



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Biología

Ecología

EFFECTO DEL GRADO DE HIDRATACIÓN EN LA ACTIVIDAD DE *Heloderma horridum* EN UN HÁBITAT ESTACIONAL

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JESÚS EDUARDO OLIVÁN PLIEGO

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

COMITÉ TUTOR: DR. FAUSTO MÉNDEZ-DE LA CRUZ, INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. ÓSCAR FLÓRES VILLELA, FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, DF.

MAYO, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

EFEECTO DEL GRADO DE HIDRATACIÓN EN LA ACTIVIDAD DE *Heloderma horridum* EN UN HÁBITAT ESTACIONAL

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JESÚS EDUARDO OLIVÁN PLIEGO

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

COMITÉ TUTOR: DR. FAUSTO MÉNDEZ-DE LA CRUZ, INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. ÓSCAR FLÓRES VILLELA, FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, DF.

MAYO, 2015

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 Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 23 de marzo de 2015, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **OLIVÁN PLIEGO JESÚS EDUARDO** con número de cuenta **513023840** con la tesis titulada "**Efecto del grado de hidratación en la actividad de *Heloderma horridum* en un hábitat estacional**", realizada bajo la dirección del **DR. ANDRÉS GARCÍA AGUAYO**:

Presidente: DR. GUSTAVO CASAS ANDREU
Vocal: DR. HIBRAIM ADÁN PÉREZ MENDOZA
Secretario: DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ
Suplente: DR. DAVID VALENZUELA GALVÁN
Suplente: DR. JORGE HUMBERTO VEGA RIVERA

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 6 de mayo de 2015.

M. 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, UNAM por el importante e indispensable apoyo, así como el material brindado durante el tiempo de estudio hasta su término.

A CONACYT con número de CVU/becario: 508631/288713, porque gracias al apoyo económico que me fue brindado durante toda la maestría pude alcanzar satisfactoriamente mis objetivos académicos para realizar finalmente este trabajo.

Al Dr. Andrés García Aguayo, por aceptar ser mi tutor, por su ayuda durante mi trabajo de tesis, el material para poder trabajar con los objetivos y por su asesoría durante el periodo de muestreo así como en la redacción de esta tesis..

Al Dr. Fausto Méndez de la Cruz, porque gracias a sus consejos, exigencias y crítica constructiva, así como el material prestado para trabajar en campo pude mejorar y completar mi trabajo final.

Al Dr. Óscar Flóres Villela, por sus correcciones, consejos y comentarios para mejorar y completar mi trabajo de tesis, aun cuando su estado de salud era delicado.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Al Instituto de Biología de la UNAM por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de maestría en tiempo y con excelente calidad académica.

A la Estación de Biología Chamela, así como los trabajadores y personal administrativo, por darme el espacio y material necesario dentro de sus excelentes instalaciones, porque pude llevar a cabo mi trabajo de campo que requería mí proyecto de tesis.

Al Dr. Gustavo Casas Andreu por sus correcciones y atenciones durante mi revisión de tesis.

Al Dr. Hibraim Adán Pérez Mendoza por sus valiosas correcciones en la redacción y estructura así como en la revisión de análisis estadísticos.

Al Dr. David Valenzuela Galván, por sus valiosos comentarios y sugerencias, y por su objetividad en las modificaciones para la redacción de esta tesis.

Al Dr. Jorge vega, por el apoyo en la estructuración de este escrito y por ser una persona siempre atenta y que agradezco su ayuda desde antes de ingresar a este posgrado.

Al Dr. Gerardo Herrera, por facilitarnos el material muy necesario para este proyecto así como en la asesoría del uso de equipo.

Al Dr. Dale DeNardo, por sus aportaciones y sugerencias para la realización de esta tesis, así como en la ayuda en campo.

Al M. en C. Gienger por facilitarnos el material y las experiencias en campo.

Especialmente a Daniel Beck, que sin su ayuda y motivación durante todo el proceso no se habría realizado este trabajo.

A Taggert Butterfield y amigos de USA que compartieron experiencias, tiempo y trabajo en campo.

A Lucio y a Meche por su valiosa ayuda en campo.

Finalmente pero muy importante, a Diana Guerrero, por su valiosa ayuda y apoyo durante el proyecto, en campo, en laboratorio, clases, así como en la vida diaria.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, por su apoyo, amor y comprensión para la realización de este trabajo, y a las personas que dedican su vida y amor por la investigación en la ecología, conservación e historia natural.



Índice

RESUMEN.	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN.	5
ANTECEDENTES.	7
Hipótesis.. . . .	14
Objetivos	14
MÉTODOS	
Área de estudio.	16
Trabajo de campo	17
Temperatura.	18
Radiotelemetría	20
Osmolalidad	22
Experimental	
Experimentos térmicos	24
Osmolalidad	27
RESULTADOS	
Datos Climatológicos	
Temperatura	30
Precipitación	31
Características del hábitat	31
Datos de captura	32
Uso del hábitat.	33
Efectos climáticos sobre la actividad de <i>H. horridum</i>	35
Osmolalidad	37
Efectos de la temperatura corporal.	41

Resultados experimentales

Caracterización de individuos	43
Osmolalidad	44
Experimentos térmicos	45
Glucosa.	50
Glucosa y osmolalidad	52
Diferencias térmicas (Temperatura corporal vs ambiental) .	58
DISCUSIÓN..	62
Condiciones ambientales.	62
El clima y los Helodermas	63
Demandas fisiológicas.	65
Uso del hábitat.	66
Actividad estacional.	67
Osmolalidad.	68
Temperatura corporal..	69
Estudio experimental.	70
CONCLUSIONES.	73
LITERATURA CITADA.	76

Lista de figuras y tablas

Figura 1: Sitios confirmados de avistamientos de *Heloderma horridum* en México. (Tomado y modificado de Rielserer *et al.* 2013)

Figura 2: Condición hídrica de *Heloderma suspectum*, con respecto a la precipitación en Arizona.

Figura 3: Monitoreo de la condición hídrica de los individuos en vida libre. Se esperaría encontrar diferencias entre estaciones por efectos de presencia/ausencia de agua sobre el grado de hidratación y la actividad de *Heloderma horridum*.

Figura 4: Experimentos térmicos y de hidratación en individuos en cautiverio. En el primer tratamiento los individuos (19) se someten a temperaturas control o ambiente (20-30°C), la mitad de los individuos fueron hidratados manualmente y la otra mitad no. Después de 5 días, 10 individuos se someten a temperaturas bajas (10-20°C) y 10 a altas temperaturas (30-40°C), la hidratación permanece constante en los individuos previamente hidratados. Después de dos días de cada tratamiento, cada individuo, se sometió a actividad física (caminar a 1.8 km/h, velocidad constante) sin parar durante media hora. Se tomaron muestras de sangre para analizar el grado de hidratación de cada individuo.

Figura 5: Mapa de la estación de biología Chamela, y polígono del área de muestreo.

Figura 6: Sitios de monitoreo constante de temperatura a lo largo de un gradiente de vegetación Selva baja-Vegetación de arroyo.

Figura 7: Sensores de temperatura iButton, dentro de tubos de plástico A: sensor en el suelo del bosque, sin exponer por completo a la luz solar; B: sensor suspendido en el aire a 30 cm del suelo en selva seca; C: sensor colocado en árbol DAP >20 cm, a un metro de altura del suelo; D: sensor colocado dentro de una cavidad en el suelo con al menos 30 cm de profundidad.

Figura 8: Técnicas para monitoreo y análisis de la condición hídrica de *Heloderma horridum*. A: Cirugía para implante de radiotransmisor y sensor de temperatura, B: Toma de muestra sanguínea de la vena caudal, C: Separación del plasma sanguíneo (centrifugación) y D: Análisis plasmático para evaluar la osmolalidad (mOsm/L).

Figura 9: Técnica de hidratación en *Heloderma horridum* mediante sonda intragástrica

Figura 10: Temperaturas registradas por los sensores iButton dentro de la reserva. En las barras se aprecia cada sitio donde se capturaron los datos, las barras negras corresponden a sitios con BTC, en gris claro están los sitios con vegetación de arroyo y gris oscuro la transición entre BTC y arroyo.

Figura 11: Datos obtenidos de la estación meteorológica de la Estación de Biología Chamela durante el 2013. Se aprecia la mayor cantidad de lluvia se concentró en los meses de septiembre y noviembre.

Figura 12: Diferencias estacionales en el uso del hábitat de 8 individuos en el periodo mayo-noviembre

Figura 13: Ejemplo del estimador de actividad en base a la temperatura corporal de *Heloderma horridum* durante la temporada de secas.

Figura 14: Días de actividad registrados según el estimador de actividad en base a la temperatura de los individuos "370" y "110"

Figura 15: Puntos registrados en ambas temporadas para tres individuos (110, 210 y 370) en la figura izquierda la temporada de secas (abril -- mediados Junio) y la imagen derecha temporada de lluvias (fin junio -- octubre).

Figura 16: regresión cuadrática entre los meses del año y la osmolalidad como variable dependiente (arriba) y precipitación registrada durante la el año 2013.

Figura 16.1: a (izquierda): regresión cuadrática entre la precipitación acumulada del año 2013 y la osmolalidad (variable dependiente) b: (derecha) regresión cuadrática entre los meses del año y la osmolalidad (variable dependiente)

Figura 17: Regresiones cuadráticas entre la precipitación acumulada del año 2013 y la osmolalidad del individuos 110; 7b (derecha) regresión cuadrática entre la precipitación acumulada del año 2013 y la osmolalidad del individuo 350 (izquierda).

Figura 18: análisis de correlación entre la temperatura corporal y los valores de osmolalidad de 8 individuos (la temperatura corporal se capturó a la hora de tomar la muestra de sangre).

Figura 19: Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento frío. (HIDRATADOS) b) Correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento frío. (HIDRATADOS)

Figura 20: a) correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento frío. (no hidratados) b) correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento frío (no hidratados).

Figura 21: a) Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en Tratamiento caliente. (hidratados) b) Correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento caliente- (hidratados).

Figura 22: a) Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento caliente (no hidratados). b) Correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento caliente. (no hidratados)

Figura 23: Diferencias en la temperatura corporal de individuos hidratados y no hidratados sometidos a bajas temperaturas

Figura 24: Diferencias en la temperatura corporal de individuos hidratados y no hidratados sometidos a bajas temperaturas

Tabla 1: Condiciones de los tratamientos y número de muestras obtenidas durante los experimentos en “El Palapo”, Colima.

Tabla 2: Esfuerzo de muestreo para búsqueda captura y recaptura de *H. horridum* en el periodo abril-noviembre del 2013.

Tabla 3: Desplazamiento semanal del individuo 110, del cual se obtuvo la mayor cantidad de registros en campo

Tabla 4: Precipitación vs osmolalidad (9 individuos en Chamela)

Tabla 5: Fecha vs osmolalidad (9 individuos en Chamela)

Tabla 6: Precipitación vs Osmolalidad individuo 110

Tabla 7: Precipitación vs Osmolalidad individuo 350

Tabla 8: Resultados del análisis de varianza entre características morfológicas y los valores de osmolalidad obtenidos durante el muestreo en 7 individuos

Tabla 9: Número de muestras de Plasma sanguíneo analizadas de nueve individuos de *H. horridum*

Tabla 10: Correlación bipareada entre variables morfológicas y osmolalidad de los individuos en cautiverio antes de ser sometidos a experimentos térmicos.

Tabla 11: Resultados de la prueba de T student pareada entre osmolalidad antes de correr y después en grupo control (temperatura ambiente).

Tabla 12: Resultados de la prueba de T student pareada entre los valores de osmolalidad obtenidos antes de correr vs después de correr de los individuos hidratados y no hidratados, en tratamiento frío.

Tabla 13: Resultados de la prueba de T student pareada entre los valores de osmolalidad obtenidos antes de correr vs después de correr de los individuos hidratados y no hidratados, en tratamiento calor (altas temperaturas).

Tabla 14: resultados de la prueba de T student entre individuos a bajas temperaturas comparando la condición: hidratados VS no hidratados

Tabla 15: resultados de la prueba de T student entre individuos a altas temperaturas comparando la condición: hidratados VS no hidratados

Tabla 16: resultados del análisis de covarianza de la osmolalidad entre individuos antes y después de correr, hidratados y no hidratados (covariable: LHC).

Tabla 17: resultados del análisis de covarianza de la osmolalidad entre individuos antes y después de correr, hidratados y o hidratados (covariable: peso).

Tabla 18: Análisis de covarianza (covariable LHC) VS los valores de glucosa antes y después de correr (mg/L) entre los grupos: hidratados y deshidratados.

Tabla 19: Análisis de covarianza (covariable Peso) VS antes y después de correr (glucosa) entre los grupos: hidratados y deshidratados.

Tabla 20: Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento frío. (hidratados).

Tabla 21: Correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento frío. (hidratados).

Tabla 22: Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento frío. (no hidratados)

Tabla 23: Correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento frío. (no hidratados)

Tabla 24: correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento caliente. (hidratados)

Tabla 25: correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento caliente. (hidratados).

Tabla 26: Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento caliente. (no hidratados).

Tabla 27: Correlación de osmolalidad y glucosa después antes de correr en animales en tratamiento caliente. (no hidratados).

Tabla 28: Resultados de la prueba de T student: temperaturas corporales en individuos a temperatura control, hidratados vs no hidratados.

Tabla 29: resultados del análisis de T student entre temperaturas de individuos en tratamiento calor vs frío.

Tabla 30: resultados del análisis de T student entre temperaturas corporales de individuos en tratamiento frío comparando hidratados vs no hidratados.

Tabla 31: resultados del análisis de T student entre temperaturas corporales de individuos en tratamiento calor comparando hidratados vs no hidratados.

RESUMEN

En este trabajo se describen los cambios en la actividad de *Heloderma horridum* (Sauria: Helodermatidae) tanto en vida libre como en cautiverio, por efectos del grado de hidratación. En vida libre fueron monitoreados seis individuos con telemetría y 18 individuos en cautiverio. En este estudio reportamos que, en vida libre, los efectos en la actividad por el grado de hidratación son significativos entre estaciones, esto es, que a medida que la condición hídrica mejora (descenso en el número de osmolitos en el plasma sanguíneo= mOsm/L), la actividad diaria y el tiempo que permanecen fuera de sus refugios aumenta. Las diferencias son significativas entre estaciones ya que es posterior a que se establece el periodo de lluvias que la osmolalidad plasmática disminuye. Esta relación también puede deberse a diversos factores como la mayor disponibilidad de opciones térmicas, ya que una vez establecido el periodo de lluvias, la cobertura vegetal aumenta y la oferta térmica es mayor, este es un punto importante ya que se considera que *H. horridum* es una especie termo-conformista. Durante la temporada de secas, la oferta térmica es limitada, durante el día la temperatura es en su mayoría alta y se ven limitados a estar activos por la mañana y al atardecer. En la temporada de lluvias, además de la mayor oferta térmica, la disponibilidad de recursos así como la presencia de agua acumulada en pozas, charcos o en arroyos es mayor. Los cambios se pueden apreciar también en la distancia que recorren en la temporada de secas vs lluvias, duplicándose la distancia que recorren en una semana durante las lluvias. También el uso del hábitat es diferencial, ya que prefieren sitios diferentes durante la temporada de secas a las lluvias. De acuerdo con los datos, podemos sugerir que una mejora en la condición hídrica puede beneficiar el tiempo que pasan expuestos en la superficie. La disponibilidad de alimento o presas también puede modificar sus actividades o conductas, sin embargo, la hidratación es crucial, ya que permanecer deshidratados puede ser letal para la especie; energéticamente, el “alimento” lo tienen disponible en forma de grasa que almacenan en la cola.

En la parte experimental, los datos sugieren que la dependencia del grado de hidratación no es tan estrecha, notándose diferencias nulas en cuanto a

individuos que recibieron agua manualmente contra los que se limitaron al recurso hídrico por más de 10 días, aun cuando los individuos fueron sometidos a experimentos térmicos y a actividad física. Estos resultados pueden indicar que el tiempo durante el que estuvieron limitados de agua no fue suficiente, o, que estrategias como el almacenamiento de líquido dentro de la vejiga, pueden estar interfiriendo en la interpretación del resultado. La vejiga es un órgano, que al igual que en tortugas y anfibios, no permite que los organismos comprometan su homeostasis, reincorporando agua al sistema cuando es necesario.

Finalmente, encontramos que *H. horridum* es una especie altamente tolerante a cambios de temperatura y de estrés hídrico. Posiblemente sus estrategias fisiológicas son parte del éxito adquirido a lo largo del tiempo para establecerse en ambientes áridos y estacionales. El organismo de *H. horridum*, a diferencia de otras lagartijas, está por encima del nivel de tolerancia a altas o bajas temperaturas, por lo que la dependencia de la ingesta de agua no parece ser tan estrecha (estudio experimental). Parte de la débil dependencia puede atribuirse a las diversas maneras de adquirir agua en ambientes agrestes como el BTC durante la temporada de secas, por ejemplo vía cloacal, o ingiriendo grandes presas como nidadas completas de huevos, siendo entonces mayor el reto a superar para la especie, el localizar alimento de manera efectiva.

ABSTRACT

In this study, changes in activity by the effects of hydration in the wild and captivity of *Heloderma horridum* are described. Six wild individuals monitored with radiotelemetry and 18 captive individuals were used. In this study we report that, in the wild, the effects in the activity by the grade of hydration were significant among seasons, this is, as the water condition improves (reduction of the number of osmolytes in the blood plasma = mOsm/L), the daily activity and time spent outside of shelters increases. The significant differences among season are due to the onset of the wet season, when plasma osmolality decreases. This relationship may be due to various factors such as greater availability of thermal options, because during the wet season, vegetation cover increases, as does heat supply, this is important because it is considered that *H. horridum* are thermo-conformers. During the dry season, the thermal supply is limited, during the day, temperatures are high almost the entire day and lizards are limited to be active in the morning and afternoon. In the wet season, along with increased thermal supply, availability of resources and the presence of standing water or streams increase. Changes can also be seen in the distance walked in dry versus wet season, with a two-fold increase of distance traveled in one week during the wet season. Also the use of habitat changes, as they prefer different sites during the dry season compared to the wet season. According to the data, we can suggest that an improvement in water conditions can benefit time spent exposed on the surface. The food or prey availability can also modify their activity and behavior, however, hydration is crucial as dehydration can be lethal; energetically, resources consumed become available in the form of fat stored in the tail.

In the experimental part, data suggests a weak dependence on the degree of hydration, noting no differences among individuals receiving water compared to those who were restricted from water for more than 10 days, even when individuals underwent thermal and physical activity experiments. These results may indicate that time during which they were restricted water was insufficient, and that strategies such as the storage of liquid into the bladder, may be interfering with the

interpretation of these results. The bladder, as in turtles and amphibians, prevent the organism from jeopardizing their homeostasis, reintroducing water to the system when necessary.

Finally we find that Beaded Lizards can tolerate high temperature changes and hydric stress. These physiologic strategies may have contributed to their evolutionary success in seasonal habitats. Beaded lizards, compared with other lizards, have a higher and lower temperature mean of tolerance even when water is not available. We conclude that water intake does not define the activity of beaded lizards, and this can likely be attributed to other physiological and behavioral strategies to gain water, such as cloacal assimilation and consumption of resources with high water content.

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios y modelos han tratado de evaluar el efecto del cambio climático para predecir el desplazamiento, la distribución y la probabilidad de extinción de las poblaciones de ectotermos (organismos que no regulan metabólicamente su temperatura corporal, sino que dependen de fuentes externas de calor), bajo escenarios de calentamiento global (Arau' *et al.* 2012; Gvoždík, 2012; Clusella-Trullas y Chown, 2014). Las predicciones para especies y poblaciones de vertebrados, incluidos los ectotermos, no son muy alentadoras ya que la probabilidad de extinción proyectada a 30 y 50 años es muy elevada (Sinervo, *et al.*, 2010; Pandolfi, *et al.*, 2011; Güizardo-Rodríguez, 2012; Llusia, *et al.*, 2013). Debido a la alta velocidad a la que pueden y se están extinguiendo las especies, es necesario establecer modelos para predecir el comportamiento de organismos ectotérmicos ante escenarios de incremento en la temperatura y otras alteraciones ambientales, para diseñar estrategias de conservación adecuadas para estos organismos. Desafortunadamente, en la actualidad estos modelos solo basan en organismos en cautiverio o en estimaciones mediante cálculos basados en de estudios de caso (Güizardo-Rodríguez, 2012), ya que los experimentos con organismos en condiciones naturales (*in-situ*) son escasos.

La causa principal del reducido número de estudios en vida libre son las complicaciones asociadas al seguimiento de organismos en vida libre por tiempos prolongados (Ims *et al.*, 2008). El identificar los comportamientos y procesos fisiológicos que ocurren en organismos en vida libre es fundamental para el entendimiento de los efectos en la ecología de especies de ectotermos, debido a cambios en la temperatura, disponibilidad de alimento y agua, entre otras y que afectan la homeostasis de los organismos ectotermos.

Es necesario poder identificar cómo se modifican los procesos regulatorios, (como metabolismo de grasa para obtener energía, adquirir agua del alimento o regular la cantidad de líquido en el organismo para mantener su homeostasis), que gobiernan las demandas recurso-energéticas de los organismos para subsistir ante la carencia temporal o prolongada de algún recurso, por ejemplo de agua. Este tipo de estudios puede aportar información valiosa para diseñar modelos

predictivos más fiables y robustos ante el cambio climático y con ello tener un mejor entendimiento de los mecanismos y procesos de la disminución de las poblaciones de ectotermos causadas por el calentamiento global. Los reptiles y en particular las lagartijas son uno de los grupos de ectotermos que mejor responde a cambios en la temperatura y en general a factores abióticos. En lagartijas por ejemplo, se ha demostrado un colapso de algunas poblaciones debido a la perturbación de su hábitat (Davis, J. y DeNardo, D, 2010; Scott, D., *et al*, 2005). Este grupo de reptiles son un buen modelo que aporta una respuesta fiel a cambios en temperatura y en periodos relativamente cortos (días) (Clusella-Trullas y Chown, 2014). En general los reptiles han desarrollado a lo largo del tiempo estrategias adaptativas para soportar condiciones de estrés, ya que sus respuestas fisiológicas ante la carencia de alimento y agua en hábitats estacionales o desérticos convergió en bajas demandas metabólicas y bajos niveles de evaporación de agua corporal. A pesar del entendimiento y estudio de estas estrategias y procesos metabólicos complejos, el entendimiento de cómo los reptiles que habitan este tipo de hábitats, y responden a variaciones en la disponibilidad de recursos a largo plazo, es escaso (Huey, 1982; Avery, 1982; Bradshaw, 1997; DeNardo, 2010).

Usar modelos que soportan altos niveles de estrés térmico como los reptiles y que han desarrollado estrategias para mantener su organismo en homeostasis es una gran oportunidad para entender los fenómenos o estrategias que ocurren en otros organismos tanto que soportan el estrés como ellos como aquellos que son más vulnerables.

ANTECEDENTES

Heloderma horridum es una de las cinco especies de lagartijas venenosas que existen en el mundo (Relserer, *et al*, 2013), es una lagartija grande (LHC 800 mm) endémica de México que se caracteriza por su cuerpo y mandíbulas robustas, una cola larga y ancha en la cual almacena grasa. Su cuerpo está cubierto por escamas pequeñas en la parte dorsal que asemejan cuentas o “chaquiras”, éstas contienen una pequeña porción de hueso que se conocen como “osteodermos”. En esta especie no existe dimorfismo sexual aparente, aunque algunos autores han encontrado diferencias sexuales con respecto a la morfometría del cuerpo (Stephen A. 2005). Habita principalmente el bosque tropical caducifolio (BTC) de México (Figura 1). El BTC se caracteriza por una marcada estacionalidad ambiental en la precipitación y disponibilidad de recursos, con una prolongada estación seca (hasta 8 meses) (Jaramillo, *et al*, 2003; Bullock, 1986). Una estrategia que *H. horridum* muy probablemente ha desarrollado para enfrentar la prolongada época de secas propia del BTC es la estivación o inactividad durante la mayor parte de la temporada de secas, siendo entonces, un buen modelo de un organismo adaptado a periodos prolongados de alta temperatura y condiciones de sequía. Es además una especie que puede ser fácilmente monitoreada a través de largos periodos de tiempo mediante el uso de técnicas de telemetría sin afectar aparentemente su comportamiento y desplazamiento (Beck, 2005, Davis. y DeNardo, 2009). Todo lo anterior lo convierte en un organismo ideal para el estudio del efecto de la temperatura y disponibilidad de recursos en su comportamiento y actividad.



Figura 1. Sitios confirmados de avistamientos de *Heloderma horridum* en México. (Tomado y modificado de Rielserer *et al.* 2013)

Aún existen muchas preguntas acerca de cómo responden las especies de lagartijas a la marcada estacionalidad del BTC (Gienger *et al.*, 2002), sin embargo, se sabe que el hábitat, proporciona a las especies de lagartijas una variedad de sitios potenciales para percha, refugio, sitios de alimentación y termorregulación (Hillman, 1969, Vanhooydonck y Van Damme, 1999, Navarro-García *et al.*, 2008) y que modifican sus niveles y tipo de actividad conforme a la estacionalidad (Lister & García, 1992; García *et al.*, 2010). Por otra parte *H. horridum* es un reptil que puede permanecer en un estado de “inactividad” que puede extenderse hasta 8 meses refugiados bajo la tierra, en sitios como madrigueras o cuevas (Beck, 2005). En el BTC de Chamela en la costa de Jalisco, el periodo de inactividad coincide con el extenso periodo de secas, que normalmente se presenta del mes de noviembre al mes de junio (Beck y Lowe,

1991) lo que se considera un mecanismo para evitar la deshidratación a causa de las altas temperaturas (Davis y De Nardo 2010), aunque, el uso de refugios no se restringe solo al periodo de inactividad, ya que también en época de actividad (Beck, 2005). El uso del hábitat difiere también de acuerdo con la estacionalidad. Beck y Lowe (1991) describieron las deferencias en cuanto a sitios frecuentados por *H. horridum* durante la temporada de secas y la temporada de lluvias. Durante la temporada de secas, los sitios que más frecuentaron son los bancos de arroyo, mientras que durante las lluvias, el uso del hábitat es más heterogéneo, usando tanto el banco de arroyo como los árboles, zonas planas y rocas. Por otra parte, Beck y Randy (2003) mencionan que *H. suspectum* reduce su metabolismo y su gasto energético por lo que pueden permanecer inactivos largos periodos en sus refugios. De hecho pasan más tiempo dentro (92% del tiempo durante la temporada de secas) que fuera de ellos (Beck, 2005). Algunos autores mencionan que dichos refugios son reutilizados por el mismo individuo durante una temporada o diferentes temporadas aunque también existe la posibilidad de que utilicen refugios vacíos de otros individuos (e.g. Beck y Randy, 2003), o de otras especies de reptiles (e.g. *Ctenosaura pectinata* y *Crotalus basiliscus*: Beck 1991; Beck, 2005).

Beck y Lowe (1991) reportan que *H. horridum*, durante el periodo que se puede monitorear (temporada de secas y lluvias), tiene un área de actividad de 21 a 22 hectáreas, la mayor distancia recorrida se reporta durante la temporada de lluvias (más de dos kilómetros lineales), los sitios que frecuentan incluyen áreas abiertas y cerca de los arroyos, donde encuentran su principal fuente de agua, y por los cuales parecen “transitar”, al utilizarlos como vías de comunicación entre sitios lejanos (Beck y Lowe, 1991; Beck, 2005).

Previos estudios han evidenciado que la condición hídrica de los reptiles influye directamente sobre la temperatura corporal y patrones de actividad en reptiles (Lorenzon et al. 1999; Ladyman y Bradshaw 2003). También se han tratado de probar los mecanismos por los cuales la limitación de agua afecta los patrones de actividad, la condición corporal así como la reproducción,

especialmente en lacertilios (Lacertilia: suborden que incluye la mayoría de las lagartijas, lagartos, así como algunos fósiles) y tortugas (Davis y DeNardo 2009).

La tortuga de desierto, *Gopherus agassizii* ha logrado sobrevivir gracias a sus bajas demandas de agua y energía, a la capacidad de almacenar agua y energía por tiempos prolongados y a un selectivo uso del microhábitat (Nagy y Medica, 1986; Henen *et al.*, 1998; Averil-Murray, 2002; Bulova, 2002), probablemente *H. horridum* sigue una estrategia similar. La tortuga de desierto, no necesita ingerir agua como tal ya que puede ser extraída del alimento que consume, en este caso cactáceas y sus frutos; *H. horridum* incluye en su dieta principalmente huevos, de donde al igual que la tortuga, puede obtener el agua. Sin embargo, se ha observado en campo y autores han mencionado que pueden ingerir grandes volúmenes de agua en una sola visita a un cuerpo de agua y almacenarla-suministrarla a lo largo de días (Beck, 2005). Estudios similares con lagartijas del género *Uta* han mostrado también su capacidad de administrar el grado de hidratación gracias a su capacidad de regular la evaporación cloacal de agua para disminuir la temperatura corporal, así como la capacidad de almacenar agua dentro de la vejiga; igualmente en varanos (*Varanus gouldii*), y otros escamados como *Aposaura anchietae*, *Sceloporus jarrovii* y *H. suspectum* (Braysher y Green, 1969., Cooper y Robinson, 1990, John-Alder *et al.*, 1983; Beck *et al.*, 1995. DeNardo *et al.*, 2004 y Davis y DeNardo, 2007). En anfibios, incluso se han encontrado hormonas antidiuréticas como la Arginina vasotócina, que influyen en el movimiento de sodio y agua en la vejiga (Braysher y Green, 1969). Otros vertebrados (como aves y mamíferos) obtienen el agua de las presas que comen, los mamíferos también pueden concentrar orina de forma efectiva produciendo orina hiperosmótica. En lagartijas del género *Anolis*, han mostrado que la suplementación de agua, estimula el crecimiento, aunque la suplementación de alimento aumenta rápida y efectivamente el crecimiento de algunos lacertilios (Stamps y Tanaka, 1981).

El grado de actividad de un reptil está relacionado con la ingesta de alimento o agua. Se han realizado trabajos en invertebrados y vertebrados sobre el efecto del suministro de alimento en la actividad y los mecanismos fisiológicos y

ecológicos que intervienen (Kreiter y Wise, 2002; Boutin, 1990; Schoech y Hahn, 2007; Banks y Dickman, 2000; Dunham, 1987; Eifler, 1996; Blouin-Demers y Weatherhead, 2001, etc.). Los estudios referentes al suplemento de alimento han aclarado con experimentos en laboratorio, que gracias a la ingesta de alimento, por ejemplo de insectos, en lagartijas del género *Anolis*, algunos procesos como el periodo de actividad e incluso el tamaño de la puesta en hembras grávidas aumentan, aportando información para entender parte de los mecanismos de supervivencia en algunos invertebrados, mamíferos, aves y algunos reptiles (Pelletier y McNeill, 2003; Boutin, 1990; Schoech y Hahn, 2007; Schoech *et al.*, 2008; Banks y Dickman, 2000; Meserve, 2003; Orland y Kelt, 2007; Dunham, 1978; Eifler, 1996; Blouin-Demers y Weatherhead, 2001; Taylor *et al.*, 2005). Otros han mostrado que los estados de hidratación tienen influencia con la temperatura del cuerpo y patrones de actividad en reptiles (Daltry *et al.*, 1998, Lorenzon *et al.*, 1999, Laydman y Bradshaw, 2003, Davis y DeNardo, 2009). Davis y DeNardo (2009) describieron los efectos del suplemento de agua en *H. suspectum* sobre su masa corporal y las diferencias en los periodos de actividad. Los autores reportaron un incremento del 20% del tiempo de actividad en individuos que recibieron agua durante el experimento, sin embargo no hubo diferencias en el crecimiento corporal (LHC), la mayoría de los individuos aumentó su talla durante los dos años de monitoreo. Tampoco hubo diferencias entre sexos, por lo que sugieren que tanto machos y hembras invierten la misma energía para reproducirse. Por otra parte, los autores encontraron diferencias entre sexos en cuanto al tiempo que pasan activos. Los machos, en general fue superior el tiempo que emplean activos a diferencia de las hembras. De los 12 Individuos monitoreados, encontraron que la osmolalidad: número de osmolitos (solutos usados por células de numerosos organismos y tejidos con estrés hídrico para mantener un volumen celular presentes en el plasma sanguíneo) variaba de forma significativa a través del tiempo, (Figura 2). Para medirlo, se puede utilizar un proceso clínico con el cual se centrifuga una muestra de sangre y se analiza una pequeña porción de plasma sanguíneo y se obtiene el resultado en mOsm/Kg: miliosmoles por unidad de agua. Dentro de los estudios de osmolalidad en

Heloderma, se menciona que niveles superiores a 410mOsm en el plasma sanguíneo es el límite que podría soportar la especie (Davis y DeNardo, 2007).

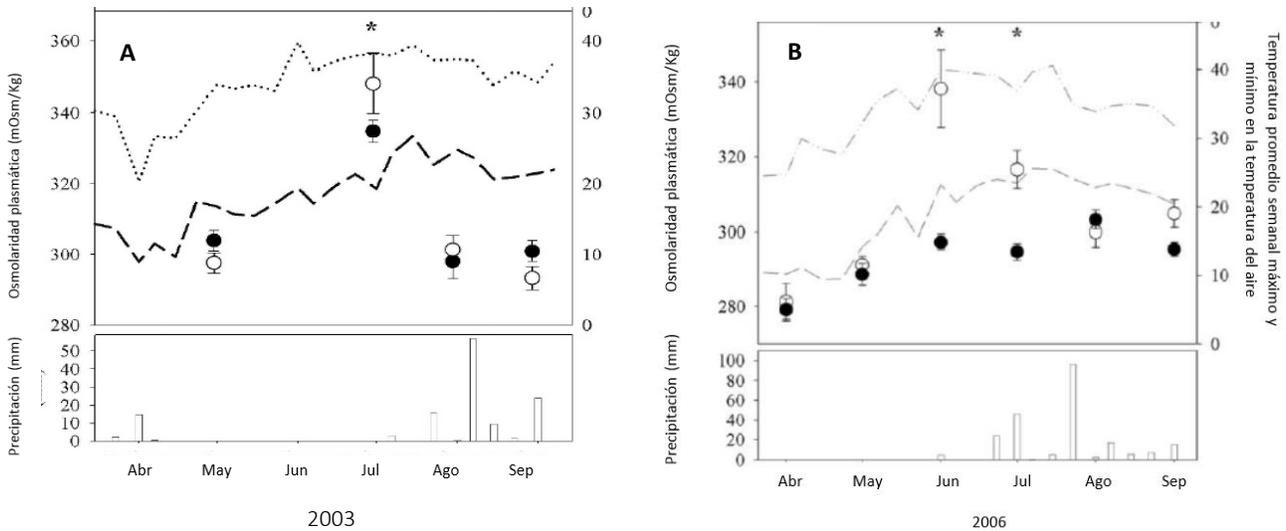


Figura 2. Condición hídrica de *Heloderma suspectum*, con respecto a la precipitación (barras) en Arizona. A: Osmolalidad plasmática de individuos en condiciones naturales en el Desierto Sonorense (círculos blancos= machos, círculos negros = hembras); en las líneas: temperatura promedio semanal del aire (máxima en línea punteada superior) y mínima (línea inferior) de 16 individuos durante el 2003, B: Osmolalidad plasmática de individuos hidratados manualmente (círculos blancos) y sin hidratar o grupo control (círculos negros); en las líneas: temperatura promedio semanal del aire (máxima en línea punteada superior) y mínima (línea inferior) (DeNardo, 2006)

Algunas especies de lacertilios han desarrollado estrategias para resistir a cambios drásticos como las altas temperaturas, por ejemplo, durante la temporada de secas en un BTC. Para *Heloderma horridum*, alcanzar una temperatura corporal superior a 37°C puede ser letal, en tanto que temperaturas corporales inferiores a 14°C podrían poner en riesgo la salud del individuo (Beck, 2005). Las altas temperaturas se pueden generar debido al cambio en el uso del suelo y la tasa de deforestación del BTC, propiciando que *H. horridum* no encuentre refugios o sitios con las temperaturas ideales para la especie. Las bajas temperaturas también limitan su actividad, aunque regularmente ocurren al final de la temporada de lluvias. Casi al final de la temporada de lluvias (octubre-noviembre), los *Helodermas* permanecen en letargo dentro de sus refugios donde la temperatura es más estable que al exterior. A diferencia de organismos endodermos, los *Helodermas*, no necesitan invertir energía para generar calor durante su letargo y

permanecen inactivos si las temperaturas son bajas. A pesar de los estudios referentes al caso, no se ha prestado atención a la vulnerabilidad/sensibilidad de cada especie ante diferentes escenarios de estrés hídrico o térmico, ni cómo es que regulan dichas estrategias, ni la forma en la que pueden variar ante los cambios en la estructura del hábitat. Responder estos planteamientos ayudaría en la modelación de posibles efectos en la historia de vida de los lacertilios, frente a diferentes escenarios como sequías prolongadas o lluvias prematuras. Describir las respuestas eco-fisiológicas de las poblaciones nos permiten solucionar problemas de conservación de especies sensibles a cambios en el ambiente y/o amenazadas (Davis y DeNardo, 2009), especialmente en regiones con BTC, las especies que ahí habitan requieren modificar su conducta y actividades diarias a expensas de las condiciones físicas que el ambiente proporcione, *H. horridum* es una especie que a pesar que la disponibilidad de agua físicamente (charcos o arroyos) no ocurra, pueden subsistir regulando su estado de hidratación mediante el alimento y/o almacenándolo dentro de la vejiga, siendo entonces, una especie con gran plasticidad para modificar sus hábitos y persistir en estos ecosistemas.

En *H. horridum*, su principal fuente de agua-alimento son los huevos de vertebrados. Los huevos pueden contener hasta un 70% de agua (Ramírez et al, 2010, González y Unzón, 2011). En Chamela por ejemplo, la actividad de esta especie inicia dos meses antes de la temporada de lluvias (mayo), uno de los meses más secos. Es durante ese periodo durante el cual busca su alimento bajo condiciones de intenso calor, alto riesgo de insolación y escasez de agua. Afortunadamente para *H. horridum*, la iguana negra, *Ctenosaura pectinata*, comienza su última etapa de reproducción que es la puesta de huevos bajo tierra, parte de la dieta frecuente de *H. horridum* (Beck, 2005; García Oliva, et al., 1991). Observaciones personales en campo demuestran la gran capacidad de ingerir grandes nidadas o varias nidadas, hasta 45 huevos con un peso aproximado de 210 g. en un individuo de 1200 g.

Por ello el presente trabajo de investigación plantea responder la siguiente pregunta: ¿Cómo afecta el grado de hidratación a la actividad (i.e. distancia entre

movimientos, área de actividad, uso del hábitat, etc) y conducta de *Heloderma horridum* durante su periodo de actividad?



Figura 3: Monitoreo de la condición hídrica de los individuos en vida libre. Se esperaría encontrar diferencias entre estaciones por efectos de presencia/ausencia de agua sobre el grado de hidratación y la actividad de *Heloderma horridum*.

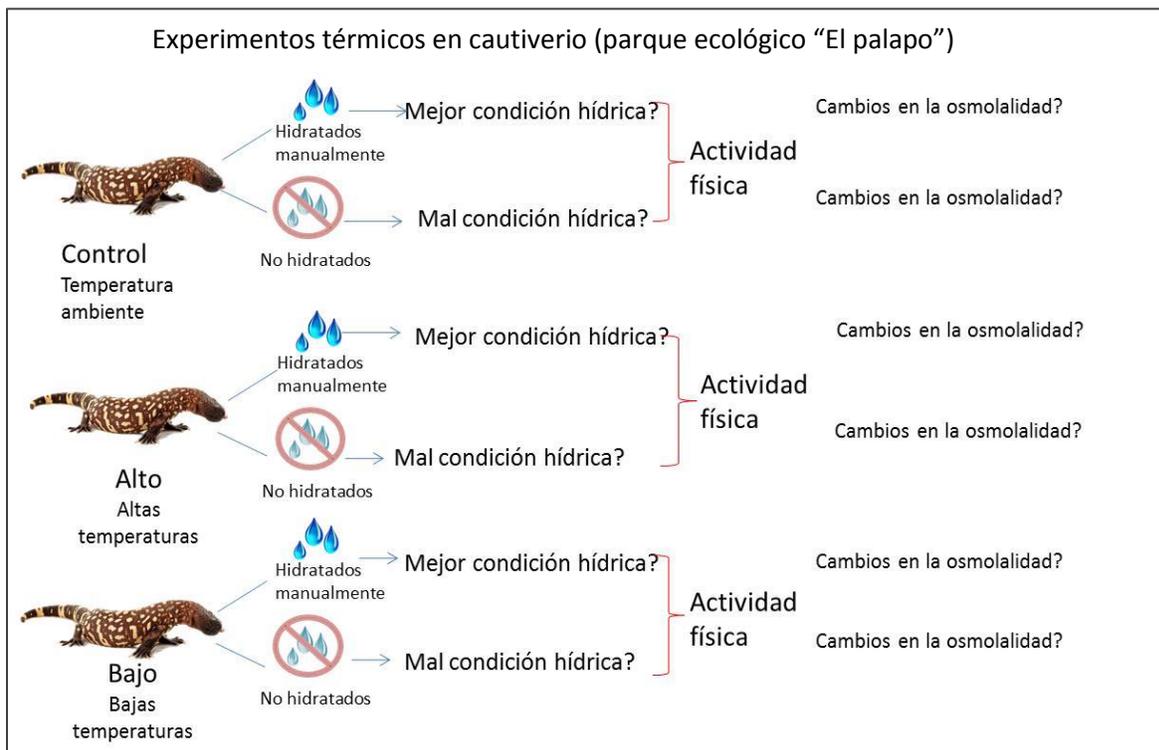


Figura 4: Experimentos térmicos y de hidratación en individuos en cautiverio. En el primer tratamiento los individuos (19) se someten a temperaturas control o ambiente (20-30°C), la mitad de los individuos fueron hidratados manualmente y la otra mitad no. Después de 5 días, 10 individuos se someten a temperaturas bajas (10-20°C) y 10 a altas temperaturas (30-40°C), la hidratación permanece constante en los individuos previamente hidratados. Después de dos días

de cada tratamiento, cada individuo, se sometió a actividad física (caminar a 1.8 km/h, velocidad constante) sin parar durante media hora. Se tomaron muestras de sangre para analizar el grado de hidratación de cada individuo.

Hipótesis:

1.- La disponibilidad de agua en su hábitat natural, generalmente acumulada por la lluvia, ocasionará cambios en la actividad de *Heloderma horridum*, lo cual se apreciará en un mayor tiempo de actividad fuera de sus refugios. Experimentalmente (parque de Colima), limitar el suministro de agua, comprometerá el grado de hidratación de los individuos.

1a.-El agua no es indispensable para *Heloderma horridum* aun en la estación seca, ya que la actividad está regulada independientemente de la disponibilidad de agua en el ambiente.

2.- La actividad física en individuos en cautiverio, generará cambios en el grado de hidratación de individuos que no reciban agua ante cambios de temperatura

2a.- La actividad física de los individuos en cautiverio, y los cambios de temperatura no influyen en los niveles de hidratación.

Objetivos:

1.-Determinar los cambios en la actividad de *Heloderma horridum*, promovidos por el estado de hidratación (campo).

2.- Determinar los efectos de la actividad física y cambios en la temperatura en *Heloderma horridum* sobre el grado de hidratación (experimental).

MÉTODOS:

Área de estudio

El trabajo se realizó en dos sitios, la fase de campo en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco y la fase experimental en el parque ecológico “El Palapo”, ubicado en el municipio de Coquimatlán, Colima. Las principales características de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala pueden consultarse en múltiples trabajos (e.g. Trejo-Vázquez 1998, Jaramillo, *et al*, 2003; Ceballos y Valenzuela, 2000; García y Ceballos, 1994, Noguera, *et al*, 2002), (Figura 4). BTC es el principal tipo de vegetación en la reserva. vegetación de arroyo como la selva mediana subpernifolia. El paisaje está dominado por una accidentada topografía, generalmente escaso de planicies y dominado por laderas irregulares sobre granito (Noguera, *et al*, 2002). Presenta una temperatura media anual de 24.6°C, y una periodo de lluvias que se concentra en cinco meses del año (Bullock, 1986, García-Oliva *et al*, 1991) generando una precipitación media anual entre 700 y 800 mm.

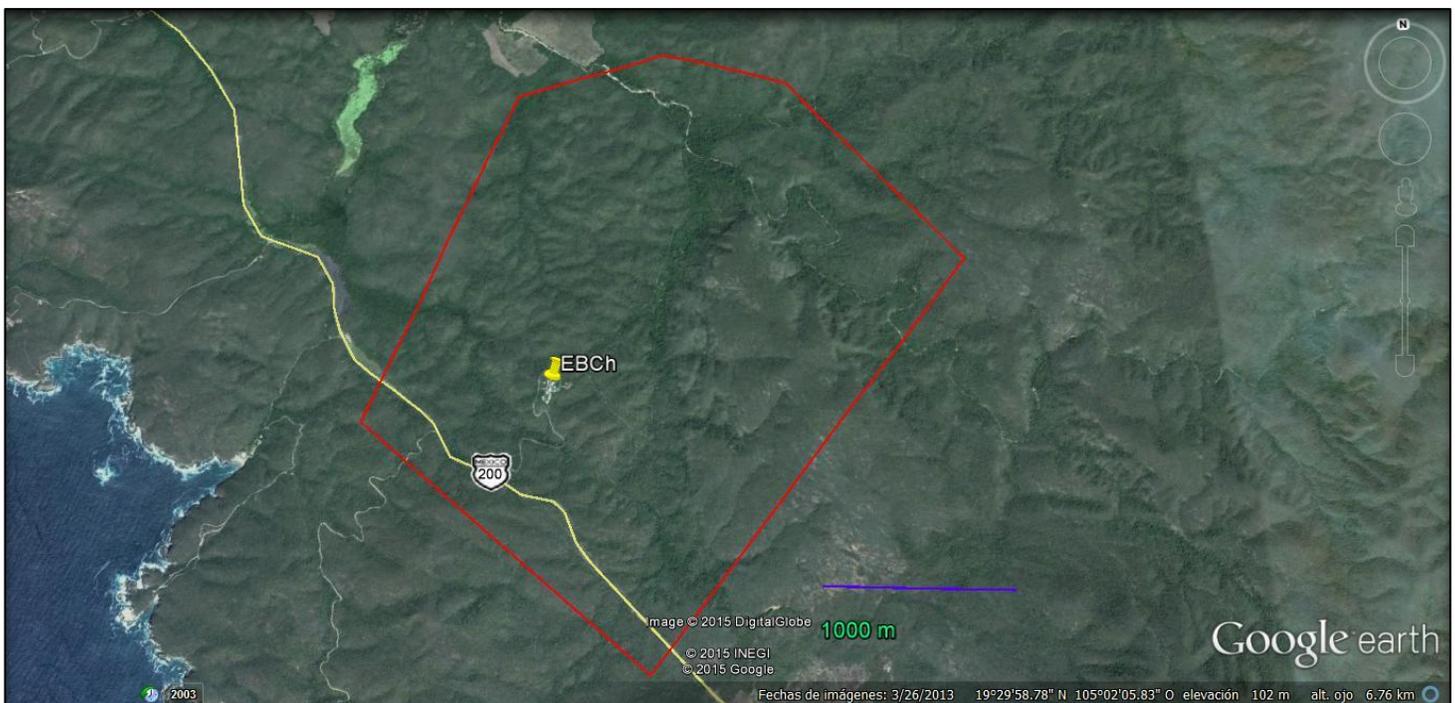


Figura 5: Mapa de la estación de biología Chamela, y polígono del área de muestreo.

La fase experimental se llevó a cabo en la región de Coquimatlán, Colima. Dentro de las instalaciones del Parque Ecológico “El Palapo” a 100 km de la reserva de la biósfera Chamela-Cuixmala. El lugar alberga más de 200 especies de fauna nacional y exótica. Cuenta con el permiso SEMARNAT-UMA-IN-029-COL/2006 y han desarrollado proyectos para reproducción de fauna nativa entre ellos *Heloderma horridum*, *Crotalus basiliscus*, *Crocodylus acutus*, así como avifauna nacional en peligro de extinción.

El sitio presenta condiciones similares a las que se encuentran en la reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, con una precipitación media anual de 807.6 mm. y una temperatura media anual de 26°C. El régimen de lluvias también es similar al de Chamela, presentándose en los meses de Julio-Octubre.

Trabajo de campo:

Los datos se obtuvieron durante el año 2013 en el periodo cuando *H. horridum* se encuentra activo normalmente, esto es, desde mediados del mes de abril hasta mediados del mes de octubre, comprendiendo el final de la temporada de secas y gran parte de la temporada de lluvias, un total de seis meses de muestreo. Se consideró únicamente ese periodo ya que durante su letargo (noviembre-abril) sus organismos son vulnerables y es preferible no perturbar su ciclo, ya que durante el invierno por ejemplo, exponerlos a bajas temperaturas o realizar una cirugía, perjudicaría los individuos. Además, mientras se encuentran en letargo, las tasas metabólicas son bajas ya que no se desplazan ni realizan actividades. Es una vez que salen de sus refugios (mayo o finales de abril generalmente) cuando se comenzó a colectar y marcar cada individuo. La captura de individuos se limitó hasta principios de octubre, por el tiempo para el proyecto y por la recuperación sin contratiempos de los individuos, ya que en octubre la temperatura promedio del día comienza a descender.

Temperatura.

Una de las principales variables ambientales y de las más importantes para los ectotermos es la temperatura, ya que básicamente rige sus periodos de actividad. Dependiendo de la temperatura ambiental, los organismos ectotermos procuran realizar sus actividades durante periodos del día donde la temperatura es ideal para determinados organismos, sin embargo, es complicado dar seguimiento por tiempos prolongados a las variaciones naturales de la temperatura corporal sin alterar la conducta o actividad de los organismos. Afortunadamente, los periodos de actividad en organismos de vida silvestre se pueden estimar directamente, mediante observaciones focales, así como indirectamente, mediante un estimador de actividad con base a la temperatura corporal, se ha registrado que tienen una precisión de más del 95%, (Davis y DeNardo, 2010).

El estimador de actividad con base en la temperatura corporal, compara las temperaturas del ambiente con la temperatura corporal durante los mismos días y horas. La actividad del organismo se puede determinar cuando las temperaturas corporales coinciden con las temperaturas ambientales, ya que significa que el individuo marcado y monitoreado no se encontraba en un refugio (para el caso de *H. horridum*) o inactivo. Fue necesario colocar sensores de temperatura programables tanto en el medio exterior como dentro de los organismos de interés (mediante cirugía o superficialmente siguiendo el método de Beck, 1991 y Grigg, 1999). Para medir la temperatura del ambiente, se colocaron 12 sensores en diferentes sitios dentro de la selva y en diferentes estratos: en el primer sitio, la vegetación dominante fue BTC. El segundo sitio se encontraba en vegetación en transición: el paisaje estaba combinado de vegetación típica de BTC y vegetación de arroyo. En el último sitio, la vegetación dominante fue la vegetación de arrollo. En cada sitio se colocaron cuatro sensores; el primer sensor se colocó a 10 cm del suelo, suspendido en el aire, el segundo dentro de un refugio bajo suelo; similar a los utilizados por *H. horridum*, con una profundidad mayor a 50 cm., el tercer sensor se colocó dentro de un árbol (>20 cm DAP) con alguna cavidad, a una altura de 1.5- 2 m del suelo. El último sensor se colocó en la superficie del terreno bajo sombra de arbustos para evitar que quedara expuesto totalmente al

sol. Todos los sensores se colocaron en sitios similares a los que frecuenta *Heloderma horridum* dentro de tubos de PVC de 30 cm para evitar alteraciones en los datos por sobrecalentamiento del material de los sensores, Figuras 6 y 7.



Figura 6: Sitios de monitoreo constante de temperatura a lo largo de un gradiente de vegetación Selva baja-Vegetación de arroyo.

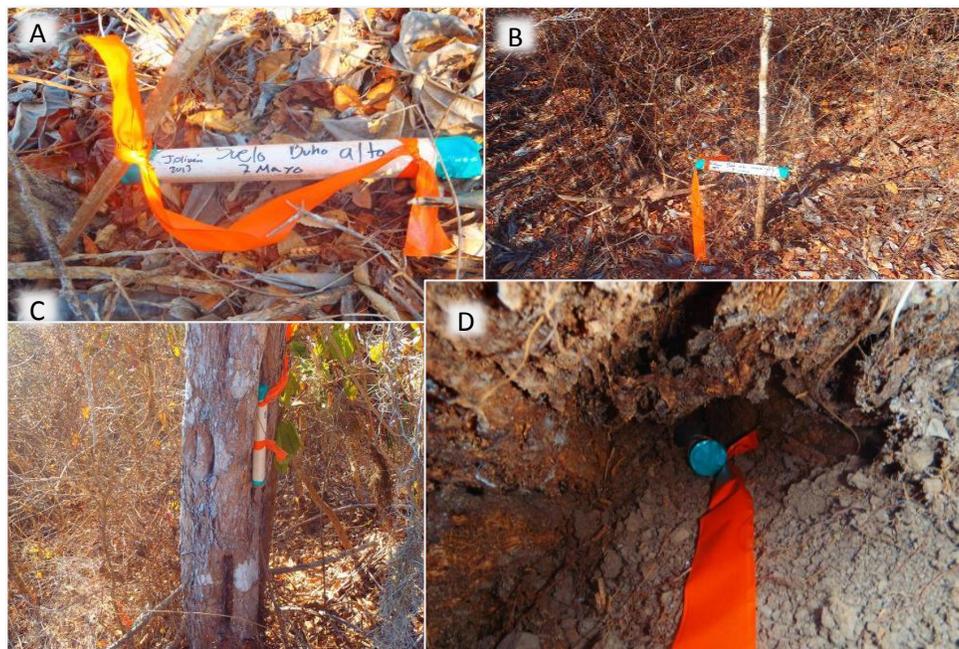


Figura 7: Sensores de temperatura *ibutton*, dentro de tubos de plástico A: sensor en el suelo del bosque, sin exponer por completo a la luz solar; B: sensor suspendido en el aire a 30 cm del suelo en selva seca; C: sensor colocado en árbol DAP >20 cm, a un metro de altura del suelo; D: sensor colocado dentro de una cavidad en el suelo con al menos 30 cm de profundidad.

Los datos climatológicos de la reserva obtuvieron de la estación climatológica de la Estación de Biología Chamela en la página: http://132.248.8.33/~chamela/datos/actual_plantel.html, principalmente de precipitación para relacionarlo con los periodos de actividad. Durante el periodo de muestreo se registró la temperatura ambiente ininterrumpidamente desde de abril 2013 hasta mayo 2014. Los datos de temperatura fueron registrados cada 30 minutos mediante el procedimiento anteriormente descrito. La precipitación en el sitio se obtuvo gracias a la estación meteorológica instalada en la estación de Biología, registrando la lluvia durante todo el año. Tanto de temperatura como de precipitación, se consideraron únicamente los meses de mayo-noviembre 2013 para el análisis de resultados.

En los alrededores de la Estación de Biología, pero dentro de la Reserva de la Biósfera, se capturaron y marcaron seis individuos adultos. Para la captura de individuos de *H. horridum*, se realizaron recorridos durante las horas de actividad, que comprende de las 09:00 a las 13:00 y nuevamente de las 17:00 a las 19:00. Se recorrieron principalmente los senderos de la reserva de manera sigilosa y a velocidad constante para abarcar la mayor distancia posible. Cada día se realizaron recorridos en los horarios antes mencionados, en ocasiones con ayuda de más personas y en ocasiones con la ayuda de un canido, ya que frecuentemente, los helodermas son detectados por perros. Se emplearon tres trampas Tomahawk cebadas con huevo de gallina y en ocasiones de codorniz. Las trampas se activaron durante 15 días cada una. También se utilizó una cámara boroscópica (Autel MV208), con una sonda de 120 cm. para revisar las cavidades o madrigueras encontradas durante las búsquedas por los senderos.

Radiotelemetría.

Una vez que se capturaba un individuo, se trasladaba al laboratorio para someterlo a una cirugía e implantar un radiotransmisor con duración aproximada de 20 meses de batería (IMP-200L, Telonics, Mesa, Arizona). El individuo es inmovilizado y anestesiado con Isufiorina (1-cloro-2, 2, 2-trifluoroetil difluorometil

éter) inhalada; una vez anestesiado se realizaba una incisión vertical de 25mm. en la región ventral, esta técnica se ha utilizado en serpientes y helodermas sin causar dificultades de desplazamiento (Beck, 2005). También se implantó un sensor de temperatura (thermochron iButton, modelo DS1922L, Maxim, Dallas), con capacidad de almacenar más de 8000 datos, y programable para obtener cada medición por segundos, este sensor debido a que su cubierta es metálica se recubrió con un polímero y esterilizó para no causar reacción dentro del organismo. Se implantó el transmisor y el sensor de temperatura programado para registrar la temperatura cada 30 minutos (Figura 7A). Cada individuo permaneció en recuperación durante 48 horas mínimo después de la cirugía, periodo durante el cual cada individuo estuvo en observación para su recuperación en el laboratorio. Posteriormente se liberaron en el sitio donde fueron encontrados (Beck, 1991).

Posterior a su liberación (8-10 días), se localizó cada uno de los individuos con ayuda de radio telemetría (Receptor Telonics TR-2 y antenas “H type”: rígidas RA-2AK y flexibles RA-23K). Primero triangulando la posición desde dos puntos altos en los senderos y luego realizando la búsqueda sigilosamente haciendo el menor disturbio al pasar. Una vez que se localizó al individuo, se registró el sitio donde se encontró con ayuda de un GPS (Garmin eTrex 20) y mapa topográfico, así como una descripción del refugio (en caso que así fuera: tipo de suelo, ubicación, características generales de la cueva, etc.) o del sitio donde se encontró activo (en arroyo, en un árbol, tomando el sol, etc.), se consideró una inclinación mayor a 30° (con ayuda de un clinómetro SUUNTO Pm5/360pc), para determinar el sitio como en “pendiente”.; la hora, y se realizaron observaciones focales cuando fue posible, ya que en ocasiones, al detectar la presencia humana tienen a escapar. Para identificar diferencias en cuanto al uso del hábitat se realizó una prueba de X^2 , en este caso se consideraron: banco de arroyo, zona plana, base de árbol, árbol (dentro o sobre él), pendiente y rocas. Para graficar las ubicaciones, así como para registrar las distancias recorridas entre puntos y otras observaciones se utilizó el software (ARCGIS®).

Se recuperaron los radiotransmisores de tres individuos adultos así como los sensores de temperatura de solo dos individuos ya que el tercero fue depredado o murió de forma natural. Se obtuvo la secuencia de la temperatura corporal desde el mes de mayo hasta noviembre del 2013 de los dos individuos adultos.



Figura 8. Técnicas para monitoreo y análisis de la condición hídrica de *Heloderma horridum*. A: Cirugía para implante de radiotransmisor y sensor de temperatura, B: Toma de muestra sanguínea de la vena caudal, C: Separación del plasma sanguíneo (centrifugación) y D: Análisis plasmático para evaluar la osmolalidad (mOsm/L).

Osmolalidad.

Cada siete días se obtuvo una muestra de sangre (0.2 mL) para analizar el grado de hidratación plasmática (Figura 8B). Esta técnica se realizó en el laboratorio: una vez obtenida en campo, se mantuvo en enfriamiento hasta llegar al laboratorio. Las muestras se centrifugaron (ZIPocrit, L W Scientific Inc.) a 10,000 rpm durante 10 minutos para aislar el plasma de las plaquetas, leucocitos y eritrocitos (Figura 8C). Para analizar la osmolalidad se utilizó un Osmómetro

(OSMETTE II, Precision Systems), para obtener el número de osmolitos por unidad de volumen (mOsm/kg de agua plasmática, ejemplo en Figura 8D). Las muestras se obtuvieron de la vena caudal en una jeringa de 2ml antes heparinizada (Figura 8B). De cada muestra sanguínea se repitió en dos ocasiones la lectura de osmolalidad en el osmómetro. Cada 10 muestras se verificó la precisión del equipo con ayuda de controles de 100, 500 y 1200 mOsm. Se recalibró cada 20 muestras con ayuda de estándares de 100, 500 y 1200 mOsm. En total se obtuvieron 55 muestras sanguíneas para analizar el grado de hidratación en la sangre de ocho individuos desde el mes de mayo hasta noviembre de 2013

Una vez analizada la normalidad, los resultados de las muestras entre individuos y entre estaciones se realizó una prueba de t-student usando la osmolalidad como la variable dependiente. Se utilizó una regresión lineal para identificar la relación entre los periodos de lluvia y el grado de hidratación. También se usaron análisis de varianza (ANOVA) para comparar las varianzas de osmolalidad (variable dependiente) con respecto a medidas morfológicas de cada individuo.

Se analizó mediante una regresión lineal la relación entre el grado de osmolalidad de todos los individuos (ocho) y la precipitación que se registraba mes con mes. De igual manera se analizó con una regresión la relación entre la fecha y la osmolalidad. La relación fue más estrecha entre el tiempo transcurrido (meses) y osmolalidad.

Experimental.

Para tener un perfil más explicativo de los valores obtenidos en el plasma, se analizó la osmolalidad plasmática de 20 individuos adultos en cautiverio en el Parque Ecológico “El Palapo”.

En las instalaciones del Parque Ecológico, se realizaron experimentos de variación térmica para identificar el efecto de la temperatura sobre el grado de hidratación. Los ejemplares se manipularon y mantuvieron en encierros (100x 100 x 100 cm) entre los 10 y los 40 °C, dentro de tres tratamientos térmicos: “control” con temperaturas desde los 20 hasta 30°C, el tratamiento “bajo”, con temperaturas entre los 5 y 20 °C, finalmente el tratamiento “alto” con temperaturas entre los 30 y 40 °C máximo. Cabe señalar que para los helodermas, 40°C es una temperatura riesgosa (Beck, 2005) por lo cual, la temperatura máxima que se utilizó para el experimento varió entre los 38 y los 40°C. Antes de los experimentos, se caracterizó cada individuos registrando todas sus medias y se analizó la relación entre las variables morfológicas de los individuos con la osmolalidad que presentaron al inicio del muestreo, se realizó una Correlación bipareada entre variables morfológicas y osmolalidad.

Experimentos térmicos.

Se logró obtener un perfil explicativo a los efectos de la temperatura sobre el estado de hidratación de *H. horridum*. De los 20 individuos con los que cuenta el parque ecológico “El Palapo”, solo se trabajó con 18 de ellos, ya que dos individuos se encontraban en malas condiciones para los experimentos y el someterlos a experimentos podría sesgar los resultados. Para el primer experimento se sometieron 9 individuos adultos entre 352 mm y 442 LHC, durante cuatro días a temperaturas control. Cinco ejemplares fueron seleccionados al azar para suministrarles agua cada tercer día (en total, del 10 al 15% de su peso corporal, cada semana). El suministro de agua se realizó cada tercer día, cuidadosamente con ayuda de una sonda intragástrica (Figura 9), ya que se ha demostrado que ingresar agua al estómago es la forma más efectiva para que el organismo absorba y asimile el líquido (Davis y DeNardo, 2007). Una vez que

cada individuo recibió la cantidad de agua, se mantuvo en observación durante 10 minutos para corroborar que el agua no fuera regurgitada y el animal se encontrara en buen estado. Posterior al periodo de observación se reingresaron al encierro. Los otros cuatro individuos no recibieron suministro de agua. Al paso de cinco días dentro de temperaturas “control”, los 9 individuos se sometieron a temperaturas bajas (5-20°C). El suministro de agua continuó con la secuencia (cada tercer día desde el comienzo) en los individuos designados a ser hidratados. Para lograr disminuir la temperatura se emplearon recipientes con hielo dispuesto por debajo de la superficie donde se encontraban los individuos, en un sitio sin acceso a la luz solar para evitar el calentamiento de los individuos, en su lugar se empleó un foco incandescente de 75W por fuera del encierro. Ya que no había normalidad en los datos de la temperatura corporal, se optó por usar modelos no paramétricos (análisis de muestras independientes) para identificar diferencias en temperatura causadas por las diferencias entre temperaturas de cada tratamiento.

La técnica de hidratación intragástrica se repitió cuatro veces en los cinco individuos dentro del grupo “hidratado” durante cinco días a temperaturas ambientales y cinco días a bajas temperaturas.

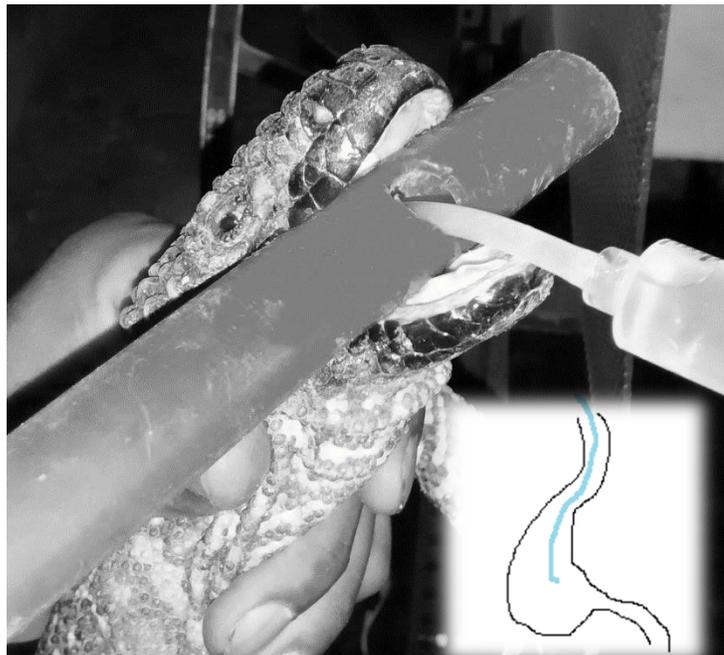


Figura 9. Técnica de hidratación en *Heloderma horridum* mediante sonda intragástrica.

El segundo experimento consistió en someter a 9 individuos (diferentes al primer experimento) adultos entre 355mm y 430 mm de LHC. Primero durante cinco días a temperaturas control (20-30°C). De los 9 individuos para este experimento, cuatro fueron seleccionados al azar para suministrarles agua cada tercer día (en total, del 10 al 15% de su peso corporal, cada semana). El suministro de agua se realizó de la misma manera arriba descrita al igual que el periodo de observación. Los otros cinco individuos no recibieron ningún suministro de agua. Al paso de cinco días en temperaturas “control”, los 9 individuos se sometieron a temperaturas altas (30-40°C). El aumento de la temperatura se realizó con la ayuda de focos incandescentes de 120W y parrillas térmicas para reptiles, la hidratación continuó en los cuatro individuos designados.

En total, 18 individuos se sometieron a los experimentos, 9 ejemplares primero se sometieron a temperaturas normales (control: 20-30 °C, por cinco días) y posteriormente a bajas temperaturas (5-20°C). Otros 9 individuos distintos a los primeros se sometieron a temperaturas normales (control 20-30°C, por cinco días) y posteriormente a altas temperaturas (30-40°C). Las temperaturas se manipularon para los individuos de la misma manera en un horario de 09:00 a 13:00 y nuevamente de 17:00 a 19:00, periodos durante los cuales *H. horridum* se encuentra activo en estado natural.

Se emplearon cinco días para el tratamiento en temperaturas control (20-30°C) en los 9 individuos hidratados y cinco días a la misma temperatura para los organismos no hidratados. Al finalizar el periodo de temperaturas control (18 individuos, durante cinco días), 9 individuos elegidos al azar fueron ingresados al experimento “frío” y los otros 9 al experimento “calor”.

Una vez verificada la normalidad de los datos de la temperatura corporal, se optó por usar modelos no paramétricos para identificar diferencias en temperatura causadas por hidratar o no hidratar a los individuos de los diferentes experimentos.

Osmolalidad.

Para la toma de muestras de sangre, el día uno, se consideró 24 horas posteriores a que todos los individuos de cada tratamiento se encontraban establecidos en los encierros, se obtuvo la primer muestra de sangre de la vena caudal con una jeringa heparinizada de 2mL entre las 09:00 y las 11:00. La muestra se colocó en refrigeración dentro de tubos Eppendorf de 2mL. Una vez obtenida la muestra sanguínea, se centrifugaron durante 10 minutos 10,000 RPM (DeNardo, 2009) para separar el plasma sanguíneo de los glóbulos rojos. Posteriormente se colectó cuidadosamente una pequeña muestra de 2 microlitros de plasma sanguíneo para analizarlos en un osmómetro (OSMETTE II, Precision Systems) para calcular la concentración de osmolitos presentes en el plasma sanguíneo.

Una vez que se obtuvo la muestra de sangre, se reingresó a cada uno de los individuos a su respectivo tratamiento para continuar el experimento y dos días después se procedió a obtener nuevamente la muestra de sangre. Por lo tanto se obtuvo la primera muestra en el día uno, la segunda muestra en el día tres y la última muestra para el tratamiento control se colectó el quinto día. En total se obtuvieron 108 muestras: 18 muestras de los 9 individuos hidratados y 9 deshidratados, al inicio del experimento a temperaturas control. 18 muestras al tercer día del tratamiento control de los 9 hidratados y los 9 no hidratados, y 18 muestras al quinto día (último día a temperaturas control). Posteriormente se sometieron a altas temperaturas (9 ind) y a bajas temperaturas (otros 9 ind): 9 muestras de cinco individuos hidratados y cuatro individuos no hidratados a bajas temperaturas al sexto día. Nueve muestras el mismo día de los cuatro hidratados y cinco no hidratados a altas temperaturas (sexto día). 9 muestras de cinco individuos hidratados y cuatro individuos no hidratados a bajas temperaturas al octavo día. Nueve muestras el mismo día de los cuatro hidratados y cinco no hidratados a altas temperaturas (octavo día). Finalmente 9 muestras de cinco individuos hidratados y cinco individuos no hidratados a bajas temperaturas al décimo día. 10 muestras el mismo día de los cuatro hidratados y cinco no hidratados a altas temperaturas (Tabla 1).

Una vez corroborada la normalidad de los datos, se realizó una prueba de t-student para comparar la osmolalidad (variable dependiente) entre condiciones (hidratados vs no hidratados), y entre tratamientos (control, alto y bajo). También análisis de covarianza (ANCOVA) entre las variables morfológicas y los valores de osmolalidad (variable dependiente).

Tabla 1: Condiciones de los tratamientos y número de muestras obtenidas durante los experimentos en “El Palapo”, Colima.

Condición \ Tratamiento	Día 1 Temperatura ambiente	Día 3 Temperatura ambiente	Día 5 Temperatura ambiente	Fin del control	Día 6 Temperatura modificada	Día 8 Temperatura modificada	Día 10 Temperatura modificada
Frío (hidratados)	5 ind 20-30°C (muestra de sangre e hidratación)	5 ind 20-30°C (muestra de sangre e hidratación)	5 ind 20-30°C (muestra de sangre e hidratación)	-----	5 ind 10-20°C (muestra de sangre e hidratación)	5 ind 10-20°C (muestra de sangre e hidratación)	5 ind 10-20°C (muestra de sangre e hidratación)
Frío (no hidratados)	4 ind 20-30°C (muestra de sangre)	4 ind 20-30°C (muestra de sangre)	4 ind 20-30°C (muestra de sangre)	-----	4 ind 10-20°C (muestra de sangre)	4 ind 10-20°C (muestra de sangre)	4 ind 10-20°C (muestra de sangre)
Caliente (hidratados)	4 ind 20-30°C (muestra de sangre e hidratación)	4 ind 20-30°C (muestra de sangre e hidratación)	4 ind 20-30°C (muestra de sangre e hidratación)	-----	4 ind 30-40 °C (muestra de sangre e hidratación)	4 ind 30-40 °C (muestra de sangre e hidratación)	4 ind 30-40 °C (muestra de sangre e hidratación)
Caliente (no hidratados)	5 ind 20-30°C (muestra de sangre)	5 ind 20-30°C (muestra de sangre)	5 ind 20-30°C (muestra de sangre)	-----	5 ind 30-40 °C (muestra de sangre)	5 ind 30-40 °C (muestra de sangre)	5 ind 30-40 °C (muestra de sangre)

Osmolalidad en el desempeño.

Con la finalidad de identificar cómo la actividad física de los Helodermas afecta el grado de hidratación, una vez que los animales terminaron cada tratamiento (control, frío y calor) durante el tiempo correspondiente, cada uno y por separado, fue sometido a actividad física en una caminadora durante 30 minutos a velocidad controlada (0.6-0.7 km/hr). Para identificar las diferencias, se obtuvo una muestra de sangre de la misma manera arriba descrita antes de comenzar la

actividad, posteriormente se colocó el individuo sobre la banda sin fin a caminar durante 30 minutos. Para lograr que la actividad fuera constante e ininterrumpida, se estimulaba a los individuos en el momento que se detenían, tocando la punta de la cola o patas traseras. Los individuos que respondieron con agresión o posición de combate, se retiraron del experimento y no se consideró para la prueba. Una vez terminados los 30 min. de actividad física se procedió inmediatamente a tomar nuevamente una muestra de sangre para analizar el grado de hidratación en el que se encontraron. Cabe mencionar que cada individuo antes de ser sometido a actividad física se mantenía en reposo durante 10-20 minutos a temperatura ambiente de 30-33°C para que las temperaturas a las que se encontraban (frío o calor) no modificara el desempeño.

En los tratamientos frío y caliente, además de la osmolalidad medida al inicio y al final de la actividad física, de las mismas muestras de sangre se midió la concentración de glucosa con ayuda de un glucómetro portátil (one-touch), se consideró medir la concentración de glucosa debido a que es parte de los osmolitos disueltos en la sangre y quizá interfiera en el desempeño de los individuos.

En total se obtuvieron 10 muestras de sangre del experimento frío antes de correr, para lectura de glucosa y 10 muestras de sangre después de correr. De la misma manera, 10 muestras para glucosa antes de correr de los individuos en el experimento caliente y 10 muestras después de correr. Una vez corroborada la normalidad de los datos, se utilizaron regresiones lineales para observar la relación entre la actividad física y la osmolalidad (variable dependiente)

Para los análisis de datos se utilizó el programa SPSS y R

RESULTADOS

Datos climatológicos.

-Temperatura

Los datos obtenidos por los sensores de temperatura colocados en el bosque indicaron que la temperatura más baja se registró en el arroyo, durante el mes de noviembre (14.87 °C, temperatura del aire) en este periodo de muestreo, mientras que la máxima temperatura se registró en selva baja caducifolia en el mes de junio (46.5°C, temperatura del aire).

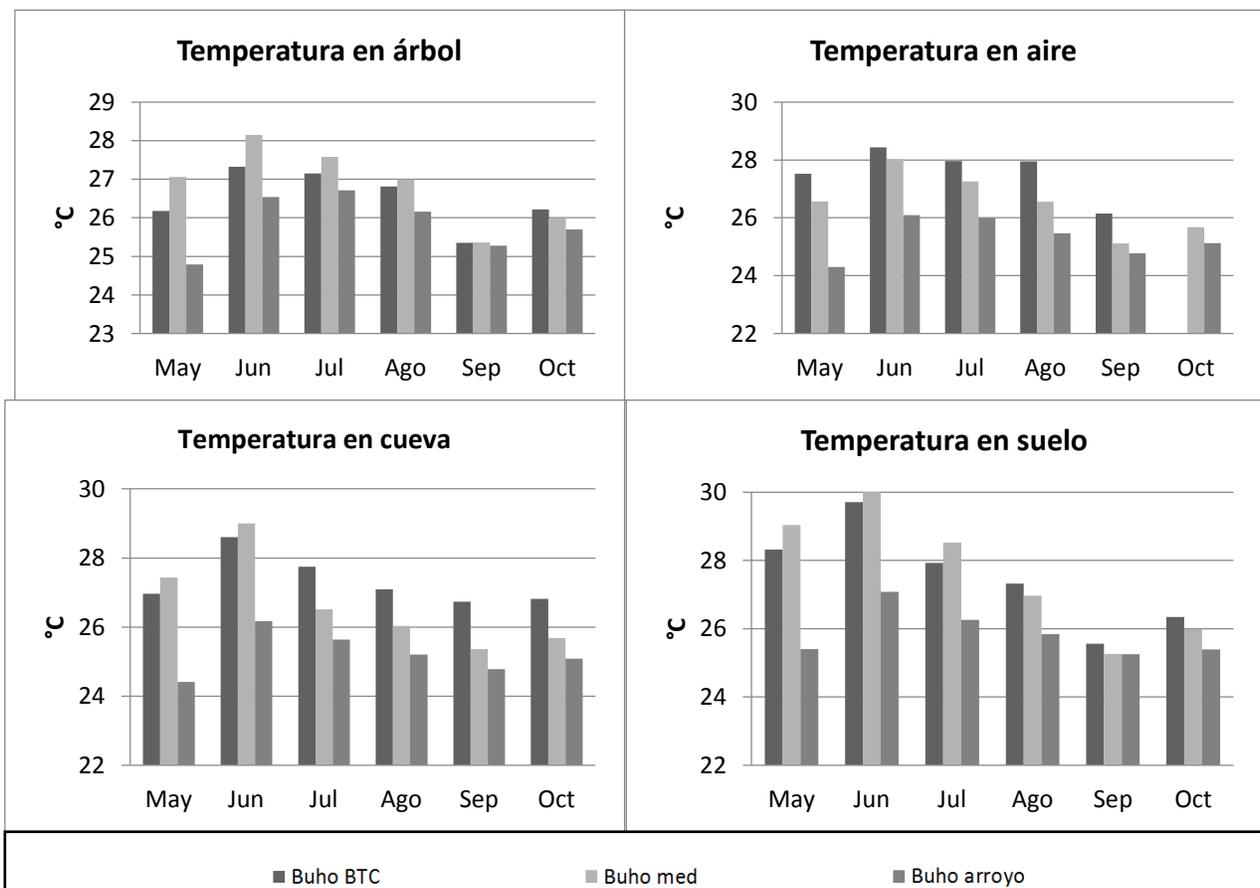


Figura 10: temperaturas registradas por los sensores iButton dentro de la reserva. En las barras se aprecia cada sitio donde se capturaron los datos, las barras negras corresponden a sitios con BTC, en gris claro están los sitios con vegetación de arroyo y gris oscuro la transición entre BTC y arroyo.

Precipitación

La precipitación registrada por la estación meteorológica de la Estación de Biología Chamela, registró un total de 1289 mm de lluvia a lo largo de todo el año (2013). Durante el periodo de muestreo, básicamente se concentró la mayor parte de la lluvia, siendo los meses de agosto, septiembre y noviembre (126, 391 y 291 mm respectivamente) los más lluviosos en la zona (Figura 11).

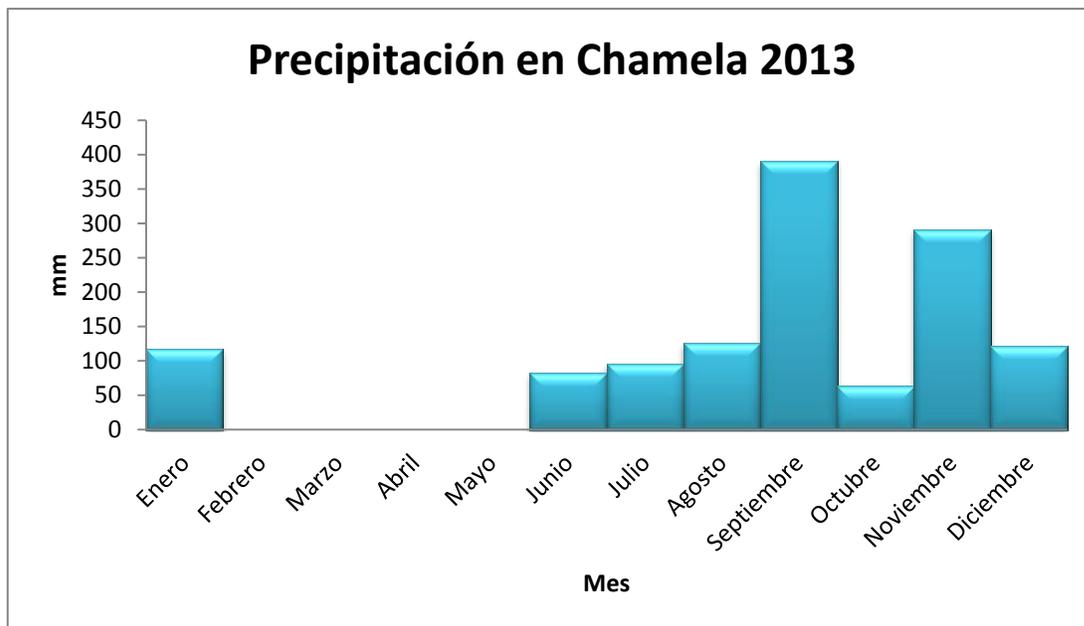


Figura 11: datos obtenidos de la estación meteorológica de la Estación de Biología Chamela durante el 2013. Se aprecia la mayor cantidad de lluvia se concentró en los meses de septiembre y noviembre.

Características del hábitat

El periodo de muestreo abarcó desde los meses más secos (abril y mayo) hasta el fin de la temporada de actividad de *H. horridum* (octubre-noviembre) (Beck, 2005). Durante los primeros meses de búsqueda, la fisonomía de vegetación era seca, solo pocos árboles-arbustos como *Forchhammeria sessilifolia* y *Jacquinia pungens*, eran algunas de las pocas especies que permanecían perennes cerca de arroyos así como árboles del género *Ficus*. La actividad de algunos reptiles era notoria debido al periodo de reproducción como *Sceloporus melanorhinus*, *Ctenosaura pectinata*, *Phrynosoma asio*, *Urosaurus bicarinatus*, etc. Durante los recorridos de búsqueda en el mes de mayo, fueron

observadas dos hembras de *C. pectinata* en diferentes sitios (cercanos a laderas), excavando probablemente para desovar.

-Datos de captura

Durante el periodo de búsqueda y captura de ejemplares en campo, se capturaron seis individuos adultos (1.- LT: 634mm, peso: 665g, 2.- LT 756mm., peso: 1512g, 3.- LT: 664mm. 920g., 4.- LT: 668 Peso: 953; 5.- LT: 575, peso: 595 y 6.-LT: 720, peso: 1285g) entre los meses de mayo y septiembre del 2013. Dos individuos jóvenes fueron encontrados durante los recorridos pero no se les implantó ningún sensor debido a su talla (medidas). El método más efectivo de búsqueda y captura fueron los recorridos a pie y ocasionalmente con ayuda de un cánido para detectarlos. El uso de trampas (tres trampas tomahawk) no resultó efectivo, solo para la captura de un zorrillo pigmeo (*Spilogale pygmaea*) en el mes de junio. Tampoco fue productivo el uso de una cámara boroscópica para inspeccionar refugios, solo se encontraron invertebrados e iguanas (*Ctenosaura pectinata*) en algunos casos.

La temperatura corporal mínima de los sensores recuperados en *H. horridum* se registró en el mes de noviembre, el individuo 350 registró 23.07°C por la mañana (08:00). La máxima temperatura se registró en el mismo individuo durante el mes de octubre por la tarde (15:00), la temperatura registrada fue de 35.06. El individuo 110, registró una temperatura mínima de 22.6°C en varias ocasiones, durante los meses de junio, julio, octubre y noviembre. La temperatura máxima registrada para el mismo individuo fue de 35.158°C únicamente durante el mes de mayo por la tarde (19:00). Al final del trabajo de campo fue necesario emplear 1258 Horas de muestreo con la ayuda de seis personas (tabla 2).

Tabla 2: Esfuerzo de muestreo para búsqueda captura y recaptura de *H. horridum* en el periodo abril-noviembre del 2013.

	Personas	Horas búsqueda/Día	Días de búsqueda	Horas/mes	Esfuerzo (horas/mes)
Abril	2	5	14	70	140
Mayo	1	5	28	140	140
Junio	2	5	25	125	250
Julio	2	5	20	100	200
Agosto	2	4	26	104	208
Septiembre	2	3	20	60	120
Octubre	2	3	20	60	120
Noviembre	2	4	10	40	80
Total:			168		1258

-Uso del hábitat

Los individuos monitoreados durante su periodo de actividad tuvieron un comportamiento típico, siendo los sitios cercanos al arroyo los más frecuentados durante la temporada de secas, mientras que en la temporada de lluvias se encontraban en su mayoría en pendientes (Figura. 12).

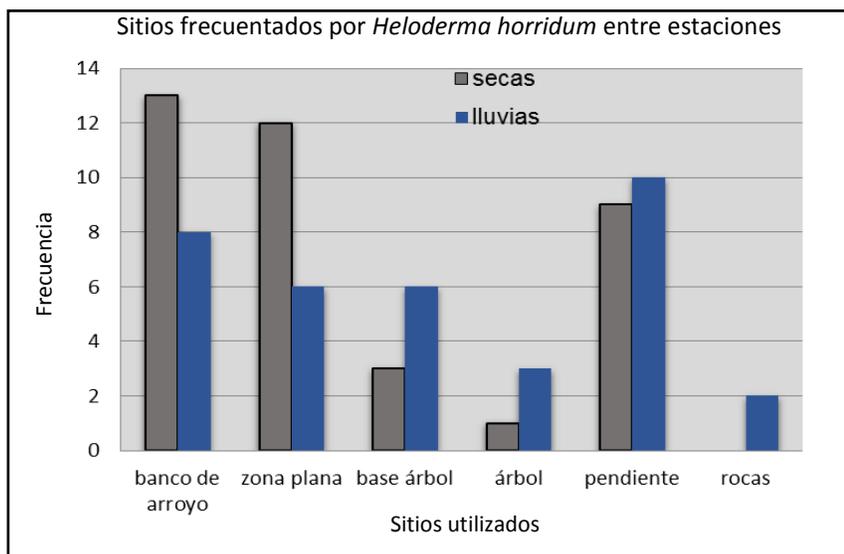


Figura 12: Diferencias estacionales en el uso del hábitat de 8 individuos en el periodo mayo-noviembre

Ubicación georreferenciada de individuos entre estaciones

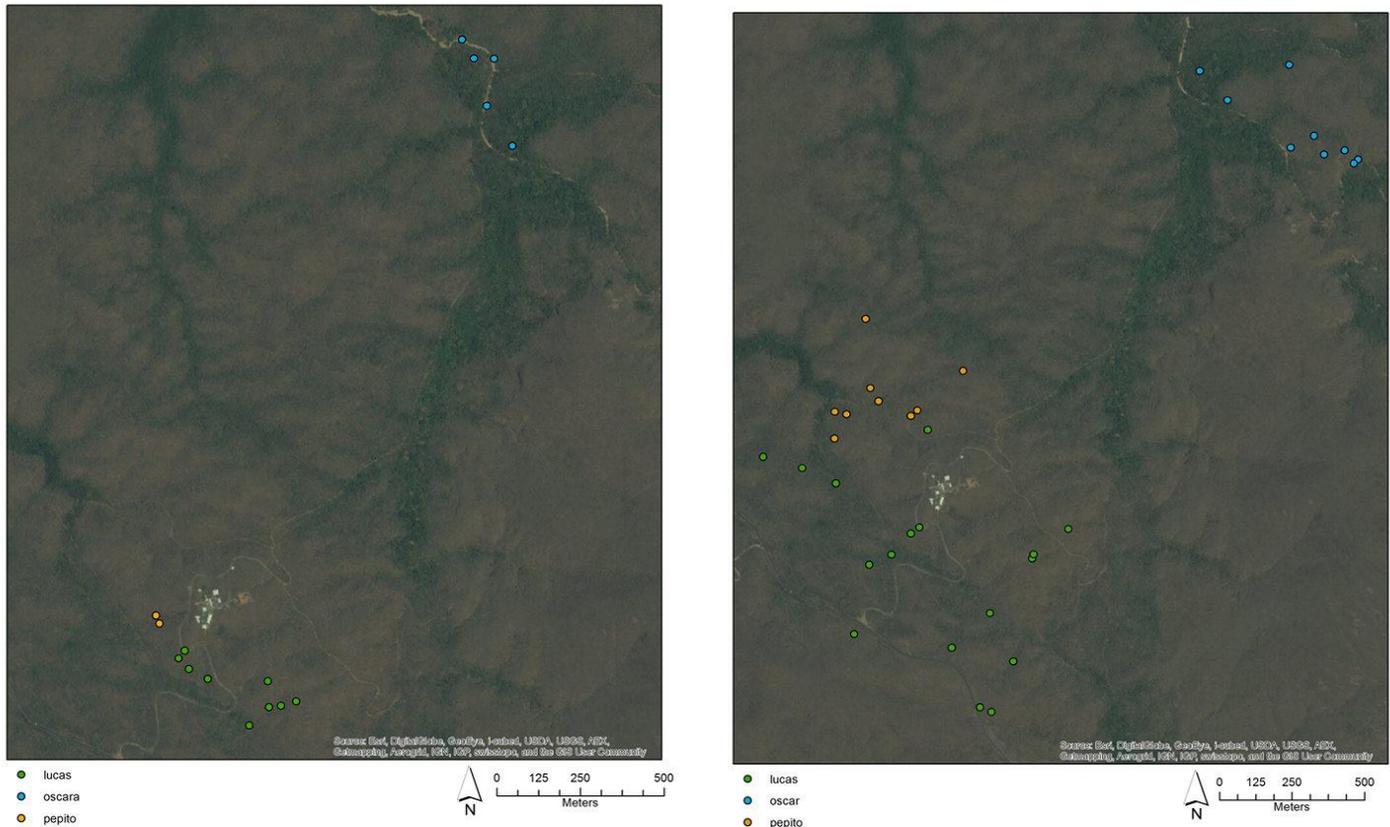


Figura 13. Puntos registrados en ambas temporadas para tres individuos (110, 210 y 370) en la figura izquierda la temporada de secas (abril -- mediados Junio) y la imagen derecha temporada de lluvias (fin junio -- octubre).

El individuo 110 fue el que mayor número de muestras y datos permitió registrar. Con ayuda de un SIG (Sistemas de Información Geográfico), se pudo estimar un aproximado de la distancia en metros que se desplazó semanalmente entre estaciones: durante las seis semanas que se monitoreó a dicho individuo durante la temporada de secas, la distancia en línea recta entre puntos donde fue registrado el individuo dio total de 1203 metros lineales entre puntos. Mientras que durante la temporada de lluvias, sus movimientos fueron acumularon 3697 metros lineales. Esta estimación no considera los movimientos que pudo realizar cada día, sino entre sitios donde se encontró cada semana (tabla 3).

Tabla 3. Desplazamiento semanal del individuo 110, del cual se obtuvo la mayor cantidad de registros en campo

Semana	Distancia recorrida (metros) por Heloderma 110 (secas)	Distancia recorrida (metros) por Heloderma 110 (lluvias)
1	238	458
2	227	460
3	104	697
4	203	705
5	43	239
6	338	372
7		307
8		459

-Efectos climáticos sobre la actividad de *Heloderma horridum*

De los 12 sensores colocados en el bosque para monitorear la temperatura ambiental, solo dos sensores resultaron averiados por las condiciones ambientales y se obtuvo la secuencia térmica a lo largo de todo un año (desde abril 2013 hasta abril 2014).

En la figura 14 se muestra un ejemplo de cómo se utiliza el estimador de actividad en base a la temperatura: las líneas azul claro y roja, corresponden a la temperatura corporal de dos individuos, el resto de las líneas corresponde a las temperaturas en el bosque. Se muestran por ejemplo la línea roja (correspondiente al individuo 350), que del día 4 de junio al 20 de junio, se registraron cuatro días de actividad: 10 junio (final del día para 11), el 12, el 16 y el 19. Mientras que para el individuo en azul se registra actividad en siete días: el 4, 12, 16, 17, 18, 19 y 20 de junio. En este estudio, la precisión del estimador de actividad fue de un 93% comparado con los avistamientos en campo que se registró un *Heloderma* activo. Según el estimador, el individuo 110 registró actividad en 86 días, en el periodo del 13 de mayo al 27 de octubre 2013 (169 días). 19 días activos durante las secas (13 mayo-27 junio) y 67 días activos durante las lluvias (28 junio-27 octubre). Mientras que del individuo 150-370 se

registró actividad en 77 días, en el periodo del 13 de mayo al 8 de octubre 2013 (149 días). 13 días activos durante las secas (13 mayo-27 junio) y 64 días activos durante la temporada de lluvias (figura 15). Mediante una prueba de t-student, se encontró que existe una diferencia significativa entre los días que permanecieron activo durante la temporada de secas vs. la temporada de lluvias ($p:0.023$).

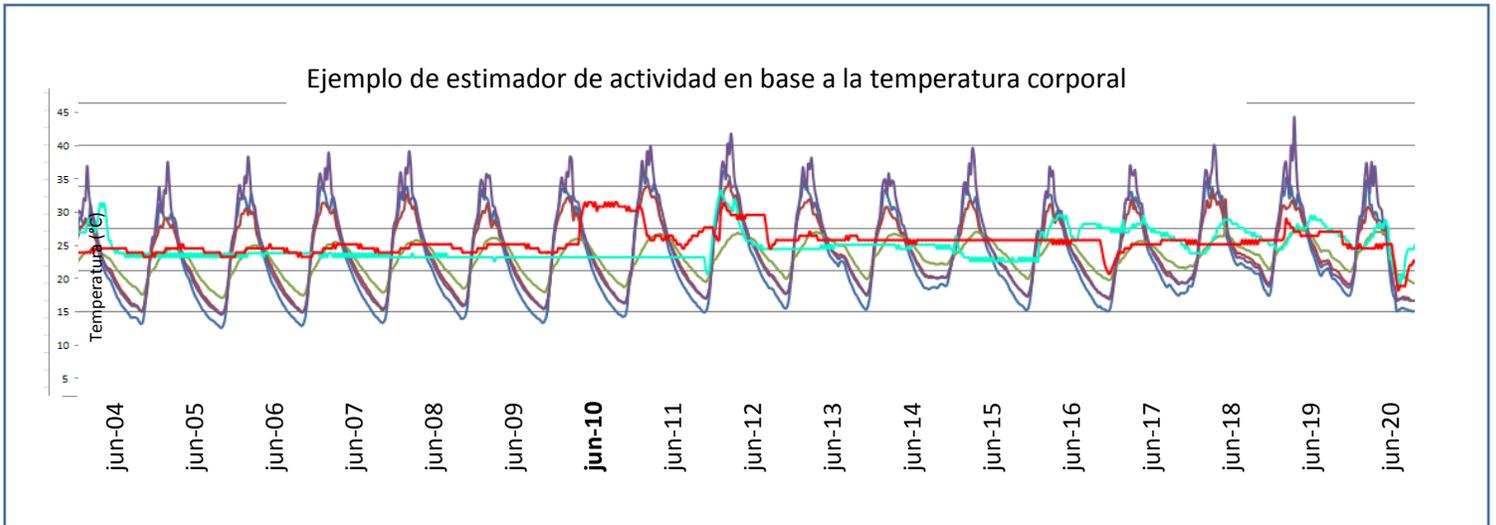


Figura 14: Ejemplo del estimador de actividad en base a la temperatura corporal de *Heloderma horridum* durante la temporada de secas. Las líneas azul cielo y roja, representan la temperatura corporal de los individuos 350 y 110 respectivamente. El resto de las líneas (azul marino, verde, café y púrpura) representan la temperatura del ambiente

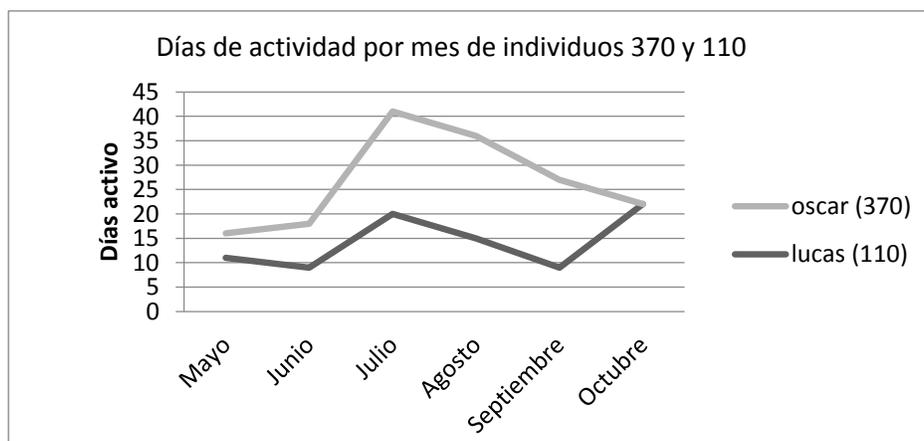


Figura 15: Días de actividad registrados según el estimador de actividad en base a la temperatura de los individuos "370" y "110"

Osmolalidad

Los datos de osmolalidad mostraron una tendencia negativa (disminución) conforme al tiempo transcurrido y a la precipitación acumulada. Mediante una regresión cuadrática se observa que hay una relación negativa ante la presencia de lluvia y la osmolalidad de nueve individuos: incluyendo los seis adultos marcados y tres jóvenes que se encontraron durante las búsquedas (Tablas 3 y 4).

Fue posible dar seguimiento por periodos largos a tres individuos particularmente, (110, 210 y 350), aunque también se obtuvieron datos de los otros individuos en menor proporción. Debido a que no se obtuvieron en las mismas proporciones los datos, no fue posible hacer el mismo tipo de comparaciones entre individuos, por ejemplo se estimó la distancia aproximada de movimientos entre un punto y otro de los individuos 110 y 350. El individuo 110 durante el periodo del 27 de junio al 27 de septiembre, se comparó la distancia recorrida durante la temporada de secas que fue de 1203m lineales, este dato se obtuvo de la suma de las distancias en línea recta entre puntos donde fue localizado durante el periodo de muestreo, mientras que durante la temporada de lluvias, registro un total de 3238m lineales.

En la figura 15 se muestra con puntos en colores los sitios donde se localizaron los individuos, la imagen de la izquierda corresponde a la temporada de secas mientras que la de la derecha a las lluvias. La escala a la que se representó el mapa está en las mismas unidades y muestra los efectos estacionales en cuanto a desplazamiento.

Según los resultados de la regresión lineal, los datos sugieren que hay una relación entre los periodos de lluvia y la osmolalidad de los nueve individuos monitoreados (R^2 : 0.365, Pearson: 0.604), así como entre los meses y el grado de hidratación de todos los individuos, aunque la relación no es muy fuerte y R^2 : 0.381, Pearson: 0.617). Tabla 4 y 5, figuras 16 y 16.1.

Tabla 4: Precipitación vs osmolalidad (9 individuos en Chamela)

Variable dependiente: Osmolalidad

Ecuación	Resumen del modelo					Estimaciones de los parámetros	
	R ²	F	gl1	gl2	Sig.	Constante	b1
Lineal	0.365	27.590	1	48	0.000	323.370	-0.039
Exponencial	0.358	26.818	1	48	0.000	323.062	0.000

Variable independiente: Precipitación.

Tabla 5: Fecha vs osmolalidad (9 individuos en Chamela)

Variable dependiente: Osmolalidad

Ecuación	Resumen del modelo					Estimaciones de los parámetros	
	R ²	F	gl1	gl2	Sig.	Constante	b1
Lineal	0.381	28.351	1	46	0.000	333.589	-7.581
Exponencial	0.373	27.381	1	46	0.000	333.715	-0.024

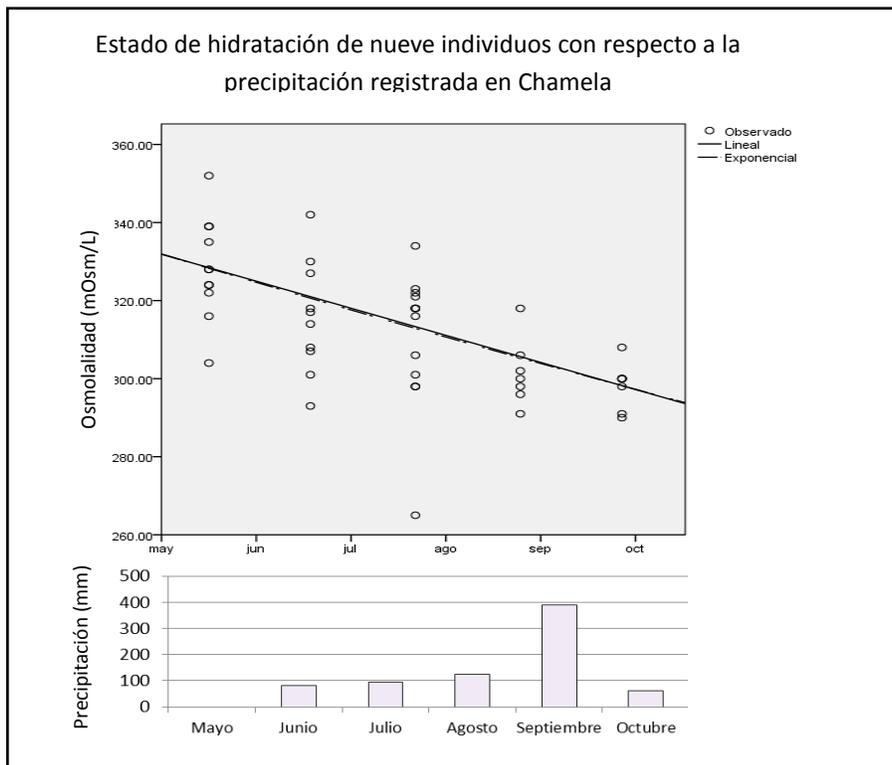


Figura 16. Regresión lineal entre meses del año y la osmolalidad de los nueve individuos (variable dependiente). Abajo, precipitación registrada durante 2013.

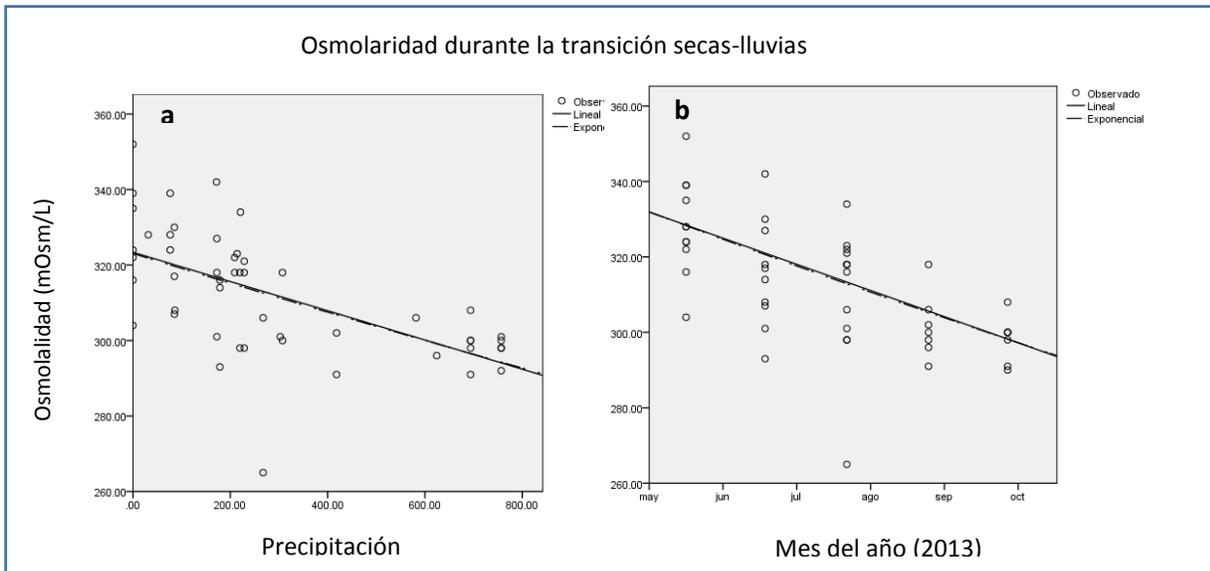


Figura 16.1: **a** (izquierda): regresión lineal entre la precipitación acumulada del año 2013 y la osmolalidad (variable dependiente) **b**: (derecha) regresión lineal entre los meses del año y la osmolalidad (variable dependiente)

Se analizaron por separado las muestras de dos individuos (110 y 350) mediante una regresión lineal, resultó significativa entre osmolalidad y la precipitación acumulada durante toda la temporada (Figuras 17a y 17b, Tablas 6 y 7).

Tabla 6: Precipitación vs Osmolalidad individuo 110

Ecuación	Resumen del modelo					Estimaciones de los parámetros	
	R ²	F	gl1	gl2	Sig.	Constante	b1
Lineal	0.362	9.666	1	17	0.006	321.548	-0.041
Exponencial	0.345	8.967	1	17	0.008	320.888	0.000
Pearson (lineal)	0.601						

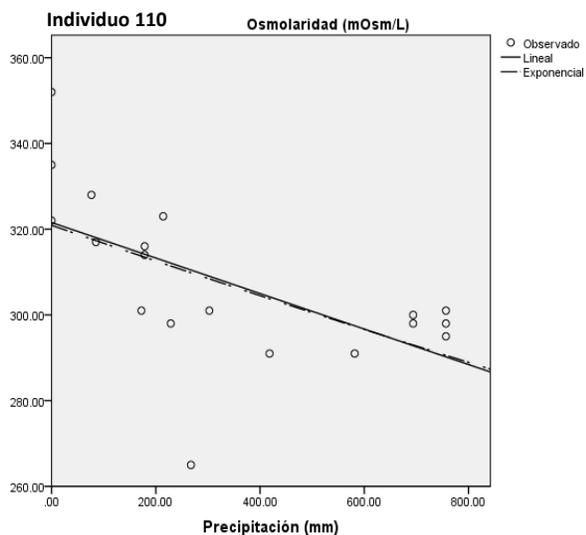
La variable independiente es Precipitación.

Tabla 7: Precipitación vs Osmolalidad individuo 350

Ecuación	Resumen del modelo					Estimaciones de los parámetros	
	R ²	F	gl1	gl2	Sig.	Constante	b1
Lineal	0.379	5.485	1	9	0.044	315.433	-0.026
Exponencial	0.391	5.770	1	9	0.040	315.336	-8.517E-5
Pearson (Lineal)	0.615						

La variable independiente es Precipitación.

a



b

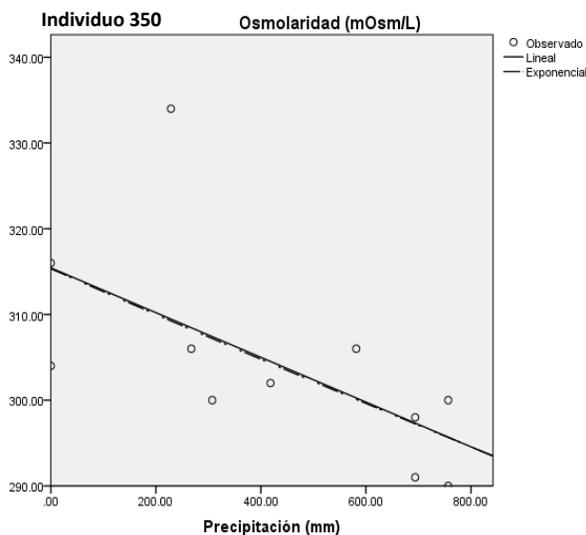


Figura 17: Regresiones cuadráticas entre la precipitación acumulada del año 2013 y la osmolalidad del individuos 110; 7b (derecha) regresión cuadrática entre la precipitación acumulada del año 2013 y la osmolalidad del individuo 350 (izquierda). Tabla 8: resultados del análisis de varianza entre características morfológicas y los valores de osmolalidad obtenidos durante el muestreo en 7 individuos

ANOVA

Osmo					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2497.458	5	499.492	1.383	0.249
Intra-grupos	16253.287	45	361.184		
Total	18750.745	50			

Ind.	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1.00	4	303.0000	49.29503	24.64752	224.5606	381.4394	231.00	339.00
2.00	3	323.6667	7.09460	4.09607	306.0427	341.2906	316.00	330.00
3.00	6	321.8333	14.95883	6.10692	306.1350	337.5317	293.00	331.00
5.00	19	308.6842	17.03934	3.90909	300.4715	316.8969	283.00	347.00
6.00	11	305.7273	12.72078	3.83546	297.1813	314.2732	291.00	336.00
7.00	8	320.2500	11.33578	4.00780	310.7730	329.7270	309.00	343.00
Total	51	311.8431	19.36530	2.71168	306.3966	317.2897	231.00	347.00

No se obtuvo el mismo número de muestras para todos los individuos, esto se debió a que los radiotransmisores dejaron de funcionar o bien a que los dispositivos recorrieron una distancia mayor a la que puede captar el receptor y por lo tanto no pudieron ser localizados nuevamente. (tabla 9).

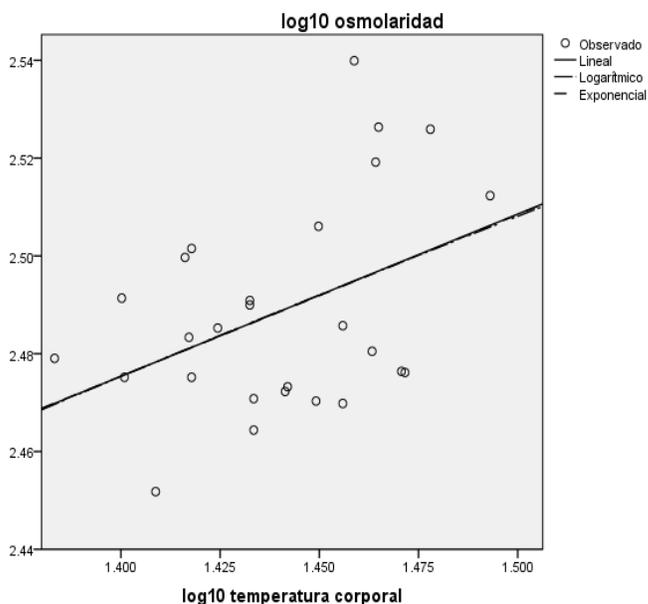
Tabla 9: número de muestras de Plasma sanguíneo analizadas de nueve individuos de *H. horridum*

Individuo	Muestras
110	19
210	8
270	4
370	11
700	5
150	1
Joven	1
Joven	1
Joven	1
Total	51

-Efectos de la temperatura corporal

Para descartar posibles sesgos o errores en los datos, se analizó la relación entre la temperatura corporal y la osmolalidad. El resultado fue una relación positiva entre estas dos variables. En la figura 18 se puede observar la relación entre los valores de osmolalidad obtenidos durante todo el muestreo y la temperatura corporal que registraron los sensores de temperatura al momento de

tomar la muestra. Se convirtió a escala logarítmica la gráfica debido a que la relación es positiva y significativa, sin embargo a escala normal, la diferencia por el origen de los datos complicaba su lectura.



	Logosmo	logtemp
logosmo Correlación de Pearson	1	0.418*
Sig. (bilateral)		0.030
N	27	27
logtemp Correlación de Pearson	0.418*	1
Sig. (bilateral)	0.030	
N	27	27

*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Figura 18: análisis de correlación entre la temperatura corporal y los valores de osmolalidad de 8 individuos (la temperatura corporal se capturó a la hora de tomar la muestra de sangre).

También se analizó la relación del peso con respecto a la osmolalidad registrada, comparando la masa corporal contra la osmolalidad de cada individuo pero los resultados no fueron significativos ($R^2=0.005$, $P=0.7$).

También se realizó un análisis de varianza (ANOVA) entre los valores obtenidos de osmolalidad vs individuos, ya que con éste análisis se descartó que exista una relación entre la talla, el peso, edad y sexo de los individuos con respecto a los valores de osmolalidad. Por ejemplo los números señalados en círculos rojos en la Tabla 8 se representan a individuos diferentes, el número 2 es un joven de 14 cm. LT mientras que el número 5 es un individuo de 765 mm. LT.

Resultados experimentales.

En la parte experimental, se obtuvieron 108 muestras efectivas (con repetición) de plasma sanguíneo (con dos repeticiones cada uno) de los 18 individuos en cautiverio, para el análisis de osmolalidad y 40 para concentración de glucosa.

-Caracterización de individuos.

El individuo más pequeño tenía una LHC de 232mm el cual fue descartado de los experimentos de actividad física (masa corporal de 497g). Mientras que el individuo de mayor tamaño registró 442 mm LHC y un peso de 1670 g.

Los resultados de la correlación bipareada indican que hay relaciones entre algunas variables morfológicas como LCH y peso, Peso y vol. de la cola, pero ninguna relacionada con la osmolalidad de los individuos (antes de los experimentos) (Tabla 10).

Tabla 10: Correlación bipareada entre variables morfológicas y osmolalidad de los individuos en cautiverio antes de ser sometidos a experimentos térmicos.

		LHC	Peso	V.Col	Osmlnic	LC
LHC	Correlación de Pearson	1	0.867**	0.766**	-0.073	0.696**
	Sig. (bilateral)		0.000	0.000	0.767	0.001
	N	19	19	19	19	19
Peso	Correlación de Pearson	0.867**	1	0.947**	0.003	0.638**
	Sig. (bilateral)	0.000		0.000	0.990	0.003
	N	19	19	19	19	19
V.Col	Correlación de Pearson	0.766**	0.947**	1	-0.002	0.494*
	Sig. (bilateral)	0.000	0.000		0.992	0.032
	N	19	19	19	19	19
Osmlnic	Correlación de Pearson	-0.073	0.003	-0.002	1	-0.219
	Sig. (bilateral)	0.767	0.990	0.992		0.368
	N	19	19	19	19	19
LC	Correlación de Pearson	0.696**	0.638**	0.494*	-0.219	1
	Sig. (bilateral)	.001	.003	.032	.368	
	N	19	19	19	19	19

** . La correlación es significativa en 0.01 (2-pareada).

* . La correlación es significativa en 0.05 (2-pareada).

-Osmolalidad

Se compararon los valores de osmolalidad obtenidos al inicio del experimento, al tercer día antes de someterlos a actividad física e inmediatamente después de la actividad física de 30 minutos sin parar entre dos grupos: los que fueron hidratados cada segundo día contra los que no se hidrataron. Los resultados del análisis de T-student pareada indicaron que que no hay diferencias significativas entre los valores de osmolalidad de los individuos que recibieron agua antes vs después de correr, pero si hay diferencias entre individuos que no recibieron agua antes vs después de correr (Tabla 11).

Tabla 11: resultados de la prueba de T student pareada entre osmolalidad antes de correr y después en grupo control (temperatura ambiente).

	Diferencias pareadas					t	Gl	Sig. bipareada
	Promedio	Desv. est.	Error prom.	Intervalo de confianza 95%				
				Mayor	Menor			
Par 1 Antes_hidr - Despues_hidr	2.000	17.824	6.301	-12.901	16.901	0.317	7	0.760
Par 2 Antes_nohidr - Desp_nohidr	-10.250	9.558	3.379	-18.240	-2.259	-3.033	7	0.019

-Experimentos térmicos

También se compararon los datos con una prueba de T student pareada entre los valores de osmolalidad obtenidos durante el tratamiento frío, antes de correr y después de correr. No se registraron diferencias significativas (tabla 12).

Tabla 12: Resultados de la prueba de T student pareada entre los valores de osmolalidad obtenidos antes de correr vs después de correr de los individuos hidratados y no hidratados, en tratamiento frío.

	Diferencias pareadas					t	Gl	Sig. bipareada
	Promedio	Desv. est.	Error prom.	Intervalo de confianza 95%				
				Mayor	Menor			
Par Antes_hidr - 1 Desp_hidr	-7.7500	5.251	2.625	-16.107	0.607	-2.951	3	0.060
Par Antes_nohidr - 2 Desp_nohidr	-.2000	17.049	7.624	-21.370	20.970	-0.026	4	0.980

De igual forma, se compararon los datos con una prueba de T student bipareada entre los valores obtenidos de los individuos hidratados y no hidratados antes de correr vs después de correr en tratamiento a altas temperaturas. Tampoco se registraron diferencias significativas en los individuos antes y después de correr (tabla 13).

Tabla 13: Resultados de la prueba de T student pareada entre los valores de osmolalidad obtenidos antes de correr vs después de correr de los individuos hidratados y no hidratados, en tratamiento calor (altas temperaturas).

	Diferencias pareadas					t	Gl	Sig. bipareada
	Promedio	Desv. est.	Error prom.	Intervalo de confianza 95%				
				Mayor	Menor			
Par Antes_hidr - 1 Desp_hidr	-3.500	5.066	2.533	-11.561	4.561	-1.382	3	0.261
Par Antes_nohidr - 2 Desp_nohidr	5.000	8.246	4.123	-8.121	18.121	1.213	3	0.312

Debido a que el objetivo fue observar los efectos de la actividad física en los tratamientos hidratado y no hidratado, también se comparó el grado de hidratación entre individuos hidratados antes de correr e individuos no hidratados antes de correr, mediante una prueba de T pareada. Tampoco hubo diferencias significativas tanto en los individuos a bajas temperaturas como a altas temperaturas. De igual forma entre los valores de osmolalidad entre individuos hidratados después de correr vs individuos no hidratados después de correr.

Para identificar los efectos de la hidratación o no hidratación en los individuos, se realizaron pruebas de T student para identificar diferencias entre la condición a diferentes temperaturas. Primero entre individuos a altas temperaturas (tabla 14). Se encontraron diferencias significativas entre los valores y osmolalidad de los individuos que fueron hidratados vs los que no fueron hidratados solo al inicio del experimento, mas no antes ni después de realizar la prueba de actividad física.

Tabla 14: resultados de la prueba de T student entre individuos a bajas temperaturas comparando la condición: hidratados VS no hidratados

	Levene's Test (igualdad de varianzas)		Prueba de T para igualdad de varianzas							
	F	Sig.	t	GL	Sig. (bilateral)	Dif. diedias	Dif. Error prom.	95% Intervalo de confianza		
								Máximo	Upper	
Inicial	Igualdad en varianzas asumida	8.769	0.021	-0.593	7	0.572	-5.200	8.764	-25.923	15.523
	Igualdad en varianzas no asumida			-0.530	3.312	0.630	-5.200	9.818	-34.848	24.448
AntCorrer	Igualdad en varianzas asumida	0.539	0.487	-1.07	7	0.319	-14.800	13.782	-47.389	17.789

DesCorrer	Igualdad en									
	varianzas no			-1.03	5.445	.344	-14.800	14.297	-50.667	21.067
	asumida									
	Igualdad en	0.337	0.580	-0.57	7	0.582	-7.250	12.577	-36.990	22.490
	varianzas									
	asumida									
DesCorrer	Igualdad en									
	varianzas no			-.054	4.831	.610	-7.250	13.296	-41.792	27.292
	asumida									

Posteriormente se realizó el mismo tipo de análisis pero en individuos que fueron sometidos a altas temperaturas. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los valores de osmolalidad de los individuos que fueron hidratados vs los que no fueron hidratados.

Tabla 15: resultados de la prueba de T student entre individuos a altas temperaturas comparando la condición: hidratados VS no hidratados

		Levene's Test (igualdad de varianzas)		Prueba de T para igualdad de varianzas						
		F	Sig.	t	GL.	Sig. (bilateral)	Dif. diedias	Dif. Error prom.	95% Intervalo de confianza	
									Máximo	Upper
Inicial	Igualdad en varianzas asumida	0.073	0.79	-3.028	6	0.023	-27.750	9.16401	-50.173	-5.326
	Igualdad en varianzas no asumida			-3.028	5.97	0.023	-27.750	9.16401	-50.199	-5.300
AntCorrer	Igualdad en varianzas asumida	1.485	0.26	-2.541	6	0.044	-22.500	8.85532	-44.168	-.8318

	Igualdad en varianzas no asumida			-2.541	4.53	0.057	-22.500	8.85532	-45.984	0.9847
DespCorrer	Igualdad en varianzas asumida	0.024	0.88	-2.072	6	0.084	-14.000	6.75771	-30.535	2.535
	Igualdad en varianzas no asumida			-2.072	5.99	0.084	-14.000	6.75771	-30.53	2.536

Finalmente, se realizaron análisis de covarianza (ANCOVA). Primero el análisis de covarianza (covariable LHC) VS antes y después de correr (osmolalidad) entre los grupos: hidratados y deshidratados, mostró que no hay diferencias significativas entre individuos que fueron o no hidratados (Tabla 16)

Tabla 16: resultados del análisis de covarianza de la osmolalidad entre individuos antes y después de correr, hidratados y no hidratados (covariable: LHC).

	Variable dependiente	3der tipo (suma de cuadrados)	GL	Media cuadrada	F	Sig.	Parcial
Ajustada	OsmAntCorr	568.088 ^a	2	284.044	0.593	0.582	0.165
	OsmDespCorr	395.487 ^b	2	197.744	0.544	0.607	0.153
Intercepto	OsmAntCorr	1027.539	1	1027.539	2.146	0.193	0.263
	OsmDespCorr	3395.524	1	3395.524	9.337	0.022	0.609
LHC	OsmAntCorr	81.333	1	81.333	.170	0.695	0.028
	OsmDespCorr	278.682	1	278.682	.766	0.415	0.113
condición	OsmAntCorr	486.756	1	486.756	1.016	0.352	0.145
	OsmDespCorr	116.806	1	116.806	.321	0.591	0.051
Error	OsmAntCorr	2873.467	6	478.911			
	OsmDespCorr	2182.068	6	363.678			
Total	OsmAntCorr	864007.000	9				
	OsmDespCorr	883047.000	9				
Ajustada	OsmAntCorr	3441.556	8				
Total	OsmDespCorr	2577.556	8				

a. R Cuadrada =0 .165 (Ajustada= -0.113)

b. R Cuadrada = 0.153 (Ajustada= -0.129)

Posteriormente, el análisis de covarianza (covariable peso) VS antes y después de correr (osmolalidad) entre los grupos: hidratados y deshidratados, demostró que no hay diferencias significativas entre individuos que fueron o no hidratados (Tabla 17)

Tabla 17: resultados del análisis de covarianza de la osmolalidad entre individuos antes y después de correr, hidratados y o hidratados (covariable: peso).

	Variable dependiente	3der tipo (suma de cuadrados)	GL	Media cuadrada	F	Sig.	Parcial
Ajustado	OsmAntCorr	554.113 ^a	2	277.057	0.576	0.591	0.161
	OsmDespCorr	120.934 ^b	2	60.467	0.148	0.866	0.047
Intercepto	OsmAntCorr	9241.327	1	9241.327	19.203	0.005	0.762
	OsmDespCorr	8302.594	1	8302.594	20.278	0.004	0.772
Peso	OsmAntCorr	67.358	1	67.358	0.140	0.721	0.023
	OsmDespCorr	4.128	1	4.128	0.010	0.923	0.002
condición	OsmAntCorr	244.087	1	244.087	0.507	0.503	0.078
	OsmDespCorr	73.741	1	73.741	0.180	0.686	0.029
Error	OsmAntCorr	2887.442	6	481.240			
	OsmDespCorr	2456.622	6	409.437			
Total	OsmAntCorr	864007.000	9				
	OsmDespCorr	883047.000	9				
Ajustada	OsmAntCorr	3441.556	8				
Total	OsmDespCorr	2577.556	8				

a. R cuadrada = 0.161 (ajustada = -0.119)

b. R cuadrada = 0.047 (ajustada = -0.271)

GLUCOSA

Los resultados analizados únicamente corresponden a los individuos en temperaturas frío y calor.

El análisis de varianza, ANCOVA, usando el tamaño de cada individuo vs los valores de glucosa obtenidos antes y después de someterlos a actividad física entre los grupos hidratados y no hidratados, no indicó diferencias significativas entre los valores obtenidos durante los experimentos (Tabla 18).

Tabla 18: Análisis de covarianza (covariable LHC) VS los valores de glucosa antes y después de correr (mg/L) entre los grupos: hidratados y deshidratados.

	Variable dependiente	3der tipo (suma de cuadrados)	GL	Media cuadrada	F	Sig.	Parcial
Ajustado	GluAntCorr	1295.988 ^a	2	647.994	0.878	0.463	0.226
	GluDesCorr	424.182 ^b	2	212.091	0.521	0.618	0.148
Intercepto	GluAntCorr	9.642	1	9.642	0.013	0.913	0.002
	GluDesCorr	3.566	1	3.566	0.009	0.928	0.001
LHC	GluAntCorr	37.233	1	37.233	0.050	0.830	0.008
	GluDesCorr	127.732	1	127.732	0.314	0.596	0.050
condición	GluAntCorr	1258.756	1	1258.756	1.706	0.239	0.221
	GluDesCorr	296.450	1	296.450	0.728	0.426	0.108
Error	GluAntCorr	4427.567	6	737.928			
	GluDesCorr	2441.818	6	406.970			
Total	GluAntCorr	47068.000	9				
	GluDesCorr	89891.000	9				
Ajustado	GluAntCorr	5723.556	8				
Total	GluDesCorr	2866.000	8				

a. R cuadrada = 0.226 (ajustada = -0.031)

b. R cuadrada = 0.148 (ajustada = -0.136)

El análisis de varianza, ANCOVA (utilizando como covariable el peso), tampoco indicó diferencias significativas (Tabla 19)

Tabla 19: Análisis de covarianza (covariable Peso) VS antes y después de correr (glucosa) entre los grupos: hidratados y deshidratados.

Tests of Between-Subjects Effects

	Variable dependiente	3der tipo (suma de cuadrados)	GL	Media cuadrada	F	Sig.	Parcial
Ajustado	GluAntCorr	2769.595 ^a	2	1384.798	2.813	0.137	0.484
	GluDesCorr	345.853 ^b	2	172.926	0.412	0.680	0.121
Intercepto	GluAntCorr	360.333	1	360.333	0.732	0.425	0.109
	GluDesCorr	450.854	1	450.854	1.073	0.340	0.152
peso	GluAntCorr	1510.840	1	1510.840	3.069	0.130	0.338
	GluDesCorr	49.403	1	49.403	0.118	0.743	0.019
condición	GluAntCorr	170.747	1	170.747	0.347	0.577	0.055
	GluDesCorr	141.599	1	141.599	0.337	0.583	0.053
Error	GluAntCorr	2953.960	6	492.327			
	GluDesCorr	2520.147	6	420.025			
Total	GluAntCorr	47068.000	9				
	GluDesCorr	89891.000	9				
Ajustado	GluAntCorr	5723.556	8				
Total	GluDesCorr	2866.000	8				

a. R cuadrada = 0.484 (ajustada = 0.312)

b. R cuadrada = 0.121 (ajustada = -0.172)

Glucosa y Osmolalidad

Los valores de osmolalidad y glucosa obtenidos antes y después de someter a los individuos a actividad física, debido a que era notorio el aumento en la concentración de glucosa después de someter los individuos a actividad física (aumentó mínimo de 2 unidades y máximo de 80 unidades). Mediante un análisis de correlación entre los valores de osmolalidad y glucosa en los individuos hidratados del tratamiento frío hidratados, no se encontró relación significativa, sin embargo la R^2 de los organismos hidratados después de correr muestra una tendencia (R^2 : 0.746 y 0.762). Esta tendencia también se puede observar en los mismos organismos antes de someterlos a actividad física, sin embargo no son significativos los resultados ni los valores de R^2 son muy altos (Figura 19 a y b).

Tabla 20: Correlación de osmolalidad y glucosa **antes de correr** en animales en tratamiento frío. (hidratados).

Variable Dependiente: Glucosa

Ecuación	Resumen					Parametro Estimación	
	R cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.528	2.235	1	2	0.274	300.553	-0.729
Exponencial	0.474	1.805	1	2	0.311	862.602	-0.008

Variable independiente:Osm.

Tabla 21: Correlación de osmolalidad y glucosa **después de correr** en animales en tratamiento frío. (hidratados).

Variable dependiente: Glucosa

Ecuación	Resumen					Parametro Estimación	
	R Cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.746	5.878	1	2	0.136	361.332	-0.831
Exponencial	0.762	6.391	1	2	0.127	1193.967	-0.008

Variable independiente: Osm.

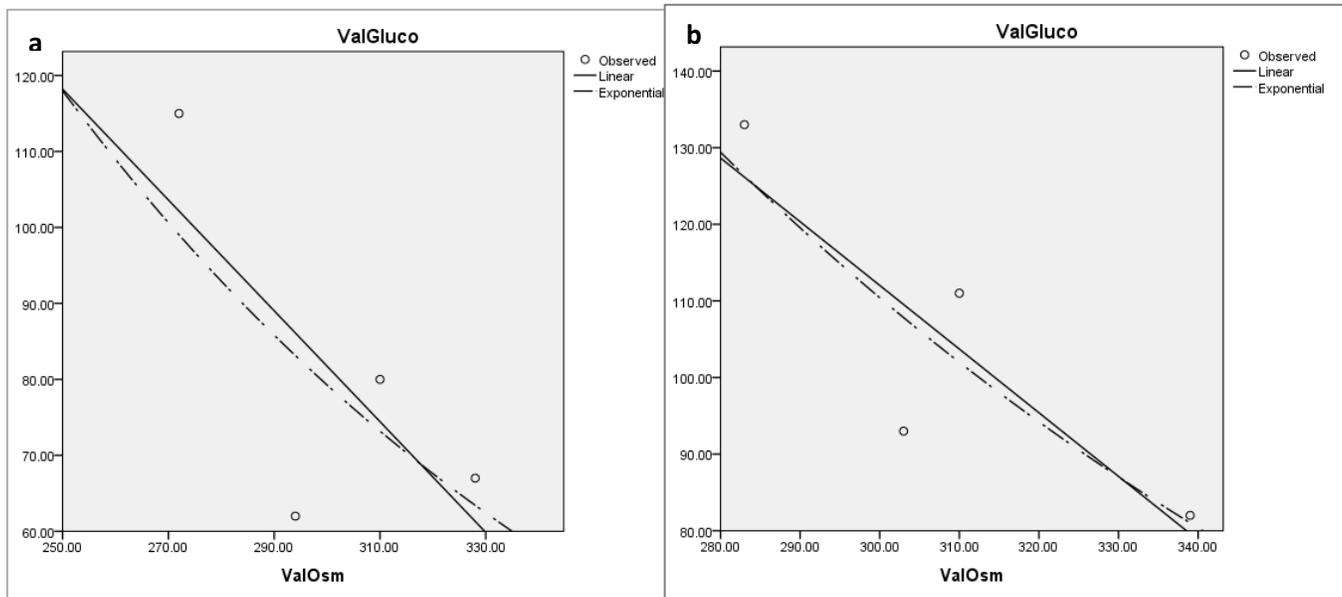


Figura 19: Correlación de osmolalidad y glucosa **antes de correr** en animales en tratamiento frío. (HIDRATADOS) b) Correlación de osmolalidad y glucosa **después de correr** en animales en tratamiento frío. (HIDRATADOS)

El análisis de correlación entre los valores de osmolalidad y glucosa en los individuos no hidratados del tratamiento frío, indicó que no hay relación significativa, la R^2 de los organismos hidratados después de correr muestra una tendencia, sin embargo no son significativos los resultados ni es tan fuerte la R^2 . A diferencia de los resultados en individuos hidratados la relación entre los individuos después de correr fue positiva, esto es, a mayores valores de osmolalidad, mayor concentración de glucosa (Figura 17 a y b)

Tabla 22: correlación de osmolalidad y glucosa **antes de correr** en animales en tratamiento frío. (no hidratados)

Variable dependiente: Glucosa

Ecuación	Resumen del modelo					Parametro Estimación	
	R Cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.083	0.270	1	3	0.639	191.543	-0.425
Exponencial	0.065	0.208	1	3	0.680	471.439	-0.007

Tabla 23: Correlación de osmolalidad y glucosa **después de correr** en animales en tratamiento frío. (no hidratados)

Variable dependiente: Glucosa

Ecuación	Resumen del modelo					Parametro Estimación	
	R Cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.450	2.454	1	3	0.215	-145.663	0.756
Exponencial	0.519	3.233	1	3	0.170	6.608	0.008

Variable independiente: Osm.

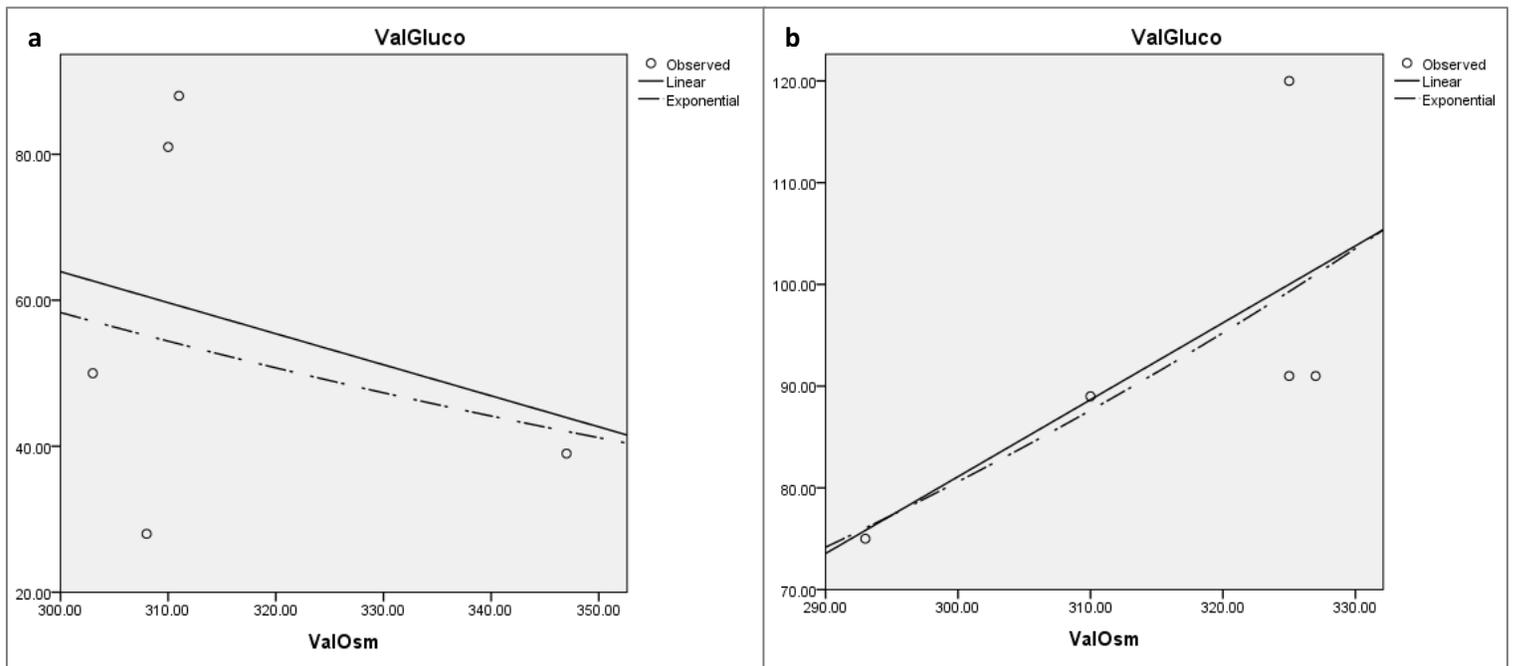


Figura 20: a) correlación de osmolalidad y glucosa **antes de correr** en animales en tratamiento frío. (no hidratados) b) correlación de osmolalidad y glucosa **después de correr** en animales en tratamiento frío (no hidratados).

El análisis de correlación entre los valores de osmolalidad y glucosa en los individuos hidratados del tratamiento caliente, indicó que hubo una relación significativa entre los valores de osmolalidad y glucosa antes de someter los individuos a actividad física ($P=0.013$, $R^2=0.906$) sin embargo no hubo relación entre glucosa y osmolalidad en los mismos organismos después de correr. la relación entre los individuos después de correr fue positiva, esto es, a mayor valore de osmolalidad, mayor concentración de glucosa. (Figura 21 a y b)

Tabla 24: correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento caliente. (hidratados)

Variable dependiente: ValGluco

Ecuación	Resumen del modelo					Parametro Estimación	
	R Cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.906	28.835	1	3	0.013	514.919	-1.558
Exponencial	0.908	29.785	1	3	0.012	226006.292	-0.028

Variable independiente: ValOsm.

Tabla 25: correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento caliente. (hidratados)

Variable dependiente: Gluco

Ecuación	Resumen del modelo					Parametro Estimación	
	R Cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.615	3.198	1	2	0.216	-252.056	1.056
Exponencial	0.648	3.676	1	2	0.195	0.490	0.016

Variable independiente: Osm.

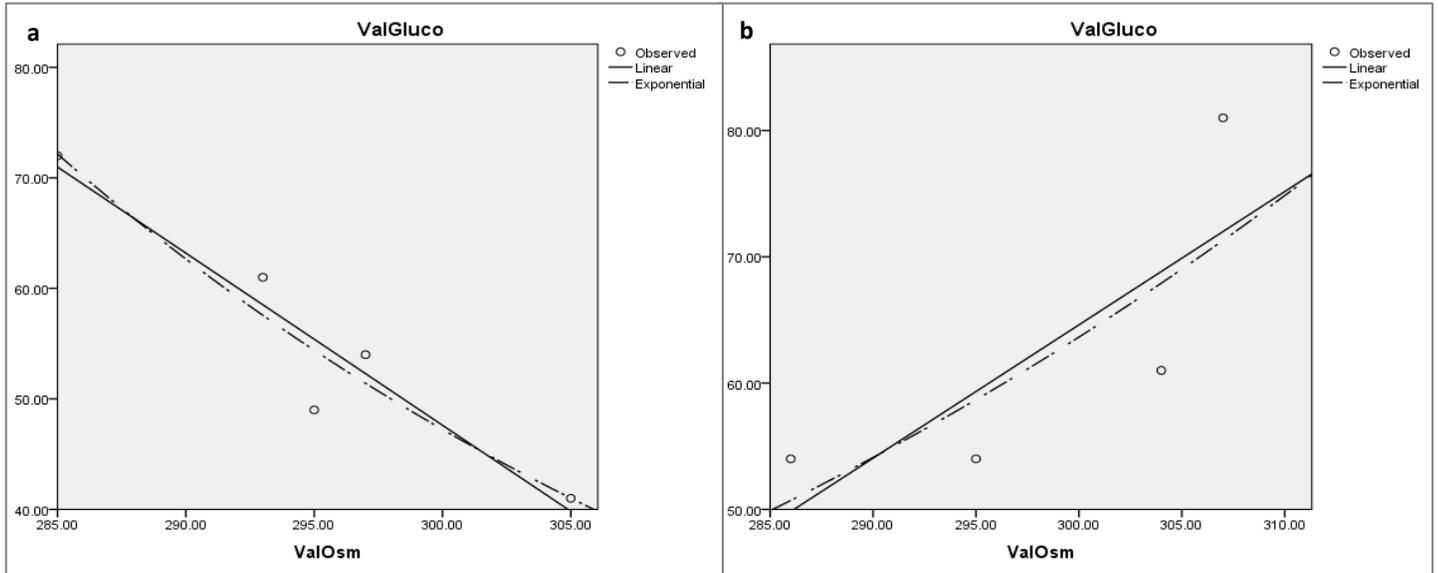


Figura 21: a) Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en Tratamiento caliente. (hidratados) b) Correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento caliente- (hidratados).

Se realizó un análisis de correlación entre los valores de osmolalidad y glucosa en los individuos no hidratados del tratamiento caliente. No se encontró relación significativa, sin embargo la R^2 de los organismos hidratados antes de correr muestra una tendencia ($R^2= 0.724$) Al igual que en individuos hidratados la relación entre los individuos después de correr fue positiva, esto es, a mayor valore de osmolalidad, mayor concentración de glucosa. (Figura 22 a y b).

Tabla 26: Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento caliente. (no hidratados)

Variable dependiente: Gluco

Ecuación	Resumen del modelo					Parametro Estimación	
	R Cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.724	5.242	1	2	0.149	159.885	-0.339
Exponencial	0.755	6.172	1	2	0.131	436.203	-0.007

Variable independiente: Osm.

Tabla 27: Correlación de osmolalidad y glucosa después antes de correr en animales en tratamiento caliente. (no hidratados).

Variable dependiente: Gluco

Ecuación	Resumen del modelo					Parametro Estimación	
	R Cuadrada	F	GL1	GL2	Sig.	Constante	b1
Linear	0.255	0.683	1	2	0.495	-103.462	0.550
Exponencial	0.224	0.576	1	2	0.527	6.288	0.008

Variable independiente: Osm.

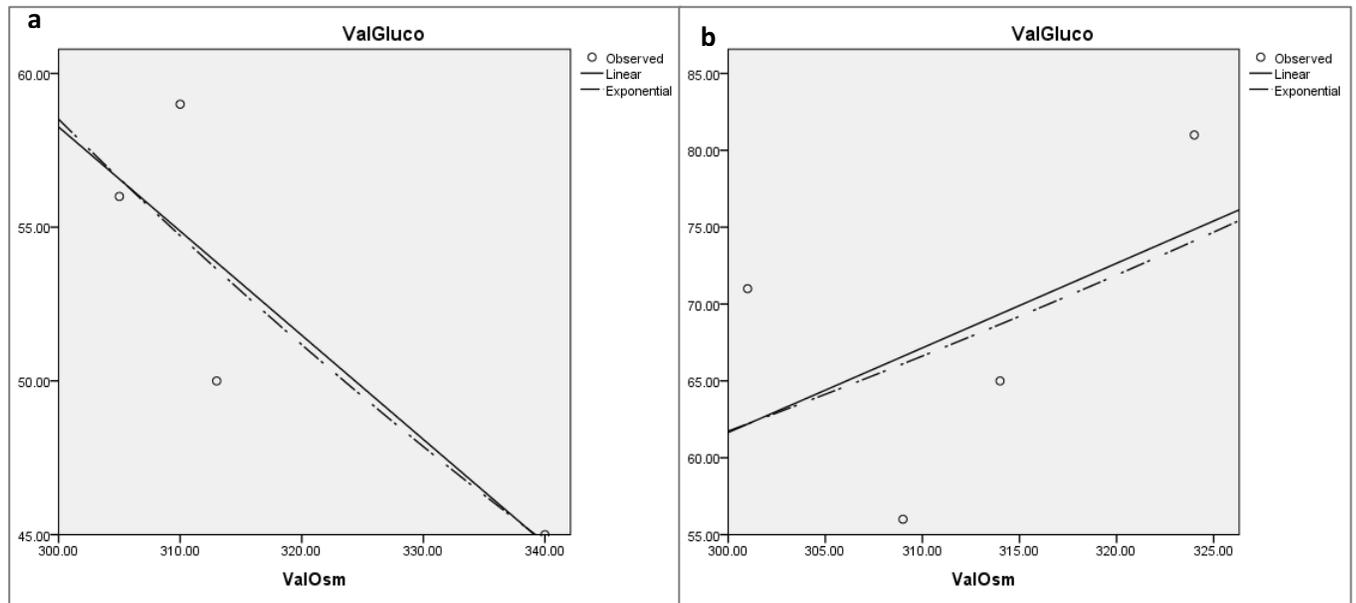


Figura 22: a) Correlación de osmolalidad y glucosa antes de correr en animales en tratamiento caliente (no hidratados). b) Correlación de osmolalidad y glucosa después de correr en animales en tratamiento caliente. (no hidratados)

Diferencias térmicas

Mediante las pruebas de T student se identificó que no hay diferencias significativas entre las temperaturas corporales de los individuos en cautiverio, en los diferentes tipos de tratamiento (frio y calor) y en las diferentes condiciones (hidratados o no hidratados). Se omitieron los datos de sensores que se desprendieron de los cuerpos de los individuos. (Tabla 28).

Tabla 28: Resultados de la prueba de T student: temperaturas corporales en individuos a temperatura control, hidratados vs no hidratados.

	Levene's Test (igualdad de varianzas)		Prueba de T para igualdad en promedios						
	F	Sig.	t	GL.	Sig. (bilateral)	Dif. diedias	Dif. Error prom.	95% Intervalo de confianza	
								Máximo	Mínimo
Igualdad en varianzas asumida	0.002	0.963	-6.12	1214	0.000	-0.553	0.090	-0.730	-0.376
Igualdad en varianzas no asumida			-6.13	1147.931	0.000	-0.553	0.090	-0.730	-0.376

Las temperaturas corporales entre individuos sometidos a altas y bajas temperaturas fueron significativamente diferentes (tabla 29).

Tabla 29: resultados del análisis de T student entre temperaturas de individuos en tratamiento calor vs frío.

	Levene's Test (igualdad de varianzas)		Prueba de T para igualdad en promedios						
	F	Sig.	t	GL.	Sig. (bilateral)	Dif. Medias	Dif. Error prom.	95% Intervalo de confianza	
								Máximo	Mínimo

Temp	Igualdad en varianzas asumida	113.570	0.00	-13.25	1918	0.000	-1.669	0.125	-1.916	-1.422
	Igualdad en varianzas no asumida			-13.25	1693.912	0.000	-1.669	0.125	-1.916	-1.422

De igual modo, se realizó una prueba de T student entre las temperaturas corporales de individuos en el tratamiento frío comparando entre hidratados y no hidratados, las diferencias fueron significativas (P: 0.44) (Tabla 30, figura 23)

Tabla 30: resultados del análisis de T student entre temperaturas corporales de individuos en tratamiento frío comparando hidratados vs no hidratados.

	Levene's Test (igualdad de varianzas)		Prueba de T para igualdad en promedios						
	F	Sig.	t	GL.	Sig. (bilateral)	Dif. diedias	Dif. Error prom.	95% Intervalo de confianza	
								Máximo	Mínimo
Temp	4.075	0.044	1.047	958	0.295	0.14881	0.14209	-	0.42766
Igualdad en varianzas asumida				910.329				0.13003	
Igualdad en varianzas no asumida			1.047		0.295	0.14881	0.14209	0.13005	0.42768

Temperaturas corporales de individuos en tratamiento frío hidratados vs no hidratados

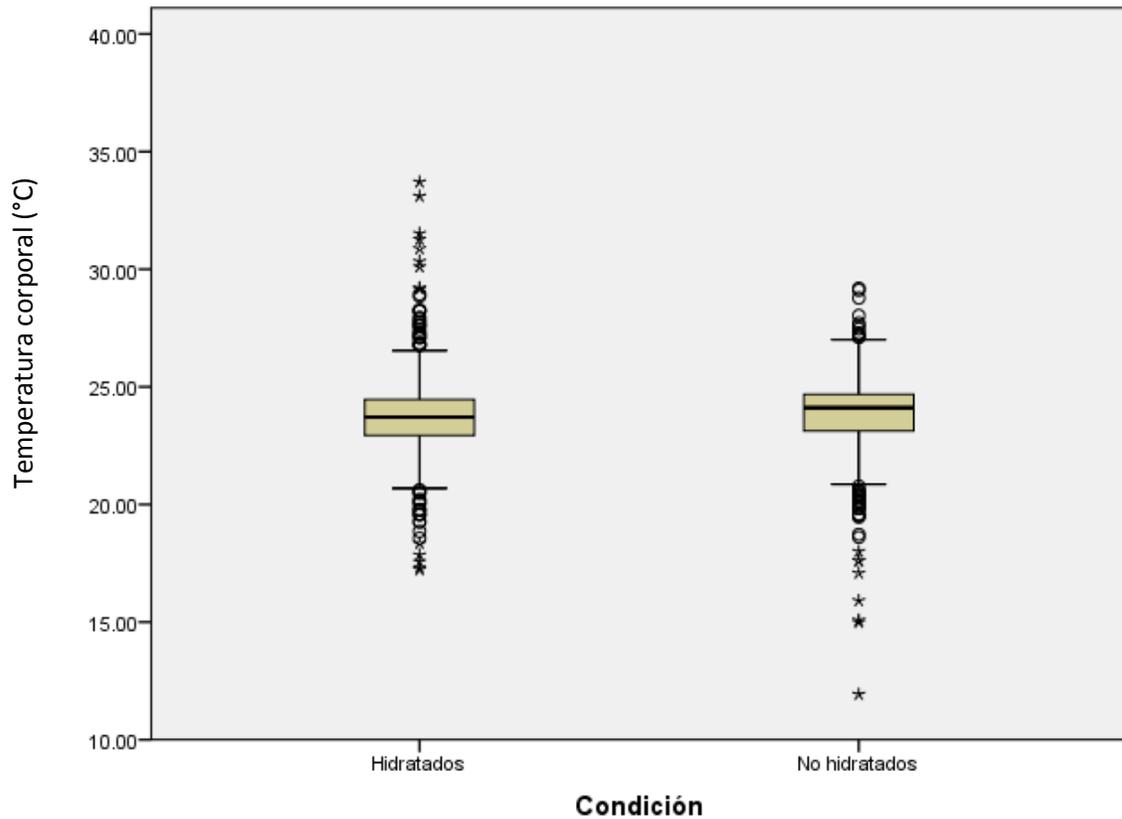


Figura 23: Diferencias en la temperatura corporal de individuos hidratados y no hidratados sometidos a bajas temperaturas.

De igual modo, se realizó una prueba de T student entre las temperaturas corporales de individuos a altas temperaturas comparando entre hidratados y no hidratados, las diferencias fueron significativas (P: 0.000) (Tabla 31, figura 24).

Tabla 31: resultados del análisis de T student entre temperaturas corporales de individuos en tratamiento calor comparando hidratados vs no hidratados.

	Levene's Test (igualdad de varianzas)		Prueba de T para igualdad en promedios							
	F	Sig.	t	GL.	Sig. (bilateral)	Dif. diedias	Dif. Error prom.	95% Intervalo de confianza		
								Máximo	Mínima	
Temp	Equal variances assumed	13.125	0.000	1.347	958	0.178	0.28935	0.21476	-0.132	0.71081
	Equal variances not assumed			1.390	830.533	0.165	0.28935	0.20813	-0.119	0.69787

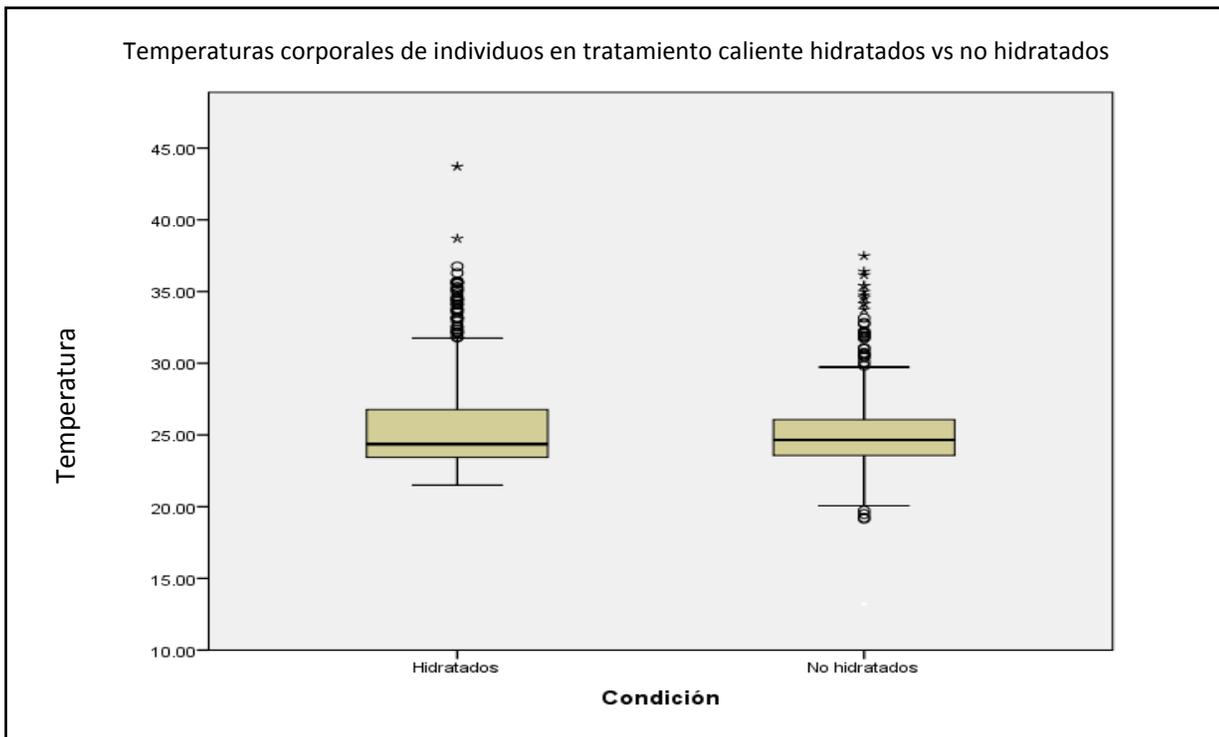


Figura 24: Diferencias en la temperatura corporal de individuos hidratados y no hidratados sometidos a bajas temperaturas.

DISCUSIÓN

Condiciones ambientales

Si bien es cierto que los reptiles son vertebrados ectotérmicos, en este estudio registramos que fisiológicamente dependen de diversas variables para mantener su homeostasis. Davis y DeNardo (2007) mencionan que el grado de hidratación influye directamente sobre la biología térmica de diversos reptiles, en este caso, se muestra que no solo son los factores abióticos pueden condicionar las actividades de algunos reptiles. Como se observa en las Figuras 23 y 24 hay un efecto directo sobre la temperatura corporal por efectos de hidratación, independientemente de la temperatura del ambiente.

En hábitats estacionales, la temperatura ambiental se ve moldeada por los eventos de precipitación y al porcentaje de humedad relativa en el aire, dichos factores son aprovechados en conjunto por diversos organismos para regular sus demandas recurso-energéticas. La estacionalidad en la región de Chamela, no solo ocasiona cambios en la conducta y/o actividad de animales, sino de plantas e incluso de procesos en el suelo (Bullock y Solís-Magallanes, 1990; Bullock *et al.*, 1995; Martínez-Yrizar y Sarukhan, 1993, Lister y García, 1992; Ceballos, 1995 e.g. Flemming y Hooker 1975, Eguiarte y Del Río, 1985; García, 2003). En el caso de los reptiles que habitan las selvas estacionales, como el BTC, diversos autores han enfatizado sobre el papel tan importante que tiene la estacionalidad sobre las comunidades de reptiles (Beck y Lowe, 1991; Lister y García, 1992; Ceballos y García, 1994; García, 2003). Desafortunadamente, el aprovechamiento desmedido de las selvas bajas, es el mayor problema al que se enfrentan las poblaciones de vida silvestre que ahí habitan (Didham 1997; Maynadier y Hunter 1998; Vos y Chardon 1998; Saunders *et al.*, 1991; Trejo-Vázquez y Dirzo 2000; García 2006). El presente estudio muestra un posible escenario de cómo reaccionan o reaccionarán las poblaciones de ectotermos adaptados a ambientes agrestes ante cambios drásticos que pueden ser generados, entre otras causas, por el aumento en la temperatura del ambiente así como por la deforestación del bosque tropical caducifolio. *Heloderma horridum* es una especie con alta plasticidad y resistencia,

y es una de las especies más ancestrales (del orden lacertilia) que ha logrado conservar estrategias ante escenarios extremos, hay otras especies mucho más sensibles no solo al aumento en la temperatura o radiación solar, sino también a la disponibilidad de cobertura vegetal, la cual debido al cambio en el uso del suelo, está disminuyendo considerablemente. Probablemente para *Heloderma* también es un problema la pérdida del hábitat, sin embargo gracias a su habilidad de desplazarse grandes distancias (comparados con *Anolis*, phrinosomatidos, etc), puede palear de alguna manera la carencia de recursos sean alimenticios o de espacio.

El clima y los helodermas

Gracias a los datos climatológicos obtenidos con los métodos antes mencionados, es posible monitorear de manera más sencilla y eficaz a los organismos difíciles de rastrear o que requieran del menor disturbio posible. El uso de técnicas o métodos indirectos para monitoreo de vida silvestre debería ser utilizado con mayor frecuencia, especialmente en especies que requieran atención especial o amenazadas, ya que arrojan información precisa sin la necesidad de perturbar los organismos constantemente ni el hábitat donde se encuentran. Esta técnica se ha utilizado en *Heloderma suspectum* para identificar los requerimientos térmicos de la especie (Davis y DeNardo 2009 y 2010), en *Crotalus atrox*, *C. molosus*, *Terrapene carolina*, *Gopherus agassizi* (Ginger y Tracy, 2008, Davis, *et al* 2008, Tozetti, 2006, Tozetti y Martins, 2008, Beck, 1991 y 2015 datos no publicados *Crotalus oreganus*). El periodo de actividad que registraron los Helodermas durante el 2013 coincidió con la literatura (Beck, 2005), comenzando a aparecer o dejar sus refugios en abril-mayo, es cuando los valores más altos de radiación se presentan ($> 22 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), que corresponden a los meses de finales de secas e inicio de la temporada de lluvias (García - Oliva *et al.* 2002).

La primera lluvia en Chamela registrada para el periodo de muestreo se concentró a finales de junio por lo que el periodo de lluvias comenzó en el

promedio registrado (García et al, 1991). Cabe mencionar que al inicio del año se registraron lluvias en invierno (enero), un total de 117 mm se concentraron en los primeros días del mes, esto pudo afectar los ciclos de vida de plantas y animales.

Durante los primeros días de la temporada de lluvias, diversas aves terminaban su etapa de nidación por lo que polluelos y algunos huevos se encontraban sobre el dosel, siendo un recurso alimentario importante para diversas especies de animales carnívoros incluido *Heloderma*. Para los meses de julio y agosto el follaje de la mayoría de los árboles y arbustos dominaban el dosel permitiendo así la retención de humedad y de temperatura.

Davis y DeNardo (2009) encontraron que en *Heloderma suspectum*, la temperatura corporal no se ve afectada por el grado de osmolalidad, además, en el transcurso del año y tras eventos de precipitación, los valores de osmolalidad no se ven influenciados tan drásticamente como en el presente estudio. Los datos indican que la actividad de *H. horridum* está estrechamente ligada a eventos de precipitación, aunque, algunos ciclos de vida de diversas presas de *Heloderma horridum* también dependen de la estacionalidad. Para este estudio es un punto a considerar ya que el hecho de que ocurran eventos de precipitación, podría favorecer la proliferación de presas de *H. horridum*, incluso que aumente la actividad de las mismas, por lo cual la actividad (forrajeo) de *H. horridum* incrementaría y no solo aumenta la actividad por disponibilidad de agua, por lo tanto, es difícil discernir si es solamente la precipitación la variable que modifica el comportamiento y actividad de reptiles (Davis y DeNardo 2009), vale la pena monitorear por mayor tiempo los individuos muestreados y así comparar entre variables abióticas y bióticas. Además, durante el 2013 se registraron más de 1200 mm de lluvia, con lluvias hasta el mes de noviembre, por lo que se considera que fue un año lluvioso, la precipitación media anual de la EBCH es de 788 mm (1977-2000), con una gran variación interanual, que va desde los 453 mm en 1985, hasta los 1393 mm en 1992. Las lluvias se concentran entre junio y octubre, como se ha reportado en trabajos anteriores (Bullock 1986, García-Oliva et al. 1995). En promedio se registran 51 eventos de lluvia (1983-1990, García-Oliva et al. 1995), con la gran mayoría siendo de poca duración (el 57% de los eventos

duraron menos de 1.5 horas) y de poca cantidad (el 62% de los eventos presentaron lluvias menores a 8 mm). De estos 51 eventos, seis eventos explican el 50% de la lluvia anual, los cuales son principalmente ciclones o tormentas tropicales (García - Oliva et al. 2002).

Demandas fisiológicas

Tanto temperatura como precipitación son los dos factores más importantes que rigen la actividad de *H. horridum*, por ejemplo: en *Heloderma suspectum*, se dice que los patrones de conducta son flexibles, lo que significa que la duración de los periodos de actividad no siempre son iguales ni ocurren sistemáticamente (Davis y DeNardo 2010). Al igual que en *H. suspectum*, *H. horridum* “puede” controlar o regular sus periodos de actividad, ya que al presentar una tasa metabólica lenta y bajas demandas de agua y energía, pueden almacenar los recursos para disponer de ellos, ya sea para la reproducción o para la actividad. Se ha discutido y mencionado que la forma más efectiva de almacenar energía en *Heloderma* es en forma de grasa en la cola (Beck 2005, Beck y Randy 2003). Sin embargo, el estado de hidratación es crucial para mantener diversos procesos fisiológicos y es aquí donde la vejiga juega un papel muy importante.

Heloderma horridum, así como en tortugas y algunos anfibios (Braysher y Green, 1969., Cooper y Robinson, 1990, John-Alder et al., 1983 y Davis y DeNardo, 2007), presentan vejiga. Es gracias a la presencia de la vejiga que *H. horridum* es capaz de mantener hidratado su organismo en ausencia de agua (Davis y DeNardo, 2007). Aún en las condiciones más hostiles, la vejiga de un *Heloderma* puede almacenar el equivalente al 20% de la masa corporal hasta durante 20 días. Trabajos anteriores también mencionan que basta con la ingesta de una pequeña cantidad de agua para regresar los valores de osmolalidad “normales” (290 mOsm aproximadamente) en cuestión de poco tiempo. Estas estrategias han ayudado a *Heloderma* a soportar la aleatoriedad de los eventos de precipitación o disponibilidad de agua, sea como tal en cuerpos de agua o en el alimento que ingieren. Por lo cual, *Heloderma* es una especie con bastante plasticidad para tolerar cambios tan drásticos como los que ocurren en un BTC.

Según los datos (figura 13a), los valores de osmolalidad estuvieron regulados por la precipitación que se registró durante su periodo de actividad, sin embargo, la ingesta de alimento también puede modificar el estado de hidratación. *H. horridum* puede ingerir grandes cantidades de alimento, (hasta 35% de su peso: Beck, 2005), debido a esto, la condición hídrica podría estar influenciada directamente, por ejemplo: parte principal de su dieta son los huevos y un solo huevo, puede contener hasta 70% de su volumen en agua (Ramírez et al, 2010, González y Unzón, 2011), en una de las observaciones de campo, un solo individuo de 1200 g. ingirió 45 huevos con un peso aproximado de 210 g. Los huevos de la iguana negra, forman parte importante de la dieta de *H. horridum*, al igual que de otros animales carnívoros como serpientes y coatíes. Igualmente, en nidos del perico *Aratinga sp* (termiteros) terminaban su periodo de incubación por lo que la actividad de hembras y machos aumentaba por la atención al o los polluelos. Al igual que los huevos de iguanas, se ha documentado que estos organismos también forman parte de la dieta de *Heloderma*.

Uso del hábitat

H. horridum es una especie de hábitos diurnos que frecuenta en su mayoría la selva baja caducifolia. En los estudios de 1991 (Beck y Lowe) y 2005 (Beck) se menciona que los sitios que más frecuenta son los “bancos de arroyos” que básicamente son las áreas próximas y paralelas a los arroyos. Según los datos obtenidos en el presente estudio, los sitios que más frecuentaban los helodermas fueron el banco de arroyo y zonas planas (durante la temporada de secas) mientras que los lugares con pendiente fueron más recorridos durante la temporada de lluvias. A diferencia de lo que registran algunos autores (Beck y Lowe 1991, Beck 2005) en este estudio la actividad se concentró en sitios diferentes como laderas y áreas planas, adicionalmente a los sitios cercanos a los arroyos. Las diferencias estacionales (Figura 12) pueden deberse a las demandas térmicas de los individuos ya que durante la temporada de secas los arroyos y zonas aledañas presentan temperaturas menores comparado con las áreas de BTC. Por otra parte, durante la temporada de lluvias, el exceso de humedad

puede causar pérdida de temperatura e incluso acumulación de microorganismos que podrían afectar a diversas especies de vertebrados, principalmente aves y reptiles (Migak, et al, 1984, Ricklefs, et al, 2008). Una de las características principales de la lluvia en sitios como Chamela, es que la precipitación no es constante, sino que se presenta en periodos aleatorios y generalmente depende de la actividad ciclónica de la región (García, et al, 1991), por lo cual, durante un periodo de lluvia, se pueden registrar hasta 200 mm. de lluvia en pocas horas. El utilizar zonas en pendiente durante la temporada de lluvias, podría facilitar o ayudar a mantener la temperatura corporal de los individuos, ya que el agua tiende a concentrarse en zonas planas y riparias. Por efectos estacionales como la presencia de lluvia se observaron cambios en el uso de hábitat, como el aumento de uso de árboles y sitios rocosos, esto podría deberse a que las rocas no retienen tanta humedad como el suelo pero también pueden retener mayor calor. El aumento en el uso de los árboles puede significar un efecto ante la carencia de luz solar en el sotobosque y por ende, los Helodermas pueden trepar hasta 6 metros (observación personal) y encontrar una temperatura óptima e incluso escapar de predadores (figura 12).

Actividad estacional

Como se mencionó anteriormente, la estacionalidad influye directamente sobre la actividad de *Heloderma horridum*. Durante la temporada de secas, el tiempo que permanecieron activos fue significativamente diferente en comparación con lo registrado durante la temporada de lluvias. Este dato no agrega nueva información a lo ya estudiado (Beck y Lowe, 1991, Ceballos y García, 1995, Beck, 2005), sin embargo, cada año, las condiciones climáticas y estacionales son diferentes. Los datos obtenidos del grado de hidratación indicaron que los periodos de mayor actividad se concentraron durante los meses de julio y agosto (al menos de los individuos que se tienen más registros), mientras que estudios anteriores mencionan que mayo y junio son los meses de mayor actividad (Beck 2005).

Las diferencias estacionales en cuanto a desplazamiento también fueron notorias y significativamente diferentes. Tampoco este dato agrega información nueva en cuanto al aumento en la actividad por efecto estacional, caben destacar que en observaciones en campo de dos individuos que se localizaron al interior de pozas de agua durante la noche, la primer ocasión durante el mes de septiembre (dos ocasiones) el individuo 110, y en el mes de octubre el individuo 350 dentro de un árbol con una cavidad llena de agua, a 3 m de altura del suelo. Éstas observaciones sobre *H horridum* son las primeras en registrarse y coinciden con lo observado por Ariano (2013) en *H. charlesboguert* en Guatemala. Probablemente el hecho de ingresar a pozas de agua tenga finalidades de evasión de predadores, asecho de presas (anfibios), desprendimiento de parásitos (García, comentario personal) o rehidratación, ya que pueden reabsorber agua vía cloaca (Davis y DeNardo 2007).

Osmolalidad

El análisis de osmolalidad en el plasma sanguíneo es una de las maneras más eficaces para identificar la condición hídrica, o grado de hidratación, en la que se encuentra cualquier organismo animal, en humanos existe una compleja red que conecta las funciones osmoregulatorias con la presión sanguínea y el ritmo cardíaco (Charkoudian, et al, 2005), es una respuesta fiel y casi inmediata a las condiciones de hidratación (Glen y Thomas 1970).

Anteriormente se han documentado valores de osmolalidad en mamíferos, aves, anfibios y reptiles (Katz et al, 1986, Beaufrère, et al, 2011, Gray y Erasmus, 1989, DeNardo 2007 y Dallwig, et al, 2010). En su mayoría ha sido estudiado y analizado para cuestiones veterinarias: para prevenir situaciones de deshidratación, para prevenir desplazamientos de fluidos perjudiciales, rehabilitación de especies, e incluso se menciona que es crucial identificar los valores normales y anormales en cualquier caso médico (Dallwig, et al, 2010). Pocos estudios donde se incluye el análisis de la osmolalidad plasmática son enfocados en la conservación o patrones fisiológicos en animales en vida silvestre (Davis y DeNardo 2007 y 2010 y Katz et al, 1986), una de las posibles razones a

esta situación es que no existen suficientes trabajos integrativos entre procesos fisiológicos y ecológicos. Una de las limitantes más importantes a esta situación, es el grado de complejidad para realizar un monitoreo durante tiempos prolongados (Ims, et al, 2008). Por otra parte, las emergencias médicas en mascotas o animales de interés humano atraen la atención de investigaciones fisiológicas solo en casos aislados.

En un estudio realizado por Davis y DeNardo (2010), analizaron los patrones de actividad así como el estado de hidratación en *Heloderma suspectum* en Arizona, los datos obtenidos por los autores son similares a los que se encontraron en el presente estudio, en el sentido que los valores de osmolalidad plasmática se encontraron entre los 280 y 360 mOsm, sin embargo, las características del hábitat donde se realizó el estudio fueron totalmente diferentes (Ver en Davis y DeNardo 2010). Las diferencias ambientales en Arizona y Chamela contrastan severamente, por lo que los datos obtenidos en Chamela aportan valiosa información sobre el comportamiento fisiológico en un ambiente estacional y menos árido a comparación con Arizona. Mientras que en Arizona los valores de osmolalidad no siguen una tendencia con respecto al paso del tiempo (figura 2 A y B), en Chamela, la osmolalidad de los individuos disminuye conforme a la estacionalidad transcurre (mejor estado de hidratación posterior a la temporada de secas), al menos durante el año 2013 (figura 10b).

Temperatura corporal

Estudios previos mostraron que *H. horridum* presenta límites en cuanto a temperatura corporal = 37°C (Beck 2005), lo cual concuerda con los datos obtenidos en los individuos monitoreados, siendo 35.1°C la temperatura corporal máxima registrada durante mayo. No se ha determinado cual sea el mínimo soportable por la especie, se dice que en *H. suspectum*, la temperatura mínima registrada es de 17°C. En el presente estudio, debido a que uno de los individuos permaneció con el sensor de temperatura al final del muestreo, se recuperó la información hasta el verano del 2014, por lo cual, durante la etapa de letargo, las temperaturas corporales fueron registradas por primera vez. La temperatura

mínima que registró el sensor fue de 18 °C durante el mes de enero 2014, periodo durante el cual *Heloderma* permanece inactivo dentro de su refugio.

El grado de hidratación en reptiles puede condicionar la temperatura corporal, como ya se ha mencionado, y fue ciertamente notoria dicha aseveración. Hay una relación positiva ante valores altos de temperatura corporal con valores altos de osmolalidad (figura 18). Sin embargo, esto podría deberse a que las temperaturas más altas se registraron por efectos de la temporada de secas, periodo durante el cual la condición hídrica de los Helodermas no es muy favorable ya que no hay agua disponible en el ambiente.

Como se mencionó anteriormente, el alimento también puede alterar los valores de osmolalidad en el plasma sanguíneo, sin embargo, aun cuando *Heloderma horridum* tiene recursos alimenticios disponibles durante la temporada de secas (huevos de aves y reptiles), no es suficiente para alcanzar un estado de hidratación óptimo (290mOsm, Glen y Thomas 1970), por lo que queda expuesto a deshidratación. Los datos indican que no es sino hasta el comienzo de la temporada de lluvias que la osmolalidad plasmática disminuye drásticamente (figuras 14 y 16). Este comportamiento de la osmolalidad, puede explicarse en el sentido que, el recurso energético para *H. horridum* está disponible en forma de grasa (cola), pero ante el riesgo de colapso al llegar a valores de mOsm críticos (400 mOsm: DeNardo 2010), *Heloderma horridum* depende más de la presencia de agua que de alimento para mantener “normales” los valores de osmolalidad. Los valores iniciales de osmolalidad plasmática comprendían desde los 300 hasta los 350 mOsm y solo se necesitan 20 días para que el agua que puedan almacenar sea consumida en su totalidad.

Estudio experimental

De la misma manera que en los individuos monitoreados en campo, las características morfológicas de individuos en cautiverio no mostraron tener relación alguna con los valores de osmolalidad, esto indica, que los procesos fisiológicos que regulan el estado de hidratación de los individuos no depende del

peso, ni del tamaño. Existió relación entre variables morfológicas como entre peso y LHC y entre peso y volumen de la cola, sin embargo, algunos de los individuos se encontraban sobrealimentados y otros mal alimentados.

A diferencia de los individuos que se monitorearon en Chamela, en cautiverio el grado de hidratación de *H. horridum* no se ve modificado por la temperatura ambiental. En otros reptiles (*Gerrhonotus multicaudatus* Dawson y Templeton 1966) los efectos por aumento en la temperatura son más notorios, a temperaturas ambientales similares (40°C). Esto puede atribuirse a las adaptaciones fisiológicas de cada organismo. Los organismos que se establecieron en ambientes áridos o desérticos han tenido éxito ya que sus demandas metabólicas son muy bajas (Beck 1991). Por esta razón, *Heloderma horridum*, al igual que tortugas de desierto requieren bajos niveles de energía y agua, pueden soportar ambientes con estacionalidad muy marcada y periodos prolongados de sequía, sin importar las variaciones térmicas o hídricas que el ambiente ofrezca.

El éxito de los Helodermas para subsistir en ambientes altamente estacionales dependerá de la capacidad de almacenar energía en forma de grasa en la cola y agua dentro de la vejiga. Desafortunadamente en este estudio no se pudo analizar el contenido dentro de la vejiga de los Helodermas, sin embargo, el grado de hidratación arrojó un perfil explicativo de cómo se comportan sus organismos dependiendo las condiciones del medio y la disponibilidad de agua. El agua, debido a sus particulares y únicas propiedades en procesos bioquímicos, es crucial para la subsistencia de cualquier organismo (Bradshaw, 1997, Coe y Rottenberry 2003), por lo que vale la pena profundizar en los efectos prolongados ante carencia o buena disponibilidad de agua.

Heloderma horridum tiene la capacidad de recorrer grandes distancias en un solo día y estudios sobre la resistencia de la especie, han identificado que pueden mantener su gasto energético y consumo de oxígeno durante largas caminatas (Beck, 1995) mientras que por ejemplo, *Gerrhonotus multicaudatus* una vez que incrementa la temperatura, el consumo de energía y oxígeno incrementa

considerablemente aún sin realizar actividad física (Dawson y Templeton 1966). Esta respuesta o demanda energética podría tener una explicación estratégica ya que, por ejemplo en varanidos (*Varanus exanthematicus*) el mayor consumo energético se da cuando *V. exanthematicus* captura e ingiere una presa (Hicks, et al, 200), igualmente *H. horridum* podría invertir mayor proporción de energía al ingerir una presa (diferente a huevos) de mayor tamaño, ya que el veneno que poseen no actúa de forma inmediata como en vipéridos por ejemplo. También para reproducción o combate, la energía es indispensable, ya que un combate entre machos por hembras o territorio puede prolongarse por horas (Beck, 2005 y observaciones personales). Dentro de los experimentos, lo más cercano a demandas energéticas que se realizó fueron las pruebas de glucosa, siendo notable que para todos los individuos la actividad física aumentaba los niveles de glucosa en la sangre, excepto por los individuos a bajas temperaturas e hidratados (Fig. 19). La actividad física en los experimentos obligó a los Helodermas a liberar mayor cantidad de glucosa en la sangre tras ser sometidos a actividad física durante 30 minutos. Estos datos concuerdan con los descritos por Umminger, en 1977, donde encontró una relación positiva entre la concentración de glucosa y la tasa metabólica durante la actividad física de diversos grupos de vertebrados, incluidos reptiles. Sin embargo, la concentración de glucosa en la sangre de animales en cautiverio puede variar drásticamente por alimentación, nutrición y estado de salud, generando hipoglucemia o hiperglucemia (Kaplan, 2014), y depende generalmente del correcto funcionamiento del páncreas (Campbell, 1996).

Finalmente, encontramos que *H. horridum* es una especie altamente tolerante a cambios de temperatura y de estrés hídrico. Posiblemente sus estrategias fisiológicas son parte del éxito adquirido a lo largo del tiempo para establecerse en ambientes áridos y estacionales. El organismo de *H. horridum*, a diferencia de otras lagartijas, está por encima del nivel de tolerancia a altas o bajas temperaturas, por lo que la dependencia de la ingesta de agua no parece ser tan estrecha (estudio experimental) o no resulta ser tan evidente. Parte de la débil dependencia puede atribuirse a las diversas maneras de adquirir agua en

ambientes agrestes como el BTC durante la temporada de secas, por ejemplo vía cloacal, o ingiriendo grandes presas como nidadas completas de huevos, siendo entonces mayor el reto a superar para la especie, el localizar alimento de manera efectiva, por lo que no se puede atribuir solamente a la ingesta de agua una buena condición hídrica.

CONCLUSIONES

H. horridum es una especie que debido a sus bajas demandas metabólicas de agua y energía, y la baja pérdida de agua, puede subsistir en ambientes áridos y estacionales, ya que su organismo regula el estado de hidratación con ayuda de la vejiga, no solo por la presencia de lluvia como se hipotetizó, y a diferencia de *H. suspectum*, su actividad depende más de la presencia de lluvia.

Otros organismos como ánguidos e iguanas no son tan efectivos para soportar altas temperaturas sin alterar su comportamiento y funciones fisiológicas, por lo que la estrategia de almacenamiento de agua (vejiga) y grasa (cola) son dos estrategias importantes para *H. horridum*. Esto en ambientes áridos como en Sonora, Arizona y selvas bajas como en Chamela, pero vale la pena identificar cómo se dan los procesos regulatorios de agua en los organismos de *Heloderma* en Chiapas o regiones húmedas.

El analizar el grado de osmolalidad de los organismos (al menos en ambientes estacionales y áridos), refleja las condiciones actuales de donde se encuentra(n) y es menos invasivo que otros procedimientos como vaciar el contenido estomacal, además de que tomando una muestra sanguínea y con mejor equipo de laboratorio se pueden analizar diversos niveles como de hormonas, de anticuerpos y células en general para relacionarlo con nuestros datos. Las muestras de este experimento se encuentran congeladas, disponibles y centrifugadas en la estación de Biología Chamela para su análisis.

Al menos para *H. horridum*, la temperatura ambiental no condiciona radicalmente su actividad como en *Anolis* por ejemplo, pueden salir en calor o frío y su hidratación se mantiene ya que regula de manera eficiente sus demandas de agua según las condiciones, sin arriesgarse a deshidratarse. Aunque esta aseveración surge de nuestros experimentos en cautiverio y se realizaron en un periodo de tiempo muy corto.

La mayor actividad de *H. horridum* sí se registró cuando se encuentran mejor hidratados, pero aún si los niveles de hidratación no son óptimos (menor o cercano a 280 mOsm/L) presentan periodos de actividad cortos, la búsqueda de alimento tras una larga vigila puede generar mayores tiempos de forrajeo aún en

la temporada de secas, por lo tanto, es difícil atribuir a un solo factor la actividad de Heloderma.

H. horridum es un buen modelo para monitoreo durante tiempos prolongados aunque al ser una especie que soporta cambios drásticos de temperatura y la carencia temporal de agua y alimento, lo vuelven una especie no tan sensible a cambios ambientales, por lo que para estudios sobre efectos de alteraciones en la temperatura por el calentamiento global, su respuesta no será inmediata y podrá tolerar altas o bajas temperaturas a diferencia de otros organismos. Sus estrategias más bien ayudan a entender por qué otras especies son más sensibles a cambios ambientales y por qué la subsistencia de *H. horridum* a lo largo de miles de años en ambientes áridos.

La técnica de monitoreo y muestreo utilizada para este estudio, puede ser aplicada en programas de reintroducción de especies que requieran atención, ya que en ocasiones el ambiente per se no asegura la supervivencia de alguna especie, sino también la condición fisiológica de sus organismos, la disponibilidad de recursos y las interacciones intra e interespecíficas. Incluso en cautiverio realizar pruebas de osmolalidad y glucosa, ayudarían a mantener en mejor condición y salud los organismos cautivos.

LITERATURA CITADA

- Arau, M. B; W.Thuiller y R. G. Pearson. 2006. Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe. *Journal of Biogeography*
- Beaufrère, H., DrMedVet, Acierno, M., Mitchell, M., Sanchez-Migallon, D., Bryant, H. y Tully, T.. 2011. Plasma Osmolality Reference Values in African Grey Parrots (*Psittacus erithacus erithacus*), Hispaniolan Amazon Parrots (*Amazona ventralis*), and Red-fronted Macaws (*Ara rubrogenys*). *Journal of Avian Medicine and Surgery* 25(2):91-96. 2011
- Banks,P.B. y C.R. Dickman. 2000. Effects of winter food supplementation on reproduction, body mass, and number of small mammals in montane Australia. *Can J Zool* 78: 1775-1783
- Beck, D. 1991. Physiological and behavioral consequences of reptilian life in the slow lane: Ecology of beaded lizards. Tesis de doctorado, Tucson: University of Arizona, USA
- Beck, Daniel D. 2005. Biology of Gila Monsters and Beaded Lizards (*Organisms and Environments*). University of California Press
- Beck, D. y C.H. Lowe. 1991. Ecology of the beaded lizard *Heloderma horridum* in a tropical dry forest in Jalisco, Mexico. *Journal of Herpetology* 25:395-406
- Beck, D., Dohm, M. R., Garland, T., Ramírez-Bautista, A. y Lowe, Ch. H. 1995. Locomotor Performance and Activity Energetics of Helodermatid Lizards. *COPEIA*. 3: 575-585.
- Blouin-Demers, G. y P.J.Weatherhead. 2001. An experimental test of the link between foraging, habitat selection and thermoregulation in black rat snakes *Elaphe obsoleta obsoleta*. *J Anim Ecol* 70:1006–1013.
- Boguert, C. M. and Martín Del Campo. 1958 The Gila monster and its allies; the relationships, habits, and behavior of the lizards of the family Helodermatidae
- Boutin, S. 1990. Food supplementation experiments with terrestrial vertebrates: patterns, problems, and the future. *Can J Zool* 68:203–220.
- Bradshaw, S. D. 1997. Homeostasis in Desert Reptiles (ed. J. L. Cloudsley Thompson). Berlin: Springer-Verlag.
- Bullock, S. 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of Mexico. *Arch. Met.Geaph. Biocl., Ser B* 36:297-316.
- Campbell, TW. 1996. Clinical Pathology, in Reptile Medicine and Surgery, DR Mader, editor. WB Saunders.

- Charkoudian, N., Eisenach, M., Joyner, M., Roberts, K. y Wick, D. 2005. Interactions of plasma osmolality with arterial and central venous pressures in control of sympathetic activity and heart rate in humans *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* Dec 2005,289(6)H2456-H2460;DOI: 10.1152
- Clusella-Trullas, S y Chown, L. 2014. Lizard thermal trait variation at multiple scales: a review *Journal of Comparative Physiology*. Vol. 184, Issue 1, pp 5-21
- Coe, S. J. and Rottenberry, J. T. (2003). Water availability affects clutch size in a desert sparrow. *Ecology* 12, 3240-3249.
- Dallwig, R., Mitchell, M.A., Aciemo, M. 2010. Determination of Plasma Osmolality and Agreement Between Measured and Calculated Values in Healthy Adult Bearded Dragons (*Pogona vitticeps*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*: June-September 2010, Vol. 20, No. 2-3, pp. 69-73
- Daltry, J.C., T. Ross, R.S. Thorpe, y W.Wuster. 1998. Evidence that humidity influences snake activity patterns: a field study of the Malayan pit viper *Calloselasma rhodostoma*. *Ecography*
- Davis, J. R., Taylor, E. N. y DeNardo, D. 2008. An automated temperature-based option for estimating surface activity and refuge use patterns in free-ranging animals. *J. Arid Envir.* 72:1414-1422
- Davis J. R. y Dale F. DeNardo. 2007 The urinary bladder as a physiological reservoir that moderates dehydration in a large desert lizard, the Gila monster *Heloderma suspectum*. *J. Exp. Biol.* 210:1472-1480
- Davis, J. R. y Dale F. DeNardo. 2009 Water supplementation affects the behavioral and physiological ecology of Gila Monsters (*Heloderma suspectum*) in the Sonoran Desert.
- Davis ,J. R. and Dale F. DeNardo. 2010. Seasonal Patterns of Body Condition, Hidration State, and Activity of Gila Monsters (*Heloderma suspectum*) at a Sonoran Desert Site *Journal of Herpetology*. 44:1 83-93
- Llusia, D., R. Márquez; F. Beltrán; M. Benítez y P. do Amaral. 2013. Calling behaviour under climate change: geographical and seasonal variation of calling temperatures in ectotherms. *Global Change Biology*. Vol. 19, Issue 9, pages 2655–2674,
- Dunham, A.E. 1978. Food availability as a proximate factor influencing individual growth rates in the iguanid lizard *Sceloporus merriami*. *Ecology* 59:770–778.

- Eifler, D.A. 1996. Experimental manipulation of spacing patterns in the widely foraging lizard *Cnemidophorus uniparens*. *Herpetologica* 52:477–486.
- Forsythe, P., Flitz, B., Mullin, S. 2004. Radio telemetry and post-emergent habitat selection of neonate box turtles (Emydidae: *Terrapene carolina*) in central Illinois. *Herpetological Review*. 35(4): 333-335. [62371]
- García-Oliva, F.; E. Ezcurra y L. Galicia. 1991. Pattern of rainfall distribution in the central pacific coast of Mexico, *Geografisika Annaler*, 73,A, pp. 179-186.
- García, A. 2008. The use of habitat and time by lizards in a tropical deciduous forest in western Mexico, *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 43: 107 -115
- García-Oliva, F., E. Ezcurra y L. Galicia. 1991. Pattern of rainfall distribution in the Central Pacific Coast of Mexico. *Geogr. Ann. A*. 73:179-186
- García, A., y Ceballos, G. 1994. Guía de campo de los reptiles y anfibios de la costa de Jalisco, México. Fundación Ecologica Cuixmala - Instituto de Biología, UNAM, México, D.F.
- García-Aguayo, A., M. Valtierra-Azotla, A. Cuarón y G. Ceballos. 2010. Tendencias poblacionales de *Crocodylus acutus* en condiciones de protección en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, México. *Revista Latinoamericana de Conservación*, 1(2):52-62
- Gienger, C.M. y Tracy, C. 2008. Ecological interactions between Gila monsters (*Heloderma suspectum*) and desert tortoises (*Gopherus agassizii*). *Southwestern Naturalist* 53(2):265-268.
- Gienger, C.M; Beck, D; Sabari, N & Stumbaugh, D. 2002. Dry season habitat use by Lizards in a tropical deciduous forest of Western México. *Journal of herpetology* 36:487-490.
- González, S. J. y Unzón, Aideé. 2011. Evaluación sensorial de huevos de codorniz en conserva y composición nutrimental. *REDVET*. 12:Nº 8 – <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080811.html>
- Gray, D. y Erasmus, T. 1989. Control of plasma arginine vasotocin in Kelp gulls (*Larus dominicanus*): Roles of osmolality, volume, and plasma angiotensin II. *General and Comparative Endocrinology*. 74:1 pp 110-119
- Grigg, G. y Beard, L. 1999. Application of T₂ Radio telemetry to studies of the Physiological ecology of Vertebrates. *Proceedings of the International Conference on Biotelemetry*, Mayo 1999. 15, pp 535-551

- Güizardo-Rodríguez, M., C. Ballesteros-Barrera, G. Casas-Andreu, V. Barradas-Miranda, O. Téllez-Valdés, e I. Salgado-Ugarte, (2012): The Impact of Global Warming on the Range Distribution of Different Climatic Groups of *Aspidoscelis costata costata*. *Zoological science* 29:934-943.
- Gvoždík, L. 2012. Plasticity of preferred body temperatures as means of coping with climate change? *Biology letters*. vol. 8 no. 2 262-265
- Hatton, G. y Bennett, T.. 1970. 487 Satiation of thirst and termination of drinking: Roles of plasma osmolality and absorption. *Physiology & Behavior*. Volume 5, Issue 4, April 1970, Pages 479
- Hicks, JW, Wang T y Bennett AF. 2000. Patterns of cardiovascular and ventilatory response to elevated metabolic states in the lizard *Varanus exanthematicus*. *J Exp Biol*. 2000 Aug;203 Pt 16:2437-45.
- Hillman, P. E. 1969. Habitat specificity in three sympatric species of *Ameiva* (Reptilia: Teiidae). *Ecology* 50:476–481.
- Ims, R. A.; Henden, J. y Killengreen, S. 2008. Collapsing population cycles. *Trends in Ecology and Evolution* Vol.23 No.2
- John, M. Pandolfi, . Connolly, S. Dustin J. Marshall y Anne L. Cohen Projecting Coral Reef Futures Under Global Warming and Ocean Acidification. *Science*. 22 July 2011: 418-422.
- Kaplan, M. 2014. Hypoglycemia and Hyperglycemia in Reptiles, *Herp Care Collection* página web: <http://www.anapsid.org/diabetes.html>
- Katz, U., Pagi, D. y Degani, G. 1986. Plasma osmolality, urine composition and tissue water content of the toad *Bufo viridis* laur. in nature and under controlled laboratory conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 85:4 pp 703-213
- Kreiter, N.A. y D.H. Wise. 2001, Prey availability limits fecundity and influences the movement pattern of female fishin spiders. *Oecologia* 127: 417-424
- Ladyman, M. y D. Bradshaw. 2003. The influence of dehydration on thermal preferences of the Western tiger snake, *Notechis scutatus*. *J Comp Physiol B* 173:239–246.
- Lister, B., y García, A. 1992. Seasonality, predation and, behavior of a mainland anole. *Journal of Animal Ecology* 61:717-733.
- Lorenzon, P., J. Colbert, A. Oppliger, y H. John-Alder. 1999. Effect of water constraint on growth rate, activity, and body temperature of yearling common lizard (*Lacerta vivipara*). *Oecologia* 118:423–430.

- Martínez, M. A., Jokin de Irala y F. J. Faulín Fajardo. 2001. Correlación y regresión. *Bioestadística Amigable*. Ed: Díaz de Santos. 383-444.
- Migaki, George, E. R. Jacobson and H. W. Casey. 1984. Fungal diseases in reptiles. In: Hoff et al., Diseases... (q.v.): 183-204, figs. 1-7.
- Noguera, F. A.; J. H. Vega Rivera; A. N. García Aldrete; M. Quesada. Editores. 2002. Historia Natural de Chamela. Primera Edición. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F
- Physiol Biochem Zool. 2009 Nov-Dec;82(6):739-48
- Ramírez, J., Añorve, J., Contreras, E., Jaimez, J. y Romo, C. 2010. Efecto de la suplementación con aceite de hígado de bacalao en la composición química de huevos de gallinas ponedoras. XII congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos. Gto, Gto.
- Reiserer, R. Gordon, G. y Beck, D. 2013. Taxonomic reassessment and conservation status of the beaded lizard, *Heloderma horridum* (Squamata: Helodermatidae). *Amphib. Reptile Conserv.* 7 (1): 75-96.
- Ricklefs, R. 1976. Growth rates of birds in the humid new world tropics. *international journal of avian science* 118,2 pp 179-207
- Schoech S.J. y T.P. Hahn. 2007. Food supplementation and timing of reproduction: does the responsiveness to supplementary information vary with latitude? *J Ornithol* 148:625–632
- Scott, D. M., Brown D., Mahood S., Denton B., Silburn A. y Rakotondraparany F. 2005. The impacts of forest clearance on lizard, small mammal and bird communities in the arid spiny forest, southern Madagascar. *Biological Conservation* 127: 72-87.
- Sinervo, B., F. Méndez-de-la-Cruz, D. Miles, B. Heulin, E. Bastiaans, M. Villagrán-Santa Cruz, R. Lara-resendiz, N. Martínez-Méndez, M. Calderón-espinoza, R. Meza-Lázaro, H. Gadsden, J. Avila, M. Morando, I. De la Riva, P. Victoriano, C. Duarte, N. Ibargüengoytía, C. Aguilar, M. Massot, V. Lepetz, T. Okasanen, D. Chapple, A. Bauer, W. Branch, J. Clobert, y J. Sites. (2010): Erosion of Lizard Diversity by Climate Change and Altered Therman Niches. *Science*, 328,894.
- Stamps, J. y S. Tanaka. 1981. The influence of food and water on growth rates in a tropical lizard (*Anolis aeneus*). *Ecologia* 62:33–40.
- Tozetti, A.M. Uso do ambiente, atividade e ecologia alimentar da cascavel (*Crotalus durissus*) em área de cerrado na região de Itirapina. [Thesis] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006
- Tozetti AM, Martins M. Habitat use by the South American rattlesnake (*Crotalus durissus*) in southeastern Brazil. *J Nat Hist.* 2008;42(19-20):1435- 44

- Trejo-Vázquez, I. 1998. Distribución y diversidad de las selvas bajas de Mexico: relaciones con el clima y el suelo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de Mexico. Mexico, D.F.
- Umminger, B. 1997. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Relation of whole blood sugar concentrations in vertebrates to standard metabolic rate
56(4):457
- Valenzuela, D. y G. Ceballos. 2000. Habitat selection, home range, and activity of the white-nosed coati (*Nasua narica*) in a Mexican tropical dry forest. *Journal of Mammalogy*. 2000, 81:3 pp. 810-819.
- Vanhooydonck, B. and R. Van Damme. 1999. Evolutionary relationships between body shape and habitat use in lacertid lizards. *Evol. Ecol. Res.* 1: 785-805
- Victor, J. Jaramillo; J. B. Kauffman; L. Rentería Rodríguez; D. Cummings; L.J. Ellingson. 2003. Biomass, Carbon, and Nitrogen Pools in Mexican Tropical Dry Forest Landscapes. *Ecosystems* 6:609-629