOVA, con la prueba de Friedman se registraron diferencias significativas en las tasas de lengüetazos dirigidas hacia los algodones con estímulo de ratón, en comparación con los algodones con agua destilada. ($\chi^2=3.55$, $g.l.=1$, $P<0.05$) y los de vaselina ($\chi^2=4.26$, $g.l.=1$, $P<0.05$) (Ver cuadros 2 y 3).

En el ANCOVA la comparación estadística entre las tasas de lengüetazos dirigidos hacia los algodones con estímulos alimentarios no arrojó diferencias significativas entre los diferentes estímulos ($F=1.68$, $g.l.=2$, $P>0.05$); sin embargo, con la prueba de Friedman si se registraron diferencias significativas ($\chi^2=11.47$, $g.l.=2$, $P<0.05$). En las comparaciones individuales con la prueba de Friedman, el estímulo de huevo de tortuga con respecto al estímulo de ratón fue la única prueba que registro diferencias significativas ($\chi^2=9.8$, $g.l.=1$, $P<0.05$), siendo la media mayor para la respuesta a huevo de tortuga (15.45) (Ver cuadro 2).

El análisis de regresión-correlación entre las tasas de lengüetazos por estímulo (variable dependiente) con respecto a la temperatura ambiental registrada al momento de realizar la prueba (variable independiente) indicó que las relaciones fueron débiles, de tal forma que a mayor temperatura ambiental se registró una menor tasa de lengüetazos para los tres estímulos alimentarios (Figs. 10 a 12)

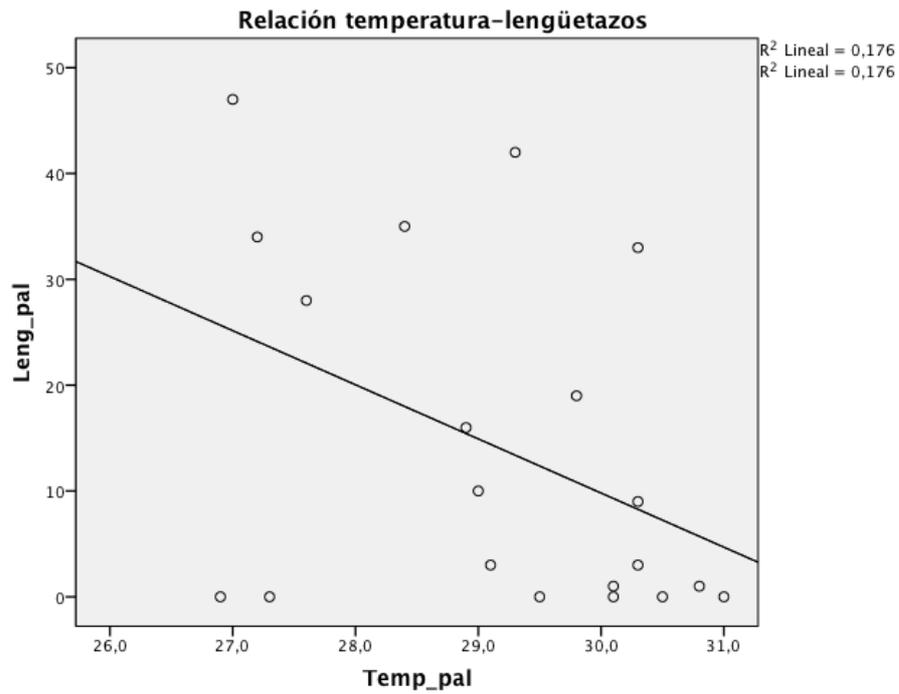


Fig. 10.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de huevo de paloma con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= -0.419 R²= 0.176 P= 0.066

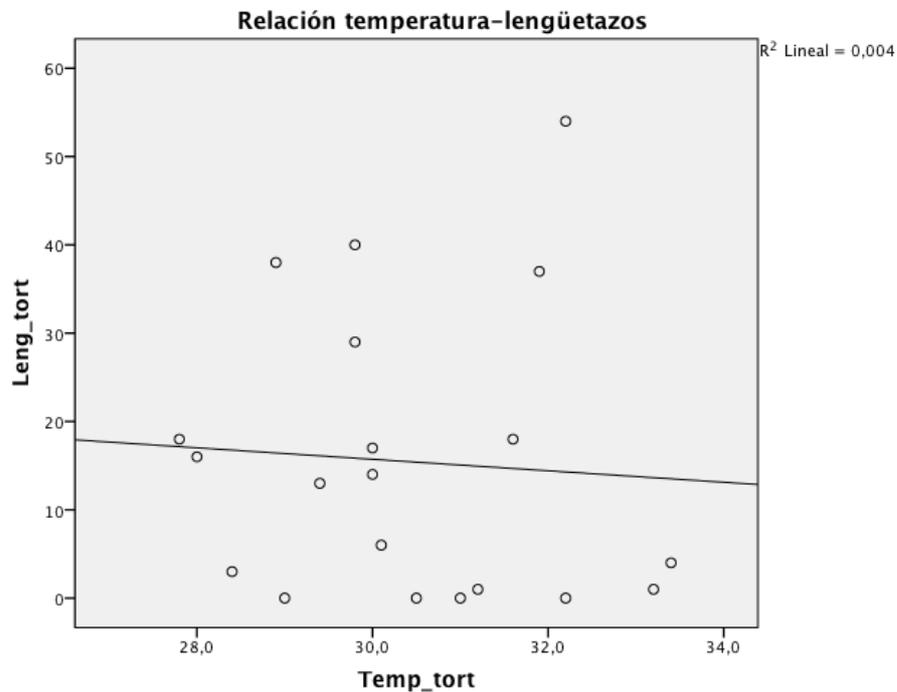


Fig. 11.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de huevo de tortuga con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= -0.065 R²= 0.004 P= 0.784

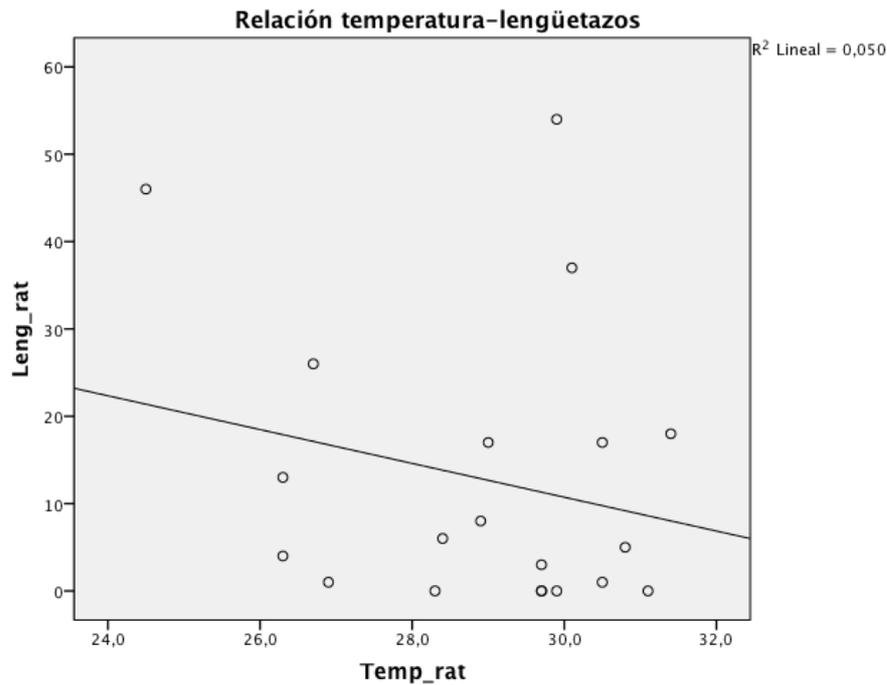


Fig. 12.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de ratón con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= -0.224 R²= 0.050 P= 0.341

5.4 Experimento de respuesta a individuos conespecíficos

En el experimento dos, en el que se evaluó la respuesta a estímulos de individuos conespecíficos, las medias para las tasas de lengüetazos fueron ligeramente mayores para los estímulos de conespecíficos en comparación con los controles y la media mayor (12.58) fue registrada para los lengüetazos dirigidos hacia el estímulo del individuo 14; sin embargo, en las pruebas comparativas de dichas tasas (ANCOVA y Friedman) no se registraron diferencias significativas con respecto a los controles (Ver cuadros 2 y 3).

La incidencia de conductas particulares al presentar los algodones con estímulos de conespecíficos fue extremadamente baja, ya que sólo un individuo bufó una vez al presentarse el estímulo del individuo 10, por este motivo no se pudo realizar un análisis estadístico.

El análisis de regresión-correlación entre las tasas de lengüetazos por estímulo con respecto a la temperatura ambiental registrada al momento de realizar la prueba mostró una relación débil en los cuatro casos, en los que a mayor temperatura ambiental se registró una menor tasa de lengüetazos con la excepción de los lengüetazos dirigidos hacia el estímulo del individuo 8 en el que a mayor temperatura se registró una mayor tasa de lengüetazos (Figs. 13 a 16).

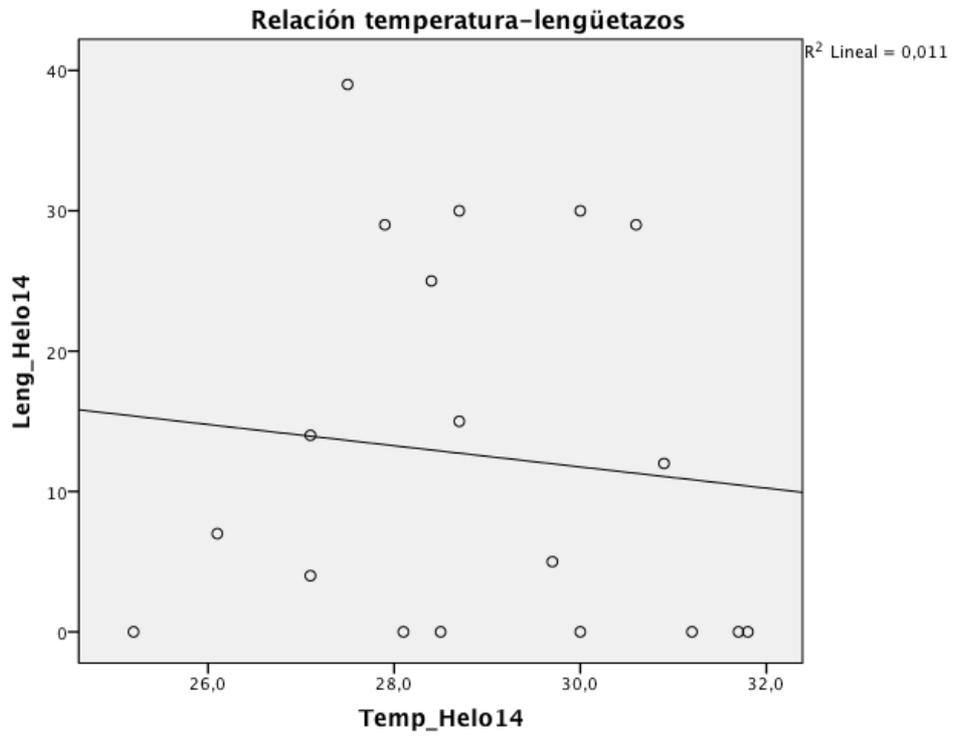


Fig. 15.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo del individuo 14 con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= -0.105 R²= 0.011 P= 0.668

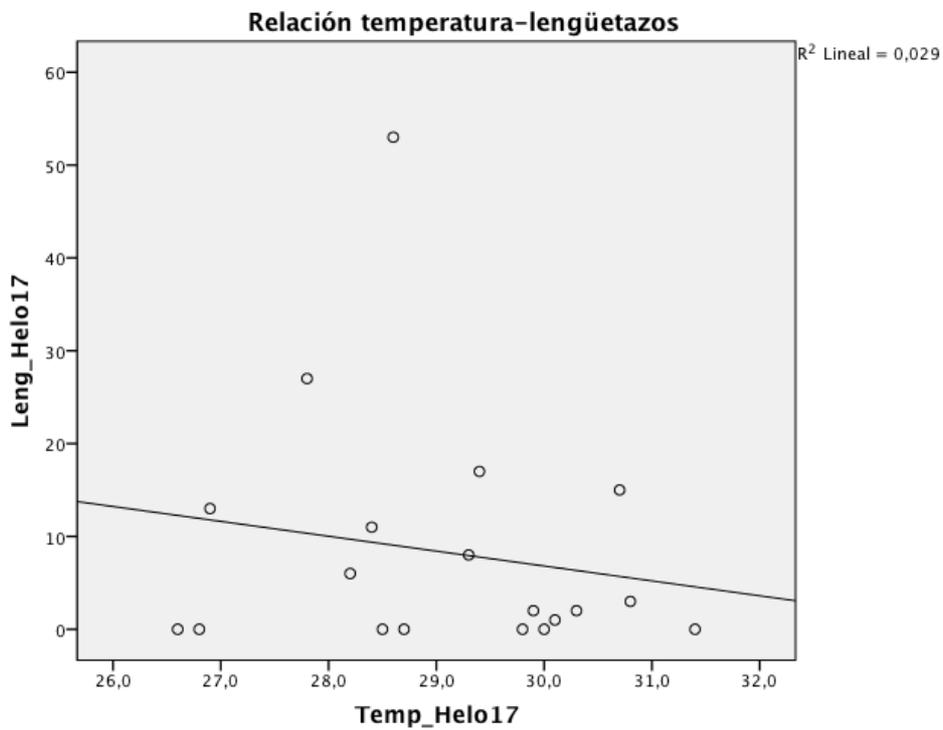


Fig. 16.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo del individuo 17 con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= -0.170 R²= 0.029 P= 0.487

5.5 Experimento de respuesta a depredadores potenciales

El experimento tres abarcó la respuesta a estímulos de depredadores potenciales. En las pruebas multivariadas de comparación entre estímulos no se registraron diferencias significativas ($F=1.25$, g.l.=3, $P>0.05$; $\chi^2= 1.92$, g.l.=3, $P>0.05$). En el caso del estímulo de boa la media fue considerablemente mayor (14.9) con respecto a los controles; sin embargo, en las pruebas estadísticas (ANCOVA y Friedman), esta diferencia no resultó significativa. De igual forma, aunque en menor medida, la media fue mayor para el estímulo de águila (10.15) en comparación con los controles, en este caso tampoco se registraron diferencias significativas con ninguna de las pruebas (Ver cuadros 2 y 3).

La incidencia de conductas particulares fue baja, un individuo bufó en 3 ocasiones al presentarse el estímulo de águila, y sólo 2 individuos mostraron alguna conducta al presentarles estímulo de la boa (uno registró un movimiento brusco mientras que el otro bufó en tres ocasiones y realizaba un movimiento hacia abajo con la cabeza).

El análisis de regresión-correlación entre las tasas de lengüetazos por estímulo con respecto a la temperatura ambiental registrada al momento de realizar la prueba reflejó que la relación en el caso del estímulo de boa fue la más alta registrada en todo el estudio ($R^2=0.26$) y la única significativa ($P=0.020$), en la que a mayor temperatura ambiental mayor tasa de lengüetazos. Por otro lado la relación para el estímulo de aguililla cola roja fue débil, en la que a mayor temperatura menor tasa de lengüetazos (Figs. 17 y 18).

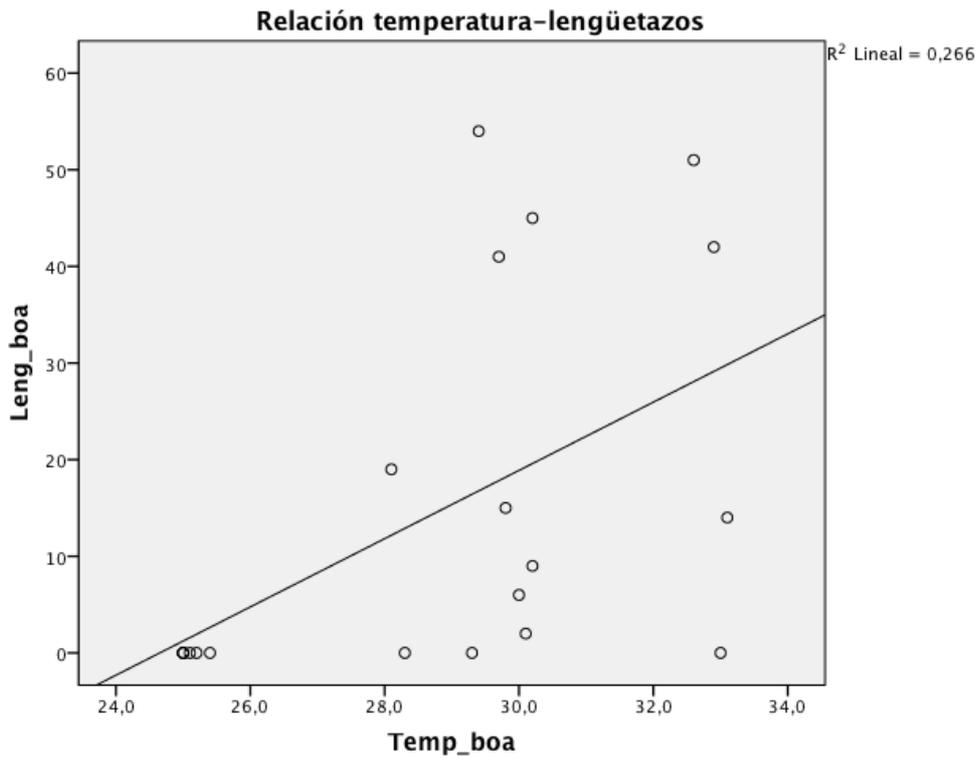


Fig. 17.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de boa con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= 0.516 R²= 0.266 P= 0.020

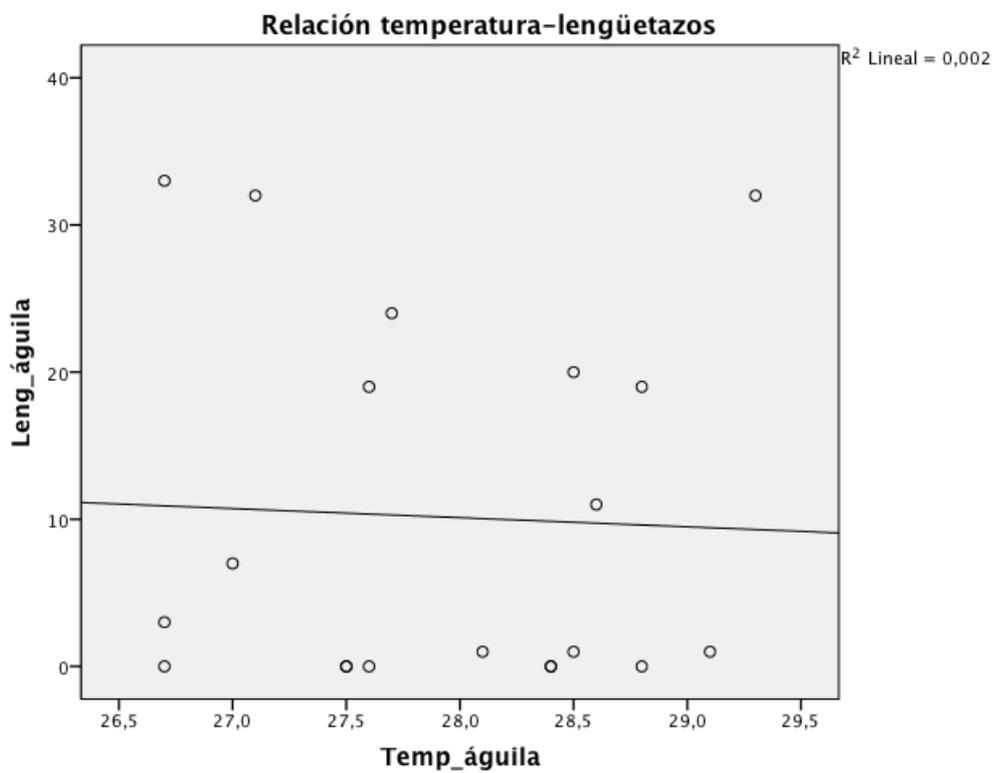


Fig. 18.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de águila con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= -0.041 R²= 0.002 P= 0.863

Cuadro 2.- Media, error estándar, intervalo y tamaño de muestra (N) para las tasas de lengüetazos de los distintos experimentos.

	Media	Error Estándar	Intervalo	N
Experimento 1				
Huevo paloma	14.05	3.66	0-47	20
Huevo tortuga	15.45	3.63	0-54	20
Ratón	12.8	3.63	0-54	20
Experimento 2				
Individuo 8 (c. alta)	8.16	2.36	0-34	19
Individuo 10 (c. media)	10.63	2.8	0-37	19
Individuo 14 (c. baja)	12.58	3.09	0-39	19
Individuo 17 (s/contacto)	8.32	3.03	0-53	19
Experimento 3				
Boa	14.9	4.42	0-54	20
Águililla cola roja	10.15	2.78	0-33	20
Controles				
Agua destilada	7.2	2.28	0-32	20
Vaselina	7	2.75	0-45	20

Cuadro 3.- Valores de significación estadística para las tasa de lengüetazos estímulo-control. En amarillo las pruebas con diferencias significativas.

Prueba	ANCOVA		FRIEDMAN	
	F	P	Chi	P
Experimento 1				
Huevo paloma vs agua destilada	4.86	0.041	6.25	0.012
Huevo paloma vs vaselina	2.36	0.142	0.25	0.617
Huevo tortuga vs agua	11.56	0.003	5.55	0.018
Huevo tortuga vs vaselina	12.59	0.002	3.55	0.059
Ratón vs agua destilada	3.03	0.099	3.55	0.059
Ratón vs vaselina	1.45	0.245	4.26	0.039
Experimento 2				
I8 vs agua destilada	0.32	0.579	0.286	0.593
I8 vs vaselina	1.58	0.225	0.067	0.796
I10 vs agua destilada	0.43	0.522	0.692	0.405
I10 vs vaselina	0.81	0.381	0.6	0.439
I14 vs agua destilada	3.42	0.082	1.143	0.285
I14 vs vaselina	1.85	0.191	0.25	0.617
I17 vs agua destilada	0.43	0.521	0.286	0.593
I17 vs vaselina	0.09	0.771	0.6	0.439
Experimento 3				
Boa vs agua destilada	1.85	0.191	0.6	0.439
Boa vs vaselina	2.83	0.11	1.471	0.225
Águililla vs agua destilada	0.4	0.535	0.059	0.808
Águililla vs vaselina	0.59	0.452	1.471	0.225

5.6 Controles y tiempo de latencia

Se realizó una comparación estadística entre la tasa de lengüetazos dirigidos hacia los controles (agua destilada vs vaselina), no encontrándose diferencias significativas ($F=0.01$, g.l.=1, $P>0.05$; $\text{Chi}= 0.28$, g.l.=1, $P>0.05$).

El análisis de regresión-correlación entre las tasas de lengüetazos dirigidos hacia los controles con respecto a la temperatura ambiental registrada al momento de realizar la prueba mostró una relación débil para ambos controles. En el caso del agua destilada a mayor temperatura se registró una menor tasa de lengüetazos, mientras que para vaselina a mayor temperatura se reportó una mayor tasa de lengüetazos (Figs.19 y 20).

Finalmente, en los análisis correspondientes al tiempo de latencia en respuesta a los estímulos, no se registraron diferencias significativas en el análisis multivariado de estímulos alimentarios y controles ($F=1.08$, g.l.=4, $P>0.05$; $\text{Chi}= 3.51$, g.l.=4, $P>0.05$), de la misma manera en el análisis multivariado de los estímulos de depredadores y controles ($F=0.12$, g.l.=3, $P>0.05$; $\text{Chi}= 1.61$, g.l.=3, $P>0.05$) así como en ninguna de las comparaciones de estímulos de individuos conespecíficos (Ver cuadro 4).

Cuadro 4.- Datos estadísticos de las comparaciones del tiempo de latencia para el experimento 2 (individuos conespecíficos).

Experimento 2				
I8 vs agua destilada	0.27	0.609	0.067	0.796
I8 vs vaselina	0.001	0.978	0.6	0.439
I10 vs agua destilada	0.01	0.927	0.077	0.782
I10 vs vaselina	1.53	0.233	0.6	0.439
I14 vs agua destilada	0.62	0.441	0.286	0.593
I14 vs vaselina	0.29	0.597	0.067	0.796
I17 vs agua destilada	0.16	0.692	0.067	0.796
I17 vs vaselina	0.56	0.465	1.66	0.197

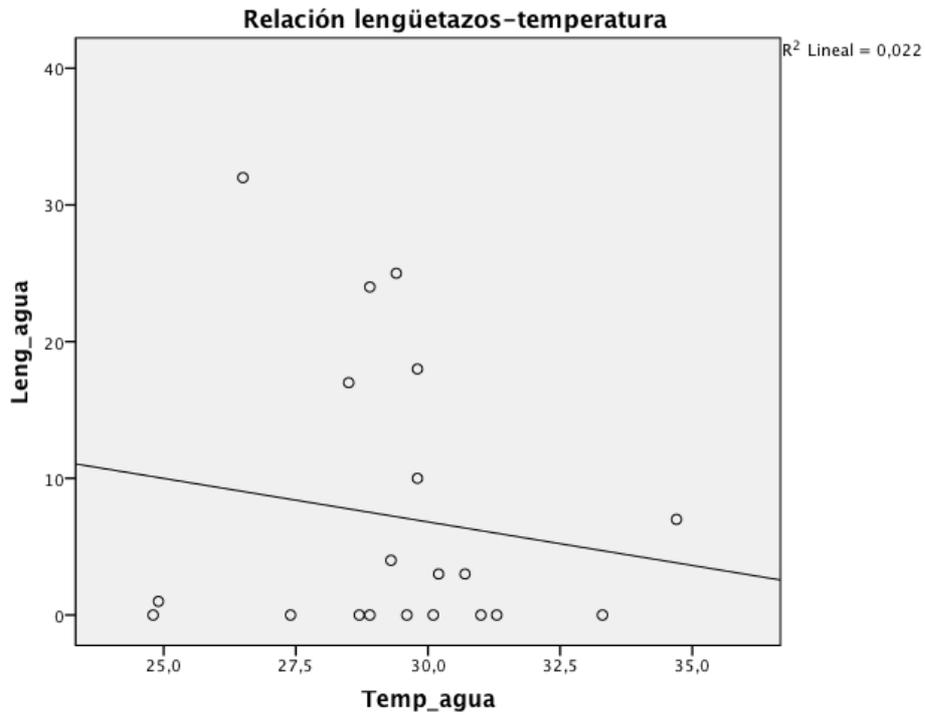


Fig.19- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de agua destilada con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= -0.149 $R^2= 0.022$ $P= 0.531$

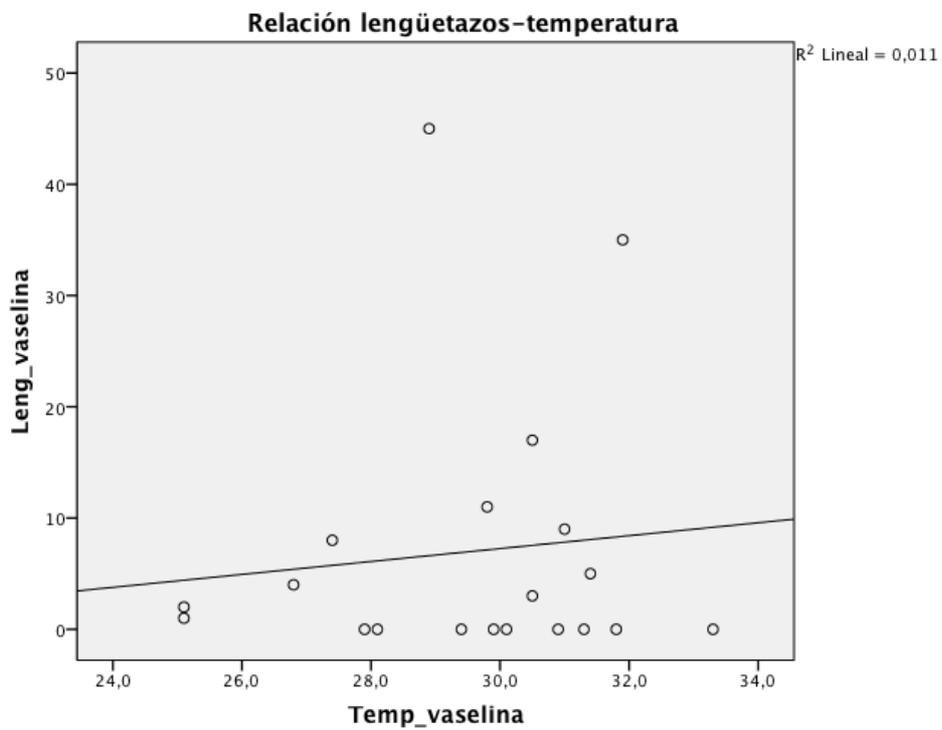


Fig. 20.- Relación de lengüetazos dirigidos hacia estímulo de vaselina con respecto a la temperatura ambiental. Correlación= 0.105 $R^2= 0.011$ $P= 0.659$

6.- DISCUSIÓN

6.1.- Estímulos alimentarios

6.1.1.- Tasas de lengüetazos

De acuerdo con los datos del presente estudio, *H. horridum* puede discriminar mediante el vomerolfato las sustancias químicas de alimentos potenciales, en este caso el huevo de paloma (*Patagioenas flavirostris*), huevo de tortuga (*Rhinoclemmys pulcherrima*) y posiblemente ratón con respecto a los controles (agua destilada y vaselina). En este experimento existieron diferencias significativas en las tasas de lengüetazos dirigidos hacia los estímulos alimentarios con respecto a los controles en el ANCOVA entre los estímulos huevo de paloma-agua destilada, huevo de tortuga-agua destilada, huevo de tortuga-vaselina pero no para el caso de ratón. Con la prueba de Friedman las diferencias significativas se registraron para los casos huevo de paloma-agua destilada, huevo de tortuga-agua destilada, huevo de tortuga-vaselina, ratón-agua destilada y ratón vaselina. Es importante recordar que en el caso de la prueba de Friedman no se realizó el ajuste de los datos con respecto a la temperatura y posiblemente debido al efecto de la temperatura sobre la tasa de lengüetazos no se registraron estas diferencias en el ANCOVA, por lo tanto, en el caso del estímulo de ratón no se puede aseverar que existe discriminación con respecto al control. Entre estímulos alimentarios (sin controles), sólo la comparación huevo de tortuga-ratón fue significativa con la prueba de Friedman, en la cual también las diferencias pudieron deberse al efecto de la temperatura. En el caso de que estas diferencias sean debidas a la temperatura, la no-discriminación de este estímulo podría deberse a que los ratones utilizados (*Mus musculus*) no se encuentran naturalmente en el hábitat de *H. horridum*, sin embargo, trabajos con otras especies (*Heloderma suspectum* y *Varanus exanthematicus*) han demostrado que existe discriminación química de los estímulos de ratón (Cooper 1989).

De acuerdo con los autores que implementaron la técnica utilizada en el presente estudio, si las tasas de lengüetazos difieren significativamente entre condiciones o tratamientos se puede concluir que se detectaron diferencias entre los estímulos. Dependiendo del patrón total de significancia entre tratamientos, se podría concluir que los animales no sólo detectan el estímulo si no que son

capaces de discriminar entre ellos. Si existe una diferencia significativa con respecto al grado de respuesta al control y los otros estímulos, podría concluirse que esos estímulos fueron detectados. Si la tasa de lengüetazos difiere significativamente entre el control y las sustancias químicas de la presa, se podría concluir que los animales pueden discriminar entre el control y los estímulos de interés (Burghardt 1969, 1970b; Cooper & Alberts 1990). Con estos elementos se determinó la existencia de discriminación de estímulos químicos.

Para las pruebas realizadas en el experimento de estímulos alimentarios del presente estudio generalmente se registra el número de individuos que atacan o muerden los algodones para obtener el puntaje lengüetazo-mordida (Cooper & Burghardt 1990), dicho puntaje es sometido a un análisis estadístico; sin embargo, en el presente estudio no se registró ningún caso de ataque o mordedura hacia los algodones.

6.1.2.- Estudios en especies emparentadas

Individuos de *Elgaria coerulea*, *E. multicastrinata* y *Xenosaurus platiceps* (Anguillidae y Xenosauridae) pueden distinguir señales químicas de presas (grillos) con respecto a controles (agua destilada y perfume) (Cooper 1990; Cooper et al. 1998). El puntaje lengüetazo-mordida (TFAS) en respuesta a algodones con sustancias químicas de ratón y la tasa de lengüetazos son mayores para ratón que para agua destilada y perfume en *Varanus exanthematicus*, mientras que en *Heloderma suspectum* el TFAS fue significativamente mayor en comparación con el agua destilada y el perfume (sólo mordieron 4 de 6 individuos), aunque no hubo diferencias significativas en las tasas de lengüetazos entre condiciones (Cooper 1989). El TFAS y la tasa de lengüetazos no difiere entre controles (al igual que en el presente estudio). Lagartos recién eclosionados de *V. gouldii* que no habían sido alimentados, mostraron una mayor tasa de lengüetazos y más lagartos mordieron en respuesta a químicos de grillos en comparación con químicos de gecko (*Hemidactylus frenatus*) y ratón o con respecto a controles con olor y sin olor (Garret & Card 1993). *Varanus exanthematicus* también presenta búsqueda quimiosensorial provocada por la mordida (SICS), e intentos de seguir rastros químicos para reubicar presas que han mordido y han perdido (Cooper 1989, 1993). La sensibilidad quimiosensorial de *Heloderma* es probablemente similar a la de *Varanus* y serpientes. En laboratorio los monstruos de Gila han sido

capaces de localizar presas perdidas o escondidas (Bogert & Martín del Campo 1956; Garret et al. 1996). Cuando muerden a los ratones los monstruos de Gila y se le les quitan del hocico, los lagartos continúan con tasas elevadas de lengüetazos (Cooper et al. 1994). Los lengüetazos también van acompañados de búsqueda activa, lo cual sugiere que los helodermátidos (junto con varánidos y serpientes) presentan búsqueda quimiosensorial inducida por la mordida (Cooper & Arnett 1995). En serpientes, la lengua bífida les permite seguir rastros de presas y parece tener la misma función en el forrajeo en los helodermátidos (Beck 2005). Estas especies están cercanamente emparentadas con *H. horridum* y en los estudios se demostró su capacidad de discriminación química de presas, lo cual coincide con los datos del presente estudio que apoyan la discriminación química de estímulos alimentarios de huevo de paloma y huevo de tortuga.

6.1.3.- Forrajeo en *Heloderma horridum*

En *H. horridum* se ha observado que la lengua es utilizada frecuente y consistentemente para investigar los alrededores. Presenta un comportamiento de forrajeo lento de pausa-movimiento, conforme mueven el cuerpo de un lado para otro mientras siguen lengüeteando el sustrato. Se alimentan casi exclusivamente de huevos de reptiles y aves, así como de crías de aves y mamíferos, un nicho alimentario compartido con pocas lagartijas y serpientes. Alimentarse de los huevos o crías representa ciertos desafíos. Además, los nidos son difíciles de encontrar, los huevos o las crías pueden estar ocultos en cavidades debajo del suelo o en ramas de árboles que son de difícil acceso para lagartos o cualquier otro depredador. Encontrar este recurso que se encuentra en “parches” requiere de una búsqueda considerable, habilidades quimiosensoriales desarrolladas y una buena memoria. Los nidos no solamente son difíciles de encontrar, también puede variar fuertemente su disponibilidad temporal con respecto a los ciclos anuales de precipitación y sequía, así como con los ciclos reproductores de las presas potenciales (Beck 2005).

Los helodermátidos son depredadores de movimiento “lento” que forrajean recorriendo grandes distancias para alimentarse, aunque dedican relativamente poco tiempo y energía a la actividad. En algunos aspectos, los helodermátidos son forrajeadores activos. Buscan de forma activa nidos y utilizan sus lenguas bífidas y su sistema vomeronasal para seguir rastros químicos, una

característica compartida por todos los forrajadores activos (Cooper 1994). En términos de la energía dedicada a la actividad, *Heloderma* es similar a los forrajadores que “esperan” a su presa (*sit and wait*). Son relativamente sedentarios, repartiendo menos del 20% de su energía anual disponible a la actividad, y generalmente tienen bajos costos en actividad, características compartidas con depredadores que “esperan” a su presa. Además, los helodermátidos parecen alimentarse con mucho menos frecuencia que la mayoría de lagartijas que son forrajadores activos y tienen la habilidad de consumir comidas en gran proporción (más del 33% de su masa corporal) (Beck 1990; Beck & Lowe 1991). Para los fines del presente estudio se considera a *H. horridum* como forrajador activo, ya que por evento de forrajeo recorren grandes distancias en búsqueda de presas. Se brinda información sobre los hábitos de forrajeo en *H. horridum* a fin de mostrar la posible relación que existe con la discriminación química de la presa y que se discute más adelante.

6.1.4.- Dieta de *Heloderma horridum*

Bogert y Martín del Campo analizaron los elementos alimentarios encontrados en el estómago e intestino de 19 individuos de *H. horridum*, concluyeron que los huevos de ave y polluelos son los consumidos con mayor frecuencia (53%), seguidos por crías de mamíferos (32%) y huevos de reptiles (11%). Pregill et al. (1986) analizaron el contenido estomacal de 5 individuos encontrando huevos de aves y dos grupos de larvas de escarabajo. También registraron observaciones de adultos depredando nidos de urracas (*Cissilopha beecheii*) en las copas de árboles en Nayarit. Entre las muestras se encontró huevo de *Kinosternon*, huevos de paloma y crías de rata algodonera. De 14 muestras fecales de *H. horridum* de Chamela, Jalisco recolectadas por Beck y Lowe (1991), 71% contenía huevos de reptiles (incluyendo de iguana negra), 57% contenía plumas (entre ellas de *Leptotila verreauxi*), 36% contenía partes de insectos (aunque no todos los insectos pudieron ser ingeridos intencionalmente) y el 43% contenía crías de aves y reptiles. Estos datos apoyan la presencia en la dieta de los estímulos químicos presentados en el experimento, que si bien no son los mismos, se han registrado presas similares (huevo de tortuga, paloma y crías de rata).

6.1.5.- Relación discriminación química-dieta-hábitos de forrajeo

Los lengüetazos pueden estar relacionados con los hábitos de forrajeo. Evans (1961) observó que las especies que cazaban moviéndose activamente en el hábitat en busca de presas lengüeteaban de forma frecuente, mientras que las especies que permanecían inmóviles, acechando a su presa, lengüeteaban de forma infrecuente. Las especies que presentan forrajeo activo tienen mayores tasas de lengüetazos y son capaces de discriminar entre los químicos de sus presas con respecto a los de otras fuentes (Cooper 1989, 1990), esto se denomina discriminación química de la presa. En experimentos con especies “emboscadoras” no se encontró la misma capacidad (Cooper 1989b).

El uso de la lengua para localizar e identificar alimentos evolucionó en tándem con un incremento en la abundancia de quimiorreceptores en los órganos vomeronasales y con el incremento en la extensión de la lengua y en la bifurcación de la lengua. Las ventajas de la capacidad de encontrar presas escondidas mediante la quimiorrecepción favorecieron la evolución del forrajeo activo a partir del estado ancestral de forrajeo en “emboscada” (Cooper 2005, 2009).

Ha existido una evolución correlacionada entre el sistema lingual-vomeronasal, la discriminación química de alimentos y los hábitos de forrajeo, esto ha influido en la evolución de la dieta, lo que a su vez ha afectado el grado de respuesta a químicos de clases particulares de alimento (Cooper 2005). Los datos del presente trabajo apoyan la relación entre discriminación-dieta y la relación discriminación-hábitos de forrajeo, *H. horridum* es considerado como un forrajeador activo por lo cual se esperaba que existiera discriminación de los químicos de la presa; sin embargo, como menciona Beck (2005) la clasificación tradicional puede resultar ambigua.

En un estudio realizado con *H. suspectum* y *H. horridum* no hubo diferencias en la respuesta a estímulos de zanahoria con respecto a agua destilada, lo que indica que probablemente no hay discriminación de estímulos vegetales (Cooper & Arnett 2001). Estos datos, más los del presente estudio apoyan la hipótesis que postula que la discriminación química está relacionada con la dieta ya que los estímulos utilizados en el experimento están presentes en la dieta de *H. horridum*.

6.1.6.- Estudios en otras especies

Estudios en *Contia tenuis* (Weaver & Kardong 2010), *Mabuya macularia* (Cooper & Habegger 2000), *Heterodon platirhinos* (Cooper & Secor 2007) y *Thamnophis hammondi* (Mullin et al. 2004) muestran las respuestas quimiosensoriales de diferentes especies de Squamata a estímulos alimentarios y apoyan la existencia de una fuerte relación entre la dieta y la habilidad quimiosensorial, así como con los hábitos de forrajeo. En el presente estudio también se reflejó una relación entre la habilidad quimiosensorial con la dieta y los hábitos de forrajeo considerando a *H. horridum* como un forrajeador activo. Las observaciones en campo de la especie son un indicador de la importancia de la quimiorrecepción durante el forrajeo al igual que las características de la especie (lengua bífida, órgano vomeronasal desarrollado y gran cantidad de receptores vomeronasales). Además estudios en especies cercanamente emparentadas han registrado resultados similares.

6.2.- Estímulos de individuos conespecíficos

6.2.1.- Tasas de lengüetazos

No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las comparaciones de las tasas de lengüetazos entre estímulos de conespecíficos y controles, esto pudo deberse a diversos factores, los más probables podrían ser la variación estacional que puede existir en los componentes químicos que influyen en la comunicación social, así como la proporción de sexos, la cual no se pudo saber. Además el estado reproductor puede variar en animales en cautiverio con respecto a lo observado en la naturaleza, cabe señalar que el experimento se realizó un poco antes de que inicie la temporada de reproducción de acuerdo con los datos observados en campo para la especie (de septiembre a diciembre). Aunque los datos en este trabajo no hayan apoyado la importancia del vomerolfato en la comunicación social, no quiere decir que no exista ya que como se mencionará a continuación se han observado conductas que sugieren la importancia del mismo, además de estudios en *Varanus* y *Anguis* en los que se registró una respuesta diferencial a estímulos de individuos conespecíficos. Se requieren a su vez de más estudios en los cuales se pueda conocer el sexo de los individuos y su condición hormonal, además de la utilización de secreciones cloacales para realizar las pruebas de respuesta a individuos conespecíficos.

La ausencia de diferencias significativas en las tasa de lengüetazos podría indicar que los animales no detectan diferencias entre estímulos. Los lengüetazos persistentes frecuentemente parecen ser un intento de localizar la fuente del estímulo químico en ausencia de elementos visuales; sin embargo, si no se detectan diferencias significativas, no se puede asegurar que la tasa de lengüetazos está correlacionada con la detección o reconocimiento del estímulo químico. Algunas especies pueden detectar diferencias, pero no responden diferencialmente con respecto a la tasa de lengüetazos si no hay una razón para prolongar la “investigación” quimiosensorial (Halpern 1992; Cooper 1998). Otro factor que puede evitar la detección de discriminación de estímulos químicos en estudios de tasas de lengüetazos es la ausencia de estímulos visuales que pueden ser necesarios para inducir el “muestreo” quimiosensorial mediante lengüetazos o bien para mantener los lengüetazos después del lengüetazo inicial. No siempre es posible determinar si la ausencia de diferencias significativas indican incapacidad de discriminación entre estímulos o simplemente la ausencia de una manifestación visible mediante lengüetazos (Cooper 1998) Además el contexto del experimento podría influir en el grado de respuesta de los individuos (Cooper et al. 1998). Este último factor parece ser el más probable para explicar la ausencia de diferencias significativas en la tasa de lengüetazos del presente estudio en el experimento de respuesta a individuos conespecíficos debido a la variación estacional de los componentes químicos y la posible respuesta diferencial entre sexos.

6.2.2.- Feromonas y comunicación social

Se conoce poco sobre las feromonas de Squamata; sin embargo, las evidencias que existen parecen indicar que los lípidos integumentarios son la principal fuente (Mason 1992; Cooper et al. 1994). Los lípidos se encuentran ampliamente distribuidos en la piel o se encuentran en secreciones de glándulas femorales o precloacales en muchas lagartijas o anfisbénidos (Alberts 1993; Antoniazzi et al. 1994) o en las glándulas cloacales de otros (Cooper & Trauth 1992). La composición molecular de las secreciones glandulares puede variar individual, estacional y ambientalmente, por lo tanto pueden ser de importancia sociobiológica (Alberts 1993). Los lípidos no volátiles del integumento contienen feromonas que son objeto de lengüetazos durante la identificación de especies y seguimiento de rastros de conespecíficos. Estos fluctúan con el estado de muda,

con la temporada y están correlacionados con el estado hormonal (Mason 1992). Como se mencionó anteriormente, este factor pudo ser decisivo para que no se registraran diferencias en las tasas de lengüetazos en este experimento.

6.2.2.- Estímulos químicos de conespecíficos en *Varanus* y *Anguis*

Los machos de *Anguis fragilis* pueden discriminar las señales químicas de individuos conespecíficos, en pruebas de laberinto los machos mostraron preferencia por las señales químicas de las hembras, lo cual indica que puede ser de importancia para la búsqueda de pareja. (Gonzalo et al. 2004). Observaciones en campo del comportamiento social en *Varanus komodoensis*, *V. bengalensis*, *V. olivaceus* y *V. salvator* (Auffenberg 1981a,b; 1994) indican que los lagartos monitor lengüetean uno a otro con frecuencia durante encuentros sociales y sugiere que *V. komodoensis* tiene habilidad muy desarrollada para el seguimiento de rastros. Varios factores, además de la presencia generalizada en otras lagartijas, sugieren que la comunicación a través de feromonas puede ocurrir en varánidos: la lengua pronunciadamente bifurcada y alargada, receptores vomeronasales abundantes y observaciones de lengüetazos durante comportamientos sociales (Auffenberg 1981 a,1994). Se necesitan más estudios para asegurar las posibles funciones de las feromonas. Individuos de *V. exanthematicus* discriminan señales químicas de conespecíficos, ya que las tasas de lengüetazos para estos fueron significativamente mayores que para el agua destilada, también respondieron de forma diferencial entre el estímulo de geckos y conespecíficos, lo cual sugiere que existe capacidad para la comunicación a través de feromonas. Muchas lagartijas utilizan feromonas para la identificación de especies, sexo, estado reproductor, parentesco y el seguimiento de rastros (Cooper 1994; Mason 1992). Estas especies están cercanamente emparentadas con *H. horridum*, es por esto que comparten las características que parecen indicar la importancia del vomerolfato en la comunicación social. Además los datos reportados para *V. exanthematicus* y *Anguis fragilis* contrastan con los del presente estudio; sin embargo, se han mencionado las posibles causas de esto.

6.2.3.- Observaciones en campo para la familia Helodermatidae

Los individuos de *H. horridum* buscan pareja durante septiembre-octubre. Se ha registrado poco sobre las estrategias de apareamiento. En Chamela, se documentó que frecuentemente regresan a áreas que han visitado previamente y a refugios que han sido utilizados anteriormente. Debido a que la búsqueda de pareja ocurre a finales del año, algunas áreas visitadas están en proximidad con los refugios para pasar esta época del año. En una de esas áreas se observó un combate entre machos. Un sistema vomeronasal desarrollado y la memoria probablemente son factores importantes para que los lagartos regresen a territorios familiares y para buscar refugios donde puedan encontrar parejas potenciales. Los helodermátidos tienen bien desarrollada la habilidad de reconocer señales químicas, las cuales están asociadas con su lengua bífida y su sistema vomeronasal. Se ha visto un comportamiento de marcaje, el cual consiste en frotar la cloaca en rocas u otros elementos del hábitat, lo cual es un indicio de que las señales químicas son utilizadas socialmente para identificar territorios y/o refugios durante la temporada reproductora. Las sustancias químicas que son depositadas mientras el animal se encuentra en el refugio también podrían ser importantes (Beck 2005). Un animal puede dejar “marcado” o depositar secreciones conforme se mueve en el hábitat, dejando señales cloacales o del integumento en el suelo al arrastrarse o moverse. Los individuos pueden marcar activamente territorios con conductas particulares como la expulsión de secreciones cloacales. (Mason & Rockwell 2010).

En *H. suspectum* se ha observado que individuos machos pueden llegar al área donde se encuentra otro macho y desplegar combates ritualizados. También se registraron varias observaciones de machos visitando refugios en donde se encontraban hembras y de una hembra que fue liberada e inmediatamente se dirigió a un refugio donde se encontraba un macho, esto sugiere que tienen una gran familiaridad con su microhábitat y con la localización de conoespecíficos. Muy probablemente el sistema vomeronasal es importante para estas conductas. Los combates, espermiogénesis y apareamiento en *H. horridum* ocurren a finales de agosto-principios de septiembre hasta por lo menos principios de octubre. No se han registrado datos para el ciclo reproductor de las hembras, los huevos se ovipositan entre octubre y diciembre (Beck 2005). Las observaciones de la familia Helodermatidae mencionadas anteriormente apoyan la existencia

de la discriminación química ante individuos conespecíficos; sin embargo, los datos de este estudio no coinciden con estas observaciones. Lo anterior no quiere decir que la discriminación química no exista, lo que se puede afirmar es que no existieron diferencias en la tasa de lengüetazos dadas las condiciones del experimento.

6.2.4.- Estudios en otras especies

Un estudio en *Boa constrictor*, en el que utilizaron secreción cloacal y muestras de piel de conespecíficos, demostró que existe discriminación de individuos conespecíficos con ambos estímulos. (Chiraviglio & Briguera 2001), en el presente estudio se emplearon sólo muestras de la piel de los individuos.

Estudios en *Lacerta monticola* (Aragón et al. 1999), *Crotaphytus collaris* (Wilgers & Horne 2009), *Podarcis hispanica* (Font & Desfillis 2002; Cooper & Pérez-Mellado 2002), *Podarcis liolepis* (Font et al. 2012) muestran que existe detección de conespecíficos en diferentes especies de Squamata, además de discriminación entre sexos, entre individuos familiares y no familiares, entre especies y del estado reproductor así como respuesta diferencial entre sexos. Para un varánido y un ánguido emparentados con *Heloderma* se registró discriminación de conespecíficos, además de que las observaciones en campo para varánidos y helodermátidos sugieren que la quimiorrecepción por medio del vomerolfato es de importancia para la detección y probablemente discriminación de conespecíficos mediante feromonas; sin embargo, los datos del presente estudio no apoyan esto, probablemente debido a la proporción de sexos y a la variación que existe estacionalmente en los componentes químicos utilizados para la comunicación social.

6.3.- Estímulos de depredadores

6.3.1.- Tasas de lengüetazos

Los resultados fueron diferentes de lo esperado para el caso de boa, ya que no existieron diferencias significativas en las tasas de lengüetazos con respecto a los controles, a pesar de haber tenido una mayor tasa promedio. Quizá la ausencia de conductas antidepredadoras y la falta de diferencias en la muestra utilizada pueda deberse a que los animales han estado en cercanía con las boas, ya que los encierros en los que se encuentran están contiguos a los de los individuos de *H. horridum*, lo que tal vez haya provocado que se habitúen a la

presencia de boas. Para el caso del aguililla cola roja no se encontraron diferencias significativas como se pensaba, esto puede deberse a que los individuos de *H. horridum* en su hábitat no tengan la posibilidad de evaluar las señales químicas de esta clase de depredadores por sus hábitos de caza al ser un ave rapaz, los estímulos visuales podrían ser más importantes en esta clase de depredadores.

Aunque los lengüetazos pueden proporcionar información útil sobre la habilidad de Squamata para responder diferencialmente a estímulos químicos de especies depredadoras y no depredadoras, la evidencia más convincente de respuesta quimiosensorial a estímulos químicos de depredadores mediante las pruebas es la aparición de conductas antidepredadoras (Cooper 1998). En el presente estudio se evaluaron solamente las tasas de lengüetazos entre los estímulos de depredadores y los controles, las conductas antidepredatorias fueron muy escasas por lo que no pudieron considerarse en el análisis estadístico.

Las señales químicas pueden ser más útiles en la detección de depredadores con hábitos de forrajeo en emboscada que en la detección de forrajeadores activos (Downes & Shine 1998). *Boa constrictor* es considerado un forrajeador que acecha a su presa (Pizzato et al. 2009), *Buteo jamaicensis* es un ave rapaz que visualiza a sus presas y las captura en vuelo llevándolas consigo, se considera puede ser depredador de individuos jóvenes de *H. horridum* (Beck 2005). En su dieta se han registrado reptiles como segundo componente en importancia (principalmente serpientes) y en ocasiones pueden ser el primero (Steenhof 1985), por este motivo (tipo de depredador) se esperaba una respuesta mayor hacia el estímulo de Boa y no hacia el de aguililla cola roja.

Se sabe poco sobre los compuestos químicos que son importantes para la respuesta a depredadores; sin embargo, hay evidencias que sugieren que muy probablemente son los lípidos integumentarios del depredador o bien feromonas (Mason 1992).

6.3.2.- Estudios previos en *H. horridum* y especies emparentadas.

En un trabajo previo se demostró que existieron diferencias en el tiempo escape ante la presentación de estímulos químicos de posibles depredadores en *Heloderma horridum*, los tiempos de latencia menores para el escape (movimientos hacia atrás o hacia los costados) fueron para las especies

simpátridas como *Boa constrictor*, *Crotalus basciliscus* y para las especies alopátridas como *Crotalus molossus* con respecto a los controles. El estudio documenta la habilidad de reconocer y evitar serpientes peligrosas por medio de señales químicas captadas por el vomerolfato en helodermátidos (Balderas-Valdivia 2005). También se han estudiado las respuestas a sustancias químicas de depredadores en *V. albigularis*, en los que lagartos recién nacidos atacaron presas cubiertas con la piel de serpientes simpátridas no venenosas, pero evitaron a las presas cubiertas con piel de serpientes venenosas que se alimentan de los recién nacidos (Phillips & Alberts 1992). Además *Anguis fragilis* puede discriminar los estímulos químicos de un depredador potencial, demostrado por una mayor tasa de lengüetazos en comparación con los emitidos hacia los estímulos control o de especies no depredadoras de esta lagartija y evadían con más frecuencia el estímulo del posible depredador (Cabido et al. 2004). Esto resulta contrastante con los resultados de este estudio; sin embargo, como se mencionó anteriormente la falta de diferencias en la tasa de lengüetazos no quiere decir que no exista reconocimiento de las señales químicas, además de que el factor de habituación pudo influir en las respuestas.

6.3.3.- Estudios en otras especies

Varias especies de *Thamnophis* (Weldon 1982), *Eumeces laticeps* (Cooper 1990b), *Aspidoscelis marmorata* (Punzo 2008), *Podarcis muralis* (Amo et al. 2004) y *Lacerta vivipara* (Thoen et al. 1986) presentan tasas de lengüetazos mayores a estímulos de depredadores respecto a controles. Ocho especies de vipéridos con los conductos vomeronasales tapados no mostraron conductas defensivas en respuesta a una especie de serpiente ofiófaga (*Lampropeltis getula*) pero si en condiciones normales. (Miller & Gutzke 1999). Estos estudios de reptiles apoyan la importancia del vomerolfato para la identificación de potenciales depredadores (mediante la evaluación de tasas de lengüetazos) y para la manifestación de diferentes conductas antidepredadoras. Un estudio previo en *H. horridum* demostró la detección de depredadores potenciales mediante la presencia de conductas evasivas pero no evaluó las tasas de lengüetazos; sin embargo, en el presente trabajo no se registraron diferencias significativas en las tasas de lengüetazos dirigidos hacia los estímulos de depredadores con respecto a los controles y las conductas antidepredadoras

fueron escasas. En el caso de la boa pudo deberse a la habituación ya que los individuos de *Heloderma* han estado en continua cercanía con boas o quizá que haya detección pero no se refleja en la tasa de lengüetazos; sin embargo, por el bajo número de conductas antidepredadoras, la primera opción parece tener más sentido. Por otro lado en el caso del estímulo de aguililla cola roja, tampoco se registraron diferencias esto de acuerdo a lo esperado; probablemente los individuos no tienen la capacidad de detectar los estímulos químicos de ese tipo de depredadores.

6.4.- Temperatura y tiempo de latencia

El intervalo de temperatura cloacal registrado en el presente estudio coincide con el registrado en la costa de Jalisco para la especie en actividad, las cuales van de 22.5 a 36°C y un promedio de 29.5 °C. Es importante señalar que la temperatura preferida para la especie va de 27.5 a 31.25°C (Beck & Lowe 1991; Beck 2005).

En el presente estudio no se pudo controlar la temperatura durante los experimentos por lo que se realizó el ajuste estadístico de las tasas de lengüetazos con respecto a la temperatura para minimizar su efecto sobre la tasa de lengüetazos. Con las regresiones se pudo determinar la relación existente entre la temperatura y la tasa de lengüetazos por cada estímulo, que en la mayoría de los casos fueron relaciones débiles y hubo relaciones de diferente naturaleza (ver resultados), aunque para poder analizar de mejor forma la relación se requerirían de varias observaciones a la misma temperatura con el mismo estímulo químico para obtener un gradiente de temperaturas y así poder determinar la variación existente en la tasa de lengüetazos.

Las tasas de lengüetazos son dependientes de la temperatura en *Eumeces laticeps* y *Thamnophis sirtalis* (Stevenson et al. 1985). En *Lacerta vivipara* se evaluó el efecto de la temperatura en la respuesta a una serpiente depredadora (*Vipera berus*), se colocó a los individuos del experimento en terrarios donde previamente estuvieron las serpientes. Las tasas de lengüetazos dependieron de la temperatura (tanto en el control como en el estímulo de serpiente), sin embargo, los estímulos químicos de la serpiente provocaron un aumento en la tasa de lengüetazos en todas las temperaturas (25-30 °C). Parece que la temperatura corporal influye en el grado de examinación quimiosensorial pero no

afecta su función dentro del intervalo de temperatura considerado. Estas lagartijas pueden detectar a este depredador incluso con “baja” temperatura corporal. El número de lengüetazos emitidos por 10 minutos aumentó con la temperatura (Van Damme et al. 1990). De acuerdo con esos estudios las tasas de lengüetazos pueden variar con la temperatura, pero al parecer si un estímulo químico es de interés puede ser detectado a diferentes temperaturas (dentro del intervalo de actividad) aunque habrá variación en el grado de respuesta, por lo tanto, la variación en la temperatura no sería un factor limitante en el presente estudio para la respuesta ante determinado estímulo químico y para la variación en el grado de respuesta se utilizó la temperatura como covariable en el análisis estadístico.

Los tiempos de latencia del presente estudio no tuvieron diferencias significativas entre estímulos, lo cual coincide con un estudio realizado en *Crotaphytus collaris* en el cual se midió el tiempo de latencia para el primer lengüetazo en respuesta a estímulos químicos de heces de conoespecíficos y estímulos control (Wilgers & Horne 2009). En la serpiente *Contia tenuis* se evaluaron las respuestas a dos estímulos alimentarios (caracol y lombriz), se detectaron diferencias significativas en el tiempo de latencia con respecto a los estímulos control pero no entre los estímulos alimentarios. A diferencia del presente estudio en *Anguis fragilis* los tiempos de latencia en respuesta a dos serpientes simpátridas (una saurófaga, la otra no) fueron significativamente menores en comparación con el control y una especie de síncido no depredador (Cabido et al. 2004). El tiempo de respuesta no varió entre los diferentes estímulos químicos en ninguno de los tres experimentos del presente estudio. Para iniciar la “investigación” quimiosensorial los individuos pueden valerse de otros sentidos como la vista o el olfato. Quizá el estímulo visual del algodón provocó un tiempo de respuesta similar en los diferentes casos; sin embargo es difícil saber el grado de interacción de los demás sentidos para inducir una respuesta en los individuos.

7.- CONCLUSIONES

-Se encontraron elementos que indican la importancia del sistema vomeronasal en la discriminación de estímulos químicos en *H. horridum*.

-Se registró una tasa de lengüetazos significativamente mayor para estímulos alimentarios con respecto a controles, lo cual indica que existe discriminación de estos estímulos y sugiere que el sistema vomeronasal es fundamental para el forrajeo en *H. horridum*. Los datos apoyan la relación entre la habilidad quimiosensorial con la dieta y los hábitos de forrajeo.

-No se encontraron diferencias en las respuestas a conoespecíficos probablemente debidas a la variación de los componentes químicos de la especie y a la proporción de sexos.

-La respuesta a boa no fue diferencial con respecto a controles, esto pudo deberse a la habituación a las boas o tal vez los estímulos pueden ser detectados sin reflejarse una diferencia en las tasas de lengüetazos.

-La respuesta a aguililla cola roja no fue diferencial, probablemente debido a que los escorpiones no tienen la capacidad de evaluar los estímulos químicos de este depredador.

-Los tiempos de latencia no fueron significativamente diferentes entre estímulos en ninguno de los experimentos, debido quizá a que los estímulos visuales (torundas) provocaron que la respuesta fuera en tiempo similar.

8.- LITERATURA CITADA

-Adega, G., Cabido, C., Martín, J. & López, P. 2004. Detection and Discrimination of Conspecific Scents by the Anguid Slow-Worm *Anguis fragilis*. *Journal of Chemical Ecology* 30:1565-1573.

-Aguilar, X. 2005. *Heloderma horridum*. Algunas Especies de Anfibios y Reptiles Contenidos en el Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-ECOL-2001. Facultad de Ciencias, Centro de Investigación en Recursos Bióticos, Universidad Autónoma del Estado de México. Bases de datos SNIBCONABIO-Proyecto W035. México D.F.

-Alberts, A. 1993. Chemical and Behavioral Studies of Femoral Gland Secretions in Iguanid Lizards. *Brain Behavior and Evolution* 41: 255-260.

-Álvarez del Toro, M. 1982. Los Reptiles de Chiapas: Colección de libros de Chiapas, Serie Español. Chiapas, México: Instituto de Historia Natural, Tuxtla Gutiérrez.

-Amo, L., López, P. & Martín, J. 2004. Chemosensory Recognition and Behavioral Responses of Wall Lizards, *Podarcis muralis*, to Scents of Snakes that Pose Different Risks of Predation. *Copeia* 3: 691-696.

-Antoniuzzi, M., Jared, C. & Junqueira, L. 1994. Epidermal Glands in Squamata: Finestructure of Pre-Cloacal Glands in *Amphisbaena alba* (Amphisbaenia, Amphisbaenidae) *Journal of Morphology*. 221: 101-109.

-Aragón, P., López, P. & Martín. 1999. Chemosensory Discrimination of Familiar and Unfamiliar Conspecifics by Lizards: Implications of Field Spatial Relationships Between Males. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 50: 128-133.

-Aragón, P., López, P. & Martín, J. 2003. Differential Avoidance Responses to Chemical Cues from Familiar and Unfamiliar Conspecifics by Male Iberian Rock Lizards (*Lacerta monticola*). *Journal of Herpetology* 37: 583-585

-Auffenberg, W. 1981 a. The Behavioral Ecology of the Komodo Monitor. Univ. Presses of Florida, Gainesville.

-Auffenberg, W. 1981 b. Combat Behavior in *Varanus bengalensis*. *Journal of the Bombay Natural History Society* 79: 54-72.

-Auffenberg, W. 1994. The Bengal Monitor. Univ. Presses of Florida, Gainesville.

-Balderas-Valdivia, J. & Ramírez-Bautista, A. 2005. Aversive Behavior of Beaded Lizard, *Heloderma horridum*, to Sympatric and Allopatric Predator Snakes. *The Southwestern Naturalist* 50: 24-31.

-Baxi KN, Dorries KM & Eisthen HL. 2006. Is the Vomeronasal System Really Specialized for Detecting Pheromones?. *Trends in Neuroscience* 29: 1-7.

-Beck, D. 1990. Ecology and Behavior of the Gila Monster in Southwestern Utah. *Journal of Herpetology* 24: 54-68.

-Beck, D. 2005. Biology of Gila Monsters and Beaded Lizards. University of California Press. Berkeley.

- Beck, D. & Lowe, H. 1991. Ecology of the Beaded lizard, *Heloderma horridum*, in a Tropical Dry Forest in Jalisco, México. *Journal of Herpetology* 25: 395-406.
- Beck, D. & Ramírez-Bautista, A. 1991. Combat Behavior of the Beaded Lizard *Heloderma h. horridum*, in Jalisco, México. *Journal of Herpetology*. 25: 481-484.
- Bellairs A. & Boyd J. 1950. The Lachrymal Apparatus in Lizards and Snakes. II. The Anterior Part of the Lachrymal Duct and its Relationship with the Palate and with the Nasal and Vomeronasal organs. *Proceedings of the Zoological Society of London* 120: 167-310.
- Bertmar, G. 1981. Evolution of Vomeronasal Organs in Vertebrates. *Evolution* 35: 359-366.
- Bogert, C. & Martín del Campo, R. 1956. The Gila Monsters and its Allies: The Relationships, Habits and Behavior of the Lizards of the Family Helodermatidae. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 109: 1-238.
- Brykczynska, U., Tzika, A. Rodríguez, I. & Milinkovitch, M. 2013. Contrasted Evolution of the Vomeronasal Receptor Repertoires in Mammals and Squamate Reptiles. *Genome Biology and Evolution* 5: 389-401.
- Burghardt, G. 1967. Chemical-Cue Preferences of Inexperienced Snakes: Comparative Aspects. *Science* 157: 718-721.
- Burghardt, G. 1969. Comparative Prey-Attack Studies in Newborn Snakes of the Genus *Thamnophis*. *Behaviour* 33: 77-114.
- Burghardt, G. 1970. en *Communication by Chemical signals*. (Johnston, J., Moulton, D., Turk, A. eds.) Appleton-Century-Crofts.
- Burghardt, G. 1970b. Intraspecific Geographical Variation in Chemical Food Cue Preferences of Newborn Garter Snakes (*Thamnophis sirtalis*). *Behaviour* 36: 246-257.
- Burghardt, G. & Pruitt, C. 1975. The Role of the Tongue and Senses in Feeding of Newborn Garter Snakes. *Physiology & Behavior* 14: 185-194.
- Burton, P. 1990. Vomeronasal and Olfactory Nerves of Adult and Larval Bullfrogs. II. Axon Terminations and Synaptic Contacts in the Accessory Olfactory Bulb. *Journal of Comparative Neurology* 292: 624-637.
- Buchtova M., Boughner J., Fu K., Diewert V. & Richman J. 2007. Embryonic Development of Python Sebae-II: Craniofacial Microscopic Anatomy, Cell Proliferation and Apoptosis. *Zoology* 110: 231-251.
- Cabido, C., Gonzalo, A., Galán, P., Martín, J. & López, P. Chemosensory Predator Recognition Induces Defensive Behavior in the Slow-Worm (*Anguis fragilis*). *Canadian Journal of Zoology* 82. 510-515.
- Caldwell, M. 1999. Squamate Phylogeny and the Relationships of Snakes and Mosasauroids. *Zoological Journal of the Linnean Society* 125: 115-147.
- Campbell, J. & Vannini, J. 1988. A New Subspecies of Beaded Lizard, *Heloderma horridum*, from the Motagua Valley of Guatemala. *Journal of Herpetology* 22: 457-468.

- Chiraviglio, M. & Briguera, V. 2001. Participación de Señales Químicas en el Reconocimiento y Discriminación de Sexos en *Boa constrictor occidentalis* (Serpentes: Boidae). *Gayana* 65: 5-10.
- Cinelli, A., Wang, D., Chen, P., Liu, W. & Halpern, M., 2002. Calcium Transients in the Garter Snake Vomeronasal Organ. *Journal of Neurophysiology* 87: 1449-1472.
- Cooper, W. 1989. Prey Odor discrimination in the Varanoid Lizards *Heloderma suspectum* and *Varanus exanthematicus*. *Ethology* 81: 250-258.
- Cooper, W. 1989b. Absence of Prey odor Discrimination by Iguanid and Agamid Lizards in Applicator Tests. *Copeia* 1989: 472-478.
- Cooper, W. 1990. Prey Odor Discrimination by Anguid Lizards. *Herpetologica* 46:183-190.
- Cooper, W. 1990. Prey Odor Detection by Teiid and Lacertid Lizards and the Relationship of Prey Odor Detection to Foraging Mode in Lizard Families. *Copeia* 1990: 237-242.
- Cooper, W. 1990b. Chemical Detection of Predators by a Lizard, the Broad-headed Skink (*Eumeces laticeps*). *Journal of Experimental Zoology* 256: 162-167.
- Cooper, W. 1993. Duration of Poststrike Elevation in Tongue-Flicking Rate in the Savannah Monitor Lizard, *Varanus exanthematicus*. *Ethology Ecology & Evolution* 5:1-18.
- Cooper, W. 1994. Chemical Discrimination by Tongue-Flicking in Lizards: a Review with Hypotheses on its Origin and its Ecological and Phylogenetic Relationships. *Journal of Chemical Ecology* 20: 439-487.
- Cooper, W. 1997. Correlated Evolution of Prey Chemical Discrimination with Foraging, Lingual Morphology, and Vomeronasal Chemoreceptor Abundance in Lizards. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 41: 257-265.
- Cooper, W. 1998. Evaluation of Swab and Related Tests as a Bioassay for Assesing Responses by Squamate Reptiles to Chemical Stimuli. *Journal of Chemical Ecology* 24: 841-866.
- Cooper, W. 2005. Lizard Chemical Senses, Chemosensory Behavior, and Foraging Mode. En: *Lizard Ecology*. (Reilly, S., McBrayer, L. & Miles, D. eds.). Cambridge University Press.
- Cooper, W. 2009. Tandem Evolution of Diet and Chemosensory Responses in Snakes. *Amphibia-Reptilia* 29: 393-398.
- Cooper, W. & Alberts, A. 1990. Responses to Chemical Food Stimuli by an Herbivorous Actively Foraging Lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. *Herpetologica* 46:259-266.
- Cooper, W. & Arnett, J. 1995. Strike Induced Chemosensory Searching in the Gila Monster. *Copeia* 1: 89-96.
- Cooper, W. & Arnett, J. 2001. Absence of Discriminatory Tongue-flicking Responses to Plant Chemicals by Helodermatid Lizards. *Southwestern Naturalist*

46: 405-409.

-Cooper, W. & Burghardt, G. 1990. A Comparative Analysis of Scoring Methods for Chemical Discrimination of Prey by Squamate Reptiles. *Journal of Chemical Ecology* 16:45-66.

-Cooper, W., Deperno, C. & Arnett, J. 1994. Prolonged Poststrike Elevation in Tongue-Flicking Rate with Rapid Onset in Gila Monster. *Heloderma suspectum*: Relation to Diet and Foraging and Implications for Evolution of Chemosensory Searching. *Journal of chemical Ecology* 20: 2867-2881.

-Cooper, W., Ferguson, G. & Habegger, J. 2001. Responses to Animal and Plant Chemicals by Several Iguanian Insectivores and the Tuatara, *Sphenodon punctatus*. *Journal of Herpetology* 35: 255-263.

-Cooper, W. & Habegger, J. 2001. Responses by Juvenile Savannah Monitor Lizards (*Varanus exanthematicus*) to Chemical Cues from Animal Prey, Plants Palatable to Herbivores and Conspecifics. *Journal of Herpetology* 35: 618-624.

-Cooper, W., Lemos-Espinal, J. & Smith, G. 1998. Presence and Effect of Defensiveness or Context on Detectability of Prey Chemical Discrimination in the Lizard *Xenosaurus platiceps*. *Herpetologica* 54: 409-413.

-Cooper, W., Lopez, P. & Salvador, A. 1994. Pheromone Detection by an Amphisbaenian. *Animal Behaviour*. 47: 1401-1411

-Cooper, W. & Pérez-Mellado, V. 2002. Pheromonal Discriminations of Sex, Reproductive Condition, and Species by the Lacertid Lizard *Podarcis hispanica*. *Journal of Experimental Zoology* 292: 523-527.

-Cooper, W. & Secor, S. 2007. Strong Response to Anuran Chemical Cues by an Extreme Dietary Specialist, the Eastern Hog-Nosed Snake (*Heterodon platirhinos*). *Canadian Journal of Zoology* 85: 619-625.

-Cooper, W. & Trauth, S. 1992. Discrimination of Conspecific Male and Female Cloacal Stimuli by Males and Possession of a Probable Pheromone Gland by Females in a Cordylid Lizard, *Gerrhosaurus nigrolineatus*. *Herpetologica* 48: 225-232.

-Cooper, W. & Vitt, L. 1986. Thermal Dependence of Tongue-Flicking and Comments on Use of Tongue Flicking as an Index of Squamate Behavior. *Ethology* 71: 177-186.

-Cowles, R. & Phelan, R. 1958. Olfaction in Rattlesnakes. *Copeia* 1958: 77-83.

-Dial B., Schwenk K. 1996. Olfaction and Predator Detection in *Coleonyx brevis* (Squamata: Eublepharidae), with Comments on the Functional Significance of Buccal Pulsing in Geckos. *Journal of Experimental Zoology* 276: 415-424.

-Doving, K. & Trotier, D. 1998. Structure and Function of the Vomeronasal Organ. *The Journal of Experimental Biology* 201: 2913-2925.

-Downes, S. & Shine, R. 1998. Sedentary Snakes and Gullible Geckos: Predator-Prey Coevolution in Nocturnal Rock-Dwelling Reptiles. *Animal Behavior* 55: 373-385.

-Dulac, C. & Axel, R., 1995. A Novel Family of Genes Encoding Putative

Pheromone Receptors in Mammals. *Cell* 83: 95-206.

-Duvall, D., King, M. & Gutzwiller, K. 1985. Behavioral Ecology and Ethology of the Prairie Rattlesnake. *National Geographic Research* . 1985: 80-111.

-Eisthen, H. 1992. Phylogeny of the Vomeronasal System and of Receptor Cell Types in the Olfactory and Vomeronasal Epithelia of Vertebrates (Review). *Microscopy Research and Technique* 23: 1-21.

-Eisthen, H. & Schwenk, K. 2008. Chemical Senses: the Stimulus and its Detection. En: *Sensory Evolution on the threshold Adaptations in Secondarily Aquatic Vertebrates* (Thewissen JGM, Nummela S, eds.). Berkeley, CA: University of California Press.

-Estes, R., de Queiroz, K. & Gauthier, J. 1988. Phylogenetic Relationships Within Squamata. En: *Phylogenetic Relationships of the lizard families*. R. Estes & G. Pregill (eds) 119-281. Stanford, CA: Stanford University Press.

-Evans, L. 1961. Structure as Related to Behavior in the Organization of Populations of Reptiles. En: *Vertebrate Speciation*, (Blair, W. ed.). Houston, TX: University of Texas Press.

-Filoramo, N., Schwenk, K. 1998. Morphological Evidence for Variation in the Mechanism of Chemical Delivery to the VNO in Squamate Reptiles. *American Zoologist* 38:107A.

-Font, E., Barbosa, D. & Sanpedro, C. 2012. Social Behavior, Chemical Communication, and Adult Neurogenesis: Studies of Scent Mark Function in *Podarcis wall* lizards. *General and Comparative Endocrinology*. En prensa.

-Font, E. & Desfilis, E. 2002. Chemosensory Recognition of Familiar and Unfamiliar Conspecifics by Juveniles of the Iberian Wall Lizard *Podarcis hispanica*. *Ethology* 108: 319-330.

-Font, E., Carazo, P., Pérez i de Lanuza, G. & Barbosa, D. 2010. Comportamiento y Comunicación Animal: ¿Qué Nos Enseñan los Lagartos? *Acta zoológica lilloana* 54: 11-34.

-Ford, N. 1986. The Role of Pheromone Trials in the Sociobiology of Snakes. En: *Chemical signals in vertebrates*. (Duvall, D., Müller-Schwarze, D. & Silverstein, R. eds.) 4: 261-278.

-Gabe, M. & H. Saint Girons. 1976. Contribution à la Morphologie Compare des Fosses Nasals et de Leurs Annexes chez les Lepidosauriens. *Mémoires Museum National du Histoire Naturelle* (Paris) A98: 1-106.

-Gao, K. & Norell, M. 1998. Taxonomic Revision of *Carusia intermedia* (Reptilia: Squamata) from the Upper Cretaceous of Gobi Desert and Phylogenetic Relationships of Anguimorphan Lizards. *American Museum of Natural History Novitates* 3230: 51 pp.

-Gao, K. & Norell, M. 2000. Taxonomic Composition and Systematics of Late

- Cretaceous Lizard Assemblages from Ukhaa Tolgod and Adjacent Localities, Mongolian Gobi Desert. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 249: 1-118.
- Garret, C. & Card, W. 1993. Chemical Discrimination of Prey by Naive Neonate Gould's Monitors *Varanus gouldii*. *Journal of Chemical Ecology* 19: 2599-2604.
- Garrett, C., Boyer, D., Card, W., Roberts, D., Murphy, J. & Chiszar, D. 1996. Comparison of Chemosensory Behavior and Prey Trail-following in the varanoid lizards *Varanus gouldii* and *Heloderma suspectum*. *Zoo Biology* 15: 255-265.
- Gillingham, J. 1987. Social Behavior. En *Snakes: Ecology and evolutionary Biology*. R. A. Seigel, J. T. Collins & S. S. Novak (eds). New York: MacMillan.
- Gillingham, J., Clark, D. 1981. Snake Tongue-Flicking: Transfer Mechanics to Jacobson's Organ. *Canadian Journal of Zoology* 59: 1651-1657.
- Gienger, C. & Beck, D. 2007. Head or Tails? Sexual dimorphism in helodermatid Lizards. *Canadian Journal of Zoology* 85: 92-98.
- Gove, D. 1979. A Comparative Study of Snake and Lizard Tongue-Flicking, with an Evolutionary Hypothesis. *Zeitschrift fur Tierpsychologie- Journal of Comparative Ethology* 51: 58-76.
- Gove D, Burghardt G. 1983. Context-Related Parameters of Snake and Lizard Tongue-Flicking. *Animal Behaviour* 31: 718-723.
- Graves, B. & Halpern, M. 1989. Chemical Access to the Vomeronasal Organs of the Lizard *Chalcides ocellatus*. *Journal of Experimental Zoology* 249: 150-157.
- Graves B. 1993. Chemical Delivery to the Vomeronasal Organs and Functional Domain of Squamate Chemoreception. *Brain, Behavior and Evolution* 41: 198-202.
- Halpern M. 1976. The Efferent Connections of the Olfactory Bulb and Accessory Olfactory Bulb in the Snakes, *Thamnophis sirtalis* and *Thamnophis radix*. *Journal of Morphology* 150: 553-578
- Halpern, M. 1987. The Organization and Function of the Vomeronasal System. (Review). *Annual Review of Neuroscience* 10: 325-362.
- Halpern, M. 1992. Nasal Chemical Senses in reptiles, en: *Hormones, brain and behavior (Biology of the reptilia Vol. 18)* (Gans, C. & Crews, D., eds.) University of Chicago Press.
- Halpern, M., Halpern, J., Erichsen, E. & Borghjid, S. 1997. The Role of Nasal Chemical Senses in Garter Snake Responses to Airborne Odor Cues from Prey. *Journal of Comparative Psychology*. 11: 251-60.
- Halpern, M. & Frumin, N. 1979. Roles of the Vomeronasal and Olfactory Systems in Prey Attack and Feeding in Adult Garter Snakes. *Physiology & Behavior* 22: 1183-1189.

- Halpern, M. & Martínez-Marcos. 2003. Structure and Function of the Vomeronasal System: An Update. *Progress in Neurobiology*. 70: 245-318.
- Houck, L. 2009. Pheromone Communication in Amphibians and Reptiles. *Annual Review of Physiology* 71: 161-176.
- Huang G., Zhang J., Wang D., Mason R. & Halpern M. 2006. Female Snake Sex Pheromone Induces Membrane Responses in Vomeronasal Sensory Neurons of Male Snakes. *Chemical Senses*. 31: 521-529.
- Huntingford, F. & Turner, A. 1987. *Animal Conflict*. Chapman and Hall, London.
- Ishii, T., Hirota, J. & Mombaerts, P., 2003. Combinatorial Co-expression of Neural and Immune Multigene Families in Mouse Vomeronasal Sensory Neurons. *Current Biology* 13:394-400.
- Iwasaki S., Yoshizawa H. & Kawahara I. 1996. Three-Dimensional Ultrastructure of the Surface of the Tongue of the Rat Snake, *Elaphe climacophora*. *Anatomical Record* 245: 9-12.
- Jacobson, L. 1813. Anatomisk Beskrivelse over et nyt Organ iHuusdyrenes Næse. *Veterinær=Selskaps Skrifter* 2: 209–246.
- Jiang, X., Inouchi, J., Wang, D. & Halpern, M., 1990. Purification and Characterization of a Chemoattractant from Electric Shock-Induced Earthworm Secretion, its Receptor Binding, and Signal Transduction through the Vomeronasal System of Garter Snakes. *Journal of Biological Chemistry*. 265: 8736-8744.
- Karlson, P. & Luscher, M. 1959. Pheromones: A New Term for a Class of Biologically Active Substances. *Nature* 183: 55-56.
- Kochva, E. 1974. Glandes Spécialisées de la Machoire Cnferieure chez les Anguimorphes. En *Récherches Biologiques Contemporaines*, L. Arvy (ed). Ouvrage dédiée à la Memoire du Dr. Manfred Gabe Vagner.
- Kubie, J.& Halpern, M. 1979. Chemical Senses Involved in Garter Snake Prey Trailing. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 93: 648-67.
- Labra, A., Brann, J., & Fadool, D. 2005. Heterogeneity of Voltage- and Chemosignal-Activated Response Profiles in Vomeronasal Sensory Neurons. *Journal of Neurophysiology* 94: 2535-2548.
- Lanuza, E. & Halpern, M. 1997. Afferent and Efferent Connections of the Nucleus Sphericus in the Snake *Thamnophis sirtalis*: Convergence of Olfactory and Vomeronasal Information in the Lateral Cortex and Amygdala. *Journal of Comparative Neurology* 385: 627-640.
- Lanuza, E. & Halpern, M. 1998. Efferents and Centrifugal Afferents of the Main and Accessory Olfactory Bulbs in the Snake *Thamnophis sirtalis*. *Brain, Behavior and Evolution* 51: 1-22.

- Lee, M. S. 1997. The Phylogeny of Varanoid Lizards and the Affinities of Snakes. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Series B-Biological Sciences*. 352: 53-91.
- Liu, W., Wang, D., Liu, J., Chen, P., & Halpern, M. 1998. Chemosignal Transduction in the Vomeronasal Organ of Garter Snakes: Cloning of a Gene Encoding Adenylate Cyclase from the Vomeronasal Organ of Garter Snakes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 358: 204-210
- Luo, Y., Lu, S., Chen, P., Wang, D., & Halpern, M. 1994. Identification of Chemoattractant Receptors and G-Proteins in the Vomeronasal System of Garter Snakes. *Journal of Biological Chemistry* 269: 16867-16877.
- Martinez-Garcia F., Olucha F., Teruel V., Lorente M. & Schwarzdfefer W. 1991. Afferent and Efferent Connections of the Olfactory Bulbs in the Lizard *Podarcis hispanica*. *Journal of Comparative Neurology* 305: 337-347.
- Martínez-Marcos A., Lanuza E. & Halpern M. 1999. Organization of the Ophidian Amygdala: Chemosensory Pathways to the Hypothalamus. *Journal of Comparative Neurology* 412: 51-68.
- Martínez-Marcos, A., Ubeda-Banon, I., & Halpern, M. 2001. Neural Substrates for Tongue-Flicking Behavior in Snakes. *Journal of Comparative Neurology* 432: 75-87.
- Martini, S., Silvotti, L., Shirazi, A., Ryba, N. & Tirindelli, R., 2001. Co-expression of Putative Pheromone Receptors in the Sensory Neurons of the Vomeronasal Organ. *Journal of Neuroscience* 21: 843-848.
- Mao, S., Wang, J., Huang, S., Chung-Faye, C. & Cheng-Chen, C. 1991. Ultrastructure of the Tongue and Anterior Process of the Sublingual Plica in Four Species of Venomous Snakes. *Journal of Morphology* 208: 279-292.
- Mason, R. 1992. Reptile Pheromones En: *Hormones, brain and behavior (Biology of the reptilia Vol. 18)* (Gans, C. & Crews, D., eds.) University of Chicago Press.
- Mason, R. & Rockwell, M. 2010. Social Behavior and Pheromonal Communication in Reptiles. *Journal of Comparative Physiology* 196: 729-749.
- Mason, R., Wang, D., Chen, P., & Halpern, M. 2006. Evidence for a Perireceptor Role for Harderian Gland Secretions in Garter Snakes: Delivery of Pheromone Molecules to the Vomeronasal Organ. *Chemical Senses* 31:A89–A90.
- McDowell S. 1972. The Evolution of the Tongue of Snakes, and its Bearing on Snake Origins. En: *Evolutionary biology* (Dobzhansky T., Hecht M., Steere D., eds.) New York: Appleton-Century-Crofts.
- Miller, L. & Gutzke, W. 1999. The Role of Vomeronasal Organ of Crotalines: (Reptilia: Serpentes: Viperidae) in predator detection. *Animal Behavior* 58: 53-57.

- Mullin, S., Imbert, H., Fish, J., Ervin, E., & Fisher, R. 2004. Snake (Colubridae: *Thamnophis*) Predatory Responses to Chemical Cues from Naive and Introduced Prey Species. *The Southwestern Naturalist* 49: 449-456.
- Noguera, F., J. Vega, A. García & M. Quesada. 2002. Historia Natural de Chamela. Instituto de Biología UNAM. México D.F.
- Parsons, T. 1959. Nasal Anatomy and the Phylogeny of Reptiles. *Evolution*, 13:175-187.
- Parsons, T. 1967. Evolution of the Nasal Structures in the Lower Tetrapods. *American Zoologist* 7: 397-413.
- Parsons T. 1970. The Nose and Jacobson's Organ. En: *Biology of the Reptilia*. (Gans C, Parsons TS, eds.) New York: Academic Press.
- Phillips, J. & Alberts, A. 1992. Naive Ophiophagous lizards Recognize and Avoid Venomous Snakes Using Chemical Cues. *Journal of Chemical Ecology* 18: 1775-1783.
- Pizzato, L., Márques, A., Facure, K. 2009. Food Habits of Brazilian Boid Snakes: Overview and New Data, with Special Reference to *Corallus hortulanus*. *Amphibia-Reptilia* 30:533-544.
- Pregill, G., Gautier, J. & Greene, H.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.
- Punzo, F. 2008. Chemosensory Recognition of the Marbled Whiptail Lizard, *Aspidoscelis marmorata* (Squamata: Teiidae) to Odors of Sympatric Lizards (*Crotophytus collaris*, *Coleonyx brevis*, *Eumeces obsoletus* and *Uta stansburiana*) that Represent Different Predation Risks. *Journal of Environmental Biology* 29: 57-61.
- Pyron, A., Burbrink, F. & Wiens, J. 2013. A Phylogeny and Revised Classification of Squamata, including 4161 Species of Lizards and Snakes. *BMC Evolutionary Biology* 93: 1-53.
- Rehorek, S., 1997. Squamate Harderian Gland: an Overview. *Anatomical Record* 248: 301-306
- Rehorek, S., Hillenius, W., Quan, W. & Halpern, M., 2000. Passage of Harderian Gland Secretions to the Vomeronasal Organ of *Thamnophis sirtalis* (Serpentes: Colubridae). *Canadian Journal of Zoology* 78: 1284-1288.
- Reiserer, R., Schuett, W. & Beck, D. 2013. Taxonomic Reassessment and Conservation Status of the Beaded Lizard, *Heloderma horridum* (Squamata: Helodermatidae). *Amphibian and Reptile Conservation* 7: 74-96.
- Retzius, G.1894. Die Riechzellen der Ophidier in der Riechschleimhaut und im Jacobson'schen Organ. *Biol. Untersuch.* Neue Folge 6: 48-51.

- Rzedowski, J. 2005. Vegetación de México. 1ra. Edición Digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la biodiversidad, México.
- Schwenk, K. 1988. Comparative Morphology of the Lepidosaur Tongue and its Relevance to Squamate Phylogeny. En: *Phylogenetic relationships of the lizard families*. (Estes R, Pregill G, eds.) Stanford, CA: Stanford University Press.
- 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.
- Schwenk, K. 1996. Why Snakes Flick Their Tongues? *American Zoologist* 36: 84A
- Smith, K. & Kier, W. 1989. Trunks, Tongues and Tentacles: Moving with Skeletons of Muscle. *American Scientist* 77: 28-35.
- Stanger-Hall, K., Zelmer, D., Bergren, C. & Burns, S. 2001. Taste Discrimination in a Lizard (*Anolis carolinensis*, Polychrotidae). *Copeia* 2001: 490-498.
- Steenhof, K., Kochert, M. 1986. Dietary Shifts of Sympatric Buteos During a Prey Decline. *Oecologia* 66: 6-16.
- Stevenson, R., Peterson, C. & Tsuji, J. 1986. The Thermal Dependence of Locomotion, Tongue Flicking, Digestion, and Oxygen Consumption in the Wandering Garter Snake. *Physiological Zoology* 58: 46-57.
- Su C., Menzies K. & Carlson J. 2009. Olfactory Perception: Receptors, Cells, and Circuits. *Cell* 139: 45-59.
- Taniguchi, M., Wang, D. & Halpern, M., 2000. Chemosensitive Conductance and Inositol-1,4,5-tris-phosphate-Induced Conductances in Snake Vomeronasal Receptor Neurons. *Chemical Senses* 25: 67-76.
- Thoen, C., Bauwens, D. & Verheyen, R. 1986. Chemoreceptive and Behavioural Responses of the Common Lizard *Lacerta vivipara* to Snake Chemical Deposits. *Animal Behavior* 34: 1805-1813.
- Townsend, T., Larson, A., Louis. E. & Macey, R. 2004. Molecular Phylogenetics of Squamata: The Position of Snakes, Amphisbaenians and Dibamids, and the Root of the Squamate Tree. *Systematic Biology* 53: 735-757.
- Van Damme, R., Bauwens, D., Vanderstighelen, D. & Verheyen, F. 1990. Responses of the Lizard *Lacerta vivipara* to Predator Chemical Cues: the Effects of Temperature. *Animal Behaviour*. 40: 298-305.
- Vidal, N. & Hedges, B. 2005. The Phylogeny of Squamate Reptiles (Lizards,

Snakes and Amphisbaenians) Inferred From Nine Nuclear Protein-coding Genes. *Comptes Rendus Biologies* 328: 1000-1008.

-von Mihalkovics, V. 1899. Nasenhöhle und Jacobsonsches Organ. *Anatomy and Embryology Berlin* 11: 1-108.

-Wang R. & Halpern M. 1980. Scanning Electron Microscopic Studies of the Surface Morphology of the Vomeronasal Epithelium and Olfactory Epithelium of Garter Snakes. *American Journal of Anatomy* 157: 399-428.

-Wang, D., Chen, P., Martínez-Marcos, A. & Halpern, M., 2002. Immunohistochemical Identification of Components of the Chemoattractant Signal Transduction Pathway in Vomeronasal Bipolar Neurons of Garter Snakes. *Brain Research*. 952: 146-151.

-Weaver, R. & Kardong, K. 2010. Behavioral Responses to Potential Prey through Chemoreception by the Sharp-Tailed Snake (*contia tenuis*). *Northwestern Naturalist* 91: 58-62.

-Weldon, P. 1982. Responses to Ophiophagous Snakes by Snakes of the Genus *Thamnophis*. *Copeia* 1982:788-794.

-Wilgers, D. & Horne, E. 2009. Discrimination of Chemical Stimuli in Conspecific Fecal Pellets by a Visually Adept Iguanid Lizard, *Crotaphytus collaris*. *Journal of Ethology* 27: 157-163.

-Wyatt, T. 2003. Pheromones and Animal Behavior: Communication by Smell and Taste. Cambridge: Cambridge University Press.

-Young, B. 1993. Evaluating Hypotheses for the Transfer of Stimulus Particles to Jacobson's Organ in Snakes. *Brain Behavior and Evolution* 41: 203-209.