
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



**“Evaluación de bioindicadores enzimáticos de estrés y contaminación
en especies del género *Sceloporus* (Familia: Phrynosomatidae),
en sitios con distintos impactos antropogénicos”**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
PRESENTA
PAMELA GONZÁLEZ DEL PLIEGO CASTAÑEDA

Las Agujas, Zapopan, Jalisco a 17 de Diciembre de 2009.



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

Coordinación de carrera de Licenciado en Biología

C. Pamela González del Piñón Castañeda

PRESENTE

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad del TESIS E INFORMES opción TESIS con el título "Evaluación de bioindicadores enzimáticos de estrés y contaminación en especies del género *Sceloporus* (Familia: Phrynosomatidae), en sitios con distintos impactos antropogénicos"

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicho trabajo al Dr. Carlos Javier Aguilera González y como Asesores al Dr. David Lazzano Villarreal y al Biol. Margarito Mora Núñez.

Sin más por el momento quedo a sus cordiales salud.

ATENTAMENTE
 CENSA Y TRABAJA",
 "2009, Año del Bicentenario de Charles Darwin"
 Los Aguilera, Jalisco, Jalisco, el 10 de diciembre de 2009

COMITE DE TITULACION

BIOL. DR. JIMENA ADRIANA QUIROZ ROCHA
 PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION



BIOL. MARGARITO MORA NÚÑEZ
 SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACION

Dra. Georgina Adriana Quiroz Rocha
 Presidente del Comité de Titulación
 Licenciatura en Biología
 CUCBA
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad TESIS E INFORMES, opción TESIS con el título:

“Evaluación de bioindicadores enzimáticos de estrés y contaminación en especies del género *Sceloporus* (Familia: Phrynosomatidae), en sitios con distintos impactos antropogénicos”

que realizó la pasante Pamela González del Pliego Castañeda, con número de código B04010264, consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, a 8 de Diciembre de 2009

Dr. Carlos Javier Aguilera González
 Director del trabajo

Dr. David Lazcano Villarreal
 Asesor externo

Biol. Margarito Mora Núñez
 Asesor interno

COMITE DE
 TITULACION



Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Dr. Alberto Morales V.		09/15/09
Dr. Rocío Riquelme		09/14/09
Dr. Bertha Guzmán V.		08/01/2009
Supl. Biol. Margarite Mora N		08/22/2009

[Handwritten notes and signatures]
 J. P. D. / 10/10/09

El presente trabajo se llevó a cabo en el
Laboratorio del Grupo de Ecofisiología del
Departamento de Ecología y en el Laboratorio de
Herpetología de la Facultad de Ciencias Biológicas de
la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la
dirección del

Dr. Carlos J. Aguilera González

Dedicado a las lagartijas,
que con su vida o su captura,
hicieron posible este trabajo.

Agradecimientos

A la fuerza que rige el universo, por permitirme ser parte de la perfección de la vida.

A mi hermana del alma. Porque es la mejor compañera que habría podido elegir en esta existencia, porque es la mejor persona que conozco en esta vida y es mi confidente predilecta. Gracias porque siempre está conmigo incondicionalmente y es mi persona favorita del mundo. Muchas gracias por formar parte de mi vida y ser mi mejor amiga. Te amo.

A mis padres (por orden alfabético). A mi madre Aída porque su amor incondicional sobrepasa mi entendimiento y siempre está para mí, siendo una excelente guía y una fantástica amiga. Porque su inteligencia y sus logros, me exigen ser mejor. Gracias por todas las enseñanzas, por su manera de ver la vida y enseñarme a disfrutar cada instante, por ser una maravillosa guía en esta existencia y por ser parte de mi vida. Muchas gracias.

A mi padre Juan Armando, porque me ama incondicionalmente. Porque ha sabido ser más que un padre, ha sabido ser un amigo, brindándome confianza y varios de los momentos más valiosos de mi vida. Porque su apoyo incondicional ha sido constante a lo largo de toda mi vida, incluyendo para lograr esta tesis. Porque su inteligencia, raciocinio y aptitud me hacen querer ser mejor. Por su paciencia sobre mi impaciencia. Muchas gracias.

Al Dr. Carlos Aguilera por ser mi guía, por su tiempo de revisión exhaustiva y minuciosa y estar pendiente de este trabajo. Gracias por su extenso apoyo y sabiduría compartida, por haber sido un excelente director y su paciencia con mi obsesividad. También, en sí, al laboratorio de Ecofisiología por permitirme ser parte de ese fantástico crisol de investigación. Muchas gracias.

Al Dr. David Lazcano porque gracias a él fue posible el enlace a esta investigación. Gracias por sus consejos, pláticas, apoyo, tiempo y escucharme en todo momento. También gracias al laboratorio de Herpetología, por compartir sus libros e investigación. Gracias.

A Tito, por su apoyo y su amistad. Por ser un excelente maestro, compartir conmigo su sabiduría y por tener siempre las puertas abiertas y los oídos atentos. Por su apoyo como sinodal. Muchas gracias.

A mis sinodales (por orden alfabético) Dr. Alberto Morales, Dr. Ramón Reynoso y el Dr. Sergio Guerrero por su tiempo, consejos y revisiones. Por mejorar esta investigación y por interesarse en mi formación como profesionalista. Gracias.

A la Dra. Georgina Quiroz por su gran ayuda e inmenso apoyo. Por su tiempo y sus consejos. Muchas gracias.

Muy especialmente a Javier Banda, por toda su ayuda en la captura de los organismos. Muchísimas gracias por la ayuda, las lecciones, la compañía y la amistad.

Un agradecimiento muy especial a Julio por ser tan buen maestro y llevarme paso a paso con toda la paciencia del mundo en el campo del laboratorio. Gracias por tus instrucciones, tu ayuda, tus consejos, guía y por tu amistad.

A Iorsh porque dio las herramientas para comenzar la primera parte de este trabajo. Gracias por todos tus consejos, tu ayuda y por ser un excelente amigo.

A Margarita por haber sido mi guía en Chipinque y compartir conmigo secretos de campo. Por su revisión, consejos y amistad. Muchas gracias.

Al Dr. Gustavo Ponce por todo su tiempo, apoyo y guía. Gracias.

A Chava, Jero y Nelson, por su apoyo ya sea en campo, redacción o laboratorio. Gracias por su amistad. A Raúl y Luis porque su apoyo me permitió avanzar de una manera excepcional. Gracias.

A toda mi familia, porque siempre me han mostrado un mundo lleno de amor. Gracias por permitirme crecer en su mundo, sus abrazos y su amor. A mis ti@s (por orden alfabético) Armando, Ivette, Lalo, Lilia, Maruca, Silvia y Susano porque siempre están al pendiente de mí, por expresarme su amor y cariño y estar conmigo en los momentos importantes de mi vida. A mi abuelita Celia, que estuvo presente toda mi vida con verdadero interés sobre cada aspecto de mi vida. Muchas gracias.

A Jans, por motivarme en la pronta culminación de este trabajo, su apoyo, y su amistad. Gracias.

A todos mis maestros en el trayecto de mi vida, porque cada uno de ellos me ha inculcado conocimiento tanto académico como de la vida. Gracias a todos.

A mis amigas del alma (por orden alfabético) Angie, Bárbara, Cris, Fer, Gretel, Luisa, Romy, Rosaura y Sandra, porque a pesar de la distancia siempre estuvieron conmigo, con su apoyo, consejos, cariño y amistad. Muchas gracias. A mis amigos queridos (por orden alfabético) Adrián, Alex, Álvaro y Héctor, porque estuvieron conmigo todo el tiempo. Por su cariño expresado y su apoyo incondicional. Gracias por su amistad. A todos mis amigo@s porque es importante el balance en la vida, y todos ustedes se lo dan. Muchas gracias.

A toda persona que ha contribuido a ser lo que soy hoy en día. Muchas gracias.

Índice

Índice	i
Lista de Figuras	iv
Lista de Tablas	vi
ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
Revisión de enzimas utilizadas	5
Esterasas	5
Hidrolasas de Éster Carboxílico	6
Fosfatasas	7
Transferasas	8
Oxidoreductasas	8
Caracterización de las áreas de estudio	9
Parque Ecológico Chipinque	9
Parque Industrial El Carmen	11
Especies estudiadas	13
Género <i>Sceloporus</i>	13
<i>Sceloporus torquatus binocularis</i> Dunn 1936	14
<i>Sceloporus serrifer cyanogenys</i> Cope 1885	14
JUSTIFICACIÓN	16
OBJETIVOS	16
GENERAL	16
PARTICULARES	16
HIPÓTESIS	17
METODOLOGÍA	17
Trabajo de Campo	17
Método de captura	17
Obtención de muestras	18
Trabajo de laboratorio	18

Elaboración de extractos enzimáticos	18
Análisis enzimático	19
Concentración de proteína en extractos enzimáticos	19
Acetilcolinesterasa	19
Butirilcolinesterasa.....	19
Carboxilesterasas	20
Fosfatasas alcalinas	20
Fosfatasas ácidas.....	20
Glutación-S-Transferasa	20
Superóxido Dismutasa.....	21
Comprobación en especie del género <i>Sceloporus</i>	21
Análisis estadístico	22
RESULTADOS	23
Análisis enzimático en <i>Sceloporus consobrinus</i>	31
Acetilcolinesterasa	31
Butirilcolinesterasa.....	33
Carboxilesterasa	34
Fosfatasas alcalinas	35
Superóxido Dismutasa.....	36
Análisis enzimático en <i>S. serrifer</i> y <i>S. torquatus</i>	37
ACETILCOLINESTERASA (AChE).....	38
BUTIRILCOLINESTERASA (BChE)	39
CARBOXILESTERASA (CxE)	40
FOSFATASAS ÁCIDAS (ACP)	41
FOSFATASAS ALCALINAS (ALP).....	42
SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD).....	43
GLUTATIÓN-S-TRANSFERASA (GST)	44
LONGITUD	45
PESO	46
DISCUSIÓN	49
ALTITUD	49
TEMPERATURA Y ESTADO DEL TIEMPO	49
HUMEDAD RELATIVA	51

HORAS DE ACTIVIDAD	51
VEGETACIÓN Y SUSTRATO	51
VIENTO	53
LOCALIDADES	53
ESPECIES.....	53
GÉNEROS.....	54
ESTADIOS	54
<i>Sceloporus consobrinus</i>	54
<i>Sceloporus serrifer</i> y <i>S. torquatus</i>	56
Colinesterasas	56
Carboxilesterasas	61
Fosfatasas.....	62
Superóxido Dismutasa.....	65
Glutación S-Transferasa.....	67
CONCLUSIONES.....	71
RECOMENDACIONES	72
REFERENCIAS	73
ANEXOS.....	92
Anexo 1 Absorbancia para Acetilcolinesterasa en distintos órganos de <i>Sceloporus consobrinus</i>	92
Anexo 2	94
Absorbancia para Butirilcolinesterasa en distintos órganos de <i>Sceloporus consobrinus</i> . 94	
Anexo 3 Absorbancia para Carboxilesterasa en distintos órganos de <i>Sceloporus consobrinus</i>	97
ANEXO 4 Imágenes de <i>Sceloporus</i>	99

Lista de Figuras

Figura 1. Localización geográfica del Parque Ecológico Chipinque-----	9
Figura 2. Localización geográfica del municipio El Carmen -----	12
Figura 3. Distribución de organismos de <i>Sceloporus</i> colectados según el rango de altitud en el que se encontraron-----	23
Figura 4. Rangos de temperatura en los que fueron colectados los organismos-----	23
Figura 5. Rangos de temperatura de los micrositios donde fueron encontrados los organismos de <i>Sceloporus</i> -----	24
Figura 6. Rangos de humedad relativa del ambiente al momento de encontrar los organismos de <i>Sceloporus</i> -----	24
Figura 7. Proporción de los individuos de <i>Sceloporus</i> capturados categorizados en los rangos de horas del día en los que se realizaron las colectas -----	25
Figura 8. Número de individuos colectados, bajo las diferentes condiciones climatológicas que se registraron al momento de la captura de cada individuo de <i>Sceloporus</i> -----	25
Figura 9. Porcentaje de organismos de <i>S. serrifer</i> encontrados en los diferentes sustratos -----	26
Figura 10. Porcentaje de organismos de <i>S. torquatus</i> colectados en los diferentes sustratos en el Parque Chipinque -----	26
Figura 11. Proporción de los organismos de <i>Sceloporus</i> colectados, categorizados en rangos subjetivos del porcentaje de fuerza del viento que se apreciaba al momento de realizar cada captura -----	27
Figura 12. Proporción de los organismos de <i>Sceloporus</i> colectados, de acuerdo al tipo de vegetación en que se encontraron en el Parque Chipinque -----	27
Figura 13. Proporción de la distribución de los organismos colectados en el Parque Chipinque dependiendo de la vereda -----	28
Figura 14. Proporción de individuos colectados en cada localidad con respecto a la totalidad de individuos colectados durante todo el estudio-----	28
Figura 15. Proporción y número de individuos colectados de cada especie, con respecto a la totalidad de individuos colectados durante toda la investigación -----	29
Figura 16. Proporción y número de individuos de cada género, con respecto a la totalidad de individuos colectados durante toda la investigación -----	29
Figura 17. Proporción y número de individuos colectados según el estadio, con respecto a la totalidad de individuos colectados durante toda la investigación -----	29
Figura 18. Número de individuos colectados ubicados en categorías según los factores de: localidad, especie, estadio y género. -----	30
Figura 19. Proporción y número de individuos perteneciente a cada bloque. -----	30
Figura 20. Absorbancia durante el tiempo de actividad de AChE en distintos tejidos -----	31
Figura 21. Absorbancia durante el tiempo de actividad de AChE en cola -----	32

Figura 22. Comparación de la actividad enzimática de AChE en diferentes tejidos-----	32
Figura 23. Absorbancia durante el tiempo de actividad de BChE en distintos tejidos-----	33
Figura 24. Absorbancia durante el tiempo de actividad de BChE en cola -----	33
Figura 25. Absorbancia durante el tiempo de actividad de CxE en varios tejidos -----	34
Figura 26. Absorbancia durante el tiempo de actividad de CxE en cola -----	35
Figura 27. Comparación de la actividad enzimática de ALP en diferentes tejidos-----	35
Figura 28. Comparación de la actividad enzimática de SOD en diferentes tejidos-----	36
Figura 29. Gráfica de los niveles de la actividad de AChE de los diferentes bloques -----	38
Figura 30. Gráfica de los niveles de la actividad de BChE de los diferentes bloques -----	39
Figura 31. Gráfica de los niveles de la actividad de CxE de los diferentes bloques -----	40
Figura 32. Gráfica de los niveles de la actividad de ACP de los diferentes bloques-----	41
Figura 33. Gráfica de los niveles de la actividad de ALP de los diferentes bloques -----	42
Figura 34. Gráfica de los niveles de la actividad de SOD de los diferentes bloques-----	43
Figura 35. Gráfica de los niveles de la actividad de GST de los diferentes bloques -----	44
Figura 36. Gráfica de la media de la longitud de los individuos de cada uno de los bloques -----	45
Figura 37. Gráfica de la media del peso de los individuos de cada uno de los bloques-----	46
Figura 38. Gráfica de la media del porcentaje de la longitud de la cola con respecto a la longitud hocico-cloaca en individuos con cola regenerada y no regenerada de cada uno de los bloques -----	47
Figura 39. Medias del porcentaje de la longitud de la cola con respecto a la longitud hocico-cloaca en individuos con cola jamás regenerada de cada uno de los bloques -----	48
Figura 40. Medias del porcentaje del ancho de la base de la cola con respecto a la longitud hocico-cloaca de cada uno de los bloques -----	48

Lista de Tablas

Tabla 1. Distribución de la superficie del municipio de El Carmen de acuerdo a su uso.....	12
Tabla 2. Distribución de la actividad enzimática en un sistema de bloques.....	37
Tabla 3. Valores de correlación entre el tiempo con respecto a la absorbancia tomados cada minuto hasta seis minutos, durante el tiempo de actividad de AChE, BChE y CxE	55
Tabla 4. Valores de correlación entre la temperatura ambiental y la actividad enzimática de los individuos del Parque Chipinque y El Carmen	59
Tabla 5. Valores de correlación entre la longitud y el peso respecto a la actividad enzimática en el total de individuos colectados de ambas especies en ambos sitios de muestreo	59
Tabla 6. Valores de correlación entre el horario de colecta respecto a la actividad enzimática en el total de individuos colectados de ambas especies en ambos sitios de muestreo	60

ABREVIATURAS

\bar{x} : media aritmética	mM: miliMolar
μL : microlitro	msnm: metros sobre el nivel del mar
AChE: Acetilcolinesterasa	mts: metros
ACP: Fosfatasa ácida	N.L.: Nuevo León
ALP: Fosfatasa alcalina	N: número de individuos
ANOVA: Análisis de varianza	nm: nanómetro
B: bloque	OP: organofosforado
BChE: Butirilcolinesterasa	p: probabilidad
CB: carbamatos	prot.: proteína
CDNB: 1-cloro-2, 4-dinitrobenzeno	PBS: Amortiguador salino fosfatado
Che: Colinesterasa	PCB: bifenilos policlorados
CSH: Hembras de <i>Sceloporus serrifer cyanogenys</i> de El Carmen	pH: potencial de hidrógeno
CSM: Machos de <i>S. serrifer cyanogenys</i> de El Carmen	ppb: partes por billón
CxE: Carboxilesterasa	ppm: partes por millón
dil.: dilución	PROD: pentoxiresorufin-O-dietilasa
DTNB: Ácido Ditionitrobenzóico	PSH: Hembras de <i>S. serrifer cyanogenys</i> del Parque Chipinque
e.g.: ejemplo	PSM: Machos de <i>S. serrifer cyanogenys</i> del Parque Chipinque
EC: número dado a cada enzima por la comisión de enzimas	PSM: Machos de <i>S. torquatus binocularis</i> del Parque Chipinque
EROD: etoxiresorufin-O-dietilasa	PTH: Hembras de <i>S. torquatus binocularis</i> del Parque Chipinque
F: valor de la variación entre grupos	r: coeficiente de correlación
gl: grados de libertad	R: replicado
GPx: glutatión peroxidasa	ROS: especies reactivas de oxígeno
GST: Glutatión S-Transferasa	rpm: revoluciones por minuto
H ₂ O: agua	<i>S. t.</i> : <i>Sceloporus torquatus</i>
H ₂ O ₂ : peróxido de hidrógeno	<i>S.</i> : <i>Sceloporus</i>
HBCDD: Hexabromociclododecano	SOD: Superóxido Dismutasa
HCL: Ácido Clorhídrico	sp.: especie
HR: humedad relativa	SPSS: Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales
hrs.: horas	TDC: Tejido distal de la cola
HSD: media armónica	tris: (Hidroximetil) Aminometano
INEGI: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática	V: volumen
km/hr: kilómetros por hora	Venz: volumen de muestra analizado
Km: Constante de Michaelis	Vmax: velocidad máxima
km: kilómetro	Vs.: versus
LCC: longitud cloaca-cola	Δ : delta
LHC: longitud hocico-cloaca	ϵmM : coeficiente de extinción de CDNB conjugado a 340 nm
ml: mililitros	
mm: milímetros	

RESUMEN

El continuo desarrollo poblacional ha ocasionado un excesivo impacto en las especies de reptiles que pertenecían a los sitios ahora urbanizados. Encargándose el hombre de liberar contaminantes al ambiente, y provocar que sitios antes prístinos se vuelvan sitios impactados. Sin embargo, no se tiene cuantificación del impacto provocado en las especies. La utilización de tejido de cola en lagartijas para cuantificar bioindicadores de estrés y contaminación en reptiles es una nueva metodología que se plantea en el presente trabajo. Se realizó la medición de la actividad enzimática en tejido de la cola de *Sceloporus consobrinus* y se comparó con los niveles de actividad en los principales blancos utilizados en este tipo de estudios (hígado y plasma). Se encontró niveles adecuados de actividad AChE, BChE, CxE, ALP y SOD, estableciendo que el tejido de la cola de lagartijas puede ser un material propicio para el monitoreo de bioindicadores bioquímicos. Bajo esta premisa, se realizó una comparación de bioindicadores enzimáticos (AChE, BChE, CxE, ACP, ALP, GST y SOD) en *Sceloporus serrifer* y *Sceloporus torquatus* de dos localidades suburbanas del área metropolitana de Monterrey, N.L., siendo un sitio evidentemente impactado (Parque Industrial El Carmen) y un sitio protegido (Parque Ecológico Chipinque). El nivel de actividad de AChE entre estos sitios no presentó diferencias significativas. La actividad BChE y ACP a pesar de presentar algunas variaciones, no presentaron diferencias entre los sitios. Sin embargo, los niveles de actividad CxE, ALP, SOD, y GST mostraron diferencias significativas entre estos sitios. Las colinesterasas (AChE y BChE) al ser buenos indicadores de exposición a plaguicidas, sugieren que en los sitios estudiados no se presentan estos contaminantes. Mientras que las enzimas de detoxificación y/o estrés oxidativo, que exhibieron una separación radical entre los sitios de muestreo, son generalmente indicadores de contaminantes de tipo metales pesados y/o hidrocarburos, los cuales estarían evidentemente presentes en sitios como el Parque Industrial. Concluyendo que el tejido de la cola de lagartijas puede ser un material propicio para el monitoreo de bioindicadores bioquímicos; las especies del género *Sceloporus* pueden ser especies centinela de estrés y contaminación ambiental; la población de *Sceloporus serrifer* en el Parque Industrial El Carmen está sometida a un estrés ambiental derivado de contaminantes de tipo metales pesados y/o hidrocarburos; y que la comparación de parámetros bioquímicos entre poblaciones utilizando al menos un sitio prístino, como el Parque Ecológico Chipinque, permite contar con una referencia de los bioindicadores utilizados.

INTRODUCCIÓN

El hábitat natural de especies en el mundo ha ido reduciéndose y deteriorando debido al acelerado crecimiento poblacional, ocasionando que el hombre siga acaparando territorios ocupados por la diversidad de especies ahí residentes y trayendo consigo destrucción de hábitats y generación de productos contaminantes.

A pesar de que la gente a veces logra compartir ese tan anhelado espacio con otras criaturas, no se sabe el coste de las afecciones causadas a la fauna ahí afincada, especialmente a los reptiles.

La información referente al análisis de permutaciones de la acción enzimática provocada por contaminantes ambientales en reptiles es muy escasa, siendo extremadamente pocos los trabajos en hábitats alterados que se han realizado enfocados a la variación de la actividad de enzimas en reptiles.

Es necesario realizar estudios que comprueben científica y cuantitativamente las repercusiones que el hombre, ya sea directa o indirectamente, está provocando en las especies que han sido obligadas a vivir en áreas alteradas, tanto reduciendo sus espacios como perturbando sus hábitats.

Los reptiles, incluido el orden Squamata, son un grupo que está muy bien distribuido en prácticamente todos los continentes, vegetaciones, climas, altitudes y latitudes. Esta cualidad que tienen de ser tan cosmopolitas y en específico el género *Sceloporus*, permite que en prácticamente cualquier lugar se puedan encontrar estos individuos y realizar evaluaciones de contaminación ambiental.

Al mismo tiempo, casi todas las especies del género *Sceloporus* son capaces de realizar un mecanismo denominado autotomía, el cual consiste en el desprendimiento voluntario de una sección de la cola cuando el animal se siente amenazado. Así mientras el pedazo de cola desprendido queda con movimientos autónomos, debido a la musculatura e inervación de ésta, le da oportunidad al animal de escapar, mientras su captor sujeta o persigue la cola. Esta facultad va acompañada de la capacidad de regenerar la sección perdida. Estas características permiten poder tomar muestras de tejido distal de la cola (TDC), confiando en la consecuente regeneración de la misma sin la necesidad de sacrificar al organismo.

Las evaluaciones de riesgo ambiental y restauración son día a día más necesarias en "los ambientes modernos", que son paulatinamente antropogenizados y por ende cuentan con una gama enorme de todo tipo de desechos, incluidos aquellos que afectan el metabolismo de lagartijas.

Los plaguicidas forman parte de los contaminantes ambientales más comunes utilizados por el hombre, éstos tienen como objetivo terminar con toda la cantidad posible de insectos, y siendo éstos la base de alimentación de la mayoría de las especies de lagartijas, éstas son uno de los grupos afectados en primera instancia, ejerciéndoles un estrés que les afecta fisiológica e inclusive a veces morfológicamente.

Utilizar a *Sceloporus serrifer cyanogenys* y *S. torquatus binocularis* como especies centinela de contaminación a través de una comparación de enzimas bioindicadoras entre poblaciones con diferente grado de afectación, como el parque ecológico "Chipinque" y el parque industrial "El Carmen", puede mostrar las ventajas de utilizar

estas técnicas en el monitoreo ambiental. En sí en el estado de Nuevo León estas especies son comunes y abundantes, y estos datos podrían extrapolarse a más áreas y la información resultante puede ser utilizada para desarrollar programas de monitoreo ambiental.

Por todo esto, es necesario poder determinar cuantitativamente el efecto de agentes exógenos en ambiente perturbados que causen cambios enzimáticos, para lo cual es más adecuado utilizar una metodología no letal en una especie cosmopolita para lograr metas fundamentales, como lo son: estudios de impacto ambiental, de restauración y evaluaciones de riesgo ecológico. Así como utilizar estos resultados en futuras investigaciones.

ANTECEDENTES

La contaminación ambiental es una de las principales causas de extinción en reptiles (Gibas y Kraker, 2006). La investigación a nivel mundial ha ido incrementando continuamente la información novedosa sobre contaminantes existentes en el ambiente. Se conoce que compuestos sintéticos afectan la vida silvestre, compuestos recientemente desarrollados para uso industrial o para agricultura, u otro contaminante persistente como metales (Rowe, 2008). Por ende muchos estudios se han realizado para investigar el efecto de los organofosforados en vertebrados como mamíferos, aves y peces. No obstante poco es conocido sobre cómo estos compuestos afectan a los reptiles (Schmidt, 2003).

Los reptiles continúan siendo un grupo de vertebrados poco abordado por la ecotoxicología, a pesar de la insistencia de intervenir en el asunto (Schmidt, 2003). Por ello es necesario realizar estudios en reptiles y otros vertebrados sobre enzimas relacionadas con el proceso de biotransformación hepática y el rol de los contaminantes que afectan estas actividades, (Guillette e Iguchi, 2003). Los pocos estudios existentes hacen que el conocimiento sobre el efecto de plaguicidas en reptiles sea bastante escaso (Schmidt, 2003).

La influencia de factores ambientales en el desarrollo y desempeño de organismos completos o de sus sistemas ha sido un punto central de la fisiología y la endocrinología comparada. Durante el último siglo ha sido claramente establecido que ciertos factores como pH, salinidad, fotoperíodo, y tensión gaseosa, afectan el metabolismo de vertebrados. Las acciones endocrino-disruptivas de varios contaminantes químicos han sido el centro de atención de varias investigaciones, observándose con ese tipo de estudios el efecto de la actividad humana en el desempeño biológico de numerosas especies (Ankley *et al.*, 1997; Guillette y Crain, 2000; McLachlan, 2001; Iguchi *et al.*, 2001).

Igualmente existen muy pocos estudios que evidencien el efecto de la exposición a contaminantes en reptiles (Guillette e Iguchi, 2003). La investigación sobre una diversidad de especies indica que la exposición a contaminantes puede alterar el sistema endócrino al modificar transformaciones enzimáticas hepáticas (Wilson y LeBlanc, 1998; Wilson *et al.*, 1999).

Por otra parte, la contaminación no necesita ser excesiva, inclusive concentraciones de ppm o ppb, han sido relacionadas con alteraciones en los sistemas endócrino y reproductivo. Inclusive concentraciones menores (partes por trillón) de varios plaguicidas son capaces de alterar la determinación de sexo en embriones de reptiles (Guillette e Iguchi, 2003). A pesar de ello, compuestos como plaguicidas permanecen en uso o apenas recientemente ha sido restringido su uso en regiones en desarrollo, en donde la agricultura es un recurso económico primario, o enfermedades transmitidas a través de insectos pone serias amenazas a la salud humana (Rowe, 2008).

Considerando que la mayoría de las lagartijas son insectívoras, estudios sobre los efectos y acumulación de plaguicidas son esenciales, así como también sobre los efectos de la acumulación de contaminantes ubicuos en el ambiente, como metales pesados y bifenilos policlorados (PCBs) (Campbell y Campbell, 2000).

El continuo desarrollo urbano, y el uso y liberación en todo el mundo de compuestos sintéticos que son permanentes y también potencialmente tóxicos, sugiere que las amenazas a la aptitud y al estatus de las poblaciones de las especies en muchas partes del mundo, pueden estar en curso o inclusive no haber aparecido aún (Rowe, 2008).

Existe un consenso acerca de la importancia ecológica de la herpetofauna y de su elevada sensibilidad al estrés ambiental en general, y a la contaminación de origen antrópico en particular, por lo que es indudable que la contaminación ambiental cumple un papel importante en la presión de selección de las poblaciones modificando su dinámica (Sparling *et al.*, 2000).

Los estudios sobre ecotoxicología en diversas especies de lagartijas son necesarios, tanto estudios de campo como de laboratorio proveerían información útil. A pesar de ello, tanto lagartijas, como serpientes, son excluidas generalmente de estudios sobre contaminación ambiental y evaluaciones de riesgo ecológico (Campbell y Campbell, 2000, 2002).

Trabajos sobre caracterización enzimológica de las colinesterasas en reptiles han sido utilizados para monitorear compuestos inhibitorios de éstas (Sánchez-Hernández y Moreno, 2002; Schmidt, 2003). Se ha documentado la exposición de reptiles a agroquímicos inhibitorios de colinesterasas por medio de la membrana corioalantoides y de la actividad de colinesterasas y sus efectos en la vida silvestre (Sanchez-Hernandez, 2003; Cobb *et al.*, 2003; Sánchez-Hernández *et al.*, 2004).

La actividad enzimática de la acetilcolinesterasa (AChE) y butirilcolinesterasa (BChE), ha sido utilizada para realizar evaluaciones sobre la toxicidad de plaguicidas organofosforados (triclorfón y paratión) en experimentos *in vitro* e *in vivo* en lagartijas (Sanchez-Hernandez y Walker, 2000).

En diversas ocasiones se ha demostrado que la exposición a neurotóxicos en lagartijas causa daños en el desempeño locomotor, natatorio o relacionado con la condición física (Holem, 2005; DuRant *et al.*, 2007 b; Hopkins y Winne, 2006; Hopkins, Winne *et al.*, 2005).

No únicamente plaguicidas organofosforados son culpables de patogénesis de desordenes clínicos severos, sino que sustancias como el cloruro de aluminio son capaces de inducir radicales libres y disminuir la actividad de la glutatión-S-transferasa (GST), Fosfatasas alcalinas (ALP) y AChE (Yousef, 2004).

Existe acumulación y diversos efectos de contaminantes ambientales en lagartijas y serpientes, por ello se ha generado información que puede dar lugar a investigaciones subsecuentes para desarrollar prioridades en ecotoxicología para estos animales (Campbell y Campbell, 2000, 2001, 2002).

Guillette e Iguchi (2003) han trabajado con poblaciones de lagarto americano (*Alligator mississippiensis*) expuestas a contaminantes, así como también han desarrollado varios estudios experimentales al exponer embriones en desarrollo a plaguicidas persistentes y no persistentes. Utilizando esta especie, han descrito esteroidogénesis, niveles de hormonas circulantes y transformación hepática de morfología de órganos andrógenos y endocrinos en lagartos juveniles viviendo en ambientes contaminados.

La acumulación de plaguicidas y metales ha mostrado alteraciones relacionadas con la reproducción, y se han revisado los efectos complejos en lagartijas expuestas a plaguicidas (Rainwater *et al.*, 2005; De Solla *et al.*, 2003; DuRant *et al.*, 2007 a). Así como también se han analizado los efectos de contaminación por mercurio, selenio y aceites, estos últimos al medir concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos (Al-Hashem *et al.*, 2007; Bergeron *et al.*, 2007; Hopkins, Snodgrass *et al.*, 2005; Hopkins, Staub *et al.*, 2005).

La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) ha sido medida en tejidos como cerebro, corazón, hígado y músculo de vertebrados (peces, ranas, lagartijas y ratas) en diferentes etapas de desarrollo. Observándose que las actividades más altas de la SOD eran propias de los peces, seguida de los anfibios, lagartijas y al final de los mamíferos, curiosamente en escala evolutiva. Demostrando una actividad enzimática mucho mayor en cerebro de todos los grupos (Zakaryan *et al.*, 2002).

La literatura existente que trata sobre actividad enzimática en especies distintas a reptiles, es bastante extensa, como mediciones de actividad de colinesterasas relacionadas a plaguicidas o metales pesados. Se ha tratado de medir el metabolismo microsomal de plaguicidas organofosforados en hígado, así como también, caracterizaciones de fosfatasa y el efecto de metales pesados (Thomas, 2003; McLean *et al.*, 1983; Mazorra *et al.*, 2002; Pérez *et al.*, 2003).

Revisión de enzimas utilizadas

Esterasas

Las esterasas son miembros de un gran y variado grupo de enzimas, clasificadas por Aldridge (1953) en esterasas "A" que hidrolizan organofosfatos sin inhibirse y en esterasas "B" que hidrolizan organofosfatos pero son inhibidos por ellos. (Fossi *et al.*, 1994; Cordi, 1997).

El diagnóstico de exposición a plaguicidas organofosforados mediante la determinación del nivel de colinesterasa plasmática es un bioindicador de exposición muy sensible, y es un método ampliamente utilizado, pues además, es una prueba no destructiva (Cordi, 1997; Thompson y Walker, 1994; Thompson, 1991; Burges *et al.*, 1999; Fossi *et al.*, 1996).

Se cree que las esterasas sanguíneas actúan como un amortiguador de los efectos de los insecticidas y retardan su acción sobre las esterasas del cerebro. Para superarlas, el plaguicida debe hallarse en una concentración mayor de dichas enzimas. Esto explica los altos niveles de inhibición que se tienen que alcanzar en el plasma sanguíneo antes de empezar a observar efectos en las esterasas cerebrales (Wolfe y Kendall, 1998).

El continuo uso de organofosforados y carbamatos, y la exposición potencial a compuestos anti-colinesterasas en áreas con importantes poblaciones de especies de reptiles, hacen que las investigaciones de la colinesterasa en la Clase Reptilia, Laurenti 1768, sea urgente (Schmidt, 2003).

Hidrolasas de Éster Carboxílico

Carboxilesterasas

EC 3.1.1.1

Las carboxilesterasas (CxE) son enzimas que hidrolizan un rango de ésteres de ácidos carboxílicos y se presentan ampliamente en varios organismos incluyendo animales, plantas y microorganismos (Jaeger *et al.*, 1994). Un criterio alternativo ha sido propuesto recientemente en donde las carboxilesterasas son definidas como enzimas que catalizan la hidrólisis de acilglicérols con cadenas cortas (<10 átomos de carbono) (Jaeger *et al.*, 1999).

Las carboxilesterasas tienen un sitio activo que consiste en tres residuos: un residuo nucleofílico serino en un motivo GX SXG, un residuo ácido (ácido aspártico o ácido glutámico), y una histidina. Estos residuos actúan cooperativamente en el mecanismo catalítico de la hidrólisis de ésteres. La enzima también muestra un plegamiento común α/β -hidrolasa (Ollis *et al.*, 1992).

Acetilcolinesterasa

EC 3.1.1.7

La acetilcolinesterasa (AChE) cataliza la hidrólisis de ésteres de acilcolina, con una especificidad para la acetilcolina. La enzima se une a membranas celulares de tejido excitable (unión sináptica, retículo endoplasmático, etc.) y se cree que está asociado a la conducción del impulso nervioso (Politoff *et al.*, 1975; Friedenber y Seligman, 1972; Nachmansohn, 1970). La inhibición de AChE es el mecanismo primario de toxicidad aguda por plaguicidas organofosforados (OP) y carbamatos (CB) (Russell y Overstreet, 1987; Allon *et al.*, 1998).

Butirilcolinesterasa

EC 3.1.1.8

Las butirilcolinesterasas (BChE) son enzimas pertenecientes a un grupo de hidrolasas clasificadas por Aldridge (1953) como esterasas tipo B. Son inhibidas por plaguicidas organofosforados y carbamatos.

La BChE cataliza la hidrólisis de ésteres de la colina. Esta enzima se encuentra en plasma, hígado, páncreas, mucosa intestinal y la materia blanca del sistema nervioso central. A veces se le refiere como colinesterasa de suero, a diferencia de la colinesterasa de células rojas (AChE). Hidroliza la butirilcolina cuatro veces más rápido que la acetilcolina. Ya que la enzima es tan marcadamente inhibida por compuestos organofosforados, utilizados como insecticidas o neurotoxinas, es ampliamente utilizada en sistemas de monitoreo (WBC, 2009).

Lee y Harpst (1973) señalan que la BChE es una glucoproteína con un peso molecular de 440,000, es una estructura tetramérica con subunidades iguales en tamaño de 110,000 daltons. Su pH óptimo es de 6.0-8.0. Ésteres no-colinas (e.g. atropina) son

susceptible a la acción de la BChE. Es inhibida por numerosos esteres organofosforados, derivados de carbamatos y sales de amonio cuaternarias (Augustinsson, 1960).

La inhibición de la BChE ha sido utilizada en programas de biomonitoreo como indicador de contaminación de plaguicidas (Sánchez-Hernández *et al.*, 2004). Las BChEs son encontradas en la sangre de muchas especies de vertebrados (Thompson y Walker, 1994) y, aunque su rol fisiológico continúa siendo incierto, parecen tener una función protectora al secuestrar compuestos OP circulantes, decreciendo así el efecto tóxico de estos compuestos en la AChE de cerebro (Russell y Overstreet, 1987; Allon *et al.*, 1998).

El uso de biomarcadores en programas de biomonitoreo de contaminación por plaguicidas en campo ha sido cuestionado. La rápida recuperación en sangre de la actividad de la BChE después de ser inhibida por OPs o CBs (Sánchez-Hernández, 2001) y su alta variación inter-individual (Walker, 1998) podría resultar en una incapacidad de detectar la inhibición de BChE después de la aplicación de plaguicidas en la agricultura.

Fosfatasas (Hidrolasas de Monoéster Fosfórico)

Fosfatasas Alcalinas

EC 3.1.3.1

Fosfatasas alcalinas (ALP) es un término amplio asociado a fosfomonoesterasas no-específicas, que tienen una actividad óptima con pH alcalino. La reacción se desarrolla con monoesteres ortofosfóricos más agua y da lugar a alcohol más H_3PO_4 . Las fosfatasas alcalinas de mamíferos han sido revisadas por Fernley (1971).

La fosfatasa alcalina de *Escherichia coli* es un agente reactivo valioso para la remoción de fosfatos monoesterificados terminales de tanto ribo- como desoxirribonucleótido. Ha sido revisado por Reid y Wilson (1971).

La enzima fue parcialmente purificada y estudiada por Kunitz (1960). Es una zinc metal-enzima. Schüssler (1968) reporta cuatro isoenzimas. Chang y Moog (1972) encontraron tres isoenzimas del duodeno de pollo. Su pH óptimo es 8.0 – 9.0. Schüssler (1968) indica activación de Mg^{2+} .

Fosfatasas Ácidas

EC 3.1.3.2

Las fosfatasas ácidas (ACP) catalizan la reacción de monoesteres más agua en alcohol y H_3PO_4 con un pH óptimo debajo de 7.0. Las fosfatasas ácidas son ubicuas en la naturaleza y han sido revisadas por Hollander (1971).

Tiene un peso molecular de $55,000 \pm 5,000$. Tres isoenzimas de pesos moleculares similares han sido reportadas: EI, EII, y EIII. Su pH óptimo es: EI - 5.5, EII - 4.5, y EIII - 4.0 (Verjee, 1969). Muestra una actividad mayor con pirofosfatos. Es inhibida por fluoruro, molibdato y ortofosfatos (Verjee, 1969).

Transferasas

Glutación-S-Transferasa

EC 2.5.1.18

La glutación S-transferasa (GST) representa uno de los mayores grupos de enzimas detoxificantes presentes en la fase II de la biotransformación (Perera, 2000), protegen las macromoléculas biológicas como las proteínas y los ácidos nucleicos (Board *et al.*, 1994) contra los metabolitos reactivos de oxígeno (Perera, 2000). Esta enzima cataliza la conjugación del glutatión (GSH) a una variedad de sustratos y es capaz de convertir xenobióticos hidrofóbicos en compuestos hidrofílicos que pueden ser excretados a través de la orina (Ketterer y Taylor, 1990; Armstrong, 1997). La enzima se encuentra en prácticamente todas las células eucariotas y pudo haber evolucionado para proveer protección al organismo contra las sustancias tóxicas presentes en la comida y el ambiente (Nebert *et al.*, 1996).

El incremento de actividad de GST frente a una variedad de sustancias tóxicas sugiere que la GST puede ser útil como biomarcador de exposición a sustancias tóxicas, aunque pudiera no haber relación etiológica entre la actividad enzimática y el efecto químico de la sustancia tóxica (Ketterer *et al.*, 1988; Mannervick *et al.*, 1985; Vos y Van Bladeren, 1990).

Castillo-Cadena *et al.* (2007) demostraron que ante un agente genotóxico, en su caso plaguicidas, los organismos del grupo expuesto respondieron generando un aumento en la actividad enzimática, la cual fue significativamente mayor en comparación con el grupo control. Cabe mencionar que las muestras fueron tomadas pocas horas después de que los individuos se expusieran al plaguicida, para evitar otros factores. La exposición a plaguicidas se puede considerar un inductor de la activación en el sistema enzimático de la glutación GSTT1.

Oxidoreductasas

Superóxido Dismutasa

EC 1.15.1.1

La superóxido dismutasa (SOD) cataliza la destrucción de radicales libres del oxígeno. Protege a las células metabolizadoras de oxígeno contra los efectos dañinos de los radicales superóxido libres (Petkau *et al.*, 1975; Fridovich, 1972; Lavelle *et al.*, 1973; Paschen y Weser, 1973).

La SOD está ampliamente distribuida en la naturaleza. Gregory *et al.* (1974) mencionan que está presente en todas las células metabolizadoras de oxígeno. Hewitt y Morris (1975) la han encontrado en bacterias anaeróbicas. Gregory *et al.* (1973) la han reportada en sitios y funciones intra-celulares.

McCord (1974) encontró que la SOD protege al hialuronato contra la depolimerización por radicales libres e indica que la SOD exógena podría tener un efecto anti-inflamatorio (Salin y McCord, 1975). El ion O_2^- , que ha sido considerado importante

en el envejecimiento, peroxidación de lípidos y la hemólisis peroxidativa de células rojas de la sangre (Fee y Teitelbaum, 1972), es formado por la reducción univalente del O_2 durante varias reacciones enzimáticas o por radiación ionizante (Véase también Fee *et al.*, 1975). Existe también formación del radical superóxido durante la fagocitosis leucocítica (Allen *et al.*, 1974; DeChatelet *et al.*, 1974). Winterbourn *et al.* (1975) estipulan que la deficiencia de SOD podría conllevar a anemia hemolítica del cuerpo de Heinz. Fridovich (1986) realizó reportes sobre los efectos biológicos del radical superóxido.

Caracterización de las áreas de estudio

Parque Ecológico Chipinque

El Parque Ecológico Chipinque es un Área Natural Protegida, de índole privado bajo tutela de un patronato. Se encuentra en la Sierra Madre Oriental, dentro de los límites del Parque Nacional Cumbres de Monterrey; limita al sur con el parteaguas del macizo montañoso de la Sierra Madre Oriental, al norte con el fraccionamiento "Joyas del Venado", al este con los terrenos del fraccionamiento "Renacimiento" y al oeste con el fraccionamiento "Olinala". Tiene una extensión de 1825 hectáreas ubicadas en su mayor parte en el municipio de San Pedro Garza García (1,011.97 hectáreas), mientras que una menor proporción en el municipio de Monterrey (613.03 hectáreas) (Imagen 1).

Es considerado uno de los pasajes naturales más importantes de la región por su cercanía a la ciudad de Monterrey y por los atractivos y servicios que ofrece.

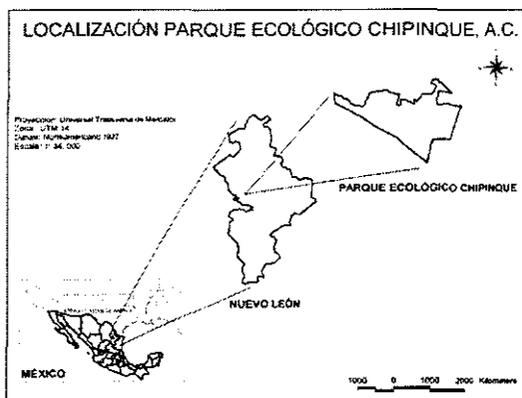


Figura 1. Localización geográfica del Parque Ecológico Chipinque

Clima

El clima de la Sierra Madre Oriental presenta una distribución muy compleja, las diferencias de la temperatura se deben a la cadena montañosa, produciendo un efecto de condensación; genera lluvias que se concentran en la vertiente este de la sierra, mientras que en la vertiente oeste se desarrolla un fenómeno llamado "Sombra Orográfica", dando lugar a llanos con clima seco o semiseco (INEGI, 1996).

Según datos obtenidos de la estación meteorológica de la ciudad de Monterrey, el Parque Ecológico Chipinque se localiza en un tipo de clima semiseco con lluvias marcadas en verano y con un porcentaje de lluvia invernal de 5 al 10% del total anual.

Temperatura

Las temperaturas promedio anuales varían de 18 a 22°C con una oscilación térmica de 14 a 16°C durante los meses de mayo y junio, con una máxima entre 25 y 26 °C en el mes julio y su mínima se presenta en enero de 15 a 19°C. En la temporada invernal se presentan temperaturas extremas que oscilan de 0 a 4° C las más bajas y en la temporada de verano se presentan temperaturas extremas de 22 a 35°C las más altas.

Precipitación promedio anual

La precipitación media anual oscila entre los 300 y 500 mm. En los meses de mayo a julio, en los meses de diciembre y enero con una precipitación media que varía entre los 5 a 10 mm. La humedad relativa entre el 30 y 50%, el número de lluvia apreciable oscila entre los 30 y 59 mm con una mayor incidencia en el mes de septiembre con un rango de 80 y 90 mm.

Vientos dominantes

Los vientos dominantes provienen del noreste y sureste y se presentan de enero a julio; de agosto a septiembre cambian el curso de dominancia proviniendo del sureste y del este como respuesta a la actividad ciclónica que provocan lluvias importantes en verano.

Intemperismos extremos

La frecuencia de heladas (temperaturas menores de 0°C) en la región son de 0 a 20 días al año, en lo referente a la frecuencia de granizadas para esta misma área se reportan entre 0 y 2 días anuales (INEGI, 1996) y aunque no frecuentes, no son raras las nevadas.

Altitudes

El parque abarca altitudes de 800 hasta los 2200 metros sobre el nivel del mar (msnm) dependiendo del punto o paraje a considerar:

La entrada al parque se encuentra a 800 msnm, el paraje de la zorra a 1,150 msnm, el paraje canoas (bebederos) a 1,170 msnm, el paraje El Empalme a 1,270 msnm La Meseta a 1,270 msnm, el Paraje Delicias a 1,300 msnm el Paraje Las Moras a 1,110 msnm, el Puerto del Aire a 1,300 msnm, El Pinal a 1,500 msnm, el Paraje Meseta del Epazote a 1,400 msnm, Cumbre la "M" a 2,000 msnm, Cumbre Las Antenas a 1,900 msnm, Cumbre La Ventana a 1,900 msnm y Cumbre Copete del Águila a 2,200 msnm.

Distancias de veredas

La vereda 1 tiene una longitud de 0.2 km, la vereda 2 de 1.25km, la vereda 3 de 0.35km, la vereda La Deslavada de 2km, la Brecha del Chile de 2.7km, la Brecha de San Agustín de 4km, la Brecha de Las Moras de 2.5km y la Brecha El Empalme de 6.7km (Parque Ecológico Chipinque A.B.P., 2003).

Parque Industrial El Carmen

El parque industrial El Carmen se encuentra en el municipio de El Carmen, ubicado en el noroeste del estado de Nuevo León, México. Colinda al norte con Salinas Victoria, al sur con General Escobedo, al oriente con Salinas Victoria y al poniente con Abasolo. Tiene una extensión territorial de 131.4 km² (Imagen 2). Se encuentra a una altitud de 500 msnm.

Pertenece a la región II centro periférica en la clasificación de regiones del estado y de la federación, llamada así por ser esta región la que colinda con el área metropolitana de la ciudad de Monterrey, razón por la cual la actividad económica, social y cultural del municipio, se encuentra estrechamente relacionada con el área metropolitana, ya que la distancia al centro de la ciudad capital es solo de 32 km.



Figura 2. Localización geográfica del municipio El Carmen

Localización geográfica

El municipio de El Carmen se encuentra localizado en las coordenadas: Latitud Norte: 25°56' y Longitud Oeste: 100°21'.

Orografía

En el municipio se encuentra el cerro de minas Viejas, el cerro de San Miguel y las Lomas del Burro, contando con un 15% de zonas accidentadas, 10% zonas semi-planas y 75% zonas planas.

Usos del Suelo

De acuerdo a su uso, la superficie del municipio se encuentra distribuida:

Uso	Hectáreas	%
Ganadería o agostadero	12,228	93.05
Agricultura	575	4.37
Área urbana	217	1.65
Área industrial	120	0.93
Total	13,140	100.0

Tabla 1. Distribución de la superficie del municipio de El Carmen de acuerdo a su uso

Hidrografía

Lo cruza el Río Salinas que nace en el estado de Coahuila y desemboca en el Río Pesquería, además, el municipio cuenta con varios arroyos que son: el de los ocotillos, los nogales, el encinal y el arroyo hondo.

Clima

Es extremoso, con lluvias al año en los meses de abril, mayo, septiembre y diciembre. La temperatura promedio es de 26°C y las temperaturas máximas extremas son de -2°C y 42°C.

Flora

La representa el nogal, el mezquite, el huizache, el ébano, la tenaza, la barreta, la nacahua y el chaparro prieto y la uña de gato.

Fauna

La constituyen especies menores como son: la tórtola, palomas, aguilillas, tzenzontle, jacalero, cuervos, hurracas; así como pequeños mamíferos como son: el tejón, zorrillo, coyote, jabalí, tlacuache hasta puma, oso y tigrillo (El Carmen, N.L., 2009).

Especies estudiadas

Género Sceloporus

Clase Reptilia, Laurenti 1768

Orden Squamata Opperl, 1811

Iguania (Cuvier, 1817)

Familia Phrynosomatidae

Género *Sceloporus* Wiegmann, 1828

La mayoría de los individuos de la familia Phrynosomatidae presentan escamas fuertemente quilladas dándoles una textura rasposa, en otros en cambio, las escamas se han transformado en espinas. Se trata de una familia muy diversa, tanto en sus aspectos morfológicos como ecológicos, por ello, las características que la definen son muy sutiles y no siempre exclusivas. (Quintero-Díaz y Vázquez-Díaz, 2005) En México se encuentra representada por nueve géneros y 124 especies, más de 70 son endémicas del país (Flores-Villela y Canseco-Márquez, 2004).

Sceloporus torquatus binocularis Dunn 1936

Lagartija Espinosa de Montaña

Sceloporus torquatus es una de las especies más variable en este gran género. El rango geográfico está casi enteramente confinado a la Meseta Central de México y altas elevaciones en pendientes periféricas. Estas lagartijas se distribuyen hacia la parte sur del centro de Nuevo León y el sur de Tamaulipas, pasando por Hidalgo, Puebla y Morelos; desde ahí hacia el oeste, incluyendo los estados de San Luis Potosí, Durango, México, D.F., Michoacán, Guanajuato, Zacatecas, Querétaro, Aguascalientes y el este de Jalisco (Olson, 1990).

Son lagartijas arborícolas o saxícolas. Por lo general habitan en elevaciones altas, inclusive frías. Sus poblaciones se hallan en semidesiertos abiertos, pastizales y bosques mixtos y de coníferas (Olson, 1990).

Los adultos habitan sitios permanentes relativamente estables, como rocas grandes, bordes de acantilados, o árboles altos con huecos accesibles externamente, preferentemente en los que la lagartija pueda apretarse para entrar, inflarse y acuñarse a sí mismos. En ciertas localidades, utilizan sistemas de madrigueras elaboradas; estos sitios se convierten en su domicilio establecido de un macho adulto y generalmente una o más hembras adultas. El territorio de la unidad familiar depende en grande del hábitat, así un borde de acantilado, puede ser defendido varios metros alrededor del domicilio. Por otro lado, una roca aislada o árbol, puede representar ambos: territorio y domicilio. Sin embargo los adultos a veces atraviesan esas barreras fácilmente y buscan comida en campo abierto (Olson, 1990).

S. t. binocularis se diferencia de todas las demás especies por: su distintivo collar nual, que es muy ancho y partido en tres distintos lóbulos por dos líneas claras que comienzan en la región postocular y terminan al nivel de los miembros anteriores; por su coloración dorsal de gris a pardo, y por su gran longitud en los adultos (>105 mm longitud hocico-cloaca). Los parches ventrales están separados a través de la línea media y son azul ligeramente fuerte. Cuentan con pocos poros femorales de 11 a 13 de cada lado (Olson, 1990).

Sceloporus serrifer cyanogenys Cope 1885

Lagartija Espinosa de Collar

Su rango de distribución va desde el centro de Tamaulipas y el centro de Nuevo León hasta el sur de Texas. Esta lagartija es la más grande de todas las especies de *Sceloporus*, es una especie vivípara. Los machos alcanzan una longitud hocico-cloaca de al menos 141mm, las hembras de 130mm. La longitud de la cola es aproximadamente 1 ½ veces la longitud del cuerpo.

Los machos adultos tienen una coloración brillante. El dorso es de un azul verdoso brillante (a menos que estén a punto de mudar, o durante temporadas frías), exceptuando la cabeza, la cual es más o menos cafésosa. Alrededor de la parte posterior del cuello pasa un collar negro de una longitud de 3 escamas de largo, un poco más ancho a la altura de los hombros y más angosto en garganta. El collar negro tiene un borde amarillo detrás, a veces interrumpido a la mitad del dorso, terminando en el hombro de cada lado; posee también un borde amarillo enfrente, generalmente interrumpido en medio por una línea negra y no llega a los costados más allá que la altura de la oreja; tiene un punto azul brillante en el centro del collar negro en cada hombro. No tiene casi ninguna otra marca dorsal; casi invariablemente están presentes unos cuantos puntitos claros, frecuentemente acomodados en pares hasta la mitad del dorso. No hay marcas distintivas en las extremidades, y las bandas oscuras de la cola nunca están bien definidas y bien marcadas.

Ventralmente los machos tienen la garganta y barbilla azul tenue, coloración que termina posteriormente en el collar nuchal negro. Los costados de la barriga son azul tenue, y en machos juveniles las áreas azul tenue están bordeadas por una banda delgada de un azul más oscuro: en machos más viejos estas bandas se hacen más anchas y más oscuras, y se extienden hasta la ingle. El pecho puede estar iluminado de azulado en cada lado, más o menos conectando las manchas azules de la barriga con el collar nuchal negro. Contrariamente puede ser que el pecho, una banda mediana y ancha en la barriga y las superficies ventrales de las extremidades y la cola son color blanco o crema.

Las hembras ventralmente son más oscuras que los machos, y tienen pocas bandas delgadas, oscuras y cruzadas. La barriga no tiene marcaje alguno. La garganta está manchada de gris y tiene una línea longitudinal centrada clara blanquecina. Los juveniles están marcados más o menos como las hembras.

Con respecto a la escamación, las características más importantes son las escamas dorsales bastantes grandes, de 32 a 40 desde el occipucio a la base de la cola, las cuales están poco quilladas y fuertemente puntiagudas únicamente en los costados del cuerpo; las supraoculares son largas, pero 1 a 3 están generalmente divididas en dos; nunca se presenta una doble fila regular supraocular, y raramente se presenta una fila sencilla; están completamente rodeadas por una fila de escamas pequeñas. Las escamas medias de la cabeza son largas y varían poco en número y posición. La preocular es raro que se encuentre dividida; la fila interior de sublabiales termina en la parte posterior de la sutura entre la segunda y la tercera infralabial, y las dos filas de lorilabiales generalmente están completas debajo de la subocular, raras veces están reducidas a una en cualquier punto debajo de esa escama. Los poros femorales varían de 12 a 17 en cada lado.

Las características que permiten identificar y separar esta especie de cualquier otra lagartija son: su gran tamaño, la coloración azul, la falta de líneas negras distintivas hacia la punta de la cola, los supraoculares irregulares y las muy regulares escamas medianas de la cabeza (Smith, 1938; 1939; 1979; Taylor, 1931).

JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo se plantea considerando la necesidad de evaluar las repercusiones que el hombre está provocando en hábitats naturales de otras especies, así como la necesidad de incrementar la información existente sobre ecotoxicología en reptiles. Las lagartijas del género *Sceloporus* están siendo afectadas en gran medida por plaguicidas ya que en muchas ocasiones su dieta se basa en insectos; además son especies cosmopolitas y al desarrollar con ellas una metodología de análisis no letal, se puede lograr un punto de partida para desarrollar estudios de impacto ambiental, de restauración y evaluaciones de riesgo ecológico, así como también dar bases para ser utilizadas en futuras investigaciones.

OBJETIVOS

GENERAL

- Realizar una comparación de bioindicadores enzimáticos de estrés y contaminación (esterasas, GST y SOD) en especies del género *Sceloporus* entre dos sitios con distintos impactos antropogénicos.

PARTICULARES

- ❖ Comprobar que los niveles de actividad de esterasas, GST y SOD se presentan en especies del género *Sceloporus* proporcionalmente en TDC comparado principalmente con plasma e hígado.
- ❖ Obtener datos biológicos y muestras de TDC en *Sceloporus serrifer cyanogenys* y *Sceloporus torquatus binocularis* en sitios con distintos impactos antropogénicos.
- ❖ Determinar los niveles de actividad de enzimas bioindicadoras en las muestras de TDC:
 - A. Medición de esterasas:
 - Colinesterasas (AChE y BChE)
 - Carboxilesterasas (CxE)
 - ALP y fosfatasas ácidas (ACP).
 - B. Medición de la enzima GST.
 - C. Medición de la enzima SOD.
- ❖ Comparar la actividad enzimática intersexual en *Sceloporus torquatus binocularis* en el Parque Ecológico Chipinque.
- ❖ Comparar la actividad enzimática en *Sceloporus serrifer cyanogenys* entre los dos sitios de estudio.
- ❖ Evaluar si existe diferencia estadísticamente significativa entre las actividades de cada una de las enzimas analizadas entre los sitios de muestreo.

HIPÓTESIS

El análisis de la actividad de esterases, GST y SOD en tejido de cola de las especies *Sceloporus serrifer cyanogenys* y *S. torquatus binocularis* puede ser utilizado como bioindicador de estrés y contaminantes ambientales.

METODOLOGÍA

Trabajo de Campo

Entre los meses de Mayo y Junio se realizaron salidas a campo al "Parque Ecológico Chipinque" y al "Parque Industrial El Carmen". Cada visita se llevó a cabo durante el transcurso de un día, desde las 9:00 hrs. hasta las 18:00 hrs.

Método de captura

En el "Parque Ecológico Chipinque", cada día del muestreo se decidía la vereda a recorrer, dependiendo de las condiciones climáticas diarias y las características fisiográficas de la vereda, buscando la mayor abundancia de *Sceloporus serrifer cyanogenys* y *S. torquatus binocularis* posible. El transecto a recorrer tuvo la longitud de la vereda elegida, realizando búsqueda visual de los organismos.

En el parque industrial "El Carmen" se realizó la búsqueda de *Sceloporus serrifer cyanogenys*, sobre las paredes periféricas a las industrias, con transectos al azar, pues dependió de la dispersión de los organismos por cada día.

Los organismos fueron capturados manualmente o por medio de un lazasaurio (herramienta similar a una laza perros pero modificada para su uso en lagartijas). Inmediatamente después de su captura se registraron los siguientes datos:

- Fecha
- Hora
- Número de muestra
- Coordenadas
- Altitud
- Temperatura ambiental
- Temperatura del sustrato
- Humedad relativa
- Estado del tiempo
- Vegetación
- Vereda y kilómetro de la misma
- Sustrato
- Actividad
- Viento
- Especie
- Género
- Estadio (considerando como adultos a los individuos > 78 mm y como juveniles a los individuos < 78 mm).

- Longitud hocico-cloaca (LHC) y longitud cloaca-cola (LCC)
- Peso
- Ancho máximo de la base de la cola
- Existencia o no de regeneración de cola
- Registro fotográfico

Obtención de muestras

Posteriormente, se colectaron entre 3 y 5 centímetros de TDC mecánicamente. La muestra fue inmediatamente colocada en un tubo, previamente marcado, con especial resistencia para soportar su almacenamiento en nitrógeno líquido; y éste fue colocado en una hielera a aproximadamente 4°C para su transporte al laboratorio de ecofisiología al final del día, donde fueron almacenadas en un ultracongelador aproximadamente a -70°C hasta su procesamiento.

Se obtuvieron 9 muestras de TDCs de hembras, 10 TDCs de machos y 1 cría de *Sceloporus serrifer cyanogenys*; y 2 muestras de TDCs de hembras y 5 TDCs de machos de *S. torquatus binocularis*. Colectando un total de 27 muestras de TDCs en el "Parque Ecológico Chipinque".

Mientras que en el "Parque Industrial El Carmen" se colectaron únicamente individuos de *Sceloporus serrifer cyanogenys*; colectando 10 muestras de TDCs de machos y 17 de TDCs de hembras; obteniendo 27 muestras de TDCs en este sitio.

Se colectaron en total 54 muestras de TDCs al final del trabajo en campo.

Trabajo de laboratorio

El trabajo de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio del Grupo de Ecofisiología del Departamento de Ecología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con la previa estandarización de las técnicas utilizadas en esta investigación.

Elaboración de extractos enzimáticos

Las muestras individuales de TDC almacenadas en un ultracongelador SO-LOW modelo C85-9; se pesaron en una balanza analítica digital OHAUS modelo EXPLORER, para determinar el peso de la muestra; posteriormente se cortaron lo más finamente posible y se homogenizaron durante 4 minutos en Buffer tris-HCl 50 mM pH 7.1 en una proporción 1.10 (peso/volumen) en un Homogenizador Glas-Col® de 4,000 rpm (996.82 g) de máxima velocidad. Los homogeneizados se colocaron en tubos eppendorf (microtubos graduados con capacidad de 1.7 ml) y centrifugaron durante 30 minutos a 14,000rpm (20854.4 g) a 4°C. El sobrenadante fue removido de la capa de grasa y separado en alícuotas, que a continuación fueron almacenadas en un ultracongelador hasta que se realizó el análisis enzimático.

Análisis enzimático

La cinética enzimática se determina por la variación de absorbancia (a diferente longitud de onda, dependiendo la enzima a analizar) durante el tiempo de actividad de la acetilcolinesterasa, butirilcolinesterasa, carboxilesterasa, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, glutatión-S-transferasa y superóxido dismutasa, mediante una lectura espectrofotométrica en un espectrofotómetro modelo SPECTRONIC® GENESYS 2 o un lector de microplacas modelo Sunset®.

Concentración de proteína en extractos enzimáticos

Para determinar la concentración de proteína se utilizó una modificación del método de Bradford (1976) adaptado para su uso en microplacas, para lo cual se elaboró un ensayo colocando 10 µL de extracto enzimático y 200 µL de solución de trabajo de Bradford en cada pozo con un total de tres repeticiones para cada muestra; posteriormente, se realizó una lectura espectrofotométrica de las microplacas a 620nm durante 60 segundos en agitación. Se utilizó suero de albúmina bovina como proteína estándar.

Expresando la actividad enzimática como el incremento de absorbancia por minuto por miligramo de proteína en los extractos.

Acetilcolinesterasa

Se siguió la metodología descrita por Ellman *et al.* (1961) modificada para su aplicación en microplacas por Huang *et al.* (1997). Se utilizaron microplacas para la medición de AChE, y se colocó en cada pozo: 10 µL de extracto enzimático, 280 µL de Ácido Ditionitrobenzónico (DTNB) 0.1M en Amortiguador Salino Fosfatado (PBS) preferentemente a pH 8.0 y 10 µL de sustrato (acetiltiocolina 0.015M en agua bidestilada). Blancos conteniendo reactivo, mas no extracto enzimático, fueron utilizados como control. Para cada extracto enzimático se realizaron tres replicados, inmediatamente después se realizó la lectura de absorbancia a 405 nm en un lector de microplacas modelo Sunset®.

Butirilcolinesterasa

Se siguió la metodología descrita por Ellman *et al.* (1961) modificada para su aplicación en microplacas por Huang *et al.* (1997). Se utilizaron microplacas para la medición de BChE, y se colocó en cada pozo: 10 µL de extracto enzimático, 280 µL de DTNB 0.1M en buffer PBS preferentemente a pH 8.0 y 10 µL de sustrato (butiriltiocolina 0.015M en agua bidestilada). Para cada extracto enzimático se realizaron tres replicados, inmediatamente después se realizó la lectura de absorbancia a 405 nm en un lector de microplacas modelo Sunset®.

Carboxilesterasas

Se siguió la metodología descrita por Ellman *et al.* (1961) modificada para su aplicación en microplacas por Huang *et al.* (1997). Se utilizaron microplacas para la medición de CxE, y se colocó en cada pozo: 10 μ L de extracto enzimático, 200 μ L de buffer tris-HCl pH 7.7 y 100 μ L sustrato (p-Nitrofenil acetato 2mM en buffer tris-HCl pH7.7). Para cada extracto enzimático se realizaron tres replicados, inmediatamente después se realizó la lectura de absorbancia a 405 nm en un lector de microplacas modelo Sunset®.

Fosfatasa alcalinas

Se utilizó el método descrito por Moyano *et al.* (1996). En cada pozo de la microplaca se colocaron: 10 μ L de extracto enzimático, 200 μ L de Buffer Dietanolamina 1.0 M (pH 9.8) con 50mM MgCl₂ y 100 μ L de sustrato (4-nitrofenil fosfato al 2% en buffer de Dietanolamina). Para cada extracto enzimático se realizaron tres replicados, inmediatamente después se realizó la lectura de absorbancia a 405 nm en un lector de microplacas modelo Sunset®.

Fosfatasa ácidas

Se utilizó como sustrato de acuerdo al método descrito por Moyano *et al.* (1996). En cada pozo de la microplaca se colocaron: 10 μ L de extracto enzimático, 200 μ L de Buffer de Acetato de Sodio 0.1M (pH4.8) con 50mM MgCl₂ y 100 μ L de sustrato (4-nitrofenil fosfato al 2% en buffer de acetato de sodio). Para cada extracto enzimático se realizaron tres replicados, inmediatamente después se realizó la lectura de absorbancia a 405 nm en un lector de microplacas modelo Sunset®.

Glutación-S-Transferasa

La actividad de la GST se analizó de acuerdo al siguiente principio: la GST cataliza la conjugación de L-glutación con 1-cloro-2, 4-dinitrobenzeno (CDNB) a través del grupo tiol del glutación. El producto de la reacción es el conjugado GS-DNB el cual absorbe a 340 nm. La tasa de incremento en la absorción es directamente proporcional a la actividad de GST en la muestra.

Para evaluar la actividad de GST en los extractos enzimáticos se utilizaron cubetas de cuarzo en las cuales se colocó por triplicado 10 μ L de extracto enzimático. En el blanco se colocó 1 mL de buffer de Dulbecco's y en las restantes se colocaron 980 μ L de buffer de Dulbecco's, 10 μ L de L-glutación reducido 200 mM y la reacción se inició agregando 10 μ L de CDNB 100 mM. Se cubrieron las cubetas y se mezcló por inversión, inmediatamente después se realizaron las lecturas espectrofotométricas a 340 nm cada 30 segundos durante un período de 5 minutos en un espectrofotómetro modelo SPECTRONIC® GENESYS 2, utilizando reactivos de la marca SIGMA.

La linealidad de la reacción se determinó trazando los valores de absorbancia contra tiempo y la actividad específica de GST se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{(\Delta A_{340}) / \text{min} \times V(\text{mL}) \times \text{dil.}}{\text{emM} \times \text{Venz}(\text{mL})} = \mu\text{mL} / \text{mL} / \text{min} / \text{mg de proteína}$$

dil. = factor de dilución de los extractos enzimáticos

emM = coeficiente de extinción de CDNB conjugado a 340 nm (9.6 mM^{-1})

V = volumen de reacción (1.1 mL)

Venz = volumen de muestra analizado (10 μL)

Superóxido Dismutasa

Se utilizaron microplacas para la medición de SOD utilizando un kit de la empresa FLUKE. Se colocaron 200 μL de detector radical (sal de tetrazolium) en cada pozo y 10 μL de extracto enzimático por duplicado y la reacción se inició agregando 20 μL de xantina oxidasa en todos los pozos, catalizando así, la liberación de radicales superóxido (O_2^-), los cuales son detectados por la sal de tetrazolium. Se realizó un blanco 2 para cada muestra colocando 20 μL de extracto enzimático, 200 μL de detector radical y 20 μL de Buffer. Se realizaron tres replicados del blanco 1, colocando 20 μL de agua bidestilada, 200 μL de detector radical y 20 μL de xantina oxidasa. Para el blanco tres también se realizaron tres replicados colocando 20 μL de agua bidestilada, 200 μL de detector radical y 20 μL de Buffer. La concentración de radicales es inversamente proporcional a la actividad de SOD en las muestras. La microplaca se incubó durante 15 minutos a 37°C y se realizó una lectura de absorbancia a 450 nm en un lector de microplacas modelo Sunset®.

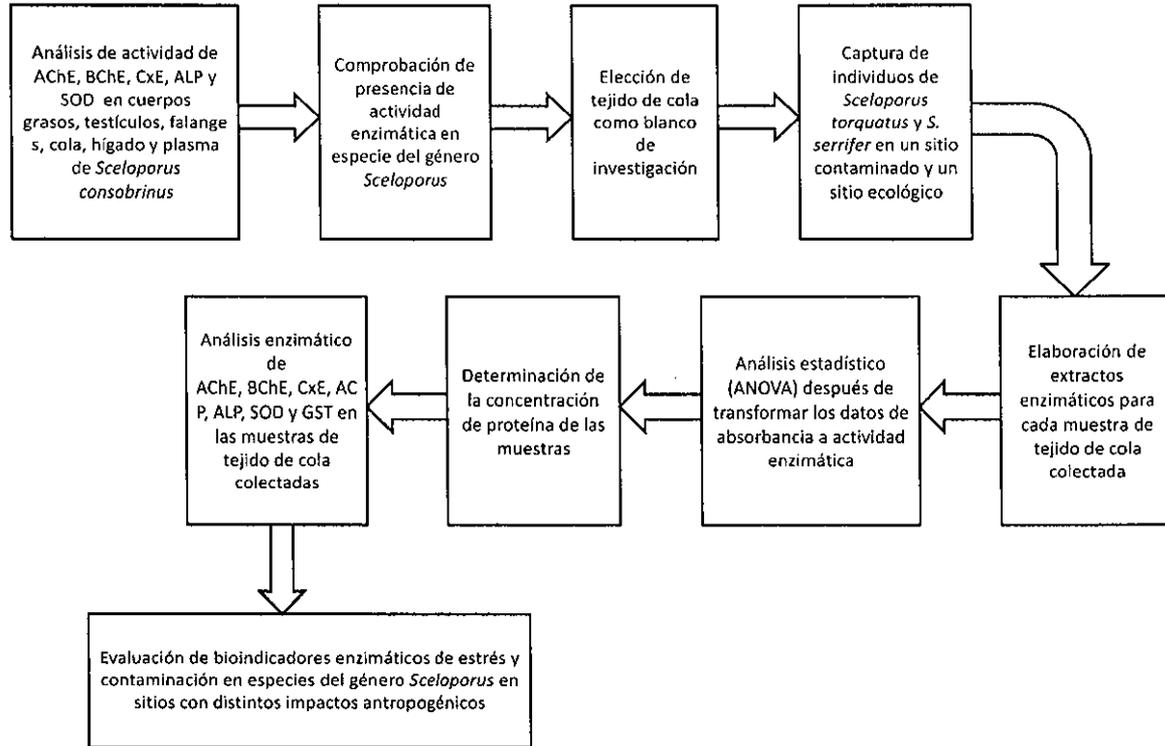
La actividad de la SOD se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad SOD} = \frac{\{[(\Delta \text{blanco } 1 - \Delta \text{blanco } 3) - (\Delta \text{muestra} - \Delta \text{blanco } 2)]\} \times 100}{(\Delta \text{blanco } 1 - \Delta \text{blanco } 3)}$$

Comprobación en especie del género *Sceloporus*

Para poder demostrar que el tejido de la cola mostraba la actividad enzimática suficiente para obtener resultados, se realizó un análisis enzimático previo a la investigación a gran escala con el fin de determinar: 1) que las enzimas por analizar en efecto se presentaban en organismos del mismo género a muestrear, y 2) determinar si el tejido de la cola era capaz de darnos la suficiente información en relación a los demás órganos para poder desarrollar una metodología no letal. Por la época del año, el único organismo que pudo ser facilitado fue un adulto macho de *Sceloporus consobrinus* proveniente del municipio de García, Nuevo León. El individuo fue sacrificado por medio de la congelación y a continuación se le realizó una disección extrayendo intestinos, testículos, estómago, cuerpos grasos, hígado, corazón, pulmones, tejido de cola, falanges y plasma. Cada una de las muestras fue almacenada con su rótulo adecuado en nitrógeno líquido. La metodología ejecutada en cada uno de los tejidos fue la misma que se utilizó en la investigación. Las enzimas que se pudieron analizar fueron AChE, BChE, CxH, ALP y SOD, mas no se pudieron analizar todos los tejidos para todas las enzimas.

Diagrama de flujo de la investigación



Los datos fueron analizados con el programa SPSS para Windows, especificando el estadístico utilizado en los resultados de cada enzima.

Análisis estadístico

RESULTADOS

El rango de altitud donde fue colectada la mayor proporción de organismos fue de 535 a 539 msnm (Figura 3).

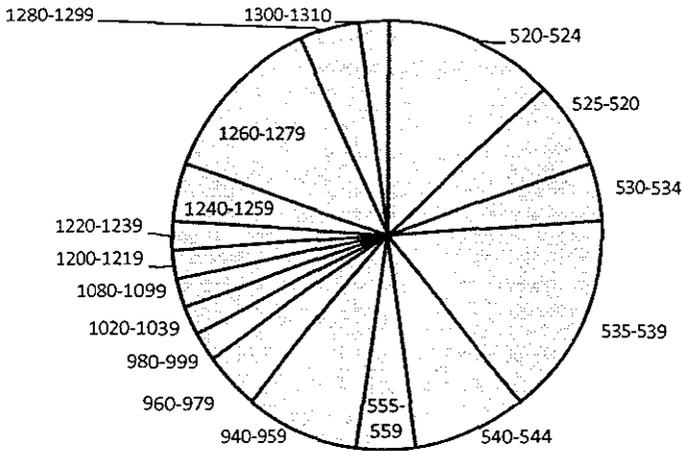


Figura 3. Distribución de organismos de *Sceloporus* colectados según el rango de altitud (msnm) en el que se encontraron

La temperatura ambiental más favorable para encontrar individuos fue de 26°C a 29.9°C (Figura 4).

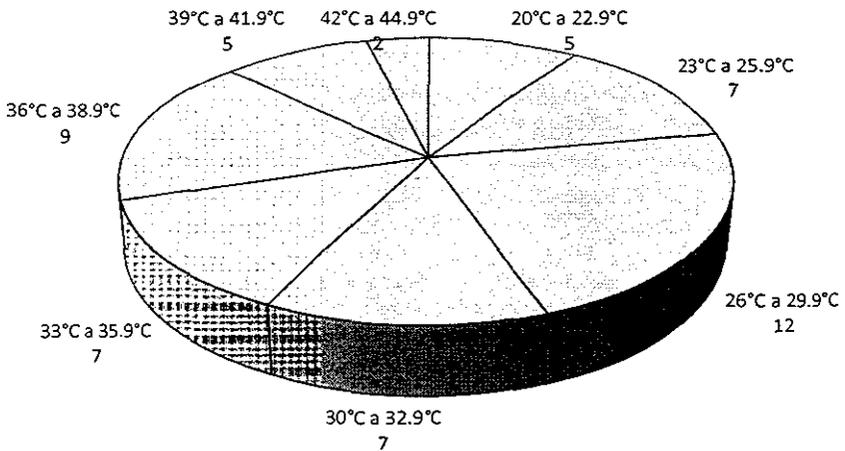


Figura 4. Rangos de temperatura (°C) en los que fueron colectados los organismos, con el respectivo número de organismos (n) colectados bajo cada rango

El rango de temperatura del micrositio preferido por los individuos colectados, fue el mismo que el preferido de temperatura ambiental, de 26°C a 29.9°C (Figura 5).

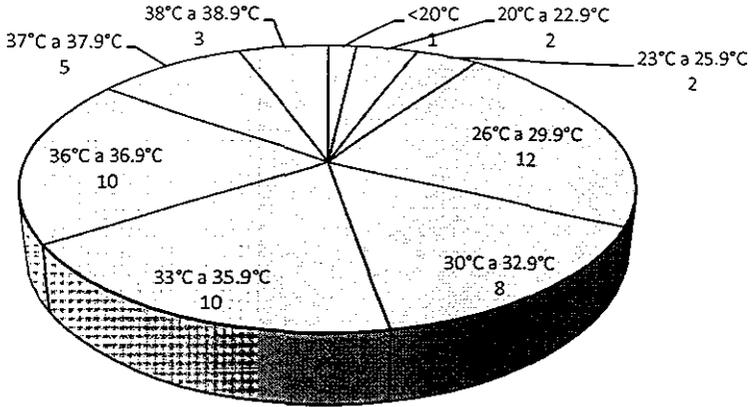


Figura 5. Rangos de temperatura de los micrositios donde fueron encontrados los organismos de *Sceloporus*, con el respectivo número de individuos colectado en cada rango

El Rango de Humedad Relativa donde se colectó un mayor número de individuos fue de 35 a 39.9% HR (Figura 6).

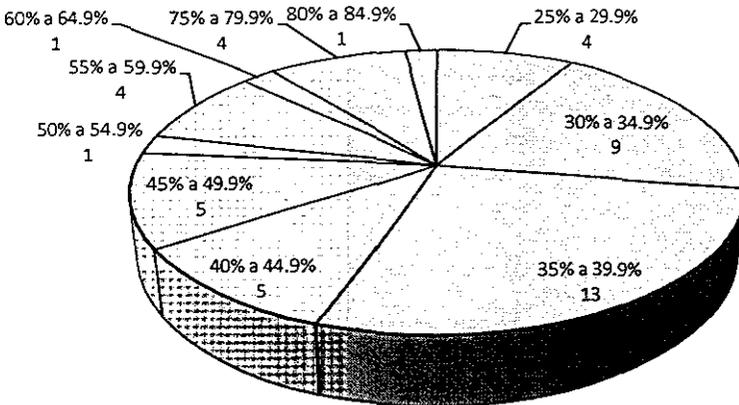


Figura 6. Rangos de humedad relativa del ambiente al momento de encontrar los organismos de *Sceloporus*, con el respectivo número de individuos colectado en cada rango.

La hora más propicia para encontrar *Sceloporus* fue de 2 a 2:59 p.m. (Figura 7).

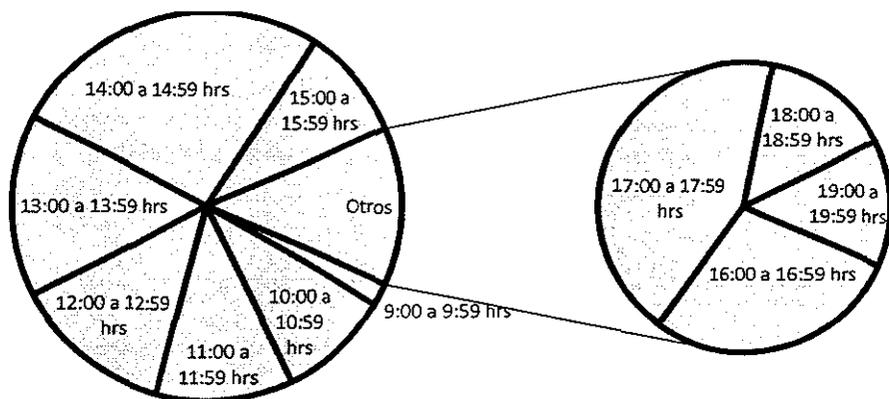


Figura 7. Proporción de los individuos de *Sceloporus* capturados categorizados en los rangos de horas del día en los que se realizaron las colectas

Las especies del género *Sceloporus* como la mayoría de los reptiles es más frecuente encontrarlos cuando el día se presenta soleado (Figura 8).

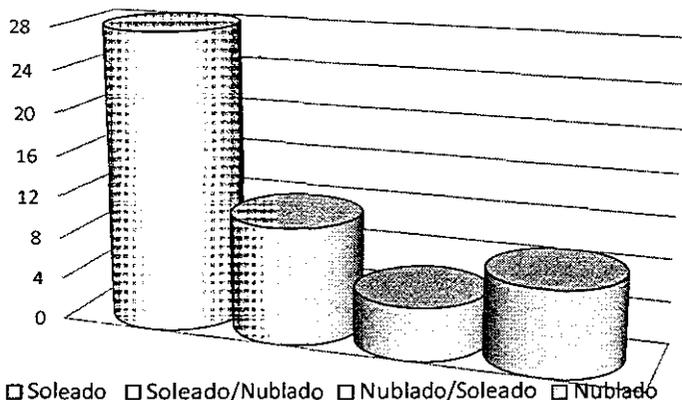


Figura 8. Número de individuos colectados, bajo las diferentes condiciones climatológicas que se registraron al momento de la captura de cada individuo de *Sceloporus*. La primera leyenda corresponde a la primera columna y así sucesivamente

El sustrato por el que la mayoría de los individuos de *S. serrifer* optaron fue la pared de ladrillo (Figura 9), mientras que *S. torquatus* es una especie más arborícola (Figura 10).

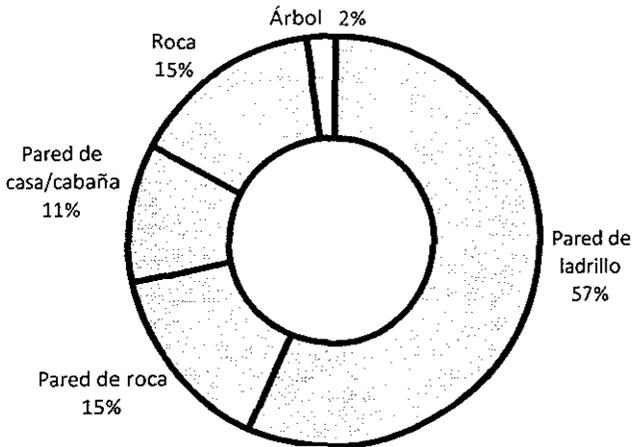


Figura 9. Porcentaje de organismos de *S. serrifer* encontrados en los diferentes sustratos

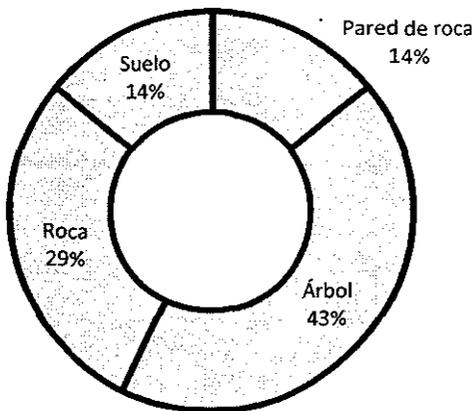


Figura 10. Porcentaje de organismos de *S. torquatus* colectados en los diferentes sustratos en el Parque Chipinque

La mayoría de los individuos fueron colectados cuando la fuerza del viento fue menor a 26% de rango subjetivo (Figura 11).

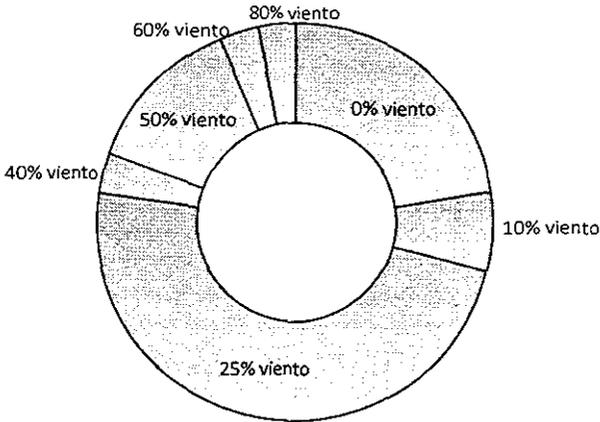


Figura 11. Proporción de los organismos de *Sceloporus* colectados, categorizados en rangos subjetivos del porcentaje de fuerza del viento que se apreciaba al momento de realizar cada captura

En el Parque Chipinque la vegetación preferida por los organismos fue encino (Figura 12).

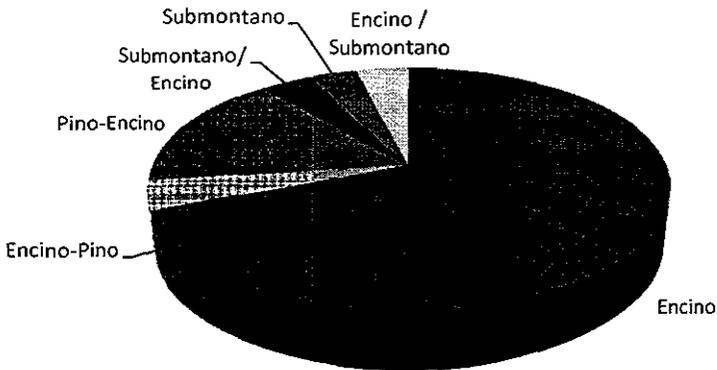


Figura 12. Proporción de los organismos de *Sceloporus* colectados, de acuerdo al tipo de vegetación en que se encontraron en el Parque Chipinque

En El Carmen no existen veredas predeterminadas, por lo que, al igual que la vegetación, las veredas fueron únicamente documentadas para el Parque Chipinque. La vereda donde hubo un mayor número de capturas fue la de El Chile (Figura 13).

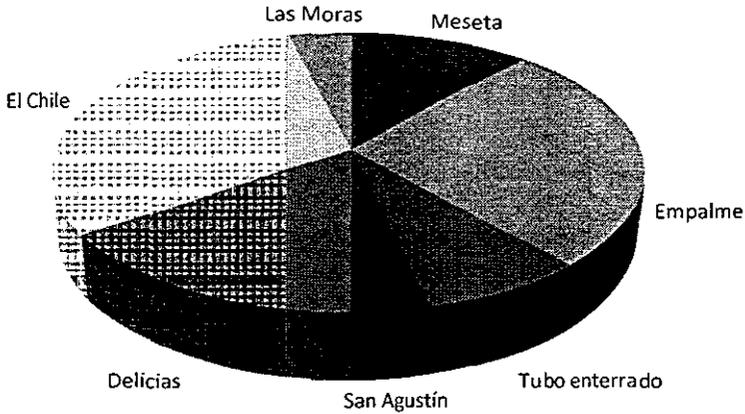


Figura 13. Proporción de la distribución de los organismos colectados en el Parque Chipinque dependiendo de la vereda

La localidad donde se colectó un mayor número de organismos fue en El Carmen (Figura 14).

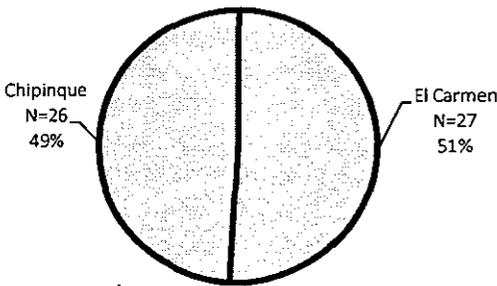
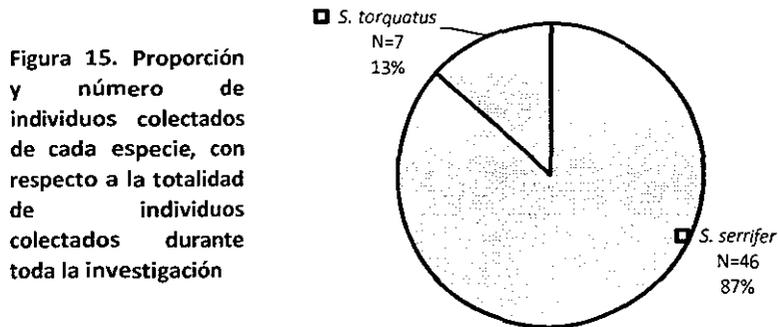
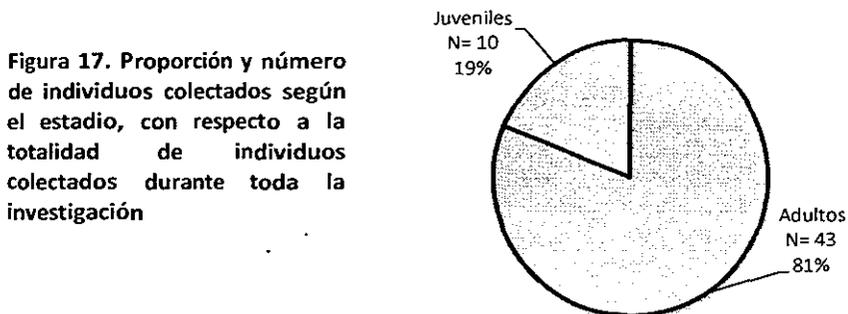
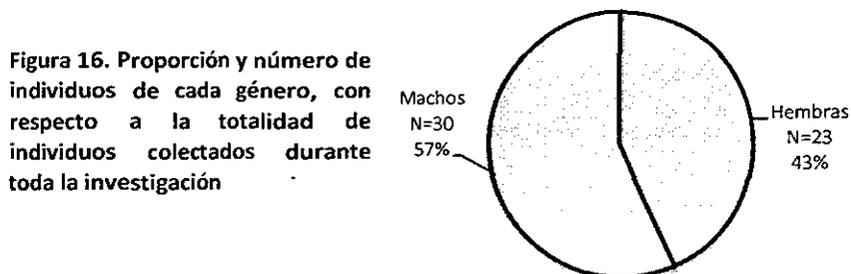


Figura 14. Proporción de individuos colectados en cada localidad con respecto a la totalidad de individuos colectados durante todo el estudio

Sceloporus serrifer cyanogenys fue la especie de la que se obtuvo un mayor número de muestras (Figura 15).

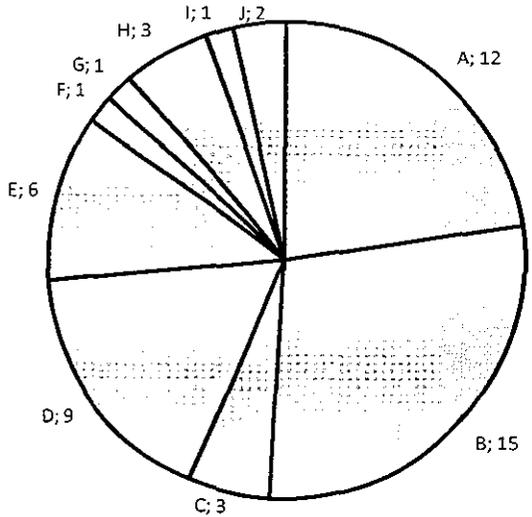


Durante toda la colecta se encontró un mayor número de machos (Figura 16) así como mayor número de adultos (Figura 17).



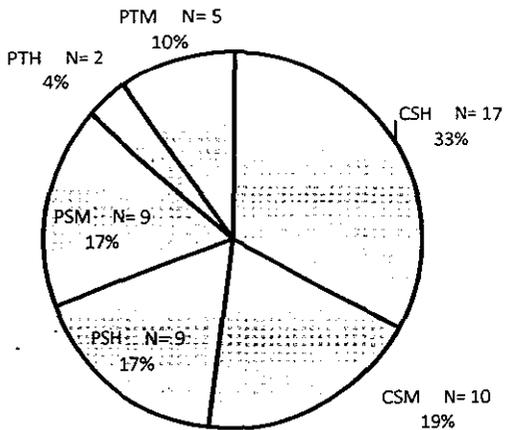
Los individuos más colectados fueron *S. serrifer* machos adultos de El Carmen (Figura 18).

Figura 18. Número de individuos colectados ubicados en categorías según los factores de: localidad, especie, estadio y género. A: El Carmen *S. serrifer* hembra adulto B: El Carmen *S. serrifer* macho adulto C: Parque Chipinque *S. serrifer* hembra adulto D: Parque Chipinque *S. serrifer* macho adulto E: Parque Chipinque *S. serrifer* hembra juvenil F: Parque Chipinque *S. serrifer* macho juvenil G: Parque Chipinque *S. torquatus* hembra adulto H: Parque Chipinque *S. torquatus* macho adulto I: Parque Chipinque *S. torquatus* hembra juvenil J: Parque Chipinque *S. torquatus* macho juvenil.



Sobre el sistema de bloques organizado para el análisis estadístico, el Bloque CSH fue el que contó con un mayor número de individuos (Figura 19).

Figura 19. Proporción y número de individuos perteneciente a cada bloque. CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque.



Análisis enzimático en *Sceloporus consobrinus*

Acetilcolinesterasa

La absorbancia para Acetilcolinesterasa (Figura 20) muestra una pendiente positiva para todos los tejidos, siendo el hígado el tejido con valores más altos, sin embargo se aprecia más la pendiente de la cola observándola en la Figura 21, bajo su propio rango (los demás órganos pueden ser apreciados por separado en el Anexo I).

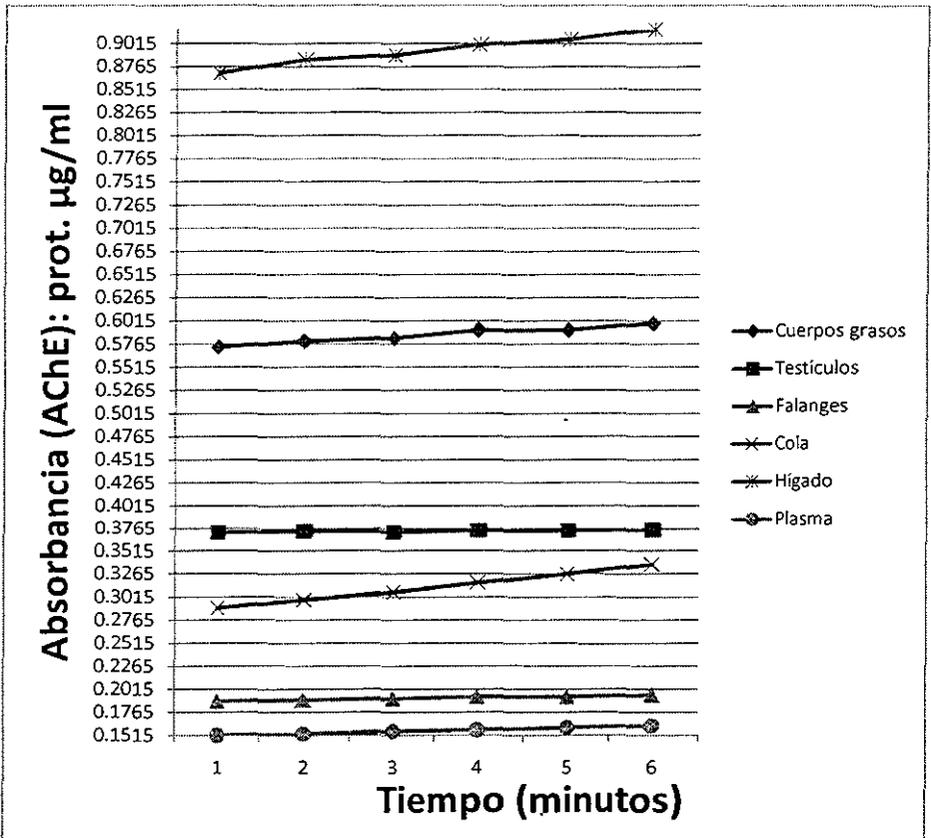


Figura 20. Absorbancia durante el tiempo de actividad de AChE en distintos tejidos

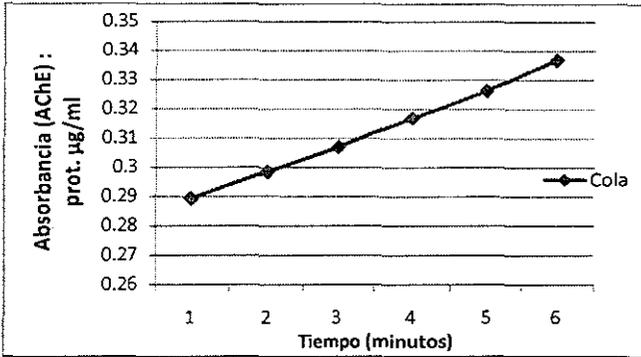


Figura 21. Absorbancia durante el tiempo de actividad de AChE en cola

El hígado es el órgano con mayor actividad de AChE (Figura 22), relacionado con que la síntesis de esta enzima se lleva a cabo en dicho órgano.

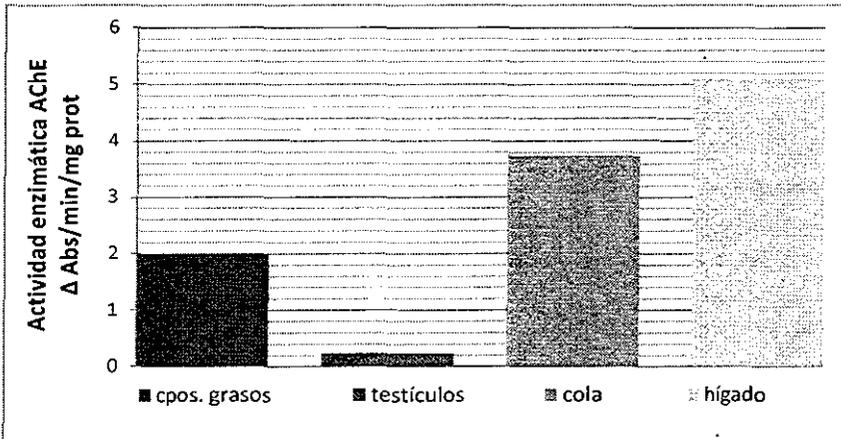


Figura 22. Comparación de la actividad enzimática de AChE en diferentes tejidos

Butirilcolinesterasa

La absorbancia para Butirilcolinesterasa (Figura 23), al igual que la AChE, mostró una pendiente positiva en todos los tejidos, siendo la actividad en testículos prácticamente despreciable. A pesar de ello es más apreciable la pendiente de la cola por separado en la Figura 24 (para analizar las pendientes de los demás órganos véase Anexo II).

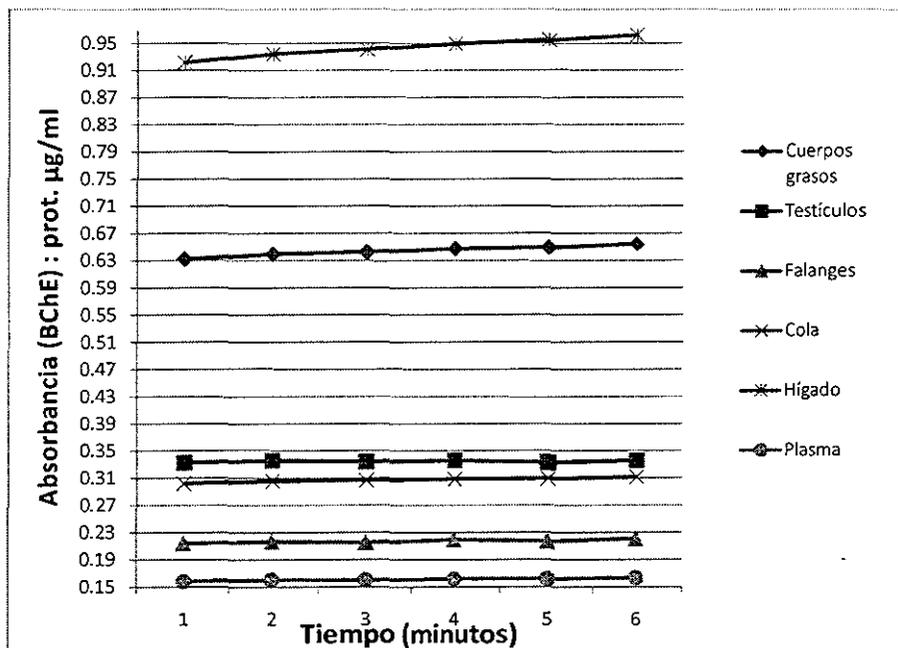


Figura 23. Absorbancia durante el tiempo de actividad de BChE en distintos tejidos

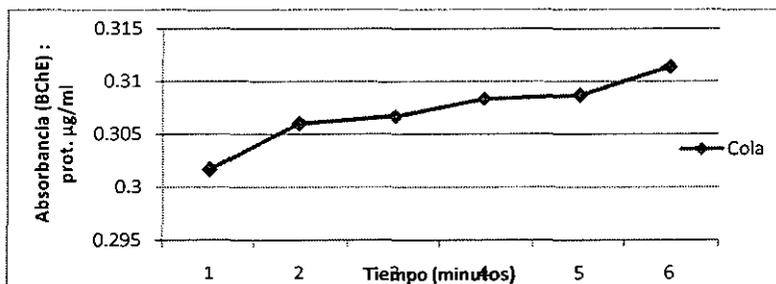


Figura 24. Absorbancia durante el tiempo de actividad de BChE en cola

Carboxilesterasa

Se mostraron valores de mayor absorbancia durante el tiempo de actividad de la Carboxilesterasa comparada contra las enzimas previamente revisadas (Figura 25); siendo el hígado el órgano con una mayor absorbancia impidiendo una buena definición a simple vista de la pendiente de los demás órganos, mas se puede revisar la pendiente particular de la cola en la Figura 26 (para revisar las pendientes particulares de cada órgano bajo su propio rango véase Anexo III).

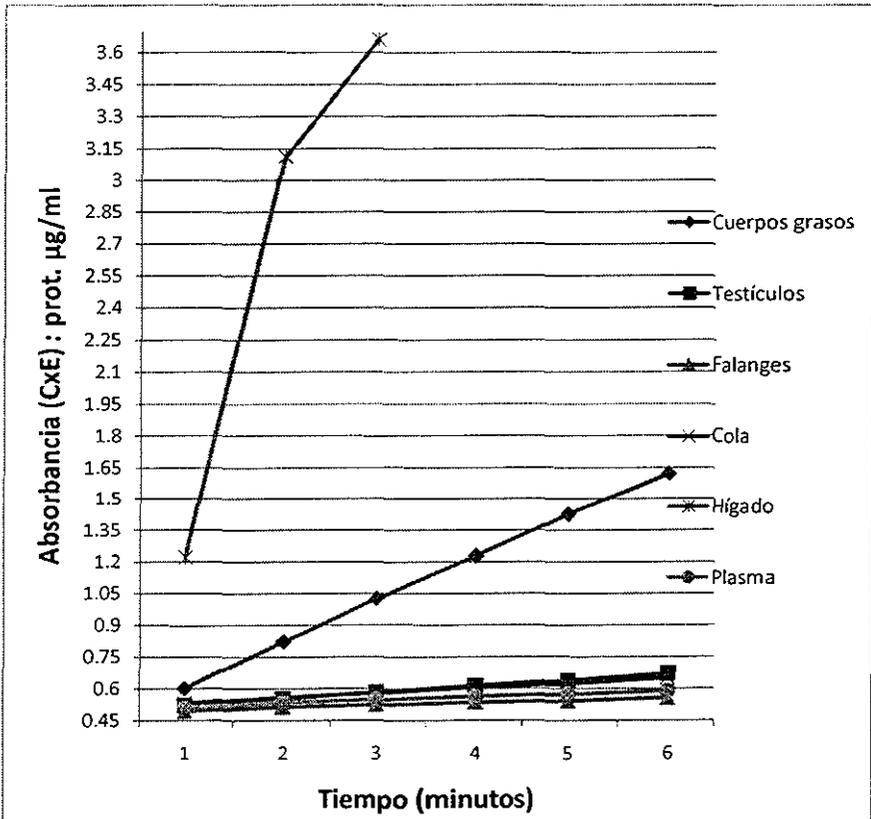


Figura 25. Absorbancia durante el tiempo de actividad de CxE en varios tejidos

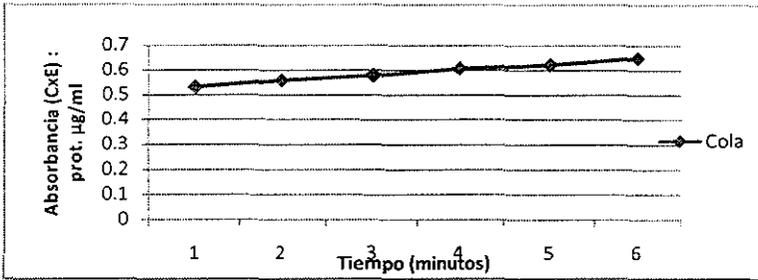


Figura 26. Absorbancia durante el tiempo de actividad de CxE en cola

Fosfatasa alcalinas

La cinética de fosfatasa alcalinas solamente se realizó en 3 tejidos (Figura 27), presentándose la mayor actividad en cuerpos grasos.

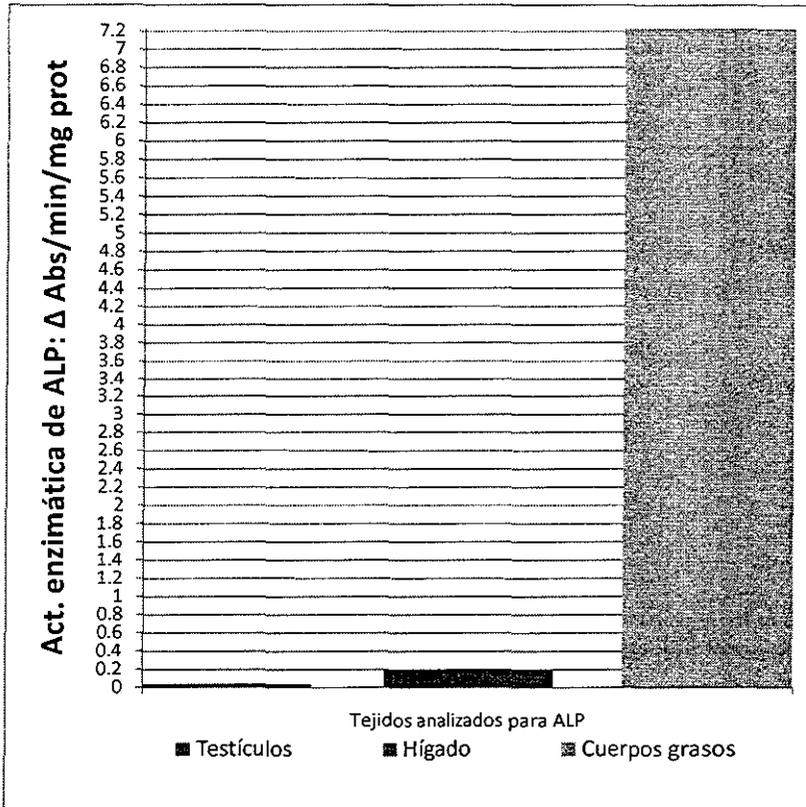


Figura 27. Comparación de la actividad enzimática de ALP en diferentes tejidos

Superóxido Dismutasa

La cinética de la SOD también se realizó únicamente en 3 tejidos (Figura 28), presentándose la mayor actividad en hígado.

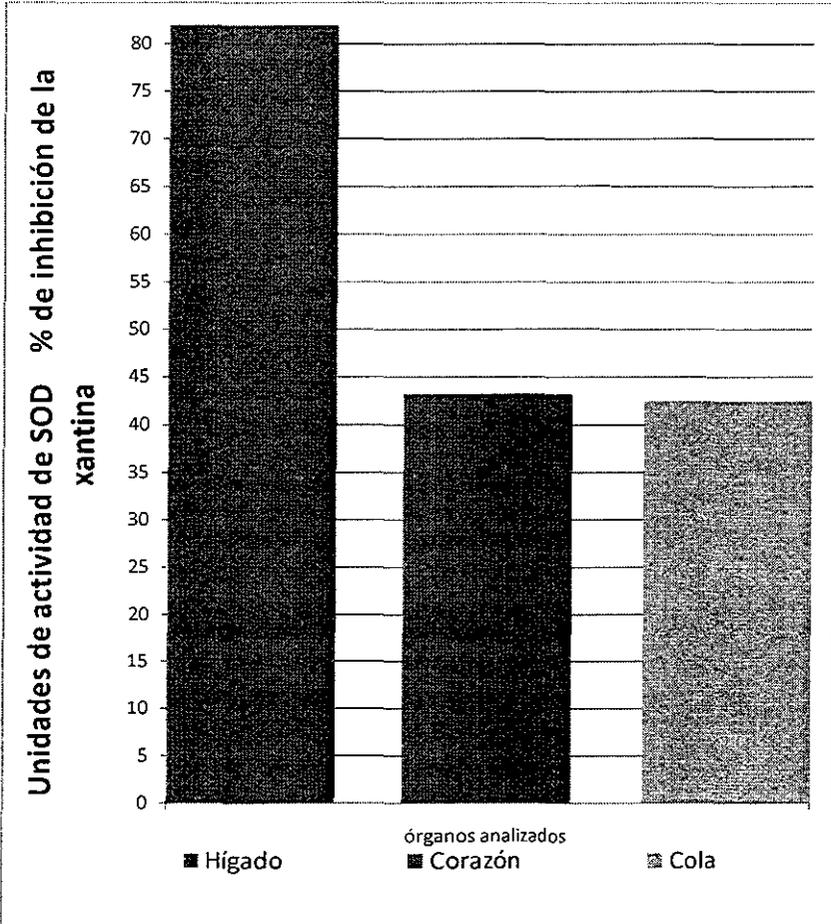


Figura 28. Comparación de la actividad enzimática de SOD en diferentes tejidos

Análisis enzimático en *S. serrifer* y *S. torquatus*

Para el análisis de los resultados de las actividades enzimáticas, los datos fueron agrupados en seis bloques (Tabla 2), considerando como factores la localidad [El Carmen (C); Parque Chipinque (P)], la especie [*S. serrifer cyanogenys* (S); *S. torquatus binocularis* (T)] y el sexo [hembra (H); macho (M)]. Para cada espécimen se realizaron 2 ó 3 repeticiones analíticas de la actividad enzimática.

FACTOR 1	FACTOR 2	FACTOR 3	Bs	AcHE	BcHE	CxE	ALP	ACP	SOD	GST
EL CARMEN	<i>Sceloporus serrifer cyanogenys</i>	Hembras B1	CSH	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2	R1 R2
		Machos B2	CSM	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2	R1 R2
PARQUE CHIPINQUE	<i>Sceloporus serrifer cyanogenys</i>	Hembras B3	PSH	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2	R1 R2
		Machos B4	PSM	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2	R1 R2
PARQUE CHIPINQUE	<i>Sceloporus torquatus binocularis</i>	Hembras B5	PTH	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2	R1 R2
		Machos B6	PTM	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2	R1 R2

R = replicado B = bloque

BLOQUES → C = El Carmen P = Parque Chipinque

S = *S. serrifer* T = *S. torquatus*

H = hembra M = macho

Tabla 2. Distribución de la actividad enzimática en un sistema de bloques

ACETILCOLINESTERASA (AChE)

El análisis de varianza (ANOVA) no mostró diferencia significativa entre ninguno de los bloques ($F=2.151$, $gl=152$, $p=.063$). Sin embargo, sin ser estadísticamente significativo, se aprecia una mayor actividad en machos en comparación con las hembras de cada especie y localidad (Figura 29). Así como también una actividad ligeramente mayor en los machos y hembras de la localidad de El Carmen (CSM; CSH) en comparación de los machos y hembras del Parque Chipinque (PSM; PSH) de la misma especie (*S. serrifer cyanogenys*).

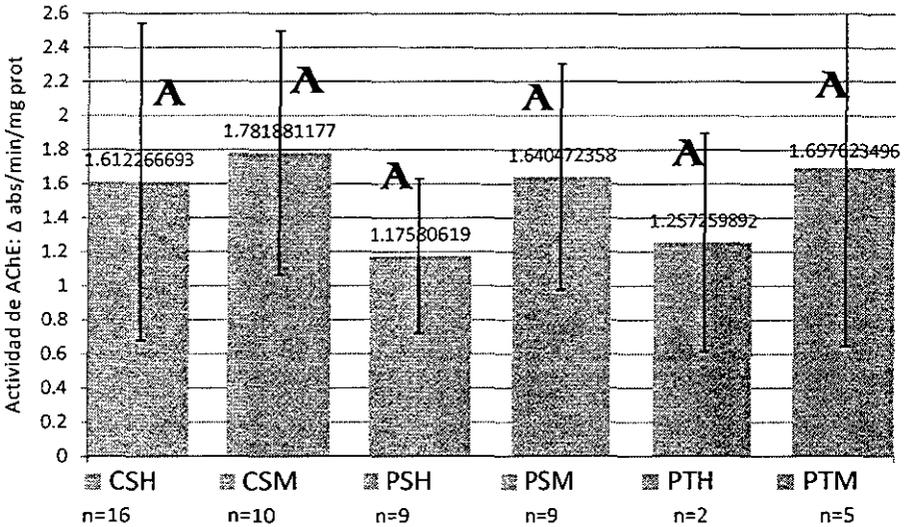


Figura 29. Gráfica de los niveles de la actividad de AChE, después de la realización de tres lecturas para cada muestra, calculando los niveles de actividad como el incremento de absorbancia a 405 nm por minuto por miligramo de proteína, analizada en seis bloques de dos distintas especies de *Sceloporus* y dos distintas poblaciones. CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PTM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Cada columna indica la media de actividad enzimática perteneciente a cada bloque con su respectiva desviación estándar. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p = 0.63$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

BUTIRILCOLINESTERASA (BChE)

El ANOVA mostró diferencia significativa en las medias entre los bloques ($F=4.218$, $gl=149$, $p=.001$). Se utilizó el método de comparación múltiple de Tukey HSD, utilizando la media armónica (Prueba de Levene = .472), encontrando diferencia significativa entre los Bloques CSM y PTH con respecto al Bloque PSH, teniendo éste una actividad enzimática menor. Mostrando que entre machos no se encontró diferencia significativa. Como en el caso de la actividad AChE, también se observa una actividad ligeramente mayor en los machos y hembras de la localidad de El Carmen (CSM; CSH) en comparación de los machos y hembras del Parque Chipinque (PSM; PSH) de la misma especie (*S. serrifer cyanogenys*) (Figura 30).

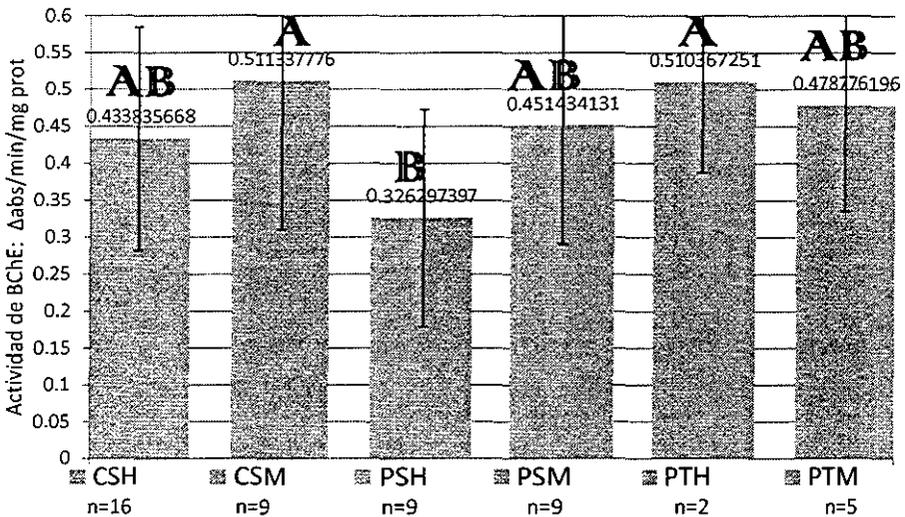


Figura 30. Gráfica de los niveles de la actividad de BChE, después de la realización de tres lecturas para cada muestra, calculando los niveles de actividad como el incremento de absorbancia a 405 nm por minuto por miligramo de proteína, analizada en seis bloques, siendo CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Cada columna indica la media de actividad enzimática perteneciente a cada bloque con su respectiva desviación estándar. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p = .001$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

CARBOXILESTERASA (CxE)

El ANOVA mostró diferencia significativa en las medias entre los bloques ($F=75.646$, $gl=152$, $p<.001$). Se utilizó la prueba de comparación múltiple de Games-Howell (Prueba de Levene $<.001$), encontrando una distinción radical entre el Bloque CSH y CSM respecto a todos los demás, separando drásticamente la localidad de El Carmen de el Parque Chipinque. De la misma forma que en las enzimas anteriores (AChE y BChE) también se observa una ligera mayor actividad enzimática en los machos con respecto a las hembras en *S. serrifer* de ambas localidades (Figura 31).

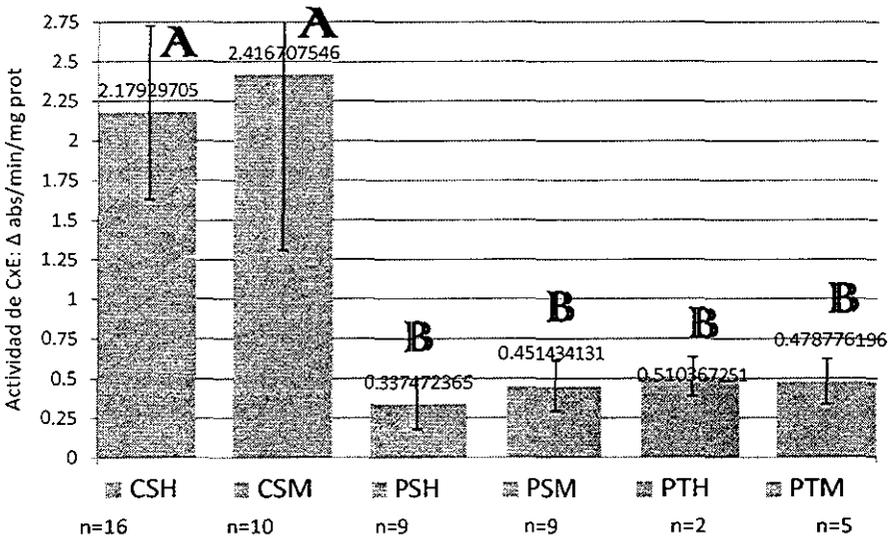


Figura 31. Gráfica de los niveles de la actividad de CxE, después de la realización de tres lecturas para cada muestra, calculando los niveles de actividad como el incremento de absorbancia a 405 nm por minuto por miligramo de proteína, analizada en seis bloques, siendo CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Cada columna indica la media de actividad enzimática perteneciente a cada bloque con su respectiva desviación estándar. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p < .001$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

FOSFATASAS ÁCIDAS (ACP)

El ANOVA mostró diferencias significativas ($F=4.515$, $gl=149$, $p=.001$) las cuáles fueron identificadas utilizando la prueba de Games-Howell (Prueba de Levene =.001). En la Figura 32 se observa que los bloques CSM y PSH fueron distintos de los bloques PSM y PTM; Mientras que los bloques CSH y PTH no presentaron diferencia significativa con todos los anteriores. Encontrando por ello, una diferencia significativa entre los machos de El Carmen en comparación con los del Parque Chipinque y también una diferencia significativa entre hembras y machos de *S. serrifer* del Parque Chipinque.

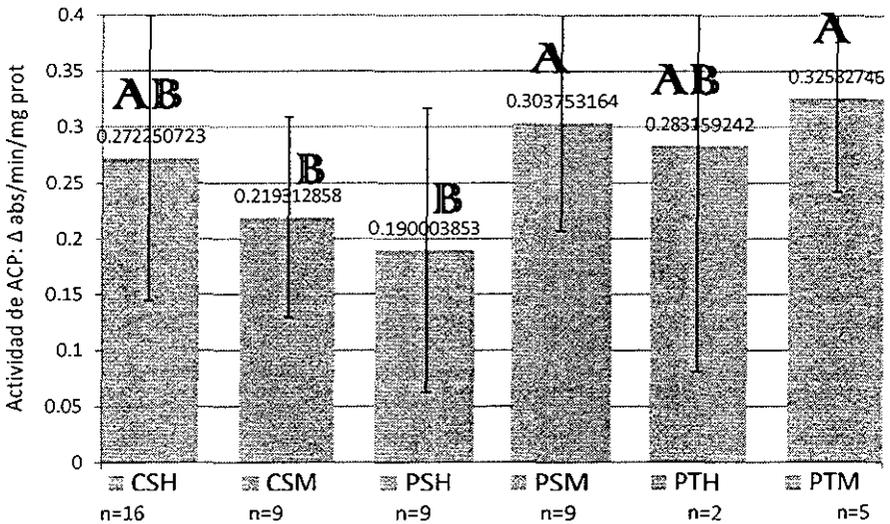


Figura 32. Gráfica de los niveles de la actividad de ACP, después de la realización de tres lecturas para cada muestra, calculando los niveles de actividad como el incremento de absorbancia a 405 nm por minuto por miligramo de proteína, analizada en seis bloques, siendo CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Cada columna indica la media de actividad enzimática perteneciente a cada bloque con su respectiva desviación estándar. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p = .001$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

FOSFATASAS ALCALINAS (ALP)

El ANOVA expuso una diferencia significativa entre las medias de los grupos ($F=15.706$, $gl=152$, $p<.001$). Para las diferencias intergrupales se realizó la prueba de Games-Howell (Prueba de Levene $<.001$), la cual exhibió diferencias de los bloques CSH y CSM respecto a los bloques PSM, PTH y PTM. También hay una diferencia significativa entre el bloque PSH en comparación con el PTM. Siendo en los organismos del Parque Chipinque mayor la actividad ALP particularmente marcada al comparar entre los machos de las dos poblaciones (Figura 33). Así, para analizar diferencias en esta enzima es más factible utilizar los machos.

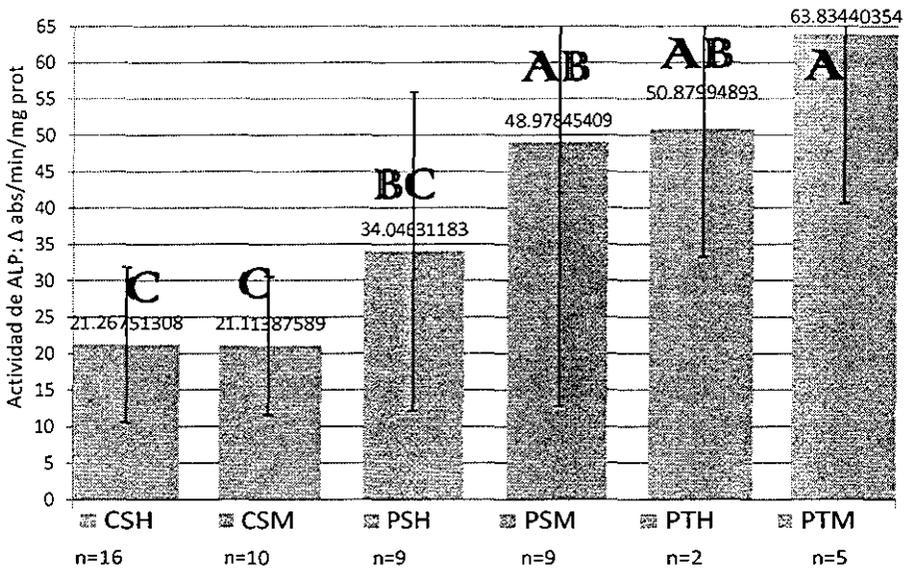


Figura 33. Gráfica de los niveles de la actividad de ALP, después de la realización de tres lecturas para cada muestra, calculando los niveles de actividad como el incremento de absorbancia a 405 nm por minuto por miligramo de proteína, analizada en seis bloques, siendo CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Cada columna indica la media de actividad enzimática perteneciente a cada bloque con su respectiva desviación estándar. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p < .001$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD)

El ANOVA arrojó diferencias significativas entre los grupos ($F=7.875$, $gl=101$, $p<.001$). Se utilizó el método de comparación múltiple de Tukey HSD, utilizando la media armónica (Prueba de Levene= .402), encontrando diferencia significativa entre el Bloque CSH contra el Bloque PSH y el Bloque PSM (Figura 34). También puede apreciarse que las hembras presentan una actividad ligeramente mayor (estadísticamente no significativa) que sus respectivos machos, siendo las hembras de El Carmen las que presentan la mayor actividad de todos los bloques.

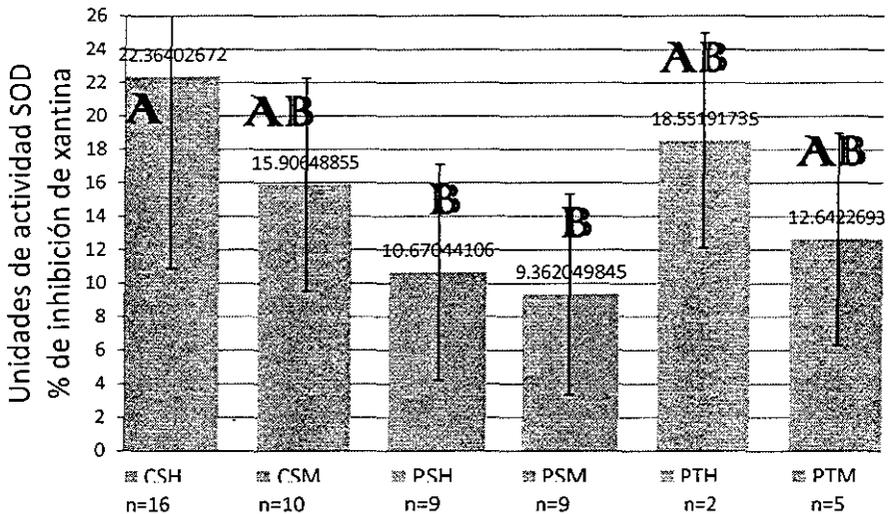


Figura 34. Gráfica de los niveles de la actividad de SOD, después de la realización de dos lecturas de absorbancia a 450 nm para cada muestra, calculando los niveles de actividad como el porcentaje de inhibición de la xantina, analizada en seis bloques, siendo CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Cada columna indica la media de actividad enzimática perteneciente a cada bloque con su respectiva desviación estándar. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p < .001$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

GLUTATIÓN-S-TRANSFERASA (GST)

El ANOVA reveló diferencias significativas entre los grupos ($F=14.081$, $gl=99$, $p<.001$). La prueba de Games-Howell (Prueba de Levene $<.001$) evidenció una diferencia drástica entre localidades, revelando a los bloques de El Carmen con una mayor actividad que cualquier bloque perteneciente al Parque Chipinque. Asimismo PTH muestra actividad enzimática GST significativamente menor que PTM. Esta diferencia entre géneros también es observada para las dos localidades de *S. serrifer*, sin ser ésta, estadísticamente significativa (Figura 35).

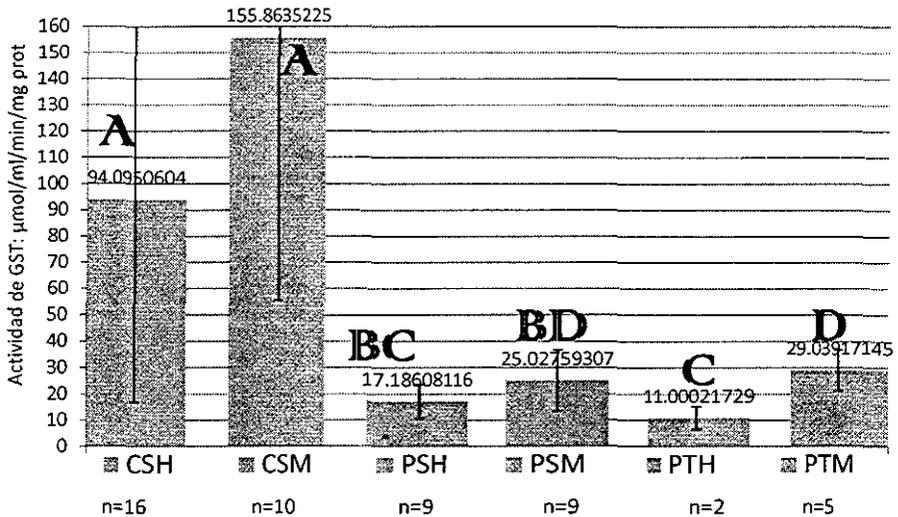


Figura 35. Gráfica de los niveles de la actividad de GST, después de la realización de dos lecturas de absorbancia a 340 nm para cada muestra, calculando los niveles de actividad como μmol por mililitro por minuto por miligramo de proteína, analizada en seis bloques, siendo CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Cada columna indica la media de actividad enzimática perteneciente a cada bloque con su respectiva desviación estándar. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p < .001$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

LONGITUD

Mediante un ANOVA se comprobó una diferencia significativa en cuanto a la longitud respecto a los bloques ($F=6.254$, $gl= 49$, $p<.001$). Mediante la prueba de Tukey HSD, con media armónica (Prueba de Levene =.385) se mostró una diferencia entre CSH, CSM y PSM contra PSH. Siendo siempre los machos los de mayor longitud respecto a sus hembras (Figura 36).

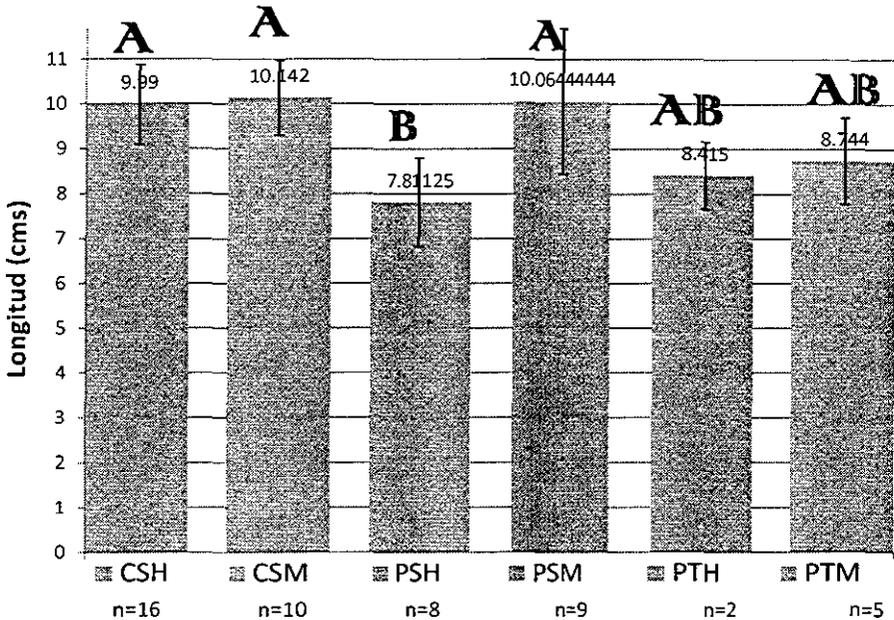


Figura 36. Gráfica de la media de la longitud de los individuos de cada uno de los bloques, con su respectiva desviación estándar. CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p < .001$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

PESO

Por medio de un ANOVA se demostró una diferencia significativa comparando la variable "peso" en los diferentes bloques ($F= 3.943$, $gl= 50$, $p=.005$), utilizando el método de TUKEY HSD, con Media armónica (Prueba de Levene= .813) para reconocer las diferencias. Mostrando con ello únicamente una diferencia significativa entre CSM y PSH. Siendo CSM el de mayor peso y PSH el de menor (Figura 37).

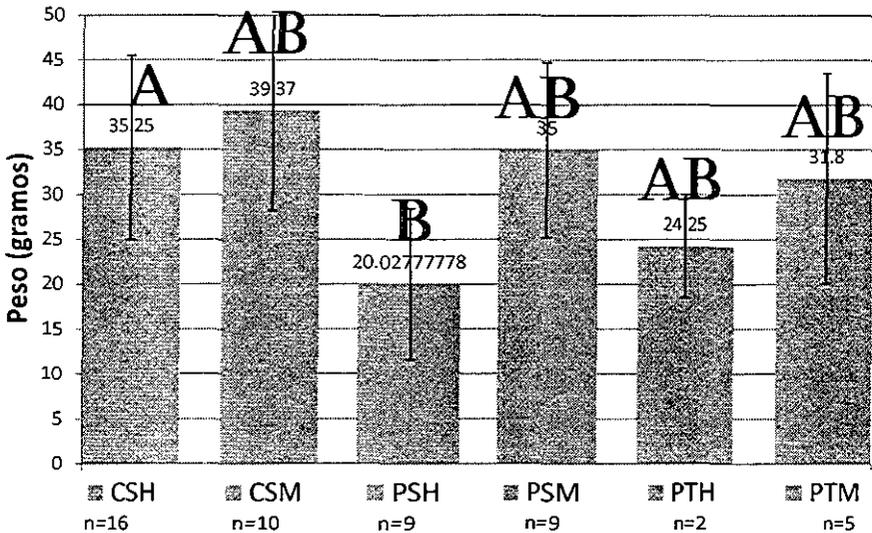


Figura 37. Gráfica de la media del peso de los individuos de cada uno de los bloques, con su respectiva desviación estándar. CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p = .005$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

Analizando el porcentaje de la longitud de la cola con respecto a la LHC en individuos con cola regenerada y no regenerada, el ANOVA no presentó diferencias significativas ($F=0.921$, $gl=49$, $p=0.476$) entre los bloques (Figura 38). Sin embargo al realizar el análisis únicamente con organismos que no tuvieran cola regenerada sí se encontró diferencia significativa ($F=4.046$, $gl=26$, $p=0.010$). Se utilizó la prueba de Games-Howell (Prueba de Levene = 0.025) para determinar las diferencias (Figura 39).

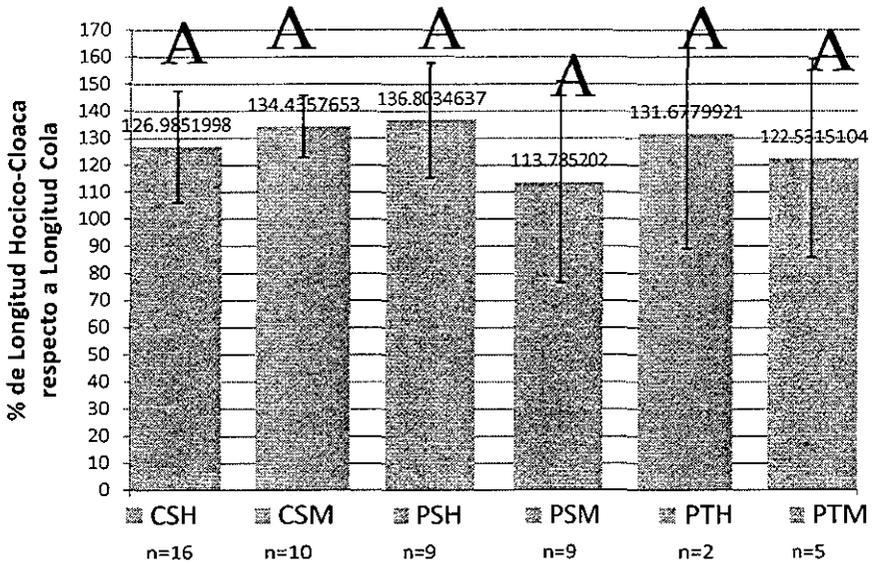


Figura 38. Gráfica de la media del porcentaje de la longitud de la cola con respecto a la longitud hocico-cloaca en individuos con cola regenerada y no regenerada de cada uno de los bloques, con su respectiva desviación estándar. CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p = 0.476$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

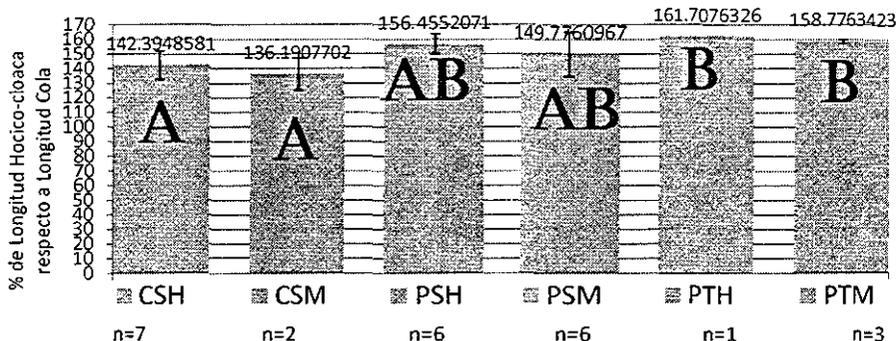


Figura 39. Medias del porcentaje de la longitud de la cola con respecto a la longitud hocico-cloaca en individuos con cola jamás regenerada de cada uno de los bloques, con su respectiva desviación estándar. CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p = .010$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

Al analizar el porcentaje del ancho de la base de la cola respecto a la LHC, el ANOVA no mostró diferencia significativa entre bloques ($F= .688$, $gl=4,1$, $p=.635$) (Figura 40).

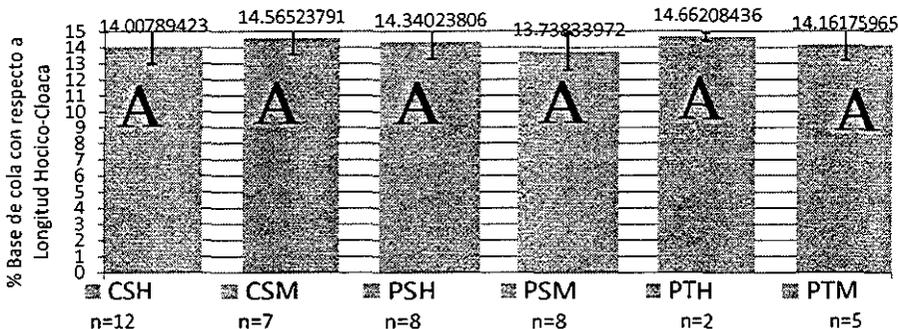


Figura 40. Medias del porcentaje del ancho de la base de la cola con respecto a la longitud hocico-cloaca de cada uno de los bloques, con su respectiva desviación estándar. CSH: Hembras de *Sceloporus serrifer cyanogenys* de El Carmen. CSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* de El Carmen. PSH: Hembras de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. serrifer cyanogenys* del Parque Chipinque. PTH: Hembras de *Sceloporus torquatus binocularis* del Parque Chipinque. PSM: Machos de *S. torquatus binocularis* del Parque Chipinque. Los grupos sin diferencia significativa que reveló el ANOVA ($p = .635$), están etiquetados con la misma letra: A, B, C y D. El número (n) de muestras analizadas en cada bloque está debajo de la etiqueta de cada bloque.

DISCUSIÓN

ALTITUD

Los organismos tuvieron una distribución altitudinal que varió de los 520 a los 1310 msnm, siendo el rango altitudinal de los 525 a los 529msnm, el que presentó la mayor abundancia de individuos. Stebbins (2003) ubica la distribución altitudinal del género *Sceloporus* comenzando debajo del nivel del mar hasta los 4110 msnm. Contreras-Lozano *et al.* (2007) reportaron en la Sierra de Picachos, N.L., al género *Sceloporus* en un rango de altitud de los 264 a los 1421 msnm, y específicamente para *Sceloporus cyanogenys* (actualmente *S. serrifer cyanogenys*) un rango de 264 a 1204 msnm, mientras que Canseco-Márquez *et al.* (2004) reportan en la Sierra Madre Oriental al género *Sceloporus* de los 200 a los 2835 msnm y un rango puntual para *S. serrifer* de 800 a 1800 msnm y de *S. torquatus* de los 2349 a los 2835 msnm. Nuestro rango de menor altitud es mayor y nuestro rango de mayor altitud es menor al reportado por otros investigadores, pero posiblemente esto cambiaría si se hubiese ampliado la colecta respecto a la altitud, encontrando que las especies podrían estar representadas a una altitud menor y/o mayor a la que se encontró en el presente trabajo. Sin embargo, se presume que la distribución altitudinal de los organismos no afecta su actividad enzimática, como se ha visto en investigaciones previas como las de Hofer *et al.* (2005), que analizaron el estrés oxidativo, midiendo la concentración de Glutatión en hígados de 9 poblaciones de renacuajos de *Rana temporaria* a diferentes altitudes que variaron de 1465 a 2150 msnm, y demostraron que el producto oxidativo de GSH era similar en casi todas las poblaciones a excepción de las situadas a 1465 y 2110 msnm, con ello se demuestra que las poblaciones con el rango de diferencia más alto no son las más diferentes y en los datos de las poblaciones se observa que los valores de concentración de GSH, fósforo disuelto y carbón orgánico disuelto no incrementan o decrecen por causa de la altitud.

TEMPERATURA Y ESTADO DEL TIEMPO

El 53.84% de los individuos fueron colectados cuando el día estaba totalmente soleado, característica generalmente presente en toda colecta de reptiles, Asiain-Guevara *et al.* (2000) afirman que *S. torquatus* inclusive está activo en invierno si el día está soleado.

Se registraron temperaturas ambientales desde los 20° a los 42.1°C, mientras que la temperatura registrada para el micrositio, tuvo un rango menor, registrándose desde los 15° a los 38°C. El rango de temperatura ambiental donde se encontró una mayor abundancia de especies coincidió con el mismo de la temperatura del micrositio, siendo ambos de 26° a 29.9°C. Contreras-Lozano (2006) reportó temperaturas ambientales para *S. cyanogenys* de 24° a 38°C, solapándose nuestro rango más frecuente con el aludido.

La temperatura es un factor que repercute en la actividad enzimática. Seebacher *et al.* (2004) concretaron que *Chelodina longicollis* utiliza una combinación de comportamiento termorregulador y aclimatización bioquímica (al menos en la actividad de la citrato sintasa) en respuesta al cambio de condiciones climáticas estacionales, mas ninguna enzima utilizada con *Chelodina longicollis* fue medida en el presente trabajo.

Baker *et al.* (2007) reportan que no existe diferencia en la capacidad antioxidante en plasma de neonatos de *Chrysemys picta* tratados a diferentes temperaturas (-6°C, -2.5°C, 4°C y el grupo control), pero también enfatizan que esta especie tiene gran capacidad antioxidativa y mínimo daño oxidativo ya que está bien protegida contra el estrés oxidativo causado durante la hibernación.

Hermes-Lima y Storey (1993) demostraron incremento en la actividad enzimática antioxidante (incluida la GST) en *Thamnophis sirtalis parietalis* cuando se expone 5 horas a una temperatura de -2.5°C, sin embargo las temperaturas encontradas en nuestro estudio no se acercaron a rangos tan bajos. Voituron *et al.* (2005) midieron la actividad de la SOD y de la Glutación Peroxidasa (GPx) en lagartijas (*Lacerta vivipara*), reportando que al ser expuestas a temperaturas menores de -2.5°C, aumentaba significativamente la actividad en músculo de SOD y GPx, mientras que a una temperatura de -2.5°C, casi no presentaban efecto alguno en la actividad enzimática en músculo ni en hígado. Las investigaciones previas permiten asumir que los rangos de temperatura encontrados, al no llegar a ser tan radicales como las temperaturas con las que se experimentaron, no representan una influencia en la actividad enzimática reportada.

Talent (2005) evaluó los efectos de la temperatura en la toxicidad de la piretrina, en un plaguicida, en *Anolis carolinensis* y demostró que hay influencia de la temperatura en la sensibilidad de la lagartija al plaguicida. Comparó el efecto de la temperatura en la mortalidad de las lagartijas mantenidas de 15° a 20°C contra las de 35° a 38°C, mostrando una relación negativa entre la mortalidad y la temperatura. La temperatura registrada para El Carmen fue de los 20° a los 41°C ($\bar{x} = 33.1 \pm 6.77^\circ\text{C}$), mientras que para el Parque Chipinque fue de los 22.4° a los 38°C ($\bar{x} = 29.22 \pm 5.33^\circ\text{C}$), en ambos casos siendo menor la diferencia entre la temperatura más alta y la más baja [(38°-15°) > (41°-20°)], que las registradas en *A. carolinensis*. Además la diferencia de las medias de temperaturas de las localidades (33.1° - 29.22° = 3.88°C), es menor que el promedio de los rangos de temperatura para *A. carolinensis* { [(20° - 15°) + (38°-35°)] / 2 = 4°C}. Sin embargo, ya que en este estudio lo que se examina no es la toxicidad, se reitera que la temperatura en la que se encontró a los organismos entran dentro de la distribución normal de temperaturas reconocidas para este grupo.

HUMEDAD RELATIVA

La humedad relativa del ambiente en que se capturaron los individuos fue desde 28% hasta 82.9%, capturando el 69% de los individuos cuando se medía en el ambiente una humedad de 30% a 49.9%, sin embargo el rango de humedad donde se colectó un mayor número de organismos (28%) fue de 35% a 39.9%. La humedad influye principalmente en el grado de actividad que los organismos tuvieron diariamente, ya que la actividad está fuertemente relacionada con la humedad (Nicholson *et al.*, 2005), mas no se encontró registro de que únicamente el factor de humedad pudiese influir en actividad enzimática alguna. En general los reptiles no se ven afectados fisiológicamente por la humedad, ya que pierden agua muy lentamente y pueden resistir la desecación por períodos largos de tiempo (Hall, 1922). La humedad en la que los reptiles están activos es capaz de abarcar todos los rangos, Anderson (2002) reporta una humedad para *Boiga irregularis* de 40% a 100%, mientras que García-De la Peña *et al.* (2007) reportan para *Uta steynegeri*, *Uma exsul* y *Aspidocelis marmorata*, entre las 14:00 y las 15:00 hrs. una media de humedad relativa de $11.4 \pm 1.3\%$.

HORAS DE ACTIVIDAD

S. torquatus es una especie de hábitos diurnos (Asiain-Guevara *et al.*, 2000), al igual que *S. serrifer*, por ello las colectas se llevaron a cabo entre las 9:00 y las 19:59 hrs., sin embargo la hora en que mayor actividad se encontró fue de las 14:00 a las 14:59 hrs. El horario de colecta que se utilizó fue muy similar al de Galina-Tessaro *et al.* (2003), que llevaron a cabo colectas de 13 especies de lagartijas, de las cuales 2 pertenecen al género *Sceloporus* en la Reserva de la Biósfera El Vizcaíno, desde media mañana (9:00 – 11:00 hrs.) hasta media tarde (16:00 – 18:00 hrs.). También congeniamos con las horas de Contreras-Lozano (2006), que realizó sus recorridos de 9:00 a 14:00 y de 15:00 a 20:00 hrs., aunque su hora de descanso es justamente en la que se encontró mayor actividad de individuos en este trabajo. García-De la Peña *et al.* (2007) realizaron sus colectas de 7:00 a 19:00 hrs. en lagartijas del género, *Uta*, *Uma* y *Aspidocelis* en las dunas de la Viesca, la diferencia de horario para comenzar el muestreo seguramente se debe a que en las dunas la temperatura es mayor a las 7:00 hrs. que en los sitios de muestreo de este trabajo. No obstante, se aprecia que el horario de colecta utilizado es similar al utilizado para muestreos de lagartijas, en particular de *Sceloporus*.

VEGETACIÓN Y SUSTRATO

En El Carmen no se pudo apreciar una vegetación definida pues el muestreo se llevó a cabo en un Parque Industrial, por ello los tipos de vegetación fueron documentados únicamente en el Parque Chipinque, ahí, el 69% de los individuos tuvieron una preferencia por vegetación de Encino.

Los resultados coinciden con estudios previos sobre *S. torquatus*, afirmando que se encuentra en una amplia gama de ambientes, que van desde los bosques de encino a las zonas áridas en donde vive asociado a áreas rocosas (McCranie y Wilson, 1987; Flores y Gerez, 1994; Rodríguez y Vázquez-Díaz, 1996). Olson (1990) ubica a *S. torquatus* en semidesiertos abiertos, pastizales, bosques mixtos y de coníferas. La vegetación varía dependiendo del sitio muestreado, razón por la cual el tipo de vegetación encontrado en este estudio difiere de unos y se asemeja a otros. Contreras-lozano *et al.* (2007) encontraron el 60% de las especies de *Sceloporus* en matorral submontano, mientras que sólo el 3.75% se encontró en bosque de encino. Canseco-Márquez *et al.* (2004) reportan que *S. serrifer* se distribuye en Bosque mesófilo de montaña y Bosque tropical subperennifolio y *S. torquatus* en Bosque de pino-encino, Bosque de encino, Bosque de pino y Pastizal alpino. Alemán (2006) encontró la mayor abundancia de *Sceloporus* en el Bosque de pino. Empero, el género *Sceloporus* se presenta en una gran variedad de vegetaciones, Stebbins (2003) asevera que su hábitat varía de semidesierto, matorrales, bosques tropicales y se expande hasta alta montaña.

Estas lagartijas tienen una amplia pluralidad de sustratos, principalmente por su capacidad adaptativa y su morfología que les permite desarrollarse sobre casi cualquier superficie. Stebbins (2003) dice que algunos residen en el suelo, otros trepan con facilidad rocas, troncos cortados, árboles y costados de los edificios. Como tienen hábito de asolearse, se les encuentra con frecuencia en la cima de rocas, postes de rejas, troncos y cualquier objeto con irradiación directa del sol.

Para *S. serrifer* el 57% de los individuos fueron localizados sobre pared de ladrillo debido a que este porcentaje (26 organismos) pertenece a El Carmen y éste es un sitio donde predominan las industrias bordeadas por paredes de ladrillo. A diferencia, los individuos que pertenecen al Parque Chipinque fueron encontrados principalmente sobre alguna roca o paredes de roca, concordando con los antecedentes mencionados para esta especie, que afirman que *S. serrifer* se encuentra principalmente en paredes de roca que cubren las montañas; escondiéndose detrás de rocas elevadas y debajo o dentro de hoyos en rocas.

Al contrario de *S. serrifer*, la mayoría de los individuos de *S. torquatus* fueron encontrados sobre árboles. Olson (1990) registró que *S. torquatus* es una lagartija arborícola o saxícola, que se encuentra residiendo en grietas, rocas, paredes rocosas o árboles grandes con agujeros de acceso externo. Asiain-Guevara *et al.* (2000) afirman que es fácil verla asoleándose sobre troncos grandes durante casi todo el año. Comprobando así, un comportamiento normal para los individuos *Sceloporus* encontrados.

VIENTO

Casi la mitad de los individuos fueron encontrados con un viento de 25% (medición subjetiva que se relaciona en la clasificación de la velocidad de los vientos al número de Beaufort 2 y 3, que implica de 6 a 19 km/hr). Se puede teorizar que estas especies prefieren desarrollar sus actividades (asolearse, alimentarse, cortejar, etc.) cuando el viento no pasa de una brisa moderada (quizá hasta una velocidad de viento de 30 km/hr), aunque también podría deberse a la menor precisión que se obtenía con el lazaurio al aumentar la velocidad del viento. A pesar de ello, el viento influye en el éxito de captura de organismos, mas no causa diferencia en la actividad enzimática.

LOCALIDADES

Se encontró casi el mismo número de individuos en ambas localidades. Únicamente se capturó uno más en El Carmen que en Chipinque, a pesar de que las visitas realizadas a El Carmen representan el 15% de las realizadas al Parque Chipinque. Esto puede deberse a que la temperatura media de El Carmen es mayor que en Chipinque y por ello desde muy temprano se podían localizar lagartijas, además fue más sencillo capturarlas sobre paredes de concreto, que alcanzaban máximo 4mts de altura, comparado contra paredes de roca, que podían sobrepasar los 10 mts de altura. También pudo haber influido que los colores naturales de las rocas en Chipinque les dan una mayor posibilidad de mimetizarse que las paredes artificialmente pintadas de El Carmen. El Parque Chipinque es un sitio prístino, un parque ecológico al que se aplica empeño para su conservación, mientras que El Carmen es un parque industrial, un sitio donde lo más importante son las empresas que emanan contaminantes y desechos. El hecho de comparar localidades tan antagónicas nos permite poder realizar una buena relación entre las actividades enzimáticas de sus Phrynosomatidos residentes.

ESPECIES

La especie más abundante que se encontró fue *S. serrifer*, conformando el 86.79% del total de individuos colectados, a pesar de que tanto *S. serrifer* como *S. torquatus* son de las especies más populares en todo Nuevo León. La presencia de ambas especies, está registrada, entre otros sitios, para la Sierra del Cerro de la Silla, La Sierra Madre Oriental y el cerro "El Potosí" (Lazcano *et al.*, 2009; García *et al.*, 1999; Canseco-Márquez *et al.*, 2004). Contreras-Lozano *et al.* (2007) reportaron en la Sierra de Picachos, Nuevo León, registro de *Sceloporus cyanogenys*, mientras que Lazcano *et al.* (2004) registran a *S. torquatus* en la Sierra San Antonio Peña Nevada, Zaragoza. Considerando que no se ha realizado una investigación similar en ninguna de las dos especies, cualquiera de ellas son excelentes blancos de investigación.

GÉNEROS

Sumando los organismos de ambas especies y ambos sitios, fueron colectados 23 individuos hembras y 30 machos. Encontrando en El Carmen un mayor número de hembras (N=17) que de machos (N=10) y viceversa en Chipinque, donde hubo menos hembras (N=11) que de machos (N=15). Registrar el género al que cada uno de los individuos capturados pertenece es indispensable, ya que saber si había diferencia en la actividad enzimática entre géneros de la misma especie también representó uno de los objetivos (no plasmados) de este trabajo.

ESTADIOS

Se encontró un mayor número de adultos (N=43) que de juveniles (N=10), mas hay que considerar que en El Carmen se capturaron únicamente adultos (N=27), por ende en el Parque Chipinque, al menos en la muestra obtenida, existe una población más regular de organismos, representado el 61.5% de la muestra por adultos (N=16) y el resto por juveniles. El hecho de que únicamente una de las localidades cuente con juveniles podría ser un factor modificante en la actividad enzimática, no obstante, no hay trabajos que sustenten la teoría; por ello, se realizaron contrastes entre estadios de la misma especie para determinar si se alteraban los resultados, conviniendo que el macho juvenil de *S. serrifer* fuese eliminado del análisis estadístico ya que introducía mucho ruido. Empero, podrían existir diversas razones que ocasionen diferencia de actividad enzimática: a) que la actividad enzimática de los machos juveniles de *S. serrifer* sea en sí muy disímil de los demás integrantes del grupo, b) que el número de individuos (N=1), siendo tan pequeño, sea el responsable de no poder contrastar significativamente los resultados, ó c) que se hubiese cometido algún error mecánico al examinar esa muestra en particular. Se necesitaría futura investigación con esta temática como objetivo, para poder concluir decisivamente.

Sceloporus consobrinus

Al no encontrar información referente a ecotoxicología en *Sceloporus*, se analizó la actividad enzimática de AChE, BChE, CxE, ALP y SOD en diferentes tejidos de *Sceloporus consobrinus*, comprobando la presencia de actividad de éstas en un individuo del mismo género que las especies a muestrear, lo que dio la pauta para continuar la investigación.

Se midió la absorbancia durante el tiempo de la actividad de diferentes enzimas y en 3 de ellas (AChE, BChE y CxE) se analizaron los valores de correlación entre el aumento de la absorbancia con respecto al tiempo. Todos los tejidos examinados, incluyendo el tejido de la cola, mostraron una relación positiva (indicando actividad enzimática presente), empero algunas fueron más marcadas que otras.

En cuanto a la actividad de AChE, el tejido que tuvo mayor actividad fue el hígado y en segundo lugar la cola (Figura 22). La Tabla 3 muestra que el valor de correlación, tanto de cola como de hígado, son los más marcados en comparación con los otros tejidos, lo que atestigua que se guarda una relación entre la actividad de hígado y la cola.

Se recomienda para el análisis de esta enzima utilizar tejido de la cola, falanges o (si se tiene la facultad de obtenerlo) plasma, pues también demostraron alta confiabilidad.

Para la actividad de BChE el valor de correlación más alto pertenece al hígado (Tabla 3), sin embargo el tejido de la cola, siendo el tercero en rango, presenta una relación marcada, brindando confiabilidad a utilizar este tejido. Si se quisiese medir esta enzima se recomienda (en base a la Tabla 3), utilizar tejido de la cola, cuerpo grasos (mas sólo de ser estrictamente necesario, pues involucra una metodología letal) y en menor grado plasma.

Respecto a la actividad de CxE en hígado, la concentración de la enzima fue muy alta, llevándose a cabo una reacción muy rápida superando la cantidad de sustrato y considerando la constante de Michaelis-Menten se decidió considerar únicamente la mitad del tiempo (Figura 25), pues el tiempo restante arrojaba datos que no contribuían a los resultados. Esta enzima muestra relación positiva y marcada en todos los tejidos, por lo que si se quisiese únicamente medir la actividad de CxE, se podría utilizar el tejido que se prefiera.

Actividad de colinesterasas ha sido medida en hígado y riñones de *Calotes versicolor* (Khan, 2003) y la AChE y BChE en cerebro de *Phrynosoma sp.* (Schmidt, 2003), sin embargo para aplicar una metodología no letal, se consideró coleccionar muestras de falanges o plasma, este último se ha utilizado con anterioridad para medir BChE y CxE en *Gallotia galloti* (Sánchez *et al.*, 1997); empero en ambas opciones la cantidad de muestras obtenida hubiese sido poca y la obtención de plasma resultaba más riesgosa que utilizar tejido de la cola. Además de las circunstancias mecánicas, tanto las falanges como el plasma, presentan una menor relación para todas las enzimas en comparación de la cola (Tabla 3), dando la ventaja de poder utilizar una metodología no letal, obtener tejido de manera sencilla y en buen porcentaje, logrando obtener suficiente muestra para analizar todas las enzimas.

Tabla 3. Valores de la correlación entre el tiempo con respecto a la absorbancia tomados cada minuto hasta seis minutos, durante el tiempo de actividad de AChE, BChE y CxE

	AChE	BChE	CxE
Hígado	0.9826	0.9866	0.9081
Plasma	0.9941	0.8385	0.9801
Cola	0.9988	0.9099	0.9957
Falanges	0.9643	0.7021	0.978
Cuerpos grasos	0.9714	0.9695	0.9996
Testículos	0.7978	0.1096	0.9988

Sceloporus consobrinus presentó actividad en los tres tejidos analizados, mas no se analizó tejido de cola para esta enzima debido a una falla en la organización metodológica, por ende considerando que la actividad de ALP ha sido analizada en sangre de *Crocodylus palustris* (Stacy y Whitaker, 2000), y que los restos de tejido de cola transportan consigo sangre, se presupone encontrar buena actividad en la cola.

La actividad de la SOD registrada para la lagartija *Agama caucasicus*, tuvo un valor más alto en el músculo esquelético que en el hígado, aunque el valor más alto lo obtuvo el cerebro y el más bajo el corazón (Zakaryan *et al.*, 2002), sin embargo en este estudio se encontró la mayor actividad para esta enzima en hígado (Figura 28), aunque el tejido de cola mostró evidente actividad en relación a éste, afirmando la posibilidad de obtener buenos resultados de este tejido.

No se midió la actividad de ACP ni de GST en *S. consobrinus*, mas se examinaron estudios donde se han realizado análisis de ACP en riñones de *Calotes versicolor* (Chandicharan y Chapala, 1962), lo que al menos da la premisa de que en el suborden Iguania existe esta actividad. Así como también se examinó la investigación de Hermes-Lima y Storey (1993), donde miden la actividad de GST en músculo para *Thamnophis sirtalis*, y reportan actividad de esta enzima en el orden Squamata.

Se demostró que la determinación de enzimas indicadoras de estrés y contaminación ambiental, puede realizarse a partir de muestras de cola. Lo cual, además, presenta las ventajas de ser una metodología no letal, fácil de obtener suficiente cantidad de extracto enzimático, y mostrar actividad enzimática notoria.

Sceloporus serrifer y *S. torquatus*

Colinesterasas

En la literatura revisada, músculo de cola de *Alligator mississippiensis*, ha sido utilizado para analizar contaminantes (Delany *et al.*, 1988). Sin embargo no se encontró registro de medición de actividad enzimática en tejido de cola de otros reptiles, por ello la metodología utilizada para los análisis fue adaptada de trabajos ya sea en otros tejidos de reptiles u otras especies de vertebrados. Así, para el análisis de colinesterasas y carboxilesterasas, se utilizó el método de Ellman *et al.* (1961) modificado para su aplicación en microplacas, el cual ha sido frecuentemente utilizado para analizar la actividad de estas enzimas (Schmidt, 2003; Cowman, 2005; Kumari y Sinha, 2006; Sanchez-Hernandez y Moreno, 2002; Sanchez-Hernandez y Walker, 2000; Fossi *et al.*, 1995; Sanchez-Hernandez, 2003).

La AChE se presenta en mayor proporción en cerebro, sin embargo para proceder con una metodología no letal, también ésta fue analizada en TDC, ya que la inhibición de actividad de ChE en cerebro, puede predecirse con la actividad de ChE en suero, aunque la naturaleza química del organofosforado es un determinante importante, al menos en vertebrados de sangre fría (Sanchez-Hernandez y Walker, 2000).

La inhibición de colinesterasas ha sido un excelente biomarcador para la exposición a plaguicidas organofosforados y/o carbamatos en aves, mamíferos, peces e invertebrados (Cobos *et al.*, 2006; Furlanello *et al.*, 2006; Chandrasekara y Pathiratne, 2007; Sánchez-Hernández, 2006), mas también se ha reportado su eficacia en herpetozoos:

El lagarto tizón (*Gallotia galloti*) ha sido propuesto como especie centinela apropiada para estudios ecotoxicológicos con enfoque biomarcador de compuestos organofosforados. Lo anterior ha sido posible a partir de caracterizaciones de las colinesterasas presentes en esta especie, con lo cual fue posible identificar el uso de la actividad BChE en suero como un biomarcador aceptable de exposición a plaguicidas (Fossi *et al.*, 1995; Sánchez-Hernández y Moreno, 2002).

El efecto inhibitorio de la actividad colinesterasa ha sido observado en hígado de *Calotes versicolor*, dependiendo del contaminante al que se expone, decreciendo hasta 35% bajo el efecto del piretroide Cypermethrin; hasta 66.9% bajo el efecto del organofosforado Malatión; y hasta 52.61% bajo el efecto del fitoplaguicida Biosal (Khan, 2003). De igual forma, se ha documentado la inhibición de AChE en cerebro de *Ambystoma tigrinum* después de ser expuesto a malatión (Henson-Ramsey *et al.*, 2008). Estos estudios muestran que en reptiles la inhibición de actividad de ChEs indica una clara exposición a plaguicidas organofosforados y/o carbamatos, lo que permite suponer que los sitios de muestreo del presente trabajo no presentan una exposición diferencial a esta clase de contaminantes, al observar actividad enzimática similar de AChE y BChE entre organismos de ambos sitios.

La actividad AChE mostró actividad promedio menor en hembras que en machos de todas las especies (Figura 29), sin embargo, al no ser estadísticamente significativa, se afirma que es similar la actividad entre géneros. Así también, la actividad BChE mostró menor promedio (estadísticamente no significativo) en hembras que en machos de *S. serrifer* (Figura 30). De igual forma en estudios previos en ciertas aves y mamíferos no ha sido registrada una diferencia de la actividad en AChE de cerebro entre machos y hembras; sin embargo, para la BChE se reporta una diferencia en la actividad entre géneros, y existen reportes de una menor actividad en hembras que en machos en aves (Rattner y Fairbrother, 1991; Thompson, 1999). La comparación con aves se justifica, ya

que evaluaciones de oxones de organofosforados sobre sensibilidad de colinesterasas en reptiles indican que son tan sensibles a estos compuestos como las aves y mamíferos. La sensibilidad de las colinesterasas en reptiles al paraoxón, osciló entre lo reportado para peces y aves (Schmidt, 2003). Sin embargo, Sánchez-Hernández y Walker (2000) mostraron que la actividad de colinesterasas fue más sensible al paraoxón y al diclorvós, que sus respectivos compuestos parentales y que los reptiles tienen una alta resistencia a plaguicidas organofosforados comparado con otros vertebrados como aves y mamíferos.

La actividad de AChE tanto en *S. serrifer* como en *S. torquatus*, fue mayor que la actividad de BChE, a diferencia de lo que reportan Sanchez-Hernandez y Moreno (2002) para *Gallotia galloti* donde la actividad en suero de AChE fue menor que la actividad de BChE. Esto podría deberse a que la AChE hidroliza la Acetilcolina clorada pero no la Butirilcolina clorada, mientras que la BChE hidroliza la Butirilcolina clorada a una tasa más alta que la Acetilcolina clorada (Sanchez-Hernandez y Moreno, 2002), y a pesar de que el sustrato utilizado fue Acetilcolina iodada, podría presentarse un efecto similar, lo que permite sospechar que la actividad de la AChE no refleja únicamente su actividad sino también actividad de BChE.

El manejo de los animales fue similar en cada uno de los individuos, por ello se presume que esto no afectó la actividad enzimática, aunque el estrés físico aumenta la inhibición de AChE en músculo esquelético (Ott, 1985).

Decremento de colinesterasas, dependiendo del grado, puede causar signos clínicos en los organismos, por ello al observar un comportamiento "normal" en los individuos colectados puede igualmente respaldar la teoría de que los organismos de las localidades estudiadas no sufren exposición a plaguicidas, ya que inclusive con cierto grado de inhibición de la enzima suelen presentarse afecciones colinérgicas (Henson-Ramsey *et al.*, 2008), como el caso de *Rana tigrina*, donde inmediatamente después de exposición a Carbaryl, los individuos entran en estado de postración, pero una vez corregido el desbalance colinérgico, desaparecen los síntomas y signos neurológicos (Kumari y Sinha, 2006).

Por otra parte, también ha sido reportado que los cambios estacionales provocan cambios en la actividad BChE en suero de un amplio rango de aves, así como también afectan la actividad de AChE en cerebro de ratones del género *Mus* y *Micromys* (Rattner y Fairbrother, 1991; Thompson, 1999). Sin embargo, el muestreo se llevó a cabo durante primavera y únicamente se colectó el 3.7% de los individuos totales en verano, por lo que no se considera como factor diferencial los meses de muestreo. Lo anterior puede ser apoyado por el hecho de que no se encontrara relación entre la temperatura ambiental y la actividad enzimática en los sitios de muestreo (Tabla 4), concordando con Schmidt (2003), quien no encontró diferencia significativa entre los meses de muestreo, ni relación

de temperatura del agua con respecto a la actividad enzimática de AChE o BChE en *Caretta caretta*. No obstante, una diferencia en la actividad de la BChE y CxE en suero ocasionada por cambios diurnos (durante un período de 12 horas), ha sido reportada en aves, por ello es preferible diseñar programas de monitoreo para que las muestras sean tomadas a aproximadamente la misma hora del día o caracterizar por completo cualquier variación (García-Rodríguez *et al.*, 1987; Gard y Hooper, 1993; Rattner y Fairbrother, 1991; Thompson, 1999), sin embargo, no se encontró relación entre el horario en que el individuo fue colectado y la actividad enzimática (Tabla 6).

Tabla 4. Valores de correlación entre la temperatura ambiental y la actividad enzimática (Δ Absorbancia/min/mg prot) de los individuos del Parque Chipinque (n=25) y El Carmen (n=27). Los valores estadísticamente significativas están marcados con un asterisco (*).

	Chipinque	El Carmen
AChE	0.173	0.027
BChE	0.26	0.016
CxE	0.32	0.048
ACP	0.005	0.002
ALP	0.007	0.004
SOD	0.049	0.003
GST	0.011	0.002

Tabla 5. Valores de correlación entre la longitud y el peso respecto a la actividad enzimática (Δ Absorbancia/min/mg prot) en el total de individuos colectados de ambas especies en ambos sitios de muestreo (n=52). Los valores estadísticamente significativas están marcados con un asterisco (*).

	Longitud	Peso
AChE	0.006	0.015
BChE	0.078	0.008
CxE	0.131	0.038
ACP	0.001	0.016
ALP	0.009	0.033
SOD	0.033	0.103
GST	0.102	0.049

Tabla 6. Valores de correlación entre el horario de colecta respecto a la actividad enzimática (Δ Absorbancia/min/mg prot) en el total de individuos colectados de ambas especies en ambos sitios de muestreo (n=52). Los valores estadísticamente significativas están marcados con un asterisco (*).

AChE	0.045
BChE	0.004
CxE	0.001
ACP	0.002
ALP	0.003
SOD	0.001
GST	0

Se ha documentado la existencia de una amplia diferencia en los niveles de actividad de las colinesterasas y carboxilesterasas, entre especies de aves y mamíferos (Rattner y Fairbrother, 1991; Hill, 1988; Westlake *et al.*, 1983; Thompson, 1999), por ello se analizaron por separado cada una de las especies muestreadas, a pesar de que coincidieran con el sitio de muestreo. Aunque inclusive dentro de la misma especie, existe una gran variación en la actividad AChE, BChE, y CxE en suero de los individuos, y por ello, las muestras de sangre, cuando sea posible, deberían ser colectadas de los individuos, tanto antes como después de la exposición. La actividad AChE de cerebro puede variar incluso entre individuos y esto requiere acumular suficientes y apropiados controles para asegurar que la información sea comparable (Rattner y Fairbrother, 1991; Thompson, 1999). Por lo cual, se asume que estos parámetros deben ser más controlados cuando los diseños experimentales se adaptan a circunstancias de laboratorio. No obstante en el presente trabajo, no se encontró relación entre el peso con la actividad enzimática (Tabla 5), ni entre la longitud y la actividad enzimática (Tabla 5). Concordando con Schmidt (2003), quien no detectó relación entre el tamaño del caparazón con la actividad de AChE ($r^2=0.067$) o BChE ($r^2=0.0097$) en *Caretta caretta*.

Al mismo tiempo el muestreo fue llevado a cabo en campo, donde en el caso de tener exposición a plaguicidas sería continua y el efecto anticolinesterasa se presentaría en el organismo, mientras su metabolismo esté activo y es justamente cuando se llevó a cabo el muestreo, durante horas sol.

La actividad de las enzimas colinesterasas en las especies de *Sceloporus* en los sitios de estudio no reveló indicios de contaminación ambiental diferencial. Tanto la actividad AChE como BChE, es capaz de mostrar exposición a plaguicidas organofosforados y/o carbamatos, sugiriendo que a pesar de que la actividad de estas enzimas es buen bioindicador, los sitios muestreados no están expuestos a estos tipos de contaminantes, considerando inclusive género, estación del año, horario y diferencias inter e intraespecíficas.

Carboxilesterasas

La actividad de las carboxilesterasas reveló diferencia significativa entre las localidades, mostrando una mayor actividad en el parque industrial (Figura 31). A pesar de que ha sido reportada una mayor variación interespecífica de la actividad de CxE comparada con la actividad BChE (Sanchez *et al.*, 1997), la diferencia entre las medias, muestra claramente una afección fisiológica separando drásticamente las localidades. Thompson y Walker (1994) y Bartkowiak y Wilson (1995), argumentan que los factores que producen diferencias interespecíficas en la actividad de CxE incluyen hábitos alimenticios y tamaño corporal. Sanchez *et al.* (1997) reportan en aves la mayor actividad de CxE en *Sylvia melanocephala*, especie que se alimenta principalmente de insectos y frutas, mientras que *Erithacus rubecula*, especie exclusivamente insectívora, mostró menores niveles de actividad. En este sentido, la dieta de *S. serrifer* es principalmente insectívora, pudiendo ser las especies de insectos el factor cambiante de la actividad enzimática, aunque es poco probable porque seguramente modificarían toda la actividad de esterases, lo cual no ocurrió. Mientras que el tamaño corporal se puede eliminar como factor perturbante, ya que los machos y las hembras tienen tamaños similares.

La siguiente posibilidad sería que Chipinque sufriera exposición intermitente a organofosforados que de oportunidad a las ChEs de revertir la inhibición y por ello no encontrar diferencias en estas enzimas, mientras que las CxEs debido a que, una vez que han sido fosforiladas, no sufren reactivación espontánea (Maxwell y Brecht, 2001). Empero, los individuos de Chipinque podrían estar bajo efecto de algún carbamato, ya que estos plaguicidas son hidrolizados primeramente por CxEs, a diferencia de plaguicidas anticolinesterasas circulantes que pueden unirse a BChE y CxE en sangre (Sanchez *et al.*, 1997). Aunque debido a la falta de un grupo control, no se puede especificar si se presenta inhibición de actividad de CxE en Chipinque o exista un aumento de actividad de CxE en El Carmen, por lo cual se presume que la diferencia de actividad de CxE entre los sitios se debe a factores distintos a contaminación por plaguicidas.

De esta forma, una hipótesis que consideramos más plausible conlleva a considerar estudios que relacionan la actividad de CxEs con contaminación industrial. Por ejemplo, Wilczek *et al.* (1997) analizaron el efecto de metales pesados sobre la actividad CxE en tres especies de arañas en dos sitios contaminados (vertederos metalúrgicos y de carbón) comparados con un grupo control. Para la especie *Metellina segmentata* mostraron que en ambos vertederos la actividad de CxE fue mayor que el grupo control, siendo los valores más elevados en el vertedero metalúrgico. Lo anterior también pudo ser relacionado con una mayor concentración de plomo, cadmio, cobre y zinc en el vertedero metalúrgico con respecto al grupo control. De igual forma, se han desarrollado investigaciones en poblaciones de hormigas (*Formica polyctena*) en sitios con

contaminación industrial, analizando la relación entre niveles de contaminación de metales (Cd, Pb, Zn, Mn y Cu) con sus estrategias metabólicas y detoxificantes. Mostrando los patrones de actividad de CxE una correlación positiva con la carga de metales en hormigas obreras forrajeadoras, perteneciendo el valor más alto de carga de cadmio a hormigas de una localidad encontrada en medio de un gradiente de contaminación (Migula y Glowacka, 1996). Con estos resultados se podría suponer que los niveles altos de actividad de CxE en este trabajo se deben a un alto nivel de metales pesados presente en El Carmen.

Una segunda posibilidad respecto a la diferencia de valores de actividad CxE podría deberse a la presencia de hidrocarburos emanados por las industrias en el parque industrial, ya que se ha mostrado que al incrementar la duración de exposición a Hexabromociclododecano (HBCDD) se induce actividad de enzimas detoxificantes (EROD y PROD) (Zhang *et al.*, 2008), y se conoce que las CxEs juegan un papel importante en el metabolismo y subsecuente detoxificación de varios agroquímicos y farmacéuticos (Redinbo y Potter, 2005; Potter y Wadkins, 2006).

Los factores específicos que podrían estar disparando la actividad de estas enzimas en el parque industrial no se pueden determinar con exactitud, ya que el grupo de enzimas CxEs es muy amplio y abarca muchas distintas isoenzimas que hidrolizan un amplio rango de ésteres, amidas y tioésteres, lo cual también les permite jugar un importante rol en el metabolismo de drogas y lípidos (Heymann, 1980; Satoh, 1987). Sin embargo, a pesar de una abundancia de literatura sobre análisis de CxEs, sus funciones fisiológicas concretas, en muchos casos son todavía desconocidas (Huang *et al.*, 1993).

De esta forma, la conclusión que es posible considerar sobre este bioindicador es que las CxEs presentaron un rol como enzimas detoxificantes de metales pesados y/o hidrocarburos relacionado con las actividades derivadas del parque industrial. Sin embargo, sería recomendable un diseño experimental con factores controlados para poder aseverar específicamente que estos factores son modificantes de actividad de CxE en el tipo de tejido examinado y en especies similares considerando la falta de antecedentes y las fuentes de variación de CxEs.

Fosfatasa

Considerando todos los bloques, especie, género y localidad, no se puede mostrar diferencia significativa para la actividad de fosfatasa ácida (ACP) (Figura 32). Sin embargo, en los ejemplares hembra del "Parque Ecológico Chipinque" el promedio fue mayor que en el resto de los bloques.

La similitud en los niveles de actividad podría asociarse a que la gran mayoría de los individuos se encontraban en el mismo estadio ya que se ha observado, en el macaco Rhesus, que la enzima se presenta en pequeñas cantidades en infantes, incrementando en pubertad y alcanzando el máximo durante la adultez (Gutman y Gutman, 1939). Por otra parte se ha reportado su presencia en serpientes durante la época reproductiva (Bishop, 1959), por lo que la enzima también es considerada como una característica sexual secundaria, pues la concentración varía dependiendo del estado de los andrógenos del organismo (Chandicharan y Chapala, 1962).

Lo anterior sugiere que sería necesario analizar la actividad enzimática en distintas etapas de vida para poder encontrar diferencias significativas o quizá en estaciones extremadamente diferentes, ya que en la lagartija *Calotes versicolor* se ha encontrado alta concentración durante la época reproductiva y muy baja concentración durante la hibernación (Chandicharan y Chapala, 1962). Al mismo tiempo, se han documentado variaciones en los niveles de actividad debido a factores externos, como en el pez *Channa marulius*, donde la actividad de ACP en tejido nervioso se redujo significativamente debido al látex de 2 plantas de la familia Euphorbiaceae y 2 plantas de la familia Apocynaceae, siendo esta reducción dependiente de la dosis y del tiempo (Singh y Singh, 2005). De igual forma en el cangrejo *Scylla serrata*, la actividad de ACP decreció en hepatopáncreas y ovario bajo el efecto de toxicidad por naftaleno, mientras que en hemolinfa, la actividad se incrementó (Vijayavel y Balasubramanian, 2006). Por estos motivos y a pesar de los estudios previos, bajo los parámetros en los que se llevó a cabo este estudio, la actividad de ACP no muestra sensibilidad o alteración para considerar la utilización de este bioindicador de estrés o contaminación ambiental.

En el presente trabajo, los niveles de actividad de las fosfatasa: ACP y ALP, no mostraron relación entre sí. Contrariamente, Trivedi *et al.* (2001), encontraron una relación entre la actividad de ACP y ALP, exponiendo a sulfonato de alquilbenceno al pez gato (*Heteropneustes fossilis*), mostrando que la actividad de ACP se eleva al incrementarse la concentración del químico; mientras que la actividad de ALP decreció en el mismo periodo de exposición. Igualmente, Mazorra *et al.* (2002) detectaron un tipo mixto de inhibición de actividad de ALP y ACP en órganos y tejidos de la almeja *Scrobicularia plana* por efecto de mercurio, modificándose los parámetros Km y Vmax por la concentración del contaminante.

Respecto a la actividad de ALP, ésta fue significativamente más baja en el parque industrial (Figura 33). Esta enzima es ubicua en la naturaleza, desde bacterias a humanos. Su primera función establecida, fue el rol en la mineralización de hueso, y recientemente se ha propuesto que la ALP regula transporte de lípidos, sin embargo su papel fisiológico

y sustratos naturales siguen siendo desconocidos (Hui y Tenenbaum, 1988; Van Hoof y De Broe, 1994; Fedde *et al.*, 1999; Narisaw *et al.*, 2003). Sin embargo, se han realizado estudios en diversas especies y tejidos, como Trof *et al.* (2006) que han intentado utilizar la actividad de ALP como biomarcador de daño renal agudo, o en el caso de Mazorra *et al.* (2002), quienes analizaron la actividad de ALP en diferentes tejidos de la almeja *Scrobicularia plana*, y exhibieron en glándula digestiva los valores más altos de actividad. Similarmente, con los resultados de este trabajo, se ha mostrado una relación del decremento de actividad de ALP por exposición a contaminantes. Singh *et al.* (2008), concluyen que niveles altos de plomo influyen en el decremento de actividad de ALP en ratas. También en tejido nervioso de el pez *Channa marulius*, la actividad de ALP decrece significativamente debido al efecto del látex de plantas de las familias Euphorbiaceae y Apocynaceae (Singh y Singh, 2005). Un nivel de actividad enzimática debajo del rango normal, puede traer consigo fallas fisiológicas, como ejemplifican Trivedi *et al.* (2001), que atribuyen daño reproductivo en peces por decremento de actividad de ALP, ya que la enzima está involucrada en varias actividades metabólicas, incluida la maduración gonadal.

Aún no está clarificada la relación lineal de contaminantes respecto a la actividad de esta enzima, como publicaron Ramesh *et al.* (1994), mostrando que con un tratamiento del 10% del efluente de una fábrica de aceite vegetal en el pez *Cyprinus carpio*, la actividad ALP decreció después del 2° y 8° día de exposición. Pero en peces que fueron tratados con el 25% del efluente, la actividad incrementó después de 30 minutos, y posteriormente durante el período de recuperación la actividad decreció. Esto muestra que la relación de actividad ALP-contaminantes no es estable, y dependiendo del factor afectante en ocasiones aumenta la actividad, como encontraron Silva *et al.* (2004) que al administrar aceite en la rana toro (*Rana catesbeiana*) observaron que la actividad de ALP incrementó en hígado y en suero, afirmando que el tratamiento induce daño en el tejido. De igual forma, Swarup *et al.* (1998) realizaron un estudio en poblaciones de ganado vacuno afectado por fluoruro, encontrando un nivel significativamente mayor de ALP en animales afectados que en animales normales.

De esta forma, considerando estos antecedentes, podríamos deducir para el presente trabajo que la población de lagartijas de El Carmen estaría afectada por algún contaminante distinto al fluoruro.

Los resultados permiten sospechar que los individuos de El Carmen sufren exposición a contaminantes, no obstante, para determinar específicamente cuál, se necesitarían realizar más estudios, pues no es concreto el efecto de cada contaminante sobre este bioindicador. Por ejemplo Srinivas *et al.* (2006) secuenciaron parcialmente una

isoenzima en la polilla *Helicoverpa armigera*, identificándola como una fosfatasa alcalina, la cual veía afectado su nivel de actividad cuando el insecto era expuesto a contaminantes de mercurio, plata y cadmio, mientras que el zinc incrementó la actividad de la enzima. Otros estudios también han sido orientados a identificar diferencias en el nivel de actividad ocasionados por factores intra e interespecíficos, como en el caso del cocodrilo de las marismas, *Crocodylus palustris*, donde el nivel de actividad de ALP es más del doble que en el falso gavial (*Tomistoma schlegelii*), en el cocodrilo mencionado también se ha observado que la actividad de ALP es significativamente menor en subadultos que en juveniles (Stacy y Whitaker, 2000). Igualmente sería recomendable realizar más estudios en el tejido blanco utilizado en este trabajo (TDC), puesto que los niveles de actividad enzimática de ALP pueden variar dependiendo del tejido analizado (Mazorra *et al.*, 2002). En el caso de 8 especies de peces teleósteos ha sido observado que la actividad de ALP en riñón es hasta 10 veces mayor que los niveles de actividad de hígado (Cvancara y Huang, 1978). También Vijayavel y Balasubramanian (2006) mostraron que en el cangrejo *Scylla serrata*, bajo el efecto de toxicidad por naftaleno, incrementa su actividad de fosfatasa en hemolinfa, mientras que decrece en hepatopáncreas y ovario. Sin embargo, y a pesar de las diferentes respuestas en la actividad de ALP que han observado diferentes investigadores, los resultados permiten establecer que existe algún tipo de perturbación, posiblemente debido a metales pesados, en la localidad de El Carmen y admite sospechar que indagando más sobre el comportamiento de la actividad de esta enzima podría ser considerada como un excelente bioindicador de contaminación ambiental.

Superóxido Dismutasa

La SOD es utilizada generalmente como biomarcador de estrés oxidativo (Zhang *et al.*, 2008), pues cataliza la dismutación del radical anión superóxido en H_2O y H_2O_2 y provee la primera defensa contra la toxicidad del oxígeno reactivo (Pandey *et al.*, 2003).

La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) es inducida por xenobióticos (Costa *et al.*, 2008), mas metales pesados (en particular cobre y hierro) pueden estar implicados en la activación de reacciones relacionadas con oxígeno (Lenártová *et al.*, 1997), aunque también la toxicidad inducida por herbicidas está involucrada en la generación de especies reactivas del oxígeno y estrés oxidativo (Costa *et al.*, 2008).

Bajo condiciones normales las ROS son eliminadas de la célula por la acción de la SOD, catalasa y glutatión peroxidasa (Tocher *et al.*, 2002), de hecho, en tejido hepático la SOD es una de las enzimas principales en eliminar ROS durante la bioactivación de xenobióticos (Sk y Bhattacharya, 2006). No obstante, si la producción de ROS rebasa el sistema antioxidante, un desbalance entre la formación y remoción de ROS puede producir estrés oxidativo (Girard y Boiteux, 1997). Todo esto puede conducir a que se

agoten las defensas antioxidantes celulares al estar bajo exposición de contaminantes ambientales (Winston y Di Giulio, 1991). Los resultados obtenidos de la actividad de SOD en el presente trabajo permiten mostrar una diferencia significativa entre las hembras de El Carmen y las hembras del Parque Chipinque en la especie *S. serrifer* (Figura 34), indicando una diferencia entre localidades, aunque no sea totalmente contrastante, probablemente debido a que las hembras sean más susceptibles al análisis de este bioindicador.

En la literatura consultada se encontraron reportes de este bioindicador para diversas especies y en diferentes tejidos, como en el caso de peces del género *Hypostomus* con actividad de SOD en hígado, corazón y tejido muscular (Zawadzki *et al.*, 2001). Sin embargo, existen grandes variaciones en el comportamiento de la actividad SOD dependiendo de las características propias de cada estudio. Se ha reportado que ante factores externos la actividad SOD puede inhibirse o incrementarse, o incluso a veces suceden ambos cambios de actividad en diferentes tejidos del mismo organismo. Por ejemplo, cuando renacuajos de rana toro (*Lithobates catesbeiana*) son expuestos a un herbicida, la actividad de la enzima SOD se incrementa en hígado un 81% respecto a renacuajos control, mientras que en músculo la actividad decrece 27% (Costa *et al.*, 2008). Este estudio soporta que la actividad SOD, inclusive bajo parámetros controlados, depende del tejido analizado. Inclusive, en algunas ocasiones los patrones de actividad de SOD no muestran relación con contaminantes ambientales, como se encontró en un estudio utilizando hormigas *Formica polyctena* en sitios con contaminación industrial de metales pesados (Migula y Glowacka, 1996). Para el análisis de esta enzima, los tejidos con mayor contacto al oxígeno pueden ser buenos blancos de investigación ya que se ha observado un fuerte incremento en los pulmones en respuesta a la producción de ROS durante el nacimiento, aumentando la actividad en pulmones fetales de ratas, conejos, conejillos de indias y hámsteres, con elevaciones rápidas durante el último 10% al 15% del período de gestación (Frank y Sosenko, 1987; Starrs *et al.*, 2001). Además, el comportamiento varía dependiendo del organismo, como en animales acuáticos, que bajo condiciones hostiles, pueden tratar de escapar de la situación estresante o activar ajustes fisiológicos que puedan neutralizar el estrés impuesto (Driedzic y Gesser, 1994).

Casos en donde la actividad de SOD decreció han sido reportados en carpas (*Cyprinus carpio*) al ser expuestas a altas concentraciones de cobre (Radi y Matkovic, 1988; Lenártová *et al.*, 1997). También, el aumento de daño de la membrana lipídica en células ováricas de hámster chino, se relaciona con la inhibición de las defensas antioxidantes (Khadir *et al.*, 1999). Zhang *et al.* (2008) encontraron un decremento de actividad de SOD en el pez *Gobiocypris rarus*, ante la exposición de Hexabromociclododecano (HBCDD), atribuyendo la inhibición a un daño a la enzima debido a la producción de ROS conforme aumentó el nivel de la proteína carbonilo.

La actividad de SOD presentó un mayor nivel de actividad en el parque industrial, con respecto al parque ecológico, ocasionado seguramente por las emanaciones industriales. Aunque no están clarificadas las causas que conllevarían a este efecto, existen estudios que obtuvieron resultados similares a los encontrados en la presente

investigación. Huang *et al.* (2007), trabajaron en el Río Amarillo (China) y analizaron la actividad de SOD en hígado, riñón e intestino en la carpa *Cyprinus carpio*, siendo significativamente mayor la actividad en sitios afectados por contaminantes mixtos, incluidos fenoles, aceites y amoníaco, para los tres tejidos analizados. Algunos de los contaminantes que quizá están afectando la actividad de SOD en las hembras de El Carmen podrían ser metales pesados, ya que se ha observado que las tilapias (*Oreochromis mossambicus*) expuestas a cadmio presentan un incremento significativo de este bioindicador en hígado y riñón desde el 7° hasta el 15° día, mostrando que esta enzima antioxidante tiene función protectora contra toxicidad de cadmio (Basha y Rani, 2003), pudiendo ser la fuente de éste, las mismas emanaciones industriales. Podría ser que los individuos de El Carmen, al incrementar su nivel de actividad de SOD, están respondiendo contra los efectos tóxicos del radical anión superóxido (Huang *et al.*, 2007). Además de las variaciones propias de la enzima, quizá el presente estudio no concuerda con ciertas investigaciones previas debido a que el trabajo fue realizado *in vivo*, y controlar los factores en campo es prácticamente imposible, aunque ya se han utilizado enzimas antioxidantes como biomarcadores de varios contaminantes ambientales en campo, mas sus diferencias son muy variables dependiendo de la especie, enzima y contaminantes (Ahmad *et al.*, 2000; Gadagbui y James, 2000; Oruc *et al.*, 2004). Sin embargo, las causas precisas de la diferencia de actividad de SOD sólo podrían determinarse controlando la gran mayoría de las causas perturbantes, ya que puede aumentar o inhibirse ante la exposición de xenobióticos dependiendo de la intensidad y la duración de la aplicación de estrés, así como también a la susceptibilidad de la especie expuesta (Oruc y Usta, 2007).

Es posible utilizar la actividad de la SOD como biomarcador eficaz, pero sería necesario aplicar un acercamiento integral para estudiar cambios en la actividad de la SOD dependiendo de las características y nivel de desarrollo ontogenético y filogenético de los organismos, estado funcional de sus órganos y tejidos, condiciones ambientales, cambios dependientes de la edad, y la tasa de las especies de producción de sustancias reactivas de oxígeno (Zakaryan *et al.*, 2002). La habilidad de predecir los efectos en los organismos de los contaminantes y extrapolar los efectos tóxicos a nivel de laboratorio a poblaciones o comunidades se ha convertido en un factor muy importante (Costa *et al.*, 2008), por lo que sería conveniente realizar estudios más profundos en esta enzima.

Glutación S-Transferasa

La actividad GST está involucrada en la detoxificación de xenobióticos y los productos de la peroxidación de lípidos (Griffith, 1980), encontrándose la mayor actividad en hígado de diversas especies, como se ha reportado en ranas (*Rana pipiens*) y tilapias (*Oreochromis mossambicus*) (Basha y Rani, 2003; Hermes-Lima y Storey, 1998). Las transferasas son conocidas como buenos indicadores de toxicidad de metales (Wilczek *et al.*, 1997), y de exposición a xenobióticos orgánicos (Sayeed *et al.*, 2003), sin estar relacionada dicha actividad con deshidratación ni en músculo ni en hígado en la rana *Rana pipiens* (Hermes-

Lima y Storey, 1998). Por lo que previamente se han realizado investigaciones utilizando la GST para detectar contaminación (Sen y Kirikbakan, 2004).

La literatura revisada sobre la actividad GST como bioindicador del ambiente en herpetofauna fue escueta, a pesar de que ésta ha sido utilizada ampliamente en diversos estudios como indicador de contaminación y estrés ambiental en otros organismos, reportando en muchos casos resultados similares a los de este estudio. En tortugas (*Chrysemys picta*, *Caretta caretta*, *Chelonia mydas* y *Lepidochelys olivacea*) y en el sapo *Chaunus schneideri*, la actividad de GST ha sido significativamente mayor en los individuos pertenecientes a sitios contaminados en comparación con sitios control (Attademo *et al.*, 2007; Rie *et al.*, 2000; Richardson *et al.*, 2009).

Nuestros resultados mostraron que para *S. serrifer* no hubo diferencia significativa entre hembras y machos, al igual que en la tortuga *Chrysemys picta* (Rie *et al.*, 2000). Sin embargo en *S. torquatus* sí se encontró una diferencia entre sexos. Los resultados de este estudio mostraron diferencia significativa entre hembras de ambos sitios, presentándose la mayor actividad en El Carmen (sitio impactado)(Figura 35), también concordando con lo encontrado en la tortuga *Chrysemys picta* (Rie *et al.*, 2000).

Diversos estudios muestran plausible el uso de la actividad GST como indicador de contaminación. Pathiratne *et al.* (2009) señalaron que la actividad de GST puede ser utilizada como biomarcador al evaluar el estatus de contaminación y tendencia de contaminación en los recursos de agua en Sri Lanka. La mayoría de las investigaciones revisadas sobre la actividad de GST, fueron estudios en peces para evaluar contaminación en ambientes acuáticos. Hayes y Pulford (1995) sugieren que la actividad GST forma parte de la respuesta adaptativa a estrés químico, ya que esta actividad puede incrementarse significativamente por la exposición a compuestos externos, y por ello es utilizada como un biomarcador efectivo a contaminación acuática. Armknecht *et al.* (1998) reportaron una elevada actividad de GST ante la exposición a hidrocarburos aromáticos de creosota en el pez *Fundulus heteroclitus*. En el pez *Leuciscus cephalus*, la actividad total de GST fue significativamente mayor en un área contaminada en comparación con un sitio de referencia (Lenártová *et al.*, 1997). Ahmad *et al.* (2000) indican que el nivel de actividad de la enzima antioxidante GST puede servir como marcador sustituto de la exposición a contaminantes oxidativos, ya que la exposición de peces (*Channa punctatus*) al efluente de una fábrica de papel causó incremento en el nivel de GST con relación al tiempo. El patrón antioxidante fue diferente en los tejidos, mostrando el hígado ser el más resistente al daño oxidativo. Así, antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos actúan como una importante defensa biológica ante el estrés oxidativo ambiental. Estos resultados soportan la teoría de que los individuos de El Carmen pueden estar bajo estrés oxidativo.

Sen y Kirikbakan (2004) encontraron en peces (*Liza saliens*) una actividad GST significativamente mayor en sitios contaminados de la Bahía de Izmir (Turquía), siendo mayor la actividad en sitios contaminados por desechos industriales, vertidos de buques y drenajes domésticos, seguidos por sitios de la región del Egeo a donde llegan aguas de

escorrentía urbana y de zonas agrícolas tratadas con herbicidas y pesticidas y los valores más bajos de GST fueron de un sitio de referencia con escasa contaminación. Con lo anterior se enfatiza el interés de utilizar la actividad GST en *Liza saliens* como herramienta de monitoreo para estimar contaminación en ecosistemas acuáticos. Lo que ayuda a suponer que la elevada actividad en El Carmen pudo ser ocasionada por contaminación de desechos industriales, posiblemente metales pesados ya que ha sido demostrada una función protectora contra toxicidad de cadmio de esta enzima antioxidante (Basha y Rani, 2003). Sin embargo, no se puede afirmar que es un factor el que produce la mayor actividad en el Carmen, sino que existe la posibilidad de que sean un conjunto de contaminantes, como lo reportan Huang *et al.* (2007), donde sitios del Río Amarillo (China) con contaminantes mixtos (incluidos fenoles, aceites y amoniaco) presentaron mayor actividad GST en carpa *Cyprinus carpio*.

Son diversos los estudios que incluyen una comparación de actividad GST en sitios de referencia contra sitios impactados, y han mostrado resultados semejantes con los del presente estudio. Pathiratne *et al.* (2009) compararon peces (*Oreochromis niloticus*) de dos sitios de un lago, ambos localizados contiguamente a industrias y en ellos se vierten incontroladamente efluentes industriales, basura doméstica y se compararon contra peces de un sitio de referencia y un grupo control, encontrando mayor actividad de GST hepática en los peces de los sitios contaminados. Lo que también sugeriría que la actividad GST puede inducirse para resistir la toxicidad de los contaminantes (Gadagbui y James, 2000).

La actividad GST no ha sido relacionada únicamente a contaminación industrial, aunque sí con mayor frecuencia. Varios autores han ligado su actividad con exposición a plaguicidas, inclusive se ha mostrado ausencia de efectos en la actividad de GST por plaguicidas organofosforados en áfidos (*Rhopalosiphon padi*) y neurópteros (*Micromus tasmaniae*) (Booth *et al.*, 2007). Aunque en linfocitos humanos, el malatión (OP) causa incremento en la actividad GST (Banerjee *et al.*, 1999). Ünér *et al.* (2007) en tilapias (*Oreochromis niloticus*), expuestas a diferentes dosis de diazinón (OP), encontraron un incremento significativo de actividad enzimática en el primer día del tratamiento, y a pesar de que el aumento no tuvo linealidad afirman que la actividad GST puede servir como indicador de exposición a diazinón durante periodos agudos y subcrónicos, y también puede ser utilizada para determinar riesgo ambiental para este plaguicida.

Srikanth y Seth (2006) reportaron que el malatión incrementó la actividad de la GST en un 50% en cerebro e hígado de ratas, al igual que el endosulfán (organoclorado), pero al mismo tiempo se inhibió la actividad de la AChE. Esto también ayuda a soportar la teoría de que los plaguicidas no son los causantes de la diferencia de actividad enzimática entre las localidades Chipinque y El Carmen, pues seguramente el incremento en actividad GST en el Carmen iría acompañado de una inhibición significativa en la actividad de colinesterasas, suceso que no ocurrió en este estudio.

Los estudios realizados sobre actividad GST abarcan un amplio rango de especies, incluidos los invertebrados, donde también se reportan resultados similares a los de la presente investigación. Lukkari *et al.* (2004) encontraron en lombrices de tierra una relación entre el aumento de actividad GST con un incremento progresivo en la concentración de metales en suelo. Mientras que, en el mosquito *Aedes aegypti*, los individuos resistentes a insecticidas presentan una alta actividad GST (Rodríguez *et al.*, 2001). Wilczek *et al.* (1997) en dos especies de arañas (*Metellina segmentata* y *Araneus diadematus*) en sitios contaminados por vertederos metalúrgicos y de carbón, mostraron actividad enzimática significativamente mayor.

El seguimiento de actividad GST debiera hacerse en la misma estación del año, a menos que se categorizaran los cambios en la actividad enzimática en las diferentes estaciones del año, pues en la tortuga *Chrysemys picta* se encontró en hembras un patrón estacional, apuntando que la elevada actividad de la enzima en el sitio impactado indica que las respuestas ante contaminantes desconocidos o combinaciones de contaminantes, están impuestas sobre un ritmo estacional normal de actividad enzimática en esta localidad (Rie *et al.*, 2000). Curiosamente, al igual que en este último estudio, únicamente en hembras del escarabajo *Pterosthicus oblongopunctatus*, se encontraron niveles significativamente mayores de actividad de GST en sitios a lo largo de un gradiente de contaminación de metales pesados comparado con un sitio de referencia, mientras que los machos no tuvieron diferencia en la actividad enzimática a lo largo del gradiente de contaminación (Stone *et al.*, 2002).

El estado nutricional de los organismos podría ocasionar variaciones en la actividad de GST. Los individuos de El Carmen presentaron las mayores longitudes hoco-cloaca, por lo que se podría asumir que cuentan con una mejor alimentación. Sidhu *et al.* (2004) realizaron un estudio donde mostraron que la deficiencia proteica en ratas normales produjo un aumento significativo en la actividad de GST, mientras que el tratamiento con zinc en los animales con déficit proteico, disminuyó la actividad de GST. Este factor se tendría que investigar más a fondo para obtener datos concretos, aunque por los resultados mostrados en el presente estudio, se sospecha que este factor no afectó en grado alguno los resultados que nuestros datos arrojaran.

En base a las investigaciones previas, se sostiene que la actividad GST es un muy buen indicador de estrés y contaminación ambiental, aunque podría ser recomendable utilizarla en conjunto con otras enzimas para poder desechar ruido ocasionado por otros factores ambientales, como en el caso de este estudio, como los resultados de la actividad de colinesterasas no indican afección por plaguicidas, se sospecha que la actividad GST está relacionada principalmente con emanaciones industriales.

CONCLUSIONES

Las lagartijas del género *Sceloporus* pueden ser utilizadas como organismos centinela de estrés y contaminación ambiental al expresar niveles sensibles de actividad de enzimas bioindicadoras, permitiendo diferenciar sitios con distinto grado de exposición a xenobióticos.

La especie *Sceloporus serrifer* resultó ser una buena especie centinela, con posibilidad de extrapolar esta conclusión a todo el género, considerando posibles diferencias inter e intraespecíficas.

El tejido de la cola de lagartijas puede ser un material propicio para el monitoreo de bioindicadores bioquímicos, dado que se puede obtener mediante una metodología no letal y en cantidad suficiente para detectar niveles proporcionales a los encontrados en otros tejidos tradicionalmente utilizados, como hígado o sangre.

Con el análisis de los bioindicadores utilizados se soporta la teoría de que la población de *Sceloporus serrifer* en el Parque Industrial El Carmen está sometida a un mayor estrés ambiental, muy probablemente derivada de contaminantes de tipo metales pesados y/o hidrocarburos, en comparación con la población de *Sceloporus serrifer* en el Parque Ecológico Chipinque.

La actividad de Colinesterasas se puede considerar un buen indicador de contaminación ambiental, ya que a pesar de que muestra actividad similar entre los sitios estudiados, nos ayuda a discriminar entre los posibles tipos de contaminantes que están afectando estas localidades.

La actividad de Carboxilesterasas es un bioindicador muy sensible, aunque debe ir acompañado con el análisis de otros bioindicadores que permitan identificar con mayor certeza los factores que inducen su variación, dado su amplio rango de isoenzimas y por ende su amplia gama de posibles funciones e interpretaciones.

La actividad de las Fosfatasa Alcalinas puede ser un biomarcador aceptable. Sin embargo se necesita minuciosidad en la interpretación de datos, pues el comportamiento de la actividad muestra inhibiciones e incrementos por diversos factores.

La actividad de las Fosfatasa Ácidas, bajo las condiciones de este estudio, no mostró sensibilidad para ser utilizada como indicador de estrés ni contaminación ambiental. Sin embargo, son necesarios mayores estudios sobre su actividad normal y por lo tanto sobre la interpretación de los resultados que arroja.

La actividad de la Superóxido Dismutasa fue un bioindicador aceptable, pues su actividad muestra indicios claros de perturbación diferencial en los ambientes estudiados. Empero, para una interpretación más detallada es importante: a) considerar dicha enzima separando géneros y estadios; b) comparar los resultados obtenidos contra un control previamente establecido; y c) generar más información sobre la caracterización de su comportamiento.

La actividad de la Glutatión S-Transferasa fue un excelente biomarcador para el presente estudio. Pero al igual que las CxEs su análisis debe ir acompañado por otros bioindicadores, ó por el análisis de las isoenzimas por separado y documentación del comportamiento específico de cada una de ellas.

RECOMENDACIONES

Quantificar la presencia de contaminantes en diferentes matrices (*e.g.* tejidos, suelo, alimento) de las localidades estudiadas que nos permitan establecer una correlación xenobiótico-bioindicador, con la finalidad de apoyar las conclusiones establecidas en este trabajo.

Realizar estudios similares al presente estudio en otros sitios con diferente índole de contaminantes, así como en sitios prístinos.

Generar una base de datos sobre actividad enzimática *in vivo* en diferentes especies de *Sceloporus* para poder realizar comparaciones con otros estudios.

Realizar cinéticas de las enzimas analizadas en este estudio en un grupo control en laboratorio libre de exposición a contaminantes, para tener datos "normales" de actividad, y así lograr conclusiones más contundentes.

Analizar en *Sceloporus* mediante estudios de laboratorio las posibles variaciones por exposición a xenobióticos, entre especies, géneros, estadios, dosis y tiempo de exposición. Logrando una caracterización más amplia del comportamiento de cada una de las enzimas.

Incluir otros bioindicadores, por ejemplo catalasa, glutatión peroxidasa y EROD.

Utilizar para las enzimas estudiadas sustratos alternos que pueden tener mayor afinidad a las isoenzimas presentes en estos organismos (*e.g.* CDNB y DCNB para medir la actividad GST) para lograr una mayor sensibilidad y claridad en los resultados y así poder comparar los resultados contra otros estudios.

REFERENCIAS

- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M. and Raisuddin, S. 2000. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1523(1): 37-48.
- Aldridge, W.N. 1953. Serum esterases I. *Biochemistry Journal*. 53: 110-117.
- Alemán, M.J.B. 2006. Tesis sin publicar: Caracterización de reptiles y percepción local hacia las serpientes en fincas ganaderas de la subcuenca del Río Copán, Honduras. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 125pp.
- Al-Hashem M.A., Brain P.F., and Omar S.A. 2007. Effects of oil pollution at Kuwait's greater Al-Burgan oil field on polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in the tissues of the desert lizard *Acanthodactylus scutellatus* and their ant prey. *Ecotoxicology*. 16(8): 551-5.
- Allen, R., Yevich, S., Orth, R., and Steele, R. 1974. The Superoxide Anion and Singlet Molecular Oxygen: Their Role in the Mitochondrial Activity of the Polymorphonuclear Leukocyte. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 60: 909-917.
- Allon, N., Raveh, L., Gilat, E., Cohen, E., Grunwald, J., and Ashani, Y. 1998. Prophylaxis against soman inhalation toxicity in guinea pigs by pre-treatment alone with human serum butyrylcholinesterase. *Toxicological Science*. 43: 121-128.
- Anderson, N.L. 2002. Thermal preferences, metabolic rate, and water flux of the brown treesnake (*Boiga irregularis*) in the laboratory and on Guam. PhD. Diss. The Ohio State University, Columbus.
- Ankley, G.T., Johnson, R. D., Detenbeck, N. E., Bradbury, S. P, Toth, G. and Folmar, L. 1997. Development of a research strategy for assessing the ecological risk of endocrine disruptors. *Reviews in Toxicology*. 1:71-106.
- Armknacht, S. L., Kaattari, S. L., and Vanveld, P. A. 1998. An elevated glutathione S-transferase in creosote-resistant mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Aquatic Toxicology*. 41: 1-16.
- Armstrong, R.N. 1997. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferase. *Chemical Research in Toxicology*. 10: 2-18.
- Asiain-Guevara, A.A., García-Collazo, R., Gómez-Espejo, I.M., López-Alcaide, S. y Siria-Hernández, C.G. 2000. Estudio de las agrupaciones de *Sceloporus torquatus melanogaster* en dos poblaciones del Eje Neovolcánico. 6ª Reunión Nacional de Herpetología, Memorias Pág. 120. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

- Attademo, A.M., Peltzer, P.M., Lajamanovich, R.C., Cabagna, M. and Fiorenza, G. 2007. Plasma B-esterase and glutathione S-transferase activity in the toad *Chaunus schneideri* (Amphibia, Anura) inhabiting rice agroecosystems of Argentina. *Ecotoxicology*. 16: 533-539.
- Augustinsson, K. 1960. Butyryl- and Propionylcholinesterases and Related Types of Serine-Sensitive Esterases, *The Enzymes* Vol. 4, P. Boyer, H. Lardy, and K. Myrback, Academic Press, NY, 521 pp.
- Baker, P.J., Costanzo, J.P and Lee Jr., R.E. 2007. Oxidative stress and antioxidant capacity of a terrestrially hibernating hatchling turtle. *Journal of Comparative Physiology. B*. 177: 875-883.
- Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T. and Chakraborty, A. K. 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology Letters*. 107: 33-47.
- Bartkowiak, D. J., and Wilson, B. W. 1995. Avian plasma carboxylesterase activity as a potential biomarker of organophosphate pesticide exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 14: 2149-2153.
- Basha, P.S. and Rani, A.U. 2003. Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 56(2): 218-221.
- Bergeron C.M., Husak J.E., Unrine J.M., Romanek C.S., and Hopkins W.A. 2007. Influence of feeding ecology on blood mercury concentrations in four species of turtles. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26(8): 1733-41.
- Bishop, J.E. 1959. A histological and histochemical study of the kidney tubule of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis*, with special reference to sexual segment in the male. *Journal of Morphology*. 104: 302-357.
- Board, P., Russell, R.J., Marano, R.J. and Oakeshott, J.G. 1994. Purification, molecular cloning and heterologous expression of a glutathione s-transferase from Australian sheep blowfly (*Lucilia cuprina*). *Biochemical Journal*. 299:425-30.
- Booth, L.H., Wratten, S.D. and Kehrl, P. 2007. Effects of Reduced Rates of Two Insecticides on Enzyme Activity and Mortality of an aphid and its lacewing predator. *Journal of Economic Entomology*. 100(1): 11-19.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.

- Burges N.M., Hunt K.A., Bishop C, and Weseloh D.V. 1999. Cholinesterase inhibition in tree swallows (*Tachycineta bicolor*) and eastern bluebirds (*Sialia sialis*) exposed to organophosphorous insecticides in apple orchards in Ontario, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18(4): 708-716.
- Campbell K.R., and Campbell T.S. 2000. Lizard Contaminant Data for Ecological Risk Assessment. *Reviews of Environmental Contamination & Toxicology*. 165: 39-116.
- Campbell K.R., and Campbell T.S. 2001. The accumulation and effects of environmental contaminants on snakes: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*. 70(3):253-301.
- Campbell K.R., and Campbell T.S. 2002. A logical starting point for developing priorities for lizard and snake ecotoxicology: a review of available data. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21(5):894-8.
- Canseco-Márquez, L., Mendoza-Quijano, F. y Gutiérrez-Mayén, M.G. 2004. Análisis de la distribución de la herpetofauna. En: Luna, I., Morrone, J.J. y Espinosa, D (eds.), *Biodiversidad de la Sierra Madre Oriental*, Las Prensas de Ciencias, México D.F., 417-437.
- Castillo-Cadena, J., Contreras-Gómez, S., Poblano-Bata, R., Posadas-González, R., y Ramírez-García, J.J. 2007. Actividad de la enzima glutatión-S-transferasa T1 en floricultores expuestos a plaguicidas. *Bioquímica*. 32: 138.
- Chandicharan, D. and Chapala, S. 1962. Histochemistry of Renal sex segment in garden lizard, *Calotes versicolor*. *Proceedings of the National Institute of Sciences in India*. 29, B(2): 197-202.
- Chandrasekara, L.W.H.U. and Pathiratne, A. 2007. Bony size-related differences in the inhibition of brain acetylcholinesterase activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by chlorpyrifos and carbosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 67(1): 109-119.
- Chang, C., and Moog, F. 1972. Alkaline Phosphatases of the Chicken Duodenum. I. Isolation and Partial Characterization of the Multiple Forms of Duodenal Phosphatase in Pre- and Post-Hatching Stages. *Biochimica et Biophysica Acta*. 258(1): 154-165.
- Cobb G.P., Bargar T.A., Pepper C.B., Norman D.M., Houlis P.D., and Anderson T.A. 2003. Using chorioallantoic membranes for non-lethal assessment of persistent organic pollutant exposure and effect in oviparous wildlife. *Ecotoxicology*; 12(1-4): 31-45.

- Cobos, V.M., Mora, M.A. y Escalona, G. 2006. Inhibición de colinesterasa plasmática en el zorzal pardo (*Turdus grayi*), expuesto a diazinón en cultivos de papaya maradol en Yucatán, México. *Reviews in Toxicology*. 23:17-21.
- Contreras-Lozano, J.A. 2006. Tesis inédita: Distribución de la herpetofauna en tres comunidades de la Sierra de Picachos, Nuevo León, México. Universidad Autónoma de Nuevo León. 133p.
- Contreras-Lozano, J.A., Lazcano, D. and Contreras-Balderas, A. J. 2007. Notes on Mexican Herpetofauna 10: The Herpetofauna of Three Plant Communities in the Sierra de Picachos, Nuevo Leon, Mexico. *Bulletin of the Chicago Herpetological Society*. 42(11):177-182.
- Cordi, B.C., Fossi M.C., and Depledge M. 1997. Temporal biomarker responses in wild passerine birds exposed to pesticide spray drift. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16(10): 2118-2124.
- Costa, M.J., Monteiro, D.A., Oliveira-Neto, A.L., Rantin, F.T. and Kalinin, A.L. 2008. Oxidative stress biomarkers and heart function in bullfrog tadpoles exposed to Roundup Original. *Ecotoxicology*. 17:153-163.
- Cowman, D.F. 2005. Unpublished thesis: Pesticides and amphibian declines in the Sierra Nevada Mountains, California. Office of Graduate Studies of Texas A&M University.
- Cvancara, V.A. and Huang, W.M. 1978. Tissue alkaline phosphatase activity in selected freshwater teleosts. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part B*. 60(3): 221-224.
- De Solla S.R., Fletcher and M.L., Bishop C.A. 2003. Relative contributions of organochlorine contaminants, parasitism, and predation to reproductive success of eastern spiny softshell turtles (*Apalone spiniferus spiniferus*) from southern Ontario, Canada. *Ecotoxicology*: 12(1-4):261-70.
- DeChatelet, L., McCall, C., McPhail, L., and Johnston, R. 1974: Superoxide Dismutase Activity in Leukocytes. *The Journal of Clinical Investigation*. 53: 1197.
- Delany, M.F., Bell, J.U. and Sundlof, S.F. 1988. Concentrations of contaminants in muscle of the American alligator in Florida. *Journal of Wildlife Diseases*. 41(1):62-66.
- Driedzic, W.R. and Gesser, H. 1994. Energy metabolism and contractility in ectothermic vertebrate hearts: hypoxia, acidosis, and low temperature. *Physiology Reviews*. 74(1): 221-258.

- DuRant S.E., Hopkins W.A., and Talent L.G. 2007 a. Energy acquisition and allocation in an ectothermic predator exposed to a common environmental stressor. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part C. Toxicology and Pharmacology*. 145(3):442-8.
- DuRant S.E., Hopkins W.A., and Talent L.G. 2007 b. Impaired terrestrial and arboreal locomotor performance in the western fence lizard (*Sceloporus occidentalis*) after exposure to an AChE-inhibiting pesticide. *Environmental Pollution*. 149(1): 18-24.
- El Carmen, N.L. 2009. Ayuntamiento de El Carmen, N.L. Administración 2006-2009. <http://www.elcarmen.gob.mx/index.htm>. (Consultado 22 de Abril 2009).
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherstone, R.M. 1961. A new and rapid calorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7:88-95
- Fedde, K.N., Blair, L., Silverstein, J., Coburn, S.P., Ryan, L.M., Weinstein, R.S., Waymire, K., Narisawa, S., Millán, J.L., MacGregor, G.R. and Whyte, M.P. 1999. Alkaline phosphatase knock-out mice recapitulate the metabolic and skeletal defects of infantile hypophosphatasia. *Journal of Bone and Mineral Research*. 14: 2015-2026.
- Fee, J., and Teitelbaum, H. 1972: Evidence that Superoxide Dismutase Plays a Role in Protecting Red Blood Cells Against Peroxidative Hemolysis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 49: 150
- Fee, J., Bergamini, R., and Briggs, R. 1975. Observations on the Mechanism of the Oxygen Dialuric Acid Induced Hemolysis of Vitamin E-Deficient Rat Blood Cells and the Protective Roles of Catalase and Superoxide Dismutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 169: 160.
- Fernley, H. 1971. *Mammalian Alkaline Phosphatases, The Enzymes*, 3rd Ed. Vol. 4, P. Boyer, Academic Press, NY, 417.
- Flores, V. O. y Gerez, P. 1994. Biodiversidad y conservación en México: vertebrados, vegetación y uso del suelo. Comisión nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. UNAM. 429 pp.
- Flores-Villela, O. y L. Canseco-Márquez. 2004. Nuevas especies y cambios taxonómicos para la herpetofauna de México. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)* 20 (2): 115-144.
- Fossi M.C., Lari L, and Casini Y.S. 1996. Interspecies variation of "B" esterase in birds: the influence of size and feeding habits. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 131: 525-532.

- Fossi M.C., Massi A, and Leonzio C. 1994. Blood esterases inhibition in birds as an index of organophosphorous contamination: field and laboratory studies. *Ecotoxicology* 3(11): 11-20.
- Fossi, M.C., Sánchez-Hernández, J.C., Díaz-Díaz, R., Lari, L., García-Hernández, J.E. and Gaggi, C. 1995. The lizard *Gallotia galloti* as a bioindicator of organophosphorus contamination in the canary islands. *Environmental Pollution*. 87: 289-294.
- Frank, L. and Sosenko, I. R. S. 1987. Prenatal development of lung antioxidant enzymes in four species. *Journal of Pediatrics*. 110: 106–109.
- Fridovich, I. 1972: Superoxide Radical and Superoxide Dismutase. *Accounts of Chemical Research*. 5, 321,
- Fridovich, I. 1986: Biological Effects of the Superoxide Radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 247, 1,
- Friedenberg, R., and Seligman, A. 1972: Acetylcholinesterase at the Myoneural Junction: Cytochemical Ultrastructure and Some Biochemical Considerations , *J Histochem Cytochem* 20, 771,
- Furlanello, T., Simonato, G., Caldin, M., De Lorenzi, D., Lubas, G., Bernardini, D. and Solano-Gallego, L. 2006. Validation of an Automated Spectrophotometric Assay for the Determination of Cholinesterase Activity in Canine Serum. *Veterinary Research Communications*. 30(7): 723-733.
- Gadagbui, B. K. and James, M. O. 2000. Activities of affinityisolated glutathione S-transferase (GST) from channel catfish whole intestine. *Aquatic Toxicology*. 49: 27–37.
- Galina-Tessaro, P., Castellanos-Vera, A., Troyo, D.E., Arnaud, F.G. and Ortega-Rubio, A. 2003. Lizard assemblages in the Vizcaino Biosphere Reserve, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 12:1321-1334.
- García, M.A., Treviño-Garza, E.J., Cantú-Ayala, C.M. y González-Saldivar. 1999. Zonificación ecológica del cerro "El Potosí", Galeana, Nuevo León, México. *Investigaciones Geográficas. Boletín* 38: 31-40.
- García-De la Peña, C., Gadsden, H., Contreras-Balderas, A.R. y Castañeda, G. 2007. Ciclos de actividad diaria y estacional de un gremio de saurios en las dunas de arena de Viesca, Coahuila, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 78:141-147.

- Garcia-Rodriguez, T., Ferrer, M., Recio, F. and Castroviejo, J. 1987. Circadian rhythms of determined blood chemistry values in buzzards and eagle owls. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 88A: 663-669.
- Gard, N.W. and Hooper, M.J. 1993. Age-dependent changes in plasma and brain cholinesterase activities of Eastern bluebirds and European starlings. *Journal of Wildlife Diseases*. 29: 1-7.
- Gibas J.P. and Y. Kraker N.E. 2006. Effects of warming condition in Eastern North American forest on red-backer salamander morphology conservation on biology. 20(3): 913-917.
- Girard, P.M., Boiteux, S. 1997. Repair of oxidized DNA bases in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimie*. 79: 559-566.
- Gregory, E., Goscin, S., and Fridovich, I. 1974: Superoxide Dismutase and Oxygen Toxicity in a Eukaryote. *Journal of Applied Bacteriology*. 117: 456.
- Gregory, E., Yost, F., and Fridovich, I. 1973: Superoxide Dismutases of *Escherichia coli*: Intracellular Localization and Functions. *Journal of Applied Bacteriology*. 115, 987,
- Griffith, O.W. 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical Biochemistry*. 106: 207-212.
- Guillette, L.J.Jr. and Crain, D.A. (Eds.). 2000 *Endocrine Disrupting Contaminants: An Evolutionary Perspective*, Francis and Taylor Inc., Philadelphia. Pp 355.
- Guillette, L.J.Jr. and Iguchi, T. 2003. Contaminant-induced endocrine and reproductive alterations in reptiles. *Pure and Applied Chemistry*. 75(11-12): 2275-2286.
- Gutman, A.B. and Gutman, E.B. 1939. Adult phosphatase levels in prepubertal Rhesus prostate tissue after testosterone propionate. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 41: 277-281.
- Hall, F.G. 1922. The vital limit of exsiccation of certain animals. *The Biological Bulletin*. 61:31.
- Hayes, J. D. and Pulford, D. 1995. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance Part I and II. 30(6): 445-600.
- Henson-Ramsey, H., Kennedy-Stoskopf, S., Levine, J.F., Taylor, S.K., Shea, D. and Stoskopf M.K. 2008. Acute Toxicity and Tissue Distributions of Malathion in *Ambystoma tigrinum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 55:481-487.

- Hermes-Lima, M. and Storey, K.B. 1993. *In vitro* oxidative inactivation of glutathione S-transferase from a freeze tolerant reptile. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 124: 149-158.
- Hermes-Lima, M. and Storey, K.B. 1998. Role of antioxidant defenses in the tolerance of severe dehydration by anurans. The case of the leopard frog *Rana pipiens*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 189: 79-89.
- Hewitt, J., and Morris, J. 1975: Superoxide Dismutase in Some Obligately Anaerobic Bacteria. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 50: 315.
- Heymann, E. 1980. Carboxylesterases and amidases. In: Jakoby, W.B., Bend, R.R. and Caldwell, J. (eds.), *Enzymatic Basis of Detoxication*. Academic Press, New York. Vol. 2. Pp. 291-323.
- Hill, E.F. 1988. Brain cholinesterase activity of apparently normal wild birds. *Journal of Wildlife Diseases*. 24: 51-61.
- Hofer, R., Lackner, R. and Lorbeer, G. 2005. Accumulation of toxicants in tadpoles of the common frog (*Rana temporaria*) in high mountains. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 49, 192-199.
- Holem, Ryan Richard. 2005. Unpublished thesis: Effects of neurotoxicant exposure on fitness-related traits of the western fence lizard (*Sceloporus occidentalis*). Graduate Faculty of the University of Georgia. 80 pp.
- Hollander, V. and Boyer, P. 1971. *The Enzymes* Vol. IV Academic Press, NY. pp. 450
- Hopkins W.A., and Winne C.T. 2006. Influence of body size on swimming performance of four species of neonatal natricine snakes acutely exposed to a cholinesterase-inhibiting pesticide. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25(5): 1208-13.
- Hopkins W.A., Snodgrass J.W., Baionno J.A., Roe J.H., Staub B.P., and Jackson B.P. 2005. Functional relationships among selenium concentrations in the diet, target tissues, and nondestructive tissue samples of two species of snakes. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24(2):344-51.
- Hopkins W.A., Staub B.P., Baionno J.A., Jackson B.P. and Talent L.G. 2005. Transfer of selenium from prey to predators in a simulated terrestrial food chain. *Environmental Pollution*. 134(3): 447-56.
- Hopkins W.A., Winne C.T., and DuRant S.E. 2005. Differential swimming performance of two natricine snakes exposed to cholinesterase-inhibiting pesticide. *Environmental Pollution*. 133(3): 531-40.

- Huang, D.J., Zhang, Y.M., Song, G., Long, J., Liu, J.H. and Ji, W.H. 2007. Contaminants-Induced Oxidative Damage on the Carp *Cyprinus carpio* Collected from the Upper Yellow River, China. *Environmental Monitoring and Assessment*. 128: 483-488.
- Huang, T.L., Obih P.O., Jaiswal R., Hartley W.R. and Thiagarajah A. 1997. Evaluation of liver and brain esterases in the spotted gar fish (*Lepisosteus oculatus*) as biomarkers of effect in the lower Mississippi river basin. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*. 58:688-695.
- Huang, T.L., Székács, A., Uematsu, T., Kuwano, E., Parkinson, A. and Hammock, B.D. 1993. Hydrolysis of Carbonates, Thiocarbonates, Carbamates, and Carboxylic Esters of α -Naphthol, β -Naphthol, and *p*-Nitrophenol by Human, Rat, and Mouse Liver Carboxylesterases. *Pharmaceutical Research*. 10(5): 639-648.
- Hui, M. and Tenenbaum, H.C. 1998. New face of an old enzyme: alkaline phosphatase may contribute to human tissue aging by inducing tissue hardening and calcification. *The Anatomical Record*. 253: 91-94.
- Iguchi T., H. Watanabe and Katsu, Y. 2001. Development Effects of Estrogenic Agents on Mice, Fish, and Frogs: A Mini-Review. *Hormones and Behavior*:40, 248–251.
- Jaeger, K. E., Dijkstra, B.W. and Reetz, M.T. 1999. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. *Annual Review of Microbiology*. 53:315-351.
- Jaeger, K. E., Ransac, S. Dijkstra, B.W., Colson, C., Van Heuvel, M. and Misset, O. 1994. Bacterial lipases. *FEMS Microbiology Reviews*. 15:29-63.
- Ketterer, B. and Taylor, J.B. 1990. Glutathione transferases. In: Ruckpaul, K. and Rein, H. (eds). Principles, mechanisms and biological consequences of induction. Akademie Verlag, Berlin, pp 244-277.
- Ketterer, B., Meyer, D.J. and Clark, A.G. 1988. Soluble glutathione transferase esozymes. In: Sies, H. and Ketterer, B. (eds). Glutathione conjugation: mechanism and biological significance. Academic Press. London, pp 73-135.
- Khadir, A., Verreault, J. and Averill, D.A. 1999. Inhibition of antioxidant and hyperthermia enhance bleomycin-induced cytotoxicity and lipid peroxidation in Chinese hamster oary cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 370(2): 163-175.
- Khan, M.Z. 2003. Effect of Agricultural Chemicals on Reptiles: Comparison of Pyrethroid and Organophosphate with Phytopesticide on Cholinesterase Activity. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 6(9): 821-825.

- Kumari, K. and Sinha, R.C. 2006. Cholinesterase activity as potential biomarker in the frog *R. tigrina*. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*. 6(3-4): 153-157
- Kunitz, M. 1960: Chicken Intestinal Alkaline Phosphatase. I. The Kinetics and Thermodynamics of Reversible Inactivation. II. Reactivation with Zinc Ions , *The Journal of General Physiology*. 43: 1149.
- Lavelle, F., Michelson, A., and Dimitrijevic, L. 1973. Biological Protection by Superoxide Dismutase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 55: 350.
- Lazcano, D., Contreras-Balderas, A., González-Rojas, J.I., Castañeda, G., García-De la Peña and Solís-Rojas, C. 2004. Notes on Herpetofauna 6: Herpetofauna of Sierra San Antonio Peña Nevada, Zaragoza, Nuevo Leon, Mexico: Preliminary List. *Bulletin of the Chicago Herpetological Society*. 39(10):181-187.
- Lazcano, D., Contreras-Lozano, J.A., Gallardo-Valdez, J., García-De la Peña, C. and Castañeda, G. 2009. Notes on mexican Herpetofauna 11: Herpetological Diversity in Sierra "Cerro de la Silla" (Saddleback Mountain), Nuevo Leon, Mexico. *Bulletin of the Chicago Herpetological Society*. 44(2):21-27.
- Lee, J., and Harpst, J. 1973: Physical Properties and Subunit Structure of Butyrylcholinesterase from Horse Serum. *Biochemistry*. 12: 1622.
- Lenártová, V., Holovská, K., Pedrajas, J.R., Martínez-Lara, E., Peinado, J., López-Barea, J., Rosival, I. and Košuth, P. 1997. Antioxidant and detoxifying fish enzymes as biomarkers of river pollution. *Biomarkers*. 2: 247-252.
- Lukkari, T, Taavitsainen, M, Väisänen, A and Haimi, J. 2004. Effects of heavy metals on earthworms along contamination gradients in organic rich soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 59(3):340-348.
- Mannervick, B., Alin, P., Guthenberg, C., Jensoon, H., Tahir, M.K., Warholm, M. and Jornvall, H. 1985. Identification of three classes of cytosolic glutathion transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 82: 7202-7206.
- Maxwell, D.M. and Brecht, K.M. 2001. Carboxylesterase: specificity and spontaneous reactivation of an endogenous scavenger for organophosphorus compounds. *Journal of Applied Toxicology*. 21(suppl 1):S103-S107.

- Mazorra M.T., J.A. Rubio and J. Blasco. 2002. Acid and alkaline phosphatase activities in the clam *Scrobicularia plana*: kinetic characteristics and effects of heavy metals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 131(2): 241-249.
- McCord, J. 1974: Free Radicals and Inflammations: Protection of Synovial Fluid by Superoxide Dismutase, *Science* 185, 529,
- McCranie, J.R. and Wilson, L.D. 1987. The Biogeography of the Herpetofauna of the Pine-Oak Woodlands of the Sierra Madre Occidental of Mexico. *Milwaukee Public Museum Contributions in Biology and Geology*. 72: 1-26.
- McLachlan J.A. 2001. Environmental Signaling: What Embryos and Evolution Teach US About Endocrine Disrupting Chemicals. *Endocrine Reviews*:22, 319–341.
- McLean, Scott; Muneo Sameshima, Teruhisa Katayama, Jiro Iwata, C. E.Olney and Kenneth L. Simpson. 1983. A rapid method to determine microsomal metabolism of organophosphate pesticides. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 50(8): 1419-1423.
- Migula, P. and Glowacka, E. 1996. Heavy metals as stressing factor in the red wood ants (*Formica polyctena*) from industrially polluted forests. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 254: 653-659.
- Moyano F.J., M. Díaz, F.J. Alarcon and M.C. Sarasquete. 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 15(2): 121-130.
- Nachmansohn, D. 1970: Proteins in Excitable Membranes: Their Properties and Function in Bioelectricity are Discussed , *Science* 168, 1059.
- Narisaw, S., Huang, L., Iwasaki, A., Hasegawa, H., Alpers, D.H. and Millan, J.L. 2003. Accelerated fat absorption in intestinal alkaline phosphatase knockout mice. *Molecular and Cellular Biology*. 23: 7525- 7530.
- Nebert, D.W., McKinnon, R.A. and Puga, A. 1996. Human drug metabolizing enzyme polymorphisms effects on risk of toxicity and cancer DNA. *The Journal of Cell Biology*. 15:273–280.
- Nicholson, K.L., Torrence, S.M., Ghioca, D.M., Bhattacharjee, J., Andrei, A.E., Owen, J., Radke, N.J.A. and Perry, G. 2005. The influence of temperature and humidity on activity patterns of the lizards *Anolis carolinensis* and *Ameiva exsul* in the British Virgin Islands. *Caribbean Journal of Science*. 41(4): 870-873.

- Ollis, D. L., Cheah, E., Cygler, M., Dijkstra, B., Frolow, F., Franken, S.M., Harel, M., Remington, S.J., Silman, I., Schrag, J., Sussman, J.L., Verschueren, K.H.G. and Goldman, A. 1992. The α/β hydrolase fold. *Protein Engineering*. 5:197-211.
- Olson R. Earl. 1990. *Sceloporus torquatus*: Its Variation and Zoogeography. *Bulletin of the Chicago Herpetological Society*. 25(7): 117-127.
- Oruc, E. O., Sevgiler, Y. and Uner, N. 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 137C: 43-51.
- Oruc, E.O. and Usta, D. 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 23: 48-55.
- Ott, P. 1985. Membrane acetylcholinesterase purification, molecular properties and interactions with amphiphilic environments. *Biochimica et Biophysica Acta*. 822: 375-392.
- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B. and Raisuddin, S. 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yumuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). *Science of the Total Environment*. 309: 105-115.
- Parque Ecológico Chipinque A.C. 2003. Parque Ecológico Chipinque A.C. <http://www.chipinque.org.mx/> (Consultado: 22 de Abril de 2009)
- Paschen, W., and Weser, U. 1973: Singlet Oxygen Decontaminating Activity of Erythrocyte (Superoxide Dismutase). *Biochimica et Biophysica Acta*. 327: 217.
- Pathiratne, A., Chandrasekera, L.W.H.U. and Pathiratne, K.A.S. 2009. Use of biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to assess the impacts of pollution in Bolgoda Lake, and urban water body in Sri Lanka. *Environmental Monitoring and Assessment*. 156: 361-375.
- Perera, F.P. 2000. Molecular epidemiology: on the path to prevention. *Journal of the Natural Cancer Institute*. 92: 602-612
- Pérez A, Anadón-Baselga M.J. y Capó M.A. 2003. Acetilcolinesterasa positiva (AChE+) como biomarcador en la detección de los efectos tóxicos del Metil-mercurio. *Revista de toxicología en línea*.
- Petkau, A., Chelack, W., Pleskach, S., Meeker, B., and Brady, C. 1975: Radioprotection of Mice by Superoxide Dismutase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 65: 886.
- Politoff, A., Blitz, A., and Rose, S. 1975: Incorporation of Acetylcholinesterase Into Synaptic Vesicles is Associated with Blockade of Synaptic Transmission. *Nature*. 256: 324,

- Potter, P.M. and Wadkins, R.M. 2006. Carboxylesterases: detoxifying enzymes and targets for drug therapy. *Current Medical Chemistry*. 13:1045–1054.
- Quintero-Díaz, G. E. y J. Vázquez-Díaz. 2005. Anfibios y Reptiles de Aguascalientes. CIEMA, A. C. CONABIO. 318 pp.
- Radi, A. A. R. and Matkovic, B. 1988. Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 90C: 69-72.
- Rainwater T.R., Reynolds K.D., Cañas J.E., Cobb G.P., Anderson T.A., McMurry S.T., and Smith P.N. 2005. Organochlorine pesticides and mercury in cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus*) from northeastern Texas, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24(3): 665-73.
- Ramesh, M., Manavalaramanujam, R. and Sivakumari, K. 1994. Effect of vegetable oil factory effluent on alkaline phosphatase activity in a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* var. *Communis*. *Indian Journal of Environmental Health*. 36(3): 192-196.
- Rattner, B.A. and Fairbrother, A. 1991. Biological variability and the influence of stress on cholinesterase activity. In: P. Mineau (ed.) *Cholinesterase-inhibiting Insecticides*. Amsterdam: Elsevier. pp. 89-107.
- Redinbo, M.R. and Potter, P.M. 2005. Mammalian carboxylesterases: from drug targets to protein therapeutics. *Drug Discovery Today*. 10:313–325.
- Reid, T., and Wilson, I. 1971. E. coli Alkaline Phosphatase, *The Enzymes*, 3rd Ed. Vol. 4, P. Boyer, Academic Press, NY, 373,
- Richardson, K.L., Lopez-Castro, M., Gardner, S.C. and Schlenk. 2009. Polychlorinated Biphenyls and Biotransformation Enzymes in Three Species of Sea Turtles from the Baja California Peninsula of Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* DOI 10.1007/s00244-009-9360-5.
- Rie, M. T., Lendas, K. A., Woodin, B. R., Stegeman, J. J. and Callardi. P. 2000. Hepatic biotransformation enzymes in a sentinel species, the painted turtle (*Chrysemys picta*), from Cape Cod, Massachusetts: seasonal-, sex- and location related differences. *Biomarkers*. 5(5): 382-394.
- Rodríguez, M.M., Bisset, J.A., Molina, D., Díaz, C. y Soca, L.A. 2001. Adaptación de los métodos en placas de microtitulación para la cuantificación de la actividad de esterasas y glutatión-s-transferasa en *Aedes aegypti*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 53(1): 32-36.

- Rodríguez, T.J.A. y Vázquez-Díaz, J. 1996. Tesis inédita: Diversidad de la herpetofauna del municipio de Villa Hidalgo, Jalisco, México. Facultad de Ciencias, UNAM. 122 pp.
- Rowe, Christopher L. 2008. "The Calamity of So Long Life": Life Histories, Contaminants, and Potential Emerging Threats to Long-lived Vertebrates. *BioScience*. 58(7): 623-631.
- Russell, R.W. and Overstreet, D.H., 1987. Mechanisms underlying sensitivity to organophosphorus anticholinesterase compounds. *Progress in Neurobiology* 28, 97-129.
- Salin, M., and McCord, J. 1975: Free Radicals and Inflammation. Protection of Phagocytosing Leukocytes by Superoxide Dismutase. *Journal of Clinical Investigation*. 56: 1319-1323.
- Sánchez, J.C., Fossi, M.C. and Focardi, S. 1997. Serum "B" Esterases as a Nondestructive Biomarker for Monitoring the Exposure of Reptiles to Organophosphorous Insecticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 37:45-52.
- Sánchez-Hernández, J.C. 2003. Evaluating reptile exposure to cholinesterase-inhibiting agrochemicals by serum butyrylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 22(2): 296-301.
- Sánchez-Hernández, J.C. 2006. Earthworm Biomarkers in Ecological Risk Assessment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 188: 85-126.
- Sanchez-Hernandez, J.C. and Moreno Sanchez, B. 2002. Lizard cholinesterases as biomarkers of pesticide exposure: enzymological characterization. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21(1):2319-2325.
- Sanchez-Hernandez, J.C. and Walker, C.H. 2000. In vitro and in vivo Cholinesterase Inhibition in Lacertides by Phosphonate- and Phosphorothioate-Type Organophosphates. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 67:1-12.
- Sánchez-Hernández, J.C., 2001. Wildlife exposure to organophosphorus insecticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 172: 21-63.
- Sánchez-Hernández, J.C., R. Carbonell, A. Henríquez Pérez, M. Montealegre and L. Gómez. 2004. Inhibition of plasma butyrylcholinesterase activity in the lizard *Gallotia galloti* palmae by pesticides: a field study. *Environmental Pollution* 132: 479-488.
- Satoh, T. 1987. Role of carboxylesterases in xenobiotic metabolism. *Reviews in Biochemical Toxicology*. 8: 155-181.

- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Hafeez, B. B., Haque, R. and Raisuddin, S. 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 56: 295-301.
- Schmidt, S.R. 2003. Unpublished Thesis: Reptile cholinesterase characterization and use in monitoring anti-cholinesterases. Graduate Faculty of Texas Tech University. 86 p.
- Schüssler, H. 1968: On the Chromatographic Separation and the Activation and Inactivation of Alkaline Phosphatase of Chicken Intestine. *Biochimica et Biophysica Acta*. 151: 383.
- Seebacher, F., Sparrow, J. and Thompson, M.B. 2004. Turtle (*Chelodina longicollis*) regulate muscle metabolic enzyme activity in response to seasonal variation in body temperature. *Journal of Comparative Physiology B*. 174:205-210.
- Sen, A. and Kirikbakan, A. 2004. Biochemical Characterization and Distribution of Glutathione S-Transferase in Leaping Mullet (*Liza saliens*). *Biochemistry*. 69(9): 993-1000. Translated from *Biokhimiya*. 69(9): 1223-1232.
- Sidhu, P., Garg, M.L. and Dhawan, D.K. 2004. Protective effects of zinc on oxidative stress enzymes in liver of protein deficient rats. *Nutrición Hospitalaria*. XIX(6): 341-347.
- Silva, L.P., Miyasaka, C.K., Martins, E.F., Leite, J.R., Lacava, Z.G., Curi, R. and Azevedo, R.B. 2004. Effect of bullfrog (*Rana catesbeiana*) oil administrated by gavage on the fatty acid composition and oxidative stress of mouse liver. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 31(10): 1491-1496.
- Singh, B., Dhawan, D., Nehru, B., Garg, M.L., Mangal, P.C., Chand, B. and Trehan, P.N. 2008. Impact of lead pollution on the status of other trace metals in blood and alterations in hepatic functions. *Biological Trace Element Research*. 40(1): 21-29.
- Singh, D. and Singh, A. 2005. The toxicity of four native Indian plants: effect on AChE and acid/alkaline phosphatase level in fish *Channa marulius*. *Chemosphere*. 60(1): 135-140.
- Sk, U.H. and Bhattacharya, S. 2006. Prevention of cadmium induced lipid peroxidation, depletion of some antioxidative enzymes and glutathione by series of novel organoselenocyanates. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 22: 298-308.
- Smith H. M. 1938. The lizards of the *torquatus* group of the genus *Sceloporus* Wiegmann, 1828. *The University of Kansas Science Bulletin*. 37: 539-693.
- Smith H. M. 1939. The Mexican and Central American Lizards of the genus *Sceloporus*. *Field Museum Natural History Publications. Zoological Series*. 26: i-397.

- Smith H. M. 1979. Handbook of lizards: Lizards of the United States and of Canada. Cornell University Press (Comstock Publishing Associates). E.U.A. pp.201-203.
- Sparling Donald W., Linder Greg and Bishop, C. A. (Eds) 2000. Ecotoxicology of amphibians and reptiles. Pensacola, FL: Society of Environmental Toxicology and Chemistry. 904 p.
- Srikanth, N.S. and Seth, P.K. 2006. Alterations in xenobiotics metabolizing enzymes in brain and liver of rats coexposed to endosulfan and malathion. *Journal of Applied Toxicology*. 10(3): 157-160.
- Srinivas, R., Jayalakshmi, D.K., Sreeramulu, K., Sherman, N.E. and Rao, J. 2006. Purification and characterization of an esterase isozyme involved in hydrolysis of organophosphorus compounds from and insecticide resistant pest, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctüidae). *Biochimica et Biophysica Acta*. 1760(3): 310-317.
- Stacy, B.A and Whitaker, N. 2000. Hematology and Blood Biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 31(3):339-347.
- Starrs, A.P., Orgeig, S., Daniels, C.B., Davies, M. and Lopatko O. 2001. Antioxidant enzymes in the developing lungs of egg-laying and metamorphosing vertebrates. *The Journal of Experimental Biology*. 204: 3973-3981.
- Stebbins, R.C. 2003. A Field Guide to Western Reptiles and Amphibians - Peterson Field Guide Series, 3rd edition. Houghton Mifflin: New York, pp. 263-339.
- Stone, D., Jepson, P. and Laskowski, R. 2002. Trends in detoxification enzymes and heavy metal accumulation in ground beetles (Coleoptera: Carabidae) inhabiting a gradient pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*. 132(1): 105-112.
- Swarup, D., Dwivedi, S.K., Dey, S. and Ray, S.K. 1998. Fluoride intoxication in bovines due to industrial pollution. *Indian Journal of Animal Sciences*. 68(7): 605-608.
- Talent, L.G. 2005. Effect of temperature on toxicity of a natural pyrethrin pesticide to green anole lizards (*Anolis carolinensis*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24(12):3113-3116.
- Taylor, E.H. 1931. The discovery of a lizard *Sceloporus torquatus cyanogenys* Cope in Texas, new to the fauna of the United States. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 44: 129-132.
- Thomas N. Tully, Jr., Anna Osofsky, Peter L. H. Jowett, and Giselle Hosgood. 2003. Acetylcholinesterase concentrations in heparinized blood of hispaniolan amazon parrots (*Amazona ventralis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 34(4): 411-413.

- Thompson H.M. 1991 Serum "B" esterase as indicator of exposure to pesticide. In: Cholinesterase inhibiting insecticides: The impacts on wildlife and the environment. P. Mineau (Ed.). Elsevier Scientific Publication, pp 109-126.
- Thompson, H.M. 1999. Esterases as markers of exposure to organophosphates and carbamates. *Ecotoxicology*. 8:369-384.
- Thompson, H.M., and Walker, C.H., 1994. Blood esterases as indicators of exposure to organophosphorus and carbamate insecticides. In: Fossi, M.C., Leonzio, C. (Eds.), *Non-destructive Biomarkers in Vertebrates*. Lewis Publisher, Chelsea, MI, U.S.A., pp. 37-62.
- Tocher, D.R., Mourente, G., Van Der Eecken, A., Evjemo, J.O., Diaz, E., Bell, J.G., Geurden, I., Olsen, Y. 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition*. 8: 195-203.
- Trivedi, S.P., Kumar, M., Mishra, A., Banerjee, I. and Soni, A. 2001. Impact of linear alkyl benzene sulphonate (LAS) on phosphatase activity in testis of the teleostean fish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Journal of Environmental Biology*. 22(4): 263-266.
- Trof, R.J., DiMaggio, F., Leemreis, J. and Groeneveld, A.B. 2006. Biomarkers of acute renal injury and renal failure. *Shock*. 26(3): 245-253.
- Üner, N., Sevgiler, Y. Durmaz, H. and Piner P. 2007. *In vivo* Alterations in Glutathione-Related Processes, Lipid Peroxidation and Cholinesterase Enzyme Activities in the Liver of Diazinon-Exposed *Oreochromis niloticus*. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 17: 317-324.
- Van Hoof, V. and De Broe, M.E. 1994. Interpretation and clinical significance of alkaline phosphatase isoenzyme patterns. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 31: 197-293.
- Verjee, Z. 1969: Isolation of Three Acid Phosphatases from Wheat Germ. *European Journal of Biochemistry*. 9: 439.
- Vijayavel, K. and Balasubramanian, M.P. 2006. Fluctuations of biochemical constituents and marker enzymes as a consequence of naphthalene toxicity in the edible estuarine crab *Scylla serrata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63(1): 141-147.
- Voituron, Y., Servais, S., Romestaing, C., Douki, T. and Barré, H. 2005. Oxidative DNA damage and antioxidant defenses in the European common lizard (*Lacerta vivipara*) in supercooled and frozen states. *Cryobiology*. 52(1): 74-82.

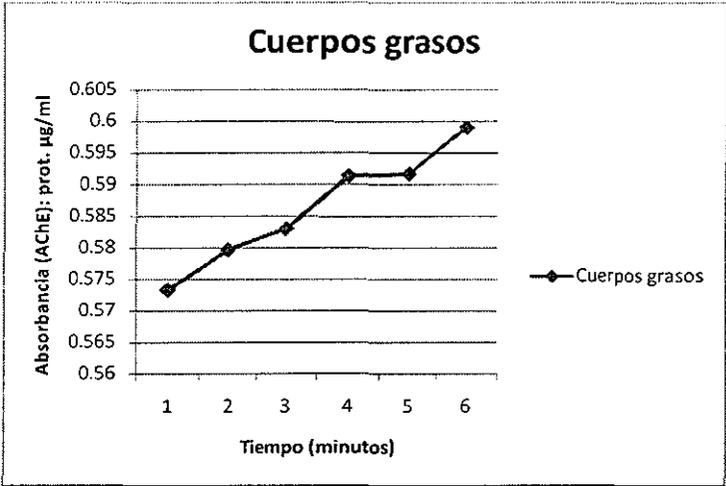
- Vos, R.M.E. & Van Bladeren, P.J. 1990. Glutathione S transferase in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics. *Chemico-Biological Interactions*. 75: 241-265.
- Walker, C.H., 1998. Birds In: Calow, P. (Ed.), *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Science, Oxford, U.K., pp. 326–338.
- Westlake, G.E., Martin, A.D., Stanley, P.I. and Walker, C.H. 1983. Control enzyme levels in the plasma, brain and liver from wild birds and mammals in Britain. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 76C: 15-24.
- Wilczek, G., Majkus, Z., Migula, P., Bednarska, K. and Swierczek, E. 1997. Heavy metals and detoxifying enzymes in spiders from coal and metallurgic dumps near Ostrava (Czech Republic). *Proceedings of the 16th European Colloquium of Arachnology (Siedlce)*. pp. 317-328.
- Wilson, V.S. and G. A. LeBlanc. 1998. Endosulfan Elevates Testosterone Biotransformation and Clearance in CD-1 Mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 148, 158–168.
- Wilson, V.S., J. B. McLachlan, J. G. Falls and G. A. LeBlanc. 1999. Alteration in Sexually Dimorphic Testosterone Biotransformations Profiles as a Biomarker of Chemically Induced Androgen Disruption in Mice. *Environmental Health Perspectives*. 107: 377–384.
- Winston, G.W. and Di Giulio, R.T. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organism. *Aquatic Toxicology*. 24: 143–152.
- Winterbourn, C., Hawkins, R., Brian, M., and Carrell, R. 1975: The Estimation of Red Cell Superoxide Dismutase Activity. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 85: 337.
- Wolfe M.F. and Kendall R.J. 1998. Age-dependent toxicity of Diazinon and Terbufos in European starlings (*Sturnus vulgaris*) and red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 17(7): 1300-1312.
- Worthington Biochemical Corporation (WBC). 2009. *Worthington Enzyme Manual*. <http://www.worthington-biochem.com/> (Consultado: Febrero de 2009)
- Yousef, M.I. 2004. Aluminium-induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid. *Toxicology*; 199(1):47-57.
- Zakaryan, A.E., Aivazyan, N.M. and Karagezyan, K.G. 2002. Comparative Analysis of the Superoxide Dismutase Activity in Tissues of Higher Vertebrates. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 382: 13-15. Translated from *Doklady Akademii Nauk*. 382(2): 264-266.

- Zawadzki, C.H., Machado, M.F.P.S. and Renesto, E. 2001. Differential expression for tissue-specific isozymes in three species of *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Teleostei: Loricariidae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 29: 911-922.
- Zhang, X., Yang, F., Zhang, X., Xu, Y., Liao, T., Song, S. and Wang, J. 2008. Induction of hepatic enzymes and oxidative stress in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to waterborne hexabromocyclododecane (HBCDD). *Aquatic Toxicology*. 86:4-11.

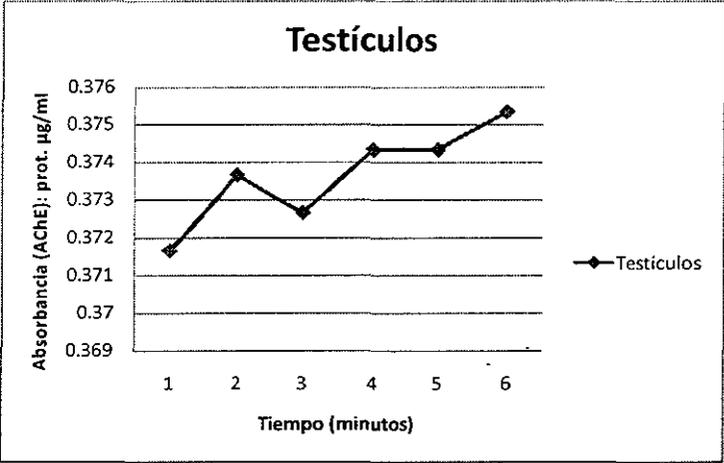
ANEXOS

Anexo 1

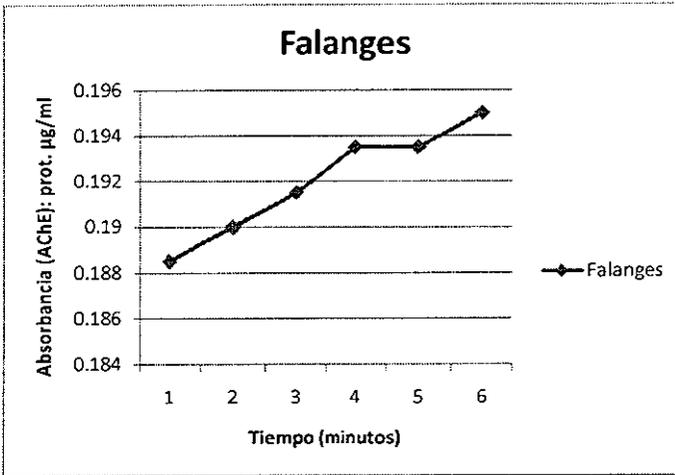
Absorbancia para Acetilcolinesterasa en distintos órganos de *Sceloporus consobrinus*



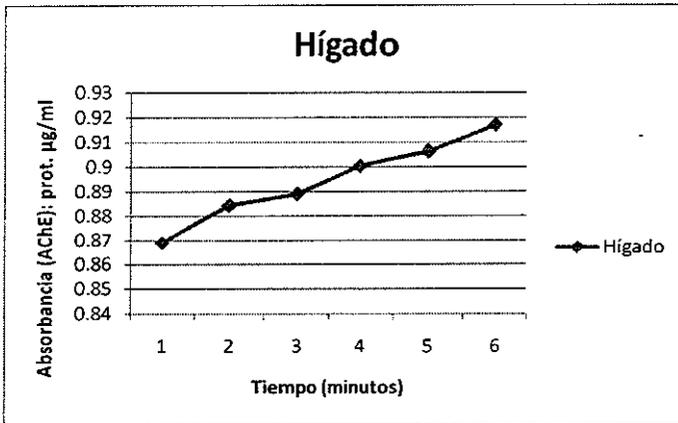
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la AChE en cuerpos grasos.



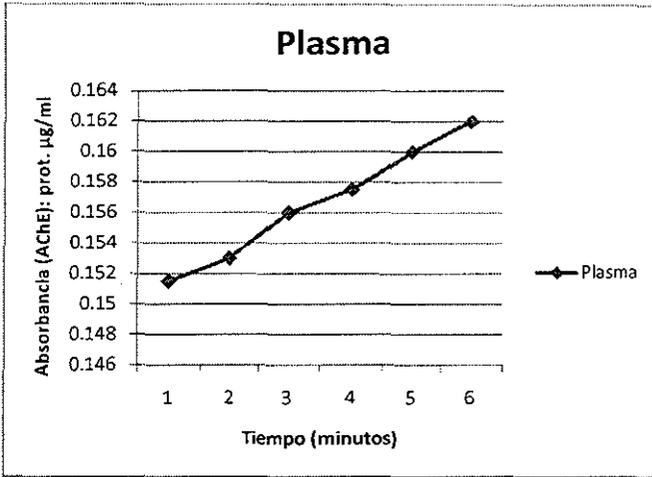
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la AChE en testículos.



Absorbancia durante el tiempo de actividad de la AChE en falanges.



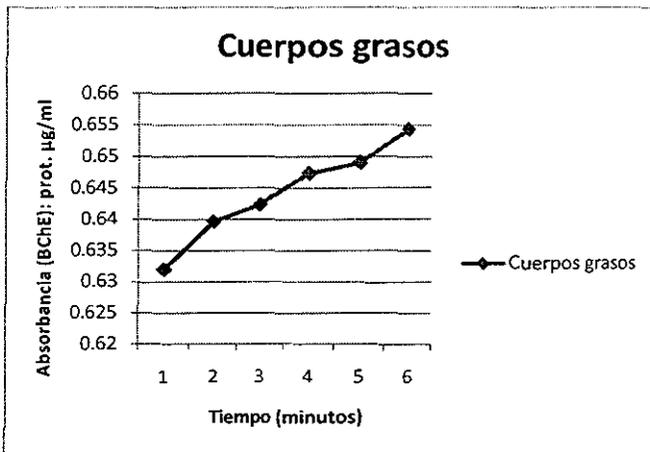
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la AChE en hígado.



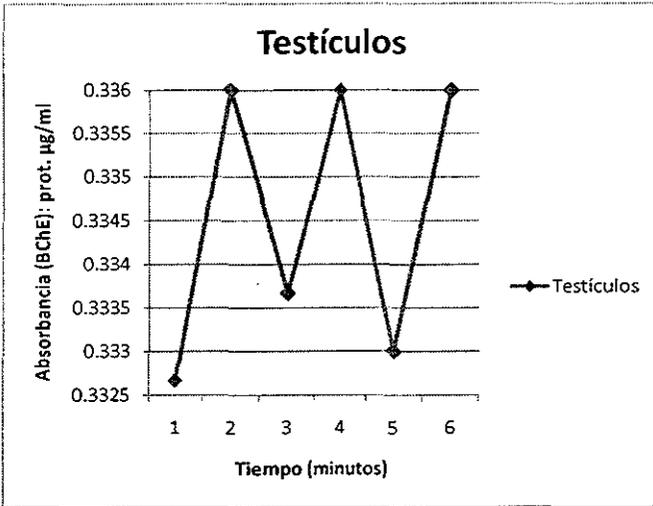
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la AChE en plasma.

Anexo 2

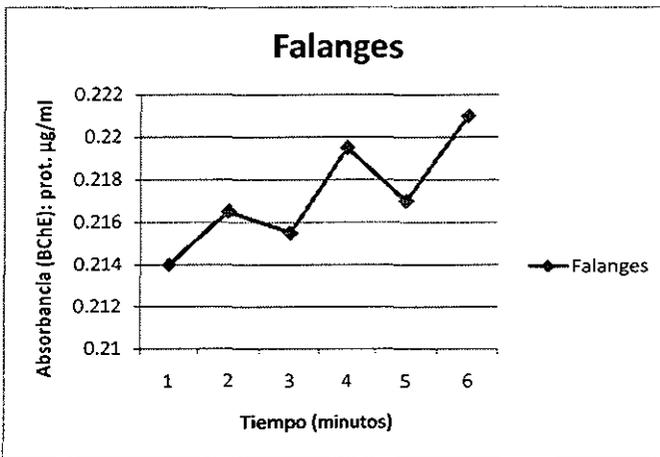
Absorbancia para Butirilcolinesterasa en distintos órganos de *Sceloporus consobrinus*



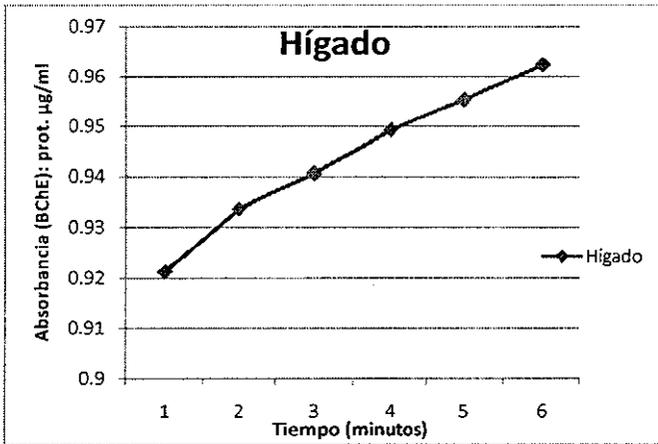
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la BChE en cuerpos grasos.



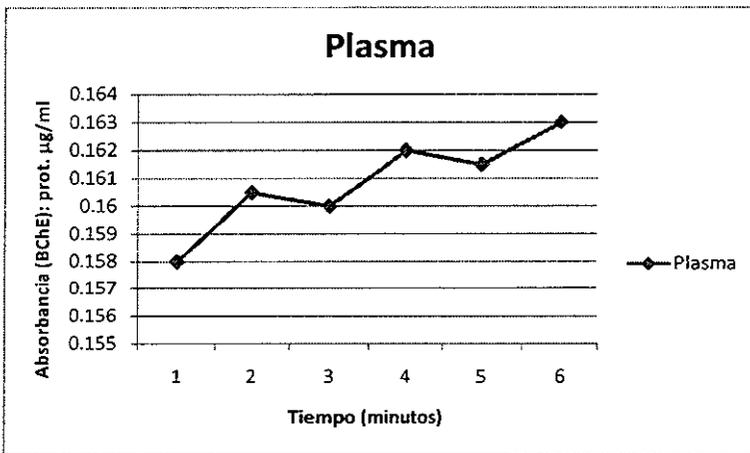
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la BChE en testículos.



Absorbancia durante el tiempo de actividad de la BChE en falanges.



Absorbancia durante el tiempo de actividad de la BChE en hígado.



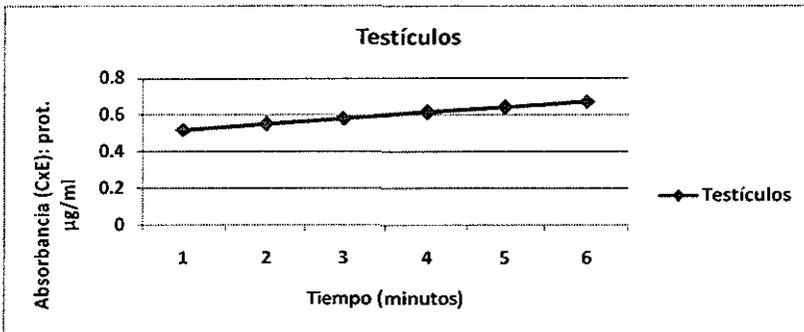
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la BChE en plasma.

Anexo 3

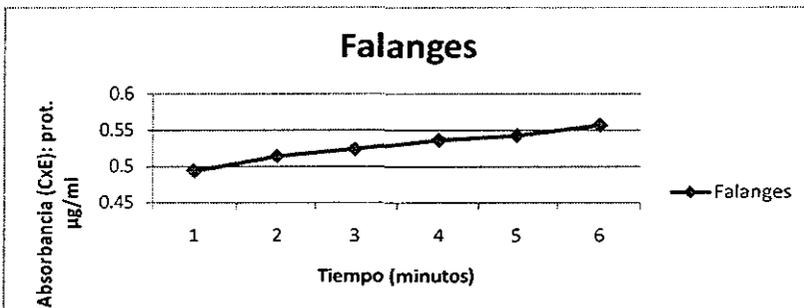
Absorbancia para Carboxilesterasa en distintos órganos de *Sceloporus consobrinus*



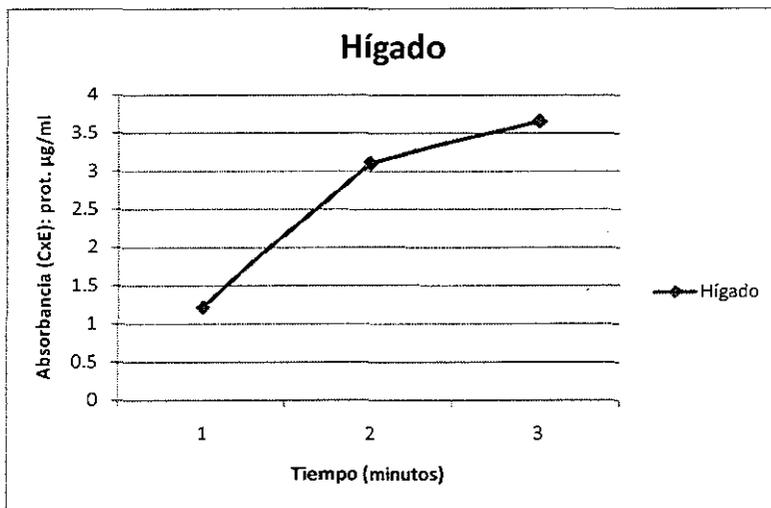
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la CxE en cuerpos grasos.



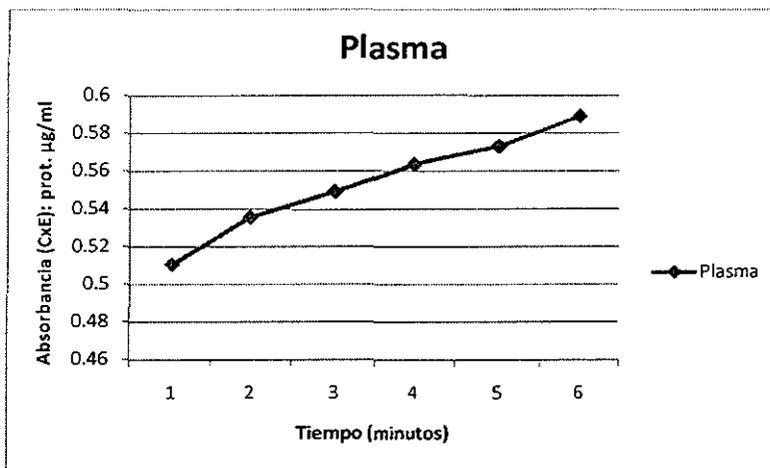
Absorbancia durante el tiempo de actividad de la CxE en testículos.



Absorbancia durante el tiempo de actividad de la CxE en falanges.



Absorbancia durante el tiempo de actividad de la CxE en hígado.



Absorbancia durante el tiempo de actividad de la CxE en plasma.

ANEXO 4
Imágenes de *Sceloporus*



Ilustración 2. Vista dorsal de un juvenil hembra de *Sceloporus torquatus*



Ilustración 1. Vista ventral de un adulto macho de *Sceloporus torquatus*

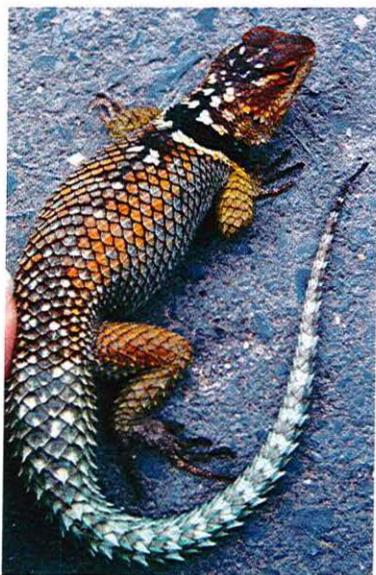


Ilustración 3. Vista dorsal de un adulto hembra de *Sceloporus serrifer*



Ilustración 4. Vista ventral de un adulto macho de *Sceloporus serrifer*