

55758

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Biología

**Distribución e historia natural del Escorpión,  
*Heloderma horridum charlesbogerti* Campbell y  
Vannini, (Sauria: Helodermatidae) en Zacapa,  
Guatemala y caracterización de su veneno**

Daniel Ariano Sánchez



Guatemala

2003

**Distribución e historia natural del  
Escorpión, *Heloderma horridum*  
*charlesbogerti* Campbell y Vannini, (Sauria:  
Helodermatidae) en Zacapa, Guatemala y  
caracterización de su veneno**

Daniel Ariano Sánchez

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

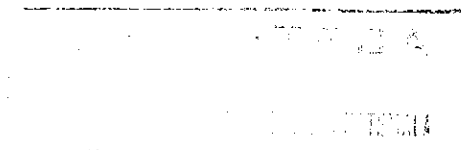
Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Biología

**Distribución e historia natural del Escorpión,  
*Heloderma horridum charlesbogerti* Campbell y  
Vannini, (Sauria: Helodermatidae) en Zacapa,  
Guatemala y caracterización de su veneno**

Daniel Ariano Sánchez

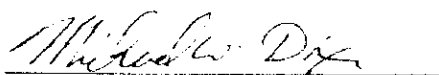
Trabajo de graduación presentado  
para optar al grado académico de  
Licenciado en Biología



Guatemala

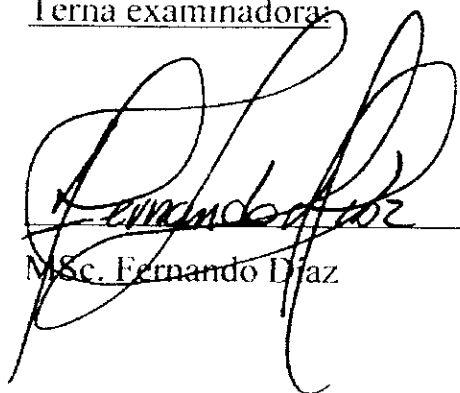
2003

Vo.Bo. Asesor:

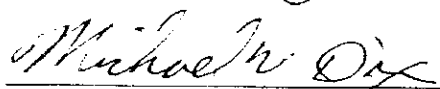


Dr. Michael Dix

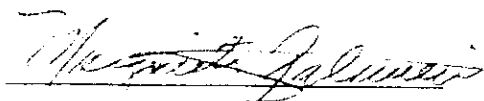
Terna examinadora:



M.Sc. Fernando Diaz



Dr. Michael Dix



Licda. Margarita Palmieri

Fecha de aprobación: 16 de octubre de 2003

## PREFACIO

---

El estudio de un animal tan escaso y extraño como el Escorpión (*Heloderma horridum charlesbogerti*) presentaba un sinnúmero de dificultades que habían limitado el interés para realizar un trabajo profundo de esta especie. Dentro de éstas podemos mencionar la complicada topografía del terreno, el clima extremo, lo escaso de sus poblaciones y lo complicado de conseguir financiamiento para investigación de una especie con una no muy buena reputación dentro de la población. Sin embargo, este proyecto se fue gestando gracias a alguien que durante largo tiempo tuvo la idea de salvar a esta especie, tan arraigada para bien o mal dentro de la cultura de los guatemaltecos, principalmente en el área de Oriente. Este trabajo no hubiera sido posible sin la invaluable colaboración de mi trabajador de campo, Gilberto Salazar, su mujer (Delia) e hijos (El Arenal) y de quien me propuso el reto de trabajar con el Heloderma, Nils Santos (ZNLA). Quiero agradecer al Dr. Michael Dix, Lic. Fernando Díaz, Licda. Margarita Palmieri, Dra. Margaret Dix, Dra. María Eugenia Morales de Betoulle, Dra. Elfriede de Poll y Dr. Charles MacVean por su asesoría, paciencia, exigencia y orientación en la revisión de las distintas facetas y versiones de este proyecto. A Zootropic (en especial a Luis Alvarado, Antonio Urbina y Lic. Rodrigo Botrán) por creer y apoyar este proyecto, tanto financieramente como técnicamente. A Carlos Vásquez (MHN-USAC), Lester Meléndez (MHN-JI), Auto Safari Chapín y Oscar Cezeña (El Rosario) por su colaboración en el préstamo de especímenes para morfometrías y extracción de venenos.

También quisiera agradecer a Nancy Cruz, Karla Ponciano, Lucia Nitsch, Ana Salazar, Sergio Sigüenza y Sandra Rosales del curso de inmunoquímica por haber colaborado en cierta parte de la caracterización del veneno. A Leyda Hernández, Lic. Mayra Maldonado, Marleny Castellanos, Jacobo Blijdenstein, Alejandro Sagone, Rodrigo Juárez, a toda la comunidad de El Arenal (nunca olvidaré su apoyo incondicional y su interés para con el proyecto), Dr. Daniel Beck por incentivar me y darme ideas desde el extranjero. A la corporación municipal de Cabañas, Zacapa (2000-2003) en especial al Ing. Alfredo Vidal.

Finalmente, quiero dedicar este trabajo y agradecerle a mi madre por todos sus esfuerzos, por inculcarme el amor por la naturaleza y por su apoyo incondicional; a mi padre por enseñarme a ser crítico y a los helodermas que me enseñaron el valor de la paciencia y la perseverancia, porque sigan siendo un recurso único de los guatemaltecos.

# CONTENIDO

---

	Pág.
PREFACIO	iii
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO CONCEPTUAL	2
A. Aspectos básicos de la biología de <i>Heloderma horridum</i> ssp.	2
B. Determinación de sexos en miembros de la familia Helodermatidae	6
C. Aparato venenoso, inmunoquímica y toxicología del veneno de <i>Heloderma horridum</i>	8
D. Aspectos diagnósticos de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	10
E. Holotipo y paratipos de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	11
F. Descripción del área de estudio	11
III. JUSTIFICACIÓN	14
IV. OBJETIVOS	16
V. METODOLOGÍA	17
A. Entrevistas	17
B. Fase de campo	17
1. Caracterización del hábitat	17
2. Muestreos fase de campo	18
3. Monitoreo en vida silvestre	19
C. Monitoreo de actividad de especímenes mantenidos en colecciones privadas	19
D. Descripción del manejo actual de los especímenes de <i>H. horridum charlesbogerti</i> mantenidos en cautiverio en el país.	19
E. Diferencias morfométricas	20
F. Análisis del veneno de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	20
1. Extracción del veneno	20
2. Determinación de la concentración de proteínas totales presentes en el veneno	21

3.	Preparación de dosis para determinación de DL <sub>50</sub> del veneno	21
4.	Determinación en ratones de DL <sub>50</sub> del veneno vía subcutánea	22
5.	Análisis histopatológico del efecto del veneno en ratones	22
6.	SDS-PAGE de proteínas del veneno	23
VI. RESULTADOS		24
A.	Entrevistas a pobladores de Zacapa sobre avistamientos de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	24
B.	Especímenes presentes en Guatemala	25
C.	Creencias populares asociadas a <i>H. horridum charlesbogerti</i>	26
D.	Amenazas que sufren las poblaciones de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	27
E.	Descripción del hábitat de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	28
F.	Distribución de <i>H. horridum charlesbogerti</i> en el municipio de Cabañas, Zacapa, Guatemala	29
G.	Distribución histórica y actual de <i>H. horridum charlesbogerti</i> en el departamento de Zacapa, Guatemala	30
H.	Observaciones acerca del comportamiento de los especímenes de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	32
I.	Manejo en cautiverio de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	36
J.	Análisis morfométricos	37
K.	Caracterización del veneno	40
1.	Determinación de la concentración de proteínas totales	40
2.	Proteínas detectadas en el veneno	40
3.	Análisis microbiológico de secreción bucal de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	41
4.	Efectos <i>in vivo</i> y DL <sub>50</sub> del veneno	42
5.	Efectos sistémicos del veneno	42
6.	Histopatología renal y hepática del envenenamiento por <i>H. horridum charlesbogerti</i> en ratones	44
VII.	DISCUSIÓN	46
VIII.	CONCLUSIONES	51
IX.	RECOMENDACIONES	53

X. LITERATURA CITADA	55
XI. APÉNDICES	59
1. Entrevista para pobladores de Zacapa sobre avistamientos de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	59
2. Datos morfométricos de especímenes de <i>H. horridum charlesbogerti</i> preservados y mantenidos en cautiverio	60
3. Instituciones que poseen especímenes preservados de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	61
4. Fotografías de especímenes de <i>H. horridum charlesbogerti</i> encontrados en Guatemala	62
5. Pruebas de t de datos morfométricos	64
6. Lista de especies de fauna encontradas durante este estudio en el área de muestreo del municipio de Cabañas, Zacapa	65
7. Fotografías del hábitat típico de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	67

## LISTA DE CUADROS

---

	Pág.
1. Entidades que poseen especímenes de <i>H. horridum charlesbogerti</i> en cautiverio en Guatemala	25
2. Especímenes de <i>H. horridum charlesbogerti</i> encontrados en el municipio de Cabañas, Zacapa, entre junio 2002 y julio 2003	29
3. Masas moleculares de las proteínas detectadas en el veneno de <i>H. horridum charlesbogerti</i> por medio de SDS-PAGE con tinción en azul de Coomassie	41

## LISTA DE FIGURAS

---

	Pág.
1. Escorpión o niño dormido, <i>Heloderma horridum charlesbogerti</i>	2
2. Glándula venenosa infralabial de <i>Heloderma horridum</i>	8
3. Municipio de Cabañas, Zacapa (Vista satelital)	13
4. Puntos de colecta de <i>Heloderma horridum charlesbogerti</i> en el municipio de Cabañas, Zacapa, en el período junio2002-julio2003	30
5. Distribución del Escorpión, <i>Heloderma horridum charlesbogerti</i> en el departamento de Zacapa, Guatemala	31
6. Posturas defensivas de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	32
7. <i>H. horridum charlesbogerti</i> trepado en tronco de <i>Bucida macrostachya</i>	33
8. <i>H. horridum charlesbogerti</i> procediendo a comerse un huevo de gallina	34
9. <i>H. horridum charlesbogerti</i> cazando y engullendo un ratón	34
10. Dimorfismo sexual en cuanto a escamas preanales de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	38
11. Comparación de escamas preanales entre sexos de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	39
12. SDS-PAGE de veneno de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	41
13. Efectos patológicos macroscópicos en hígado, riñón, intestino delgado y piel de ratones sometidos a distintas dosis de veneno de <i>H. horridum charlesbogerti</i>	43

## RESUMEN

---

*Heloderma horridum charlesbogerti* Campbell y Vannini (1988), es una subespecie endémica de Guatemala y su distribución es restringida a las partes áridas del valle del río Motagua. Se encuentra en peligro de extinción debido a lo escaso de sus poblaciones y el constante avance de la civilización. Este estudio se llevó a cabo entre junio de 2002 y julio de 2003. La fase de campo se realizó en el municipio de Cabañas, departamento de Zacapa, Guatemala. También se hizo el análisis de su veneno en laboratorio.

Existen 19 especímenes *H. horridum charlesbogerti* mantenidos en cautiverio en el país. Su distribución en Zacapa se ha reducido drásticamente durante los últimos cinco años, quedando únicamente una población en el área montañosa del municipio de Cabañas. El tipo de hábitat del *H. horridum charlesbogerti* según puntos de colecta actual e histórica comprende terrenos entre 300-950 metros sobre el nivel del mar (m SNM). El bosque dominante es una asociación vegetal consistente de Roble (*Bucida macrostachya*), Manzanote (*Pereskia autumnalis*), Flor blanca (*Moringa oleifera*), Quebracho (*Licania hypoleuca*), y el cactus cabeza de viejo (*Cephalocereus maxonii*). El estrato de sotobosque es ralo, con preponderancia de una Bromeliacea terrestre denominada piña de coche (*Hechtia guatemalensis*). El terreno es sumamente quebrado (45°-60° de pendiente) y arenoso. La densidad poblacional mínima de *H. horridum charlesbogerti* para el área de estudio es de 0.27 individuos / ha (1 individuo/3.65 ha). El índice de captura para la subespecie con la metodología empleada en este estudio fue de 1 individuo/87 horas / hombre.

Aparentemente este animal estiva de noviembre a mayo, es de hábitos semiarborícolas y se alimenta principalmente de huevos de reptiles y aves, pichones de aves, crías de ratón, ratones adultos e insectos, especialmente coleópteros. Se logró identificar dimorfismo sexual en esta subespecie, de manera que las hembras poseen escamas preanales agrandadas mientras que los machos carecen de este carácter. Se detectaron 12 bandas en el SDS-PAGE del veneno, de las cuales 5 bandas mostraron masas moleculares similares a la hialurodinasa, gilatoxina, hemorragina, helotermina, helodermina y exendin-3, respectivamente. Se determinó que la DL<sub>50</sub> del veneno fue entre 0.9 y 1.2 mg/kg de ratón. El cuadro sintomático del envenenamiento en los ratones consistió en espasmos, exoftalmía, hipotermia, letargo, parálisis de extremidades posteriores y la muerte sobrevino aparentemente por fallo respiratorio y fallo renal. Se

observaron hemorragias severas en riñones, hígado, intestinos y piel circundante del área de punción. El veneno mostró bastante hemotoxicidad y una mayor letalidad que otras subespecies de *H. horridum*.

## I. INTRODUCCIÓN

En este estudio se pretende determinar la distribución real de *Heloderma horridum charlesbogerti* en el departamento de Zacapa, Guatemala, describir la historia natural del mismo y caracterizar su veneno. Asimismo se contempló la realización de un inventario completo de los especímenes mantenidos en cautiverio en el país, la caracterización de su hábitat en ambiente natural y la identificación de la existencia o no de dimorfismo sexual en la especie. Toda esta información es indispensable para el desarrollo de estrategias efectivas de conservación tanto *in situ* como *ex situ* por medio de programas de reproducción y reintroducción a vida silvestre.

Aquí se recopila la mayoría de información existente referente a *H. horridum*, así como presenta datos básicos para esclarecer la biología específica de *H. horridum charlesbogerti*. Se presenta la cantidad y ubicación de los especímenes de éste mantenidos en cautiverio, así como descripciones de su manejo. También se muestra la distribución histórica de *H. horridum charlesbogerti* comparada con la distribución actual encontrada durante la realización de éste estudio. Se describen los efectos sistémicos e histopatológicos del veneno en ratones de laboratorio, así como se muestran los componentes del mismo detectados en la electroforesis SDS-PAGE. Dentro de estos sobresale la identificación de una proteína con masa molecular similar al Exendin-3, la cual está siendo estudiada en distintos laboratorios farmacológicos como el tratamiento más promisorio para la diabetes de tipos I y II.

Lamentablemente los resultados de la investigación no son muy alentadores en cuanto al estado poblacional de esta subespecie. La distribución de *H. horridum charlesbogerti* se ha reducido notoriamente en el departamento de Zacapa durante los últimos cinco años, debido principalmente a la destrucción de su hábitat y a su comercio ilegal. Esto pone una nota de alarma en cuanto a su situación actual, indicando la urgente necesidad de la elaboración de estrategias y programas para su conservación. De lo contrario pasará a formar parte como una más en la lista de especies extintas para el país.

## II. MARCO CONCEPTUAL

### A. ASPECTOS BÁSICOS DE LA BIOLOGÍA DE *Heloderma horridum* ssp.

El heloderma pertenece a la familia Helodermatidae, siendo éste el único género de la familia y conociéndose dos especies principales: *Heloderma suspectum* Cope (Mounstro de Gila) y el *H. horridum* Wiegmann (Escorpión, niño dormido) (Campbell y Lamar 1989). La familia Helodermatidae es la única familia de saurios que poseen glándulas productoras de veneno, con estructura dentaria adaptada para la inoculación. Las glándulas venenosas están situadas en la mandíbula inferior y el veneno no es inyectado directamente en la sangre. Éste es mezclado con la saliva, así que el animal tiene que sujetar fuertemente cuando muerde, para que el veneno penetre por capilaridad en los agujeros que dejan los dientes. Posee un veneno neurotóxico que causa parálisis y fallo respiratorio (Ramírez y Guichar 1989).

*Heloderma horridum* fue descrito por Wiegmann (1829). El primer trabajo sobre subespecies de *Heloderma horridum* fue publicado por Bogert y Martín del Campo (1956), en el cual se describieron tres subespecies: *H. horridum horridum*, *H. h. alvarezii* y *H. h. exasperatum*. *H. h. horridum* se encuentra en México, desde Sonora hasta Oaxaca; *H. h. exasperatum* se encuentra en un área muy restringida, entre el sur de Sonora y el norte de Sinaloa; *H. h. alvarezii* se encuentra en el norte de Chiapas y la depresión del río Lagartero en Huehuetenango, Guatemala. Una cuarta subespecie, *H. h. charlesbogerti*, fue descrita por Campbell y Vannini (1988) y se encuentra únicamente en el valle seco del río Motagua en Guatemala. Pregrill *et al.* (1986) publicaron un tratado sobre la historia fósil de los helodermátidos escamados incluyendo una descripción de un nuevo fósil de helodermátido de Texas, Estados Unidos.



Figura 1. Escorpión o niño dormido, *Heloderma horridum charlesbogerti*

Beck y Lowe (1991) indican que *Heloderma horridum* en estado salvaje es más activo entre principios de abril y mediados de noviembre, cuando ocurre el 88% de la actividad en la naturaleza. Exhiben un período de actividad diurno, con un pico de la última hora de la tarde a principios de la noche (de 16:00 a 20:00 hrs), y otro pico en la mañana (6:00 a 10:00 hrs). En las épocas de lluvia, son más activos en horas nocturnas.

El refugio típico del escorpión lo constituyen madrigueras abandonadas con entradas de unos 15 cm de diámetro, sin preferencias respecto a la orientación de la misma. A partir de la entrada, se extiende un túnel de entre uno y dos metros. Estos cobijos suelen situarse a lo largo de un barranco, depresión o inclinación del terreno sobre un pequeño drenaje y, a menudo, en la base de un árbol. *H. horridum* raramente excava su propia madriguera, excepto si construye un nido que más tarde puede utilizar como refugio. También se ha descrito que utilizan madrigueras construidas por *Ctenosaura*. De hecho se observó un *Heloderma horridum* de 900 g. compartiendo la madriguera con una *Ctenosaura* de 300 g. También pueden utilizar árboles como cobijo durante las estaciones de lluvias (Beck y Lowe 1991). Uno de estos lagartos fue visto en un árbol a 5 metros del suelo (Campbell y Lamar 1989). Otro lagarto fue observado cerca de Oaxaca en México, subiéndose rápidamente a un pino cuando detectó que estaba siendo observado (Perry-Richardson e Ivany 1995). Estas mismas observaciones han sido confirmadas por Ariano y Santos (no publicado), con los especímenes de *Heloderma horridum charlesbogerti* que son mantenidos en cautiverio en el Zoológico Nacional la Aurora, los cuales al liberarse un momento en los jardines, inmediatamente buscaron el árbol más cercano y comenzaron a subirse a éste con una gran agilidad.

Beck y Lowe (1991) reportan que el espacio vital promedio de *Heloderma horridum* es de 21.6 ha, aunque existen diferencias sustanciales entre los individuos estudiados. En espacios compartidos, los cobijos pueden ser utilizados por más de un individuo en momentos diferentes. En dos ocasiones diferentes, se han observado dos de estos lagartos de sexo desconocido, compartiendo una madriguera.

El contenido estomacal y muestras fecales de numerosos adultos de *Heloderma horridum* han mostrado lo siguiente: un conejo del género *Silvilagus* (Bogert y Martín

del Campo 1956), una rata del género *Sigmodon* (Bogert y Martín del Campo 1956), restos sin identificar de un mamífero, siendo en su mayoría restos de pelo (Bogert y Martín del Campo 1956), huevos parecidos a los de una codorniz (Alvarez del Toro 1982; Zweifel y Norris 1955), un pichón identificado como *Piaya cayana* (Zweifel y Norris 1955), plumas de *Leptotila verreauxi* (Beck y Lowe 1991), cáscaras de huevo y plumas sin identificar (Beck y Lowe 1991; Bogert y Martín del Campo 1956), huevos de *Ctenosaura pectinata* (Villa-Ramírez 1978), huevos supuestamente pertenecientes a un lagarto y un embrión de tortuga del género *Kinosternon* (Alvarez del Toro 1982; Beck y Lowe 1991; Bogert y Martín del Campo 1956), lagartos, serpientes, fragmentos de insectos (probablemente ingestiones accidentales), material de plantas (Bogert y Martín del Campo 1956). También se ha descrito que se comen a crías de su propia especie (Alvarez del Toro 1982). Se ha visto a individuos capturados recientemente el regurgitar huevos de una serpiente de gran tamaño, probablemente *Drymarchon* o *Masticophis*, así como defecar los restos de un pájaro de tamaño pequeño sin identificar (Campbell y Vannini 1988).

La biología reproductiva de *Heloderma horridum* ssp. en libertad no se ha estudiado con profundidad. Se ha sugerido que ponen los huevos entre septiembre y noviembre, después de la estación de lluvias en el oeste de México, y que las crías salen en julio (Beck y Lowe 1991; Bogert y Martín del Campo 1956). Alvarez del Toro (1982) describe que *Heloderma horridum* pone entre 4 a 8 huevos durante varios días en diferentes esquinas de su túnel entre octubre y diciembre. Sin embargo, en Estados Unidos, la ovoposición en animales cautivos suele ocurrir entre finales de julio y mediados de septiembre. Un espécimen mantenido en cautiverio en Guatemala puso ocho huevos durante el período comprendido entre principios de enero y mediados de febrero. Referente a *H. horridum charlesbogerti* Santos (Com pers. 2002) indica que en cautiverio se ha observado hembras depositando de 2 a 6 huevos cada año, sin presencia de machos. Con respecto al tiempo de incubación se opina que es de 7 meses aproximadamente, ya que se informó haber colectado una cría en el mes de julio (Santos Com pers. 2002), pero como se indicó anteriormente no se poseen datos concretos por falta de estudios específicos.

Russell (1983) reporta que zorros y coyotes depredan a los animales adultos de *Heloderma horridum*, mientras que búhos, halcones y águilas pueden atacar a individuos más jóvenes.

El heloderma o escorpión (nombre vernáculo del animal en la zona donde se puede encontrar este reptil) es la única lagartija venenosa de Guatemala. En el país existen dos subespecies: *Heloderma horridum alvarezii* y *Heloderma horridum charlesbogerti*. La primera se distribuye en el valle de Nentón hacia México. La segunda se distribuye en el área del Valle del Motagua (Campbell y Lamar 1989). Existen reportes no confirmados de la presencia de *Heloderma* en el valle de Salamá. *Heloderma horridum charlesbogerti* fue bautizada así en honor del herpetólogo C.M. Bogert (Campbell y Vannini 1988).

Referente a *H. horridum charlesbogerti* Santos (Curador de reptiles, Zoológico Nacional la Aurora. Com. pers. 2002) indica que en cautiverio se han observado hembras depositando de 2 a 6 huevos cada año, sin presencia de machos. Con respecto al tiempo de incubación se opina que es de 7 meses aproximadamente, ya que se informó haber colectado una cría en el mes de julio (Santos. Curador de reptiles, Zoológico Nacional la Aurora. Com. pers. 2002), pero como se indicó anteriormente no se poseen datos concretos por falta de estudios específicos. Su distribución es restringida a las partes áridas del valle del río Motagua entre El Rancho, departamento de El Progreso y Gualán, departamento de Zacapa. Posiblemente se encuentre también en las vertientes Pacífica y Atlántica de los departamentos de Jutiapa, Chiquimula y Santa Rosa (Campbell y Vannini 1988). Las zonas de vida en las que habita son monte espinoso tropical, bosque muy seco tropical y bosque seco tropical (sistema de Holdridge 1967). Su rango altitudinal es de 300 a 900 m SNM. Es de movimientos lentos; sin embargo, cuando tiene al alcance una presa puede hacer un movimiento lateral rápido con su cabeza y atraparla con sus quijadas apretando fuertemente. En Guatemala se conocen pocos casos de mordeduras, no habiendo hasta el momento casos fatales. Además, cuando es molestado saliva abundantemente (Santos. Curador de reptiles, Zoológico Nacional la Aurora. Com. pers. 2002)

## B. Determinación de sexos en miembros de la familia Helodermatidae

Los lagartos de la familia Helodermatidae han sido tradicionalmente difíciles de sexar (Perry 1996) Se han intentado varios métodos para determinar el sexo en estas especies, siendo estos:

1. Sondeo. El sondeo para sexaje de reptiles consiste en la inserción de sondas de acero inoxidable en la cavidad cloacal del animal. Dependiendo de la profundidad a la que se puede introducir la sonda, se puede determinar el sexo. En general, los machos de los reptiles tienen una cloaca más grande y se pueden sondear a más profundidad que las hembras, debido a la presencia de los hemipenes. Este es un método efectivo para la mayoría de reptiles; sin embargo, puede resultar muy difícil en *Heloderma* (Laszlo 1975). Las hembras pueden sondearse a una profundidad muy similar a la de los machos, por lo que este método es poco concluyente y no se recomienda (Bogert y Martín del Campo 1956; Conners 1987; Conners 1993).

2. Inyecciones salinas/eversión del hemipene. Este método implica una inyección salina isotónica en la cola del lagarto a unos 3-4 cm detrás de la cloaca, y la aplicación de una ligera presión. Esta presión causa eversión del hemipene. Los lagartos bebés pueden sexarse con este método, pero desafortunadamente se requiere de anestesia en adultos. Aunque esta técnica proporciona una identificación positiva en machos, en el caso de hembras sólo puede darse como probable (Perry 1996).

3. Laparoscopia. Implica la realización de una pequeña incisión en el lagarto por la que se introduce un laparoscopio de fibra óptica para examinar los órganos sexuales. Este es un método sumamente invasivo y poco práctico de realizar en el campo, además de ser bastante caro. Además es difícil determinar el sexo en los animales jóvenes debido a que las gónadas inmaduras tienen un aspecto muy similar (Perry 1996).

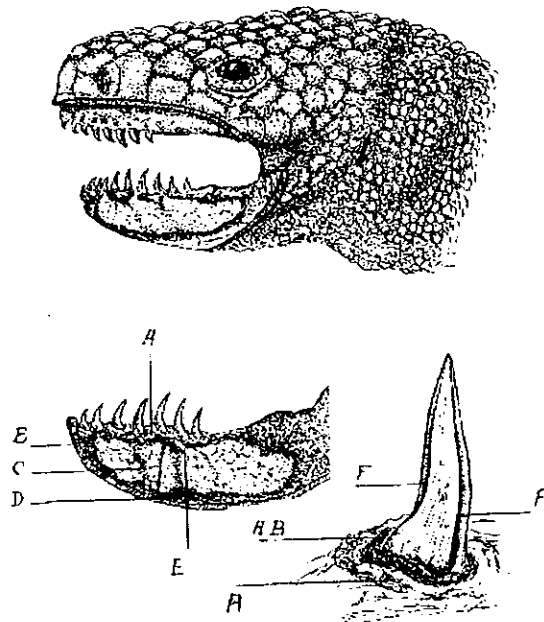
4. Radiografía. Card y Mehaffey (1994) describen una técnica radiográfica para sexar *Heloderma suspectum*. Implica tomar radiografías de la zona pélvica y medir el largo del isquión desde el ángulo posterior al ángulo anterior, medir el espesor máximo (EM) del isquión y comparar ambos con las medidas de la longitud SVL (Largo naricas-cloaca) del animal. Los machos pueden diferenciarse claramente de las hembras ya que éstas tienen el isquión más largo y grueso. En el Zoológico de Detroit sexaron cinco lagartos *Heloderma horridum* de dos de los cuales se conocía el sexo. La longitud SVL contra la longitud del isquión proporcionó diferencias distinguibles. Sin embargo, en este estudio se observó que las hembras tenían el isquión más corto que los machos, al contrario de lo descrito en *H. suspectum*. Este método se considera todavía poco concluyente en el caso de *H. horridum* hasta que no se hayan estudiado más individuos (Perry 1996).

5. Características morfológicas. Muchas instituciones usan aspectos morfológicos, incluyendo el tamaño de la cabeza, para determinar el sexo (Connors 1993). Se ha demostrado que estas diferencias permiten el sexaje en el caso de *Heloderma suspectum* (Tinkham 1971). Bogert y Martín del Campo (1956) mencionan que en el caso de *Heloderma horridum* no se encontraron diferencias morfológicas entre sexos; sin embargo, Campbell y Vannini (1988), mencionan que el holotipo (especimen tipo en base al cual se hace la descripción del taxón) hembra y tres paratipos (especímenes pertenecientes a la serie tipo de la cual se obtuvo el holotipo) hembras, presentaban escamas preanales agrandadas, mientras que los machos poseían las escamas de esta región arregladas en 4 ó más filas transversales. Indican que todos los especímenes que presentaron escamas preanales agrandadas eran hembras, pero no están completamente seguros de si este carácter es necesariamente de dimorfismo sexual.

6. Detección de hormonas en la sangre. Este implica la inyección de FSH o LH en el lagarto. Después se extrae sangre a tiempo 0 y 4 horas y se analizan los niveles de testosterona. Desafortunadamente en *Heloderma horridum* los aumentos de testosterona no son significativos. De momento no existen resultados validados, especialmente debido al escaso número de animales de sexo conocido para evaluar los resultados (Perry 1996).

### C. Aparato venenoso, inmunquímica y toxicología del veneno de *Heloderma horridum*

La naturaleza venenosa del *Heloderma* ha sido conocida desde los Aztecas, por lo menos desde la llegada de los conquistadores españoles (Phisalix 1922). La glándula salival infralabial productora de veneno (Ver figura 2) fue descubierta en *Heloderma horridum* por Stewart (1920), y fue descrita en detalle por Fahrenholz (1937). La glándula es grande y posee únicamente un ducto el cual desemboca en un receptáculo en la base de un par de dientes de la mandíbula inferior (Gabe y Saint-Girons 1969). Muchos de los dientes poseen profundos canales y los cercanos a los conductos de veneno poseen canales aún más profundos. El veneno corre en el espacio entre las encías y los labios, llegando a los canales probablemente por capilaridad (Marcus 1981).



**Figura 2.** Glándula venenosa infralabial de *Heloderma horridum*. Cabeza a la que se ha quitado la piel de los labios para mostrar la glándula y los dientes acanalados. A, repliegues de la mucosa que sirven para el escurrimiento del veneno; B, tejido dérmico; C, Glándula venenosa infralabial; D, Dientes acanalados; E, conductos del veneno; AB, orificio del conducto; F, acanaladuras de un diente de la mandíbula inferior. Figura modificada de Álvarez del Toro (1982).

El veneno de *Heloderma* es antigénicamente distinto a los venenos de serpientes, por lo que los antisueros preparados contra venenos de vipéridos, crotálicos y elápidos

no poseen ningún efecto sobre la neutralización de las toxinas de *Heloderma*, no presentando ninguna reacción en inmunoelectroforésis (Mebs 1970).

En cuanto a las propiedades químicas del veneno, Loeb *et al.* (1913) reportan que los factores tóxicos son estables aún en altas temperaturas. En 1966, Mebs y Raudonat descubrieron por medio de análisis espectrofotométrico que el veneno de *Heloderma ssp.* contiene sodio, potasio, calcio, magnesio y trazas de aluminio, zinc, cobre, hierro y silicón. Se demostró la presencia de hialurodinasa y de fosfolipasa A, la cual es la mitad de activa que la fosfolipasa A presente en un peso igual de veneno de la cobra *Naja naja*. Existe una actividad caseinolítica débil. Según Mebs y Raudonat (1966) la DL<sub>50</sub> del veneno de *Heloderma horridum* en ratones por medio de inyección subcutánea es de 1.4 mg/kg. Por vía intraperitoneal Alagón *et. al* (1982) indican una DL<sub>50</sub> de 2mg/kg para *Heloderma horridum horridum* y *Heloderma horridum alvarezii*. Para el veneno de *Heloderma suspectum* la DL<sub>50</sub> en ratones por medio de inyección intraperitoneal es de 3.0 mg/kg (Johnson *et al.* 1966) y por vía intracardial en ratas es de 1.35 mg/kg (Patterson 1967). Los animales envenenados muestran inmovilidad, cianosis debida principalmente a disnea o apnea y generalmente un ataque de convulsiones precede a la muerte.

El veneno no altera los tiempos de coagulación ni los niveles de protrombina en ratones y gatos *in vivo*, el veneno mezclado con sangre fresca extraída de ratones y gatos no presenta ningún efecto en el tiempo de coagulación (Patterson y Lee 1969). A pesar de esto el veneno ha mostrado que produce hemorragias. Esta aparente contradicción es debida a que las serinaproteasas con actividad kallikreínica, liberan bradikinina del kininógeno. Asimismo, catalizan la hidrólisis de varios sustratos éster de arginina para tripsina y trombina, y degradan la angiotensina I y II por la ruptura del dipéptido Asp-Arg del extremo amino terminal. El fibrinógeno es degradado, pero no se producen microtrombos de fibrina, indicando que estas enzimas poseen especificidades diferentes a las proteasas similares a la trombina presentes en los venenos de serpientes (Utaiincharoen *et al.* 1993). Es por esto que causa hemorragias sin causar alteración en los tiempos de coagulación. También se indica que en ratones envenenados con dosis subletales de veneno de *Heloderma ssp.*, los que sobrevivían por varias horas, mostraron exoftalmía y hemorragias masivas del globo ocular. Estos mostraron hemorragias en los intestinos, riñones, y

ocasionalmente sangrado en los pulmones. Después de dos o tres días, los riñones usualmente se encuentran inflamados y altamente dañados por alteraciones patológicas extensas. También se observó necrosis tubular y hemorragias intersticiales alrededor de los túbulos y en las cápsulas de Bowman, lo cual causó fallo renal (Mebs 1972).

El veneno de *H. h. horridum* contiene gilatoxinas, las cuales son toxinas cuyo único efecto es la letalidad, no produciendo ningún efecto fisiológico detectable (Komori *et al.* 1988). Ésta posee una masa molecular de 35,000 Da (Utaisincharoen *et al.* 1993). También posee una toxina hemorrágica (Mm 31,000 Da) responsable de daño muscular, helodermatina (Mm 63,000 Da) causante de hipotensión (Alagón *et al.* 1986) y helotermina causante de letargia, parálisis de extremidades posteriores e hipotermia. El veneno de los helodermátidos contiene fosfolipasas A2 (Mm 19,000 Da) (Sosa *et al.* 1986), de las cuales la fosfolipasa neurotóxica A2s actúa en axón presináptico terminal del sistema nervioso periférico causando un incremento inicial y luego un posterior decaimiento en la liberación de acetilcolina (Tu 1991). El veneno de helodermátidos también posee hialuronidasa (Mm 63,000 Da) la cual hace más eficaz la dispersión del veneno en los tejidos de las presas (Komori *et al.* 1988). El veneno de los helodermátidos ha causado el aumento de secreción enzimática en preparaciones pancreáticas, a niveles similares que lo hace el péptido vasoactivo (VIP) o la secretina. También ha causado aumentos similares en el AMPc intracelular. Este aumento en el AMPc es debido a la helodermatina (Mm 5,900 Da) y al factor estimulador pancreático PSF (Mm 17500 Da), el cual también aumenta la secreción enzimática en el páncreas (Vandermeers *et al.* 1984). Por último, el exendin-3 (Mm 4200 Da) (Eng *et al.* 1990; Raufman *et al.* 1991), suprime el aumento en los niveles de glucosa en la sangre a la vez que estimula la secreción de insulina. Éste también modula el vaciamiento gástrico, haciendo más lenta la entrada de glucosa en la sangre. Empresas como *Amylin Pharmaceuticals, Inc.* están interesadas en estudiar este compuesto como base de un posible tratamiento para diabetes de tipo I y II (Lidikay y Stone 1997).

#### **D. Aspectos diagnósticos de *H. horridum charlesbogerti***

*H. horridum charlesbogerti* difiere de las otras subespecies conocidas de *H. horridum* por la presencia de placas preanales agrandadas en las hembras. Además

*H. horridum charlesbogerti* puede diferenciarse de la subespecie más cercana geográficamente, *H. h. alvarezii*, debido a que los adultos poseen un dorso negro que está marcado significativamente por manchas irregulares de color amarillo pálido. La cola presenta cinco anillos amarillos. Otro rasgo distintivo con *H. h. alvarezii* es la presencia de siete escamas interorbitales (escamas presentes entre un ojo y otro, en la parte superior de la cabeza) en lugar de seis (Campbell y Vannini 1988).

#### **E. Holotipo y paratipos de *H. horridum charlesbogerti*:**

El holotipo de *H. horridum charlesbogerti* se encuentra en la Universidad Texas en Arlington (UTA-R-15000). Éste fue colectado en Espíritu Santo, a 17 km de El Rancho, departamento de El Progreso a 300 m SNM, el 10 de septiembre de 1984 por D. Vásquez. Los paratipos fueron colectados cerca de Gualán y Los Jutes en el departamento de Zacapa (Campbell y Vannini 1988).

#### **F. Descripción del área de estudio**

El municipio de Cabañas forma parte del departamento de Zacapa y está localizado a 35 km de la cabecera departamental y a 150 km de la ciudad de Guatemala. Su extensión territorial es 136 km<sup>2</sup> dentro de la vertiente del Atlántico y forma parte del valle central del río Motagua. Las altitudes son variables y tienen rangos desde los 207 a los 1200 m SNM. Sus temperaturas varían entre 19 y 38 grados centígrados, con un promedio anual de 27°C. Las precipitaciones pluviales tienen rangos que van desde los 400 a los 1000 mm anuales y la humedad relativa media es 70%, condiciones típicas de las regiones áridas. Las zonas de vida comprendidas en esta área son monte espinoso tropical, bosque seco y bosque muy seco tropical (Holdridge 1967). La vegetación consiste principalmente de diversas especies de los géneros *Acacia*, *Bursera*, *Mimosa*, *Cephalocereus*, *Opuntia*, *Cochlospermum*, *Hechtia* y *Jacquinia* entre otras especies vegetales. En las partes más altas del área existen especies de los géneros *Quercus* y *Pinus* los cuales se convierten en las especies dominantes.

La economía de Cabañas se fundamenta en la agricultura, principalmente en los cultivos de tabaco, tomate, limón y cultivos de subsistencia como maíz y frijol. La

segunda actividad de importancia económica es la ganadería, bajo esquemas de producción tradicionalmente extensivos (Conde y Saenz 2003).

La mayoría de los especímenes que se mantienen en cautiverio provienen del área montañosa del triángulo formado por las comunidades de Cabañas, El Rosario y El Arenal, pertenecientes al municipio de Cabañas, Zacapa, entre los ríos El Tambor y San Vicente (Figura 3). Estos han sido capturados en su mayoría entre los meses de septiembre y noviembre.

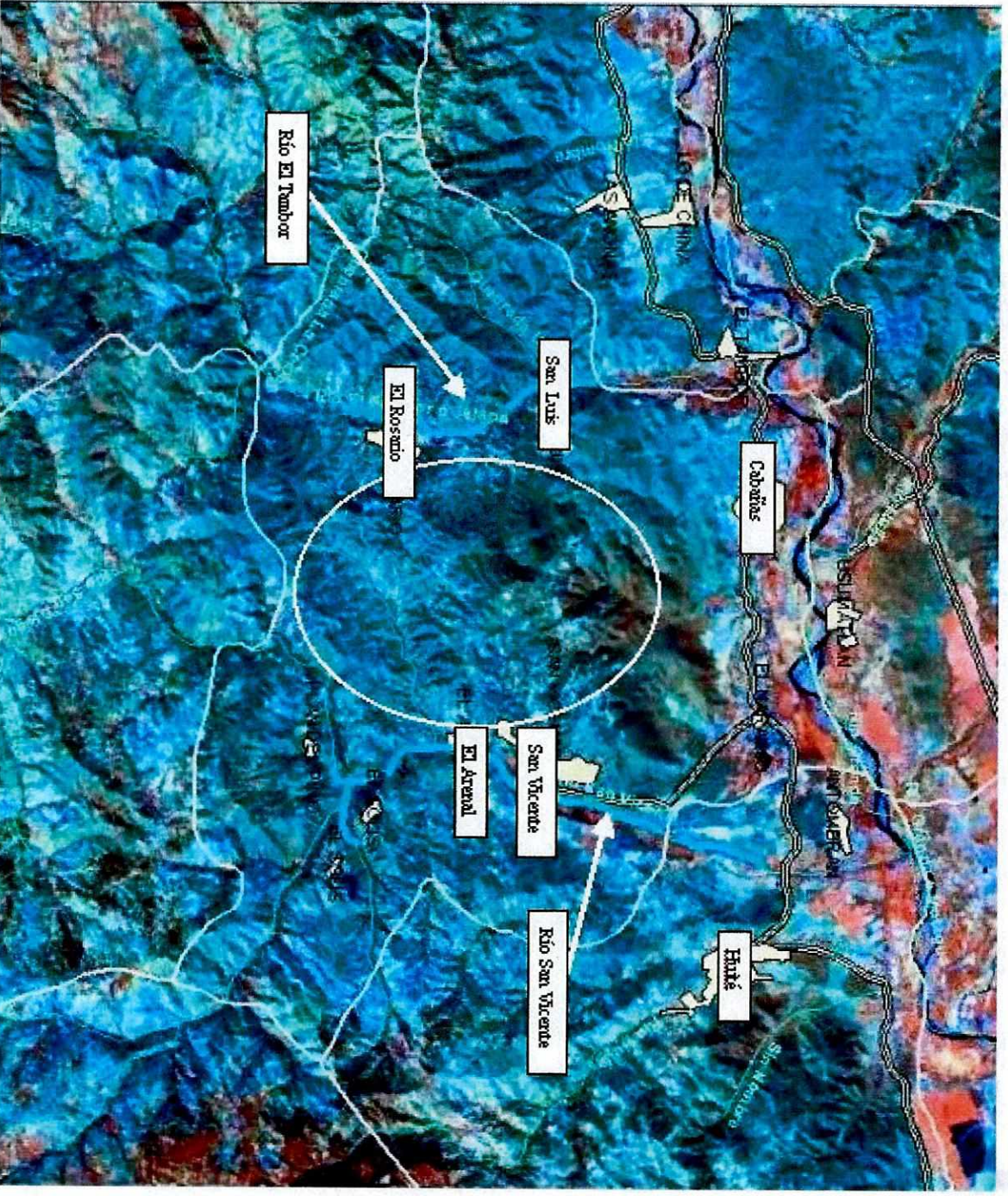


Figura 3. Municipio de Cabañas, Zacapa (Vista satelital) Circulada se encuentra el área donde se realizó la fase de campo

### III. JUSTIFICACIÓN

Durante los últimos años se ha publicado una gran cantidad de revisiones taxonómicas y filogenéticas referentes a la herpetofauna de Guatemala (e.g Brodie y Savage (1993), Campbell (1999), Campbell y Frost (1993), Campbell y Vannini (1989), Campbell *et al.* (1998)). Lamentablemente están siendo destruidos los últimos remanentes boscosos del país, causando que una gran cantidad de especies, muchas de ellas endémicas, se encuentren amenazadas de extinción.

*H. horridum charlesbogerti* es una subespecie endémica del valle medio del Motagua que se encuentra en peligro de desaparecer debido principalmente a la pérdida de hábitat y tráfico ilegal de especímenes. Campbell y Lamar (1989) indican que actualmente es muy raro observar a estos animales, debido a la masiva destrucción de su hábitat. Además, el animal es eliminado sistemáticamente en la región por su fama de ser extremadamente venenoso y agresivo.

Los artículos 23 y 24 de la ley de áreas protegidas (decreto 4-89), declaran de urgencia y necesidad nacional el rescate de las especies de flora y fauna en peligro de extinción, de las amenazadas y la protección de las endémicas. Asimismo el CONAP está obligado a elaborar anualmente los listados de especies amenazadas de extinción, así como de las endémicas. Este estudio brindará información básica para definir el estado actual de la especie en el país y tener mejores criterios para elaborar estrategias adecuadas para la protección de esta subespecie endémica al valle del Motagua.

La identificación de los hábitos de *H. horridum charlesbogerti* en vida silvestre, la determinación de diferencias morfológicas entre sexos de *H. horridum charlesbogerti* y el parentesco entre los especímenes en cautiverio son prerequisites para la reproducción exitosa en cautiverio de esta especie.

El estudio de la composición química del veneno de *H. horridum charlesbogerti* es de suma importancia debido al descubrimiento de la presencia del péptido Exendin-3 en el veneno de *H. horridum horridum*. Este péptido aumenta la secreción de insulina, reduciendo el nivel de azúcar en la sangre, por lo que varias empresas farmacéuticas

están interesadas en sintetizarlo para desarrollar un posible tratamiento para diabetes de tipo I y II.

*H. h. charlesbogerti* no ha sido estudiado desde que fue descrito por Campbell y Vannini en 1988. Desde esa primera publicación han pasado ya 15 años y no se han realizado más investigaciones acerca de esta subespecie. La historia natural, distribución y toxicología del veneno de esta subespecie eran desconocidos hasta la realización del presente estudio. Este trabajo representa el primer esfuerzo por conocer más la biología e impulsar estrategias de conservación de esta subespecie que se encuentra en grave peligro de extinción.

Actualmente se encuentra en el apéndice II de La Convención Sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES) y está en la Lista Roja Global para Guatemala. Asimismo se encuentra en la categoría de vulnerable y dependiente de las estrategias de conservación (VUA2cd) de la lista roja de la International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN). Los datos generados hasta el momento son insuficientes para determinar efectivamente su grado de amenaza.

Es necesario proteger esta especie así como su hábitat, de lo contrario pasará a ser otra más en la lista de especies endémicas extintas para el país, como el caso del pato Poc (*Podilymbus gigas*). Bogert y Martín del Campo (1993) consideran que *H. horridum* ssp. ocupa un nicho especializado no comparable a los de otras especies de lagartijas del mundo. *H. h. charlesbogerti* representa un banco genético único, que probablemente sea una "farmacia viviente" debido a los compuestos presentes en su veneno (como Exendin-3).

## IV. OBJETIVOS

### A. Objetivos generales

1. Ubicar la distribución de *Heloderma horridum charlesbogerti* en el departamento de Zacapa, Guatemala.
2. Describir la historia natural de *H. horridum charlesbogerti*.
3. Caracterizar el veneno de *H. horridum charlesbogerti*.

### B. Objetivos específicos

1. Ubicar los especímenes de *H. horridum charlesbogerti* mantenidos en cautiverio en Guatemala y describir el manejo que se les está dando en el país.
2. Describir el hábitat donde se encuentra *H. horridum charlesbogerti* en Zacapa, Guatemala.
3. Identificar diferencias morfológicas entre sexos de *H. horridum charlesbogerti*.
4. Monitorear la actividad de 2 especímenes en vida silvestre de *H. horridum charlesbogerti* y de 5 especímenes de *H. horridum charlesbogerti* mantenidos en cautiverio en colecciones privadas, por medio de observaciones *ad libitum*.
5. Determinar las masas moleculares de las proteínas presentes en el veneno de *H. horridum charlesbogerti* detectadas por SDS-PAGE.
6. Determinar la DL<sub>50</sub> vía subcutánea, efectos *in vivo* y efectos histopatológicos del veneno de *H. horridum charlesbogerti* en ratones de laboratorio.

## V. METODOLOGÍA

### A. Entrevistas

Se realizaron entrevistas a los pobladores de las áreas de Cabañas, Gualán, Teculután, El Arenal, San Vicente, El Rosario, Santa Cruz, Estanzuela y los Jutes en el departamento de Zacapa. Se anotaron en la entrevista los datos pertinentes (Ver formulario apéndice 1) y se pidió una descripción del animal al entrevistado anotándose todo esto en la entrevista. Al terminar la entrevista se les mostró un cartel con fotografías de *H. horridum charlesbogerti*, *Ctenosaura similis*, *Coleonyx elegans* y *Cnemidophorus motaguae* preguntándoles cual fue efectivamente el animal que ellos vieron. Por medio de estas entrevistas se establecieron los sitios prioritarios de muestreo, de acuerdo a los sitios donde se reportó que se observaron recientemente con mayor frecuencia estos animales.

Además se realizaron entrevistas a aficionados a la herpetología y gente que labora en esta área, para determinar cuantos especímenes de *H. horridum charlesbogerti* existen en cautiverio en el país y cuáles son sus respectivas ubicaciones.

### B. Fase de campo

Los muestreos de campo se realizaron en el municipio de Cabañas, Zacapa, donde se han colectado los especímenes que se encuentran en cautiverio en el país.

1. **Caracterización del hábitat.** Se realizaron transectos de 50 m \* 2 m en forma de L, en los sitios donde se ha reportado la presencia de *H. horridum charlesbogerti* durante los últimos cinco años, así como en los sitios donde se encontraron helodermas durante la realización del presente estudio. Se anotaron las especies vegetales presentes, tomando medidas de altura, diámetro de copa, diámetro a la altura de pecho (DAP) e identificando la especie por los nombres comunes de la región. Sólo se tomaron en cuenta especies con DAP > 10 cm y la presencia de *Hechtia guatemalensis*. En la medida de lo posible se intentó identificar la especie por nombre científico. Se anotaron las características del suelo, sotobosque, estrato epífito

y pendiente del suelo. Asimismo se anotaron las especies de fauna encontrada en los sitios de muestreo.

2. **Muestreos fase de campo.** La fase de campo se realizó desde mediados de julio 2002 hasta mediados de julio 2003. Los muestreos se efectuaron a lo largo de las quebradas del municipio de Cabañas, Zacapa. Se utilizaron dos métodos de muestreo: Transectos de búsqueda intensiva y caminatas de encuentro visual (VES) de alta intensidad. Los transectos de búsqueda intensiva fueron de 50 m de largo y 2 m de ancho. En estos transectos se identificaron todas las madrigueras con diámetros de entrada  $\geq$  a 10 cm (Beck y Lowe 1991). Debido a la fuerte pendiente del terreno se utilizó lazo para poder sostenerse. Se observó qué animales se encontraron dentro de cada madriguera utilizando linternas de mano e introduciendo un Tong (tenaza herpetológica) de 150 cm de largo. En el caso de cuevas curvadas se introdujeron ramas flexibles de la vegetación del lugar. Estos transectos se muestrearon entre 11:30-12:00 hrs. y 13:30-14:00 hrs.

Las caminatas VES de alta intensidad se realizaron a lo largo de las pendientes de las quebradas y tuvieron una extensión de aproximadamente 1 km. Se llevaron a cabo entre 6:00-11:00 hrs, y entre 14:30 - 20:30 hrs., según los picos de actividad de *Heloderma horridum* identificados por Beck y Lowe (1991).

Durante la fase de campo se realizaron en total 85 transectos de búsqueda intensiva y 87 caminatas VES de alta intensidad. Por cada día de muestreo se realizaron dos caminatas VES y dos transectos. Por cada transecto, el área de muestreo efectivo fue de 100 m<sup>2</sup> y por cada caminata VES fue de 2000 m<sup>2</sup>. El área de muestreo efectivo (caminatas VES y transectos) fue aproximadamente 182,500 m<sup>2</sup> (18.25 ha) y el esfuerzo del muestreo total para las caminatas VES de alta intensidad fue de 435 horas / hombre.

Cada espécimen encontrado fue manipulado con gancho herpetológico y guantes de cuero gruesos. Cada espécimen de *H. horridum charlesbogerti* fue marcado por medio de inserción de microchip Avid® por vía subcutánea en el tríceps izquierdo. Cada microchip tuvo un número correlativo empezando de 001. A cada espécimen se le tomaron medidas en mm de largo total (TL), largo de naricas a cloaca (SVL), largo

de cola (T), diámetro de cola en su base, largo de cabeza (H), de punta a cóndilo y diámetro del ojo izquierdo. Se anotó la presencia de escamas preanales agrandadas para poder inferir su sexo, basado en los datos de Campbell y Vannini (1988) y al dimorfismo sexual encontrado en este estudio. También fueron pesados hasta el gramo más cercano, utilizando una pesa de resorte. Se les tomaron fotografías lateral, dorsal y un acercamiento de la zona de la cloaca. Posteriormente, los especímenes fueron liberados en el mismo sitio donde se encontraron. Se anotaron coordenadas UTM exactas de donde se encontró cada espécimen utilizando un GPS Etrix Venture de Garmin®.

**3. Monitoreo en vida silvestre.** Se monitoreó la actividad de dos especímenes de *H. horridum charlesbogerti*, por medio de seguimiento visual. Ésto tomando en cuenta lo escaso de las poblaciones de esta especie y su alta dificultad de muestreo. Éstos se siguieron por espacio de una semana, anotando todas sus actividades y se volvieron a monitorear una semana después por un período de un mes. Se anotaron períodos de actividad y períodos de reposo.

#### **C. Monitoreo de actividad de especímenes mantenidos en colecciones privadas**

Se monitoreó la actividad de cinco especímenes de *H. horridum charlesbogerti* mantenidos en cautiverio en colecciones privadas del país. El muestreo fue de tipo *ad libitum* (Vaz-Ferreira 1984) el cual consistió en la observación y anotación del comportamiento de los especímenes de estudio durante determinado período de tiempo. Este tipo de muestreo es básicamente una recopilación de los patrones de comportamiento observados para la especie objeto de estudio. Para el presente trabajo se realizó este monitoreo con cinco especímenes durante el lapso de un año, anotándose horas de actividad y patrones de comportamiento.

#### **D. Descripción del manejo actual de los especímenes de *H. horridum charlesbogerti* mantenidos en cautiverio en el país**

Se entrevistó a los encargados de las colecciones donde se encuentran especímenes en cautiverio de *H. horridum charlesbogerti* en el país. Se realizaron

anotaciones del tamaño y forma de los recintos, fotoperíodos, alimentación, suplementos alimenticios que se les esté brindando, temperaturas y proyectos de investigación que se estuvieran realizando con estos especímenes.

### **E. Diferencias morfológicas**

Se tomaron medidas hasta el mm más cercano, de largo total (TL), largo de naricas a cloaca (SVL), largo de la cola (T), largo de la cabeza, desde el cóndilo hasta la punta de la mandíbula (H), distancia tímpano-naricas, diámetro de mentón, ancho de cabeza, diámetro del ojo izquierdo, y se calcularon las razones H/SVL, T/SVL, diámetro de ojo/SVL, diámetro de mentón/SVL y ancho de cabeza/SVL. Se anotó la presencia o no de escamas preanales agrandadas. Se tomaron fotografías de la zona cloacal y vista dorsal de los especímenes, con una cámara Canon Eos 3000, con película fotográfica ASA 400 y lente macro. Cada fotografía fue acompañada de un número de identificación que contenía las siglas HHC, seguido de un número correlativo. Se analizaron los datos del holotipo y paratipos descritos por Campbell y Vannini en 1988 (tres machos y cuatro hembras), los datos del espécimen que se encuentra en la colección de la UVG (una hembra) y los datos de los especímenes mantenidos en cautiverio. Estos datos fueron analizados por medio de pruebas de t independientes con un  $\alpha=0.05$ . La frecuencia de la presencia del carácter de las escamas preanales agrandadas con respecto al sexo fue analizada por medio de chi cuadrado, con un  $\alpha=0.05$ .

### **F. Análisis del veneno de *H. horridum charlesbogerti***

1. Extracción de veneno. La extracción de veneno de *H. horridum charlesbogerti* fue realizada utilizando los especímenes mantenidos en cautiverio en el Zoológico Nacional la Aurora, Autosafarí Chapín y Museo de Historia Natural de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Luego de la excitación de los especímenes (capturándolos) se realizó masaje en las glándulas venenosas sublinguales. Este masaje se realizó con el dedo pulgar, realizando presión en movimiento circular, sobre la glándula. El espécimen fue colocado verticalmente, con la cabeza para abajo. Las áreas de trabajo fueron desinfectadas previamente con aerosol antibacterial (QualityCare, Arlington, Texas) y las personas que manipularon al animal utilizaron

guantes quirúrgicos estériles. El veneno fue recolectado de la punta de la boca del animal en tubos Corning estériles de 50 ml (un tubo por cada espécimen). El veneno recolectado fue guardado en una hielera hasta su traslado a los laboratorios de la Universidad del Valle de Guatemala. Éste se trasladó a tubos Eppendorf de 1.5 ml rotulados con número de espécimen y fecha. Los tubos fueron almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Se utilizó este método de invención propia, debido a que es poco invasivo. En otros estudios se ha utilizado el método de extracción de veneno con esponjas que muerde el animal, pero se han reportado muertes por congestión intestinal causada por ingestión accidental de trozos de esponja (Perry 1996). Tomando en cuenta el riesgo que representa este método de extracción para los especímenes y la negativa de los encargados de las colecciones a que los especímenes fueran sometidos a métodos que pusieran en riesgo la salud del animal, el investigador del presente trabajo diseñó este método alternativo de extracción y colecta de veneno.

2. Determinación de la concentración de proteínas totales presentes en el veneno. Se utilizó el método colorimétrico de Bradford standard (Bradford 1976). Para la obtención de la curva patrón se utilizó albúmina sérica bovina de (Sigma, Maryland, Washington) en solución madre a 5 mg/ml. A partir de esta solución madre se llevaron a cabo diluciones seriadas, obteniéndose la siguiente gama de soluciones: 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml y 0.125 mg/ml de albúmina sérica bovina. Se realizó un pool con todas las extracciones de veneno de todos los especímenes. Luego se hicieron diluciones seriadas del pool de veneno de *H. horridum charlesbogerti* en una gama de 1/8, 1/16 y 1/32.

3. Preparación de dosis para determinación de  $DL_{50}$  del veneno. Se prepararon cuatro dosis distintas del pool de veneno en proporción logarítmica (Cassarett y Doull 1975) tomando en cuenta la concentración total de proteínas presentes en el veneno determinada anteriormente por el método de Bradford, y un control negativo. Las dosis fueron de 5 $\mu\text{g}$  de proteína/100 $\mu\text{l}$ , 25 $\mu\text{g}$ /100 $\mu\text{l}$ , 125 $\mu\text{g}$ /100 $\mu\text{l}$  y 250 $\mu\text{g}$ /100 $\mu\text{l}$ . Para la dosis de 5 $\mu\text{g}$  de proteína se mezclaron 100  $\mu\text{l}$  de veneno en 400 $\mu\text{l}$  de buffer de fosfato (PBS). Para la dosis de 25 $\mu\text{g}$ /100 $\mu\text{l}$  se mezclaron 4 $\mu\text{l}$  de veneno en 396  $\mu\text{l}$  de PBS. La dosis de 125  $\mu\text{g}$ /100 $\mu\text{l}$  fue preparada mezclando 20 $\mu\text{l}$  de veneno en 380 $\mu\text{l}$  de PBS mientras que para la dosis de 250 $\mu\text{g}$ /100 $\mu\text{l}$  se mezclaron 40 $\mu\text{l}$  de veneno con 360  $\mu\text{l}$  de PBS.

4. Determinación en ratones de DL<sub>50</sub> del veneno vía subcutánea. Se utilizaron diez ratones blancos Webster con un peso medio de 27.5g. La cantidad de ratones utilizada fue de acuerdo a las recomendaciones éticas de minimizar la cantidad de animales para experimentaciones toxicológicas, realizadas por la Sociedad Internacional de Toxinología (Meier *et al.* 1986). Los ratones se agruparon en parejas de un macho y una hembra de pesos similares. Cada grupo fue sometido a una dosis distinta de veneno. Se inyectaron 100µl de la dosis correspondiente a cada ratón por vía subcutánea. Al grupo control se le inyectaron 100µl de PBS. Los ratones fueron mantenidos aislados y se les suspendió la alimentación dejándoles únicamente agua. Los efectos fueron anotándose y se grabó todo con una cámara de video para un posterior análisis. Los ratones que no murieron en un término de 24 hrs. fueron anestesiados posteriormente por medio de cloroformo y sacrificados por fractura cervical. Debido a la utilización de cloroformo no se realizó análisis histopatológico de pulmones, ya que causa hemorragias en estos órganos.

5. Análisis histopatológico del efecto del veneno en ratones. Todos los ratones fueron disectados y se preservaron el hígado, riñones, ojo izquierdo, corazón, trozo de intestino delgado y el trozo de piel circundante al área de punción. Estos fueron fijados y preservados en formalina al 10% con buffer de fosfatos. La fijación se realizó a temperatura ambiente. La piel, intestino delgado, riñones e hígados fueron observados en un estereoscopio (Leica, Kindale, N.J) y se tomaron fotografías ASA 200 de estos anotándose sus características macroscópicas comparándolas con los órganos de los ratones control. Para el análisis histológico, el riñón se cortó de forma longitudinal y del hígado se seccionó una porción cúbica del lóbulo izquierdo. El procedimiento de deshidratación y embebido en parafina fue el estándar para tejidos animales (Humason 1979), usando etanol como deshidratante, xileno como agente clareador y Paraplast Plus® como medio para embeber. Las secciones de tejido fueron embebidas utilizando el aparato Technicon®. Se cortaron secciones de tejido de 5µ con un micrótopo American Optical® modelo 820 serie 66298. Estas secciones de tejido fueron sometidas a tinción con hematoxilina-eosina (Humason 1979). Las placas fueron examinadas con microscopía de luz a 100, 400 y 1000x de magnificación.

6. SDS-PAGE de proteínas del veneno. Se prepararon 10 ml de gel de separación de acrilamida al 10% agregando 4.1 ml de agua desionizada, 3.3 ml de acrilamida al 30%, 2.5 ml de tris HCL 1M (pH= 8.8) y 90  $\mu$ L de persulfato de amonio (APS) al 10% . El gel de concentración (5ml) de acrilamida al 4.5% fue preparado con 2.95 ml de agua desionizada, 0.75 ml de acrilamida al 30% y 1.25 ml de tris-HCl 0.5M (pH 6.8). Luego de preparados ambos geles se agregaron 90  $\mu$ l de APS al 10% y 10  $\mu$ l de Temed al gel de separación, mientras que al gel de concentración se le agregaron 45  $\mu$ l de APS al 10% y 5  $\mu$ l de Temed. Se utilizó veneno de *H. h. charlesbogerti* en dilución 1/25 en PBS (2 $\mu$ l de veneno + 48  $\mu$ l PBS). Esta dilución se mezcló con 50  $\mu$ l de Buffer de Laemmli 2X (0.25 M Tris pH6.8; 8% dodecilsulfato de sodio (SDS); 8%  $\beta$ mercaptoetanol; 40% glicerol; 2 mg azul de bromofenol). La mezcla se calentó durante 5 minutos a 100°C. Luego se realizó una centrifugación breve. En el pozo 1 se colocaron 2 $\mu$ l de los marcadores de masa molecular (Bio-Rad, Richmond, Calif.). En los otros pozos se colocaron 2 $\mu$ l, 5 $\mu$ l y 10 $\mu$ l de la dilución de veneno. La cámara electroforética fue llenada con buffer de migración (25mM Tris; 192 mM glicina; 0.1% SDS). Se corrió el gel durante 18 minutos a 70 voltios y 50 minutos a 100 voltios. La tinción de las bandas fue realizada agregando azul de Coomasie, agitando durante 25 minutos. La decoloración se realizó con ácido acético y metanol sin agitación durante toda la noche. Luego se calcularon los Rf de las bandas del marcador molecular graficándose el logaritmo base 10 de la masa molecular del marcador contra su respectiva Rf, para calcular la masa molecular de las proteínas detectadas en el SDS-PAGE del veneno de *H. h. charlesbogerti*.

## VI. RESULTADOS

### A. Entrevistas a pobladores de Zacapa sobre avistamientos de *H. horridum charlesbogerti*

Se realizó un total de 148 entrevistas durante el lapso de diez meses (junio 2002-febrero 2003). Es interesante que la mayoría de la población (94%) conoce de la existencia de *H. horridum charlesbogerti* pero que únicamente un 12% han observado efectivamente *H. horridum charlesbogerti* en vida silvestre. Del total de personas que han observado *Heloderma*, el 88% lo hicieron cinco años atrás, siendo únicamente un 12% las personas que lo han observado hace menos de 5 años. De este 12% de personas, el 100% lo han encontrado en el área montañosa que se encuentra entre las comunidades de El Rosario, Cabañas y El Arenal, del municipio de Cabañas, Zacapa.

Los avistamientos no válidos se consideraron de tal forma debido a que informaron haber visto al Escorpión, pero la descripción del espécimen asemejaba ser más parecida a *Coleonyx* o a *Ctenosaura* (88%)

Entre lo que la gente reportó que comían estos animales se encuentran huevos de paloma, insectos, principalmente escarabajos y un fruto de un arbusto llamado Nance de Iguana. La gente local informa que es común verlo trepado en los árboles y tienen la creencia generalizada de que los árboles en los que se trepa un *Heloderma* se mueren. En la región, al *Heloderma* se le conoce como Escorpión y como Florecilla.

Un 78% de los avistamientos válidos informaron haber encontrado al animal activo, todos en las primeras horas de la mañana. El resto reportaron encontrarlos inactivos escondidos en madrigueras excavadas en la tierra, como a 1.5 metros de la entrada de la madriguera. Las personas del sitio indicaron que, generalmente estas madrigueras se encuentran debajo de una planta suculenta de la región llamada Piña de Coche, nombre con el que se le conoce en el área a la *Hechtia guatemalensis*.

## B. Especímenes presentes Guatemala

En el país se poseen 19 especímenes de *H. horridum charlesbogerti* en cautiverio. Como se observa en el cuadro 1, de estos 19 especímenes, 8 son hembras positivas y 2 son machos positivos. Las hembras positivas se consideran como tal debido a que ovopositaron en cautiverio. Los machos positivos se consideran así debido a que no han ovopositado en cautiverio y a la observación de comportamiento de combate ritual, el cual se da únicamente entre machos en la familia Helodermatidae (Ramírez y Guichard 1989) y a la observación de cópula con hembras positivas. Además el análisis de los huevos de estas hembras positivas muestran que si estaban fecundados. Los posibles machos se consideran así debido a la observación de comportamiento de combate ritual (en el caso de los pertenecientes a colecciones particulares) y a la ausencia de ovoposición. Las posibles hembras son juveniles que no han ovopositado pero que no han presentado comportamiento de combate ritual. En el cuadro 1 se indican también las instituciones o entidades en las cuales se encuentran los especímenes mantenidos en cautiverio.

**Cuadro 1. Entidades que poseen especímenes de *H. horridum charlesbogerti* en cautiverio en Guatemala.**

Entidad donde se encuentra el animal	Número de especímenes	Sexos de especímenes
Zoológico Nacional La Aurora	2	1 hembra positiva y 1 posible hembra
Museo de Historia Natural Jorge Ibarra	7	2 hembras positiva, 3 posibles hembras y 2 posibles machos.
Museo de Historia Natural USAC	2	1 hembra positiva y 1 macho
Auto safari Chapín	3	2 hembras positivas y 1 macho
Facultad de Veterinaria-USAC	2	Indeterminados
Herpetario de Petén	1	1 hembra positiva
Colecciones particulares	2	2 hembras positivas.
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>8 hembras positivas, 2 machos positivos, 3 posibles hembras, 3 posibles machos y 2 indeterminados.</b>

En el apéndice 3, se muestran las entidades que poseen especímenes preservados de *H. horridum charlesbogerti*. Es importante mencionar que en el país se cuenta únicamente con un espécimen preservado con sus datos de colecta y es el que se

encuentra en la Universidad del Valle de Guatemala. En el Museo de Historia Natural de la USAC existen aparentemente tres especímenes adultos conservados en líquido pero se desconoce su ubicación actual. Se encontró un neonato de *H. horridum charlesbogerti* en uno de los frascos de desecho del museo pero carece de datos de colecta. Además el Museo de Historia Natural de la USAC cuenta con tres especímenes disecados de esta especie. Los otros especímenes preservados se encuentran en la Universidad de Texas en Arlington y en la Universidad de Costa Rica.

En el apéndice 4 se muestran las fotografías de 11 especímenes que se encuentran en el país. Se observó que cada espécimen posee un patrón único en sus manchas dorsales, lo cual podría ser utilizado para el monitoreo de las poblaciones de éste en el campo. Uno de ellos se encuentra preservado, mientras que los otros diez corresponden a especímenes mantenidos en cautiverio. Cada espécimen está identificado con un código de manera HHC-No. correlativo de identificación.

### **C. Creencias populares asociadas a *H. horridum charlesbogerti* en el área de estudio**

Existen diversidad de creencias asociadas a la naturaleza venenosa de *H. horridum charlesbogerti*. Una de ellas es que éste expulsa leche a través de la piel, especialmente de las manchas amarillas del dorso. También se indicó que estos especímenes sí se colocan debajo de un árbol o sí se cuelgan en un árbol, secan el árbol. Otra creencia generalizada es que cuando hay truenos y relámpagos, el sitio donde cae un rayo es un sitio donde se encuentra el *Heloderma* ya que éste atrae la electricidad atmosférica. Se indicó también que la exhalación de este animal produce mareos al ser inhalada. Esto fue corroborado por el autor de este estudio, como se indica posteriormente en el presente trabajo (ver página 31). También se cree que inyecta su veneno con la cola, de allí el nombre vernáculo de Escorpión. Fue interesante el observar que este animal es más temido por los pobladores que la serpiente de cascabel *Crotalus durissus*.

#### **D. Amenazas que sufren las poblaciones de *H. horridum charlesbogerti***

Las principales amenazas que se identificaron fueron la destrucción de hábitat, mucho del cual está siendo talado para establecer cultivos de subsistencia (maíz) y para generar pasto para ganadería. Asimismo se calculó que aproximadamente 35 especímenes de *H. horridum charlesbogerti* fueron vendidos durante los primeros años de los 90's para ser llevados al extranjero. Su paradero actual es desconocido. Esta demanda generó una presión extra para la subespecie ya que cada animal era cotizado en Guatemala a un promedio de Q450.00, lo que generó colectas intensivas por parte de los pobladores del área. También una gran cantidad de especímenes eran exterminados sistemáticamente debido a tener la fama de ser extremadamente venenosos y mortales.

Durante los primeros viajes al área de estudio, todavía se comercializaba ilícitamente el Escorpión. Actualmente las comunidades están jugando un papel importante en la conservación de esta subespecie pues se ha detenido su colecta con fines lucrativos y las personas están concientes del poco peligro que representa este animal y de lo importante que es su conservación.

Actualmente la municipalidad de Cabañas, Zacapa, ha iniciado procesos de declaratoria de dos reservas municipales de bosque seco y monte espinoso, con el fin añadido de proteger al Escorpión. Actualmente se encuentran en proceso de declaratoria las primeras áreas protegidas de bosque seco y monte espinoso en Guatemala (zona de vida no representada en el Sistema Guatemalteco de Áreas Protegidas SIGAP). Una lleva por nombre "Parque regional-municipal *El niño dormido*" y la otra está trabajándose a cargo de la organización Zootropic, encontrándose en proceso de establecimiento y declaratoria, la primera reserva natural privada para la protección de *H. horridum charlesbogerti*. Zootropic y Defensores de la Naturaleza están trabajando actualmente en la declaratoria de diferentes áreas privadas y municipales en los municipios de Cabañas y Huité, en Zacapa, así como El Jicaro y El Rancho, en El Progreso.

### E. Descripción del hábitat de *H. horridum charlesbogerti*

El tipo de hábitat del *Heloderma* según puntos de colecta actual e histórica comprende terrenos entre 300-950 m SNM. El bosque dominante es una asociación vegetal consistente de Roble (*Bucida macrostachya*), Manzanote (*Pereskia autumnalis*), Flor blanca (*Moringa oleifera*), Quebracho (*Licania hypoleuca*) y el cactus cabeza de viejo (*Cephalocereus maxonii*). Se encuentran también algunos Palo de Jiote (*Bursera simarouba*). La altitud del dosel es de aproximadamente 20-25 metros. El suelo está siempre cubierto de hojarasca y una gramínea pequeña. El estrato de sotobosque es ralo, con preponderancia de una bromeliácea terrestre denominada piña de coche (*Hechtia guatemalensis*), Subin (*Acacia spadicigera*) y del arbusto puya (*Jacquinia aurantiaca*). Aparenta ser una asociación vegetal dentro de la zona de vida de tipo Bosque Muy Seco Tropical. El terreno es sumamente quebrado (45°-60° de pendiente) y posee una buena disponibilidad de cavidades para refugio y una relativa alta densidad de nidos de *Zenaida asiática* (Paloma collaraja) y *Aratinga canicularis* (Chocoyos) (posible alimento de *Heloderma*). El estrato epífita es abundante siendo principalmente *Tillandsia xerografica* y orquídeas no identificadas (Ver apéndice 7). El tipo de suelo es muy arenoso con rocas graníticas en los picos. Este tipo de bosque se encuentra principalmente sobre las laderas sur de los cerros del área, las cuales son las laderas que reciben la mayor cantidad de precipitación pluvial durante el año (observación personal).

Mucho del terreno donde históricamente se ha reportado *Heloderma*, ha sufrido un cambio en el uso de suelo. Se han comenzado a talar las faldas de los cerros que anteriormente poseían el bosque descrito en este trabajo, el cual es el hábitat del *H. horridum charlesbogerti*. Estos sirven como "trabajaderos", es decir áreas de cultivo. Se siembra maíz y maicillo principalmente. Pobladores del sitio nos indicaron que los cultivos se han extendido y se ha comenzado a talar el bosque ubicado en las laderas de los cerros, así como la ladera sur del cerro Las Joyas.

## F. Distribución de *H. horridum charlesbogerti* en el municipio de Cabañas, Zacapa, Guatemala

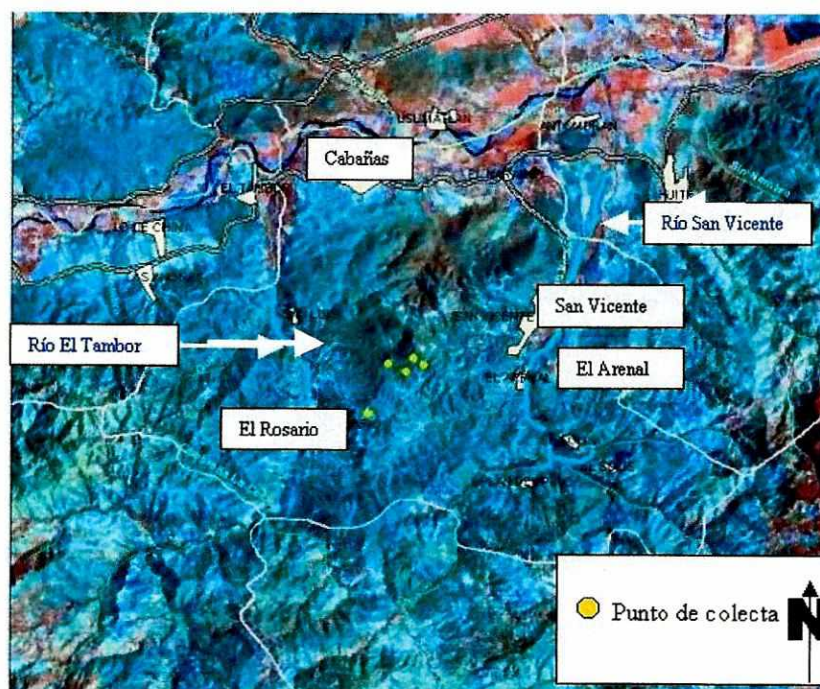
La fase de campo cubrió desde mediados de julio 2002 hasta mediados de julio 2003. De la fase de campo se realizaron en total 85 transectos de búsqueda intensiva y 87 caminatas VES de alta intensidad. Por cada día de muestreo se realizaron generalmente dos caminatas VES y dos transectos. Por cada Transecto el área de muestreo efectivo era de 100 m<sup>2</sup> y por cada caminata VES era de 2000 m<sup>2</sup>. El área de muestreo efectivo (caminatas VES y transectos) fue de aproximadamente 182500 m<sup>2</sup> (18.25 ha) y el esfuerzo de muestreo total para las caminatas VES de alta intensidad fue de 435 horas / hombre.

Se encontraron cinco especímenes de *H. horridum charlesbogerti* durante la realización del estudio. No se produjo ninguna recaptura durante el muestreo, por lo que no se pudo realizar estimado de población. De acuerdo al área muestreada y a la cantidad de individuos encontrados, la densidad poblacional mínima de *H. horridum charlesbogerti* para el área de estudio es de 0.27 individuos / ha (1 individuo/3.65 ha), lo cual es una densidad muy baja. El índice de captura para la subespecie con la metodología empleada en este estudio fue de 1 individuo/87 horas / hombre. El cuadro 2 muestra las coordenadas UTM y nombre de los sitios de colecta, así como sus parámetros morfométricos.

**Cuadro 2.** Especímenes de *H. horridum charlesbogerti* encontrados en el municipio de Cabañas, Zacapa, entre junio 2002 y julio 2003.

No. ID	Fecha	Sitio	Altura m SNM	Hora	Sexo (M/H)	Comportamiento
001	11/VII/2002	Los Paiz	661	10:45	M	Activo, caminando
002	30/VI/2003	Quebrada Canoitas	656	10:25	H	Tomando agua en pozo.
003	3/VII/2003	Cerro Las Joyas	602	17:38	H	Inactivo, dentro de cueva de 1.65 m de profundidad.
004	15/VII/2003	El Pashtal	680	9:10	H	Activo, sobre <i>Acacia</i> a 2m del suelo
005	22/VII/2003	Las Joyas	709	10:50	H	Activo, caminando

Todos estos especímenes (cuadro 2) fueron encontrados en bosques correspondientes a la asociación vegetal descrita en las páginas 26 y 27 del presente trabajo. La ubicación espacial de estos puntos de colecta se muestra en la figura 4. Para consultar las coordenadas exactas de donde se encontraron los especímenes puede contactarse vía electrónica a: [arianoherp@intelnett.com](mailto:arianoherp@intelnett.com).



**Figura 4.** Puntos de colecta de *Heloderma horridum charlesbogerti* en el municipio de Cabañas, Zacapa, en el período junio 2002-julio 2003.

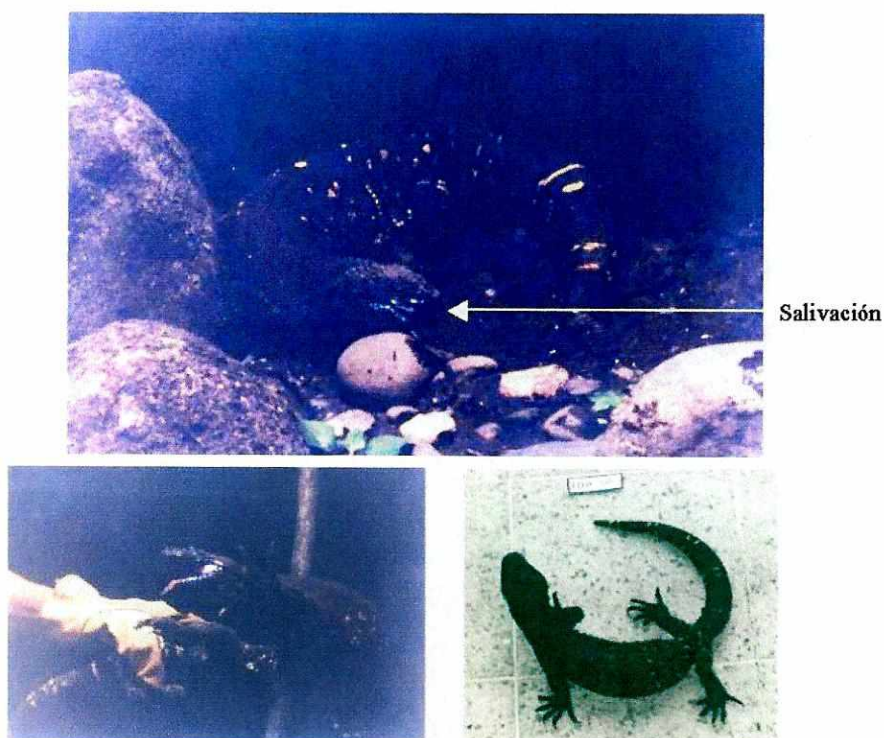
#### **G. Distribución histórica y actual de *H. horridum charlesbogerti* en el departamento de Zacapa, Guatemala**

Basándose en las entrevistas realizadas a la población del área, puntos reportados de colecta en el trabajo de Campbell y Vannini (1988) y áreas de colecta de los especímenes preservados y de los especímenes mantenidos en cautiverio en el país, se ha observado una drástica reducción en la distribución de *H. horridum charlesbogerti* durante los últimos cinco años (Figura 5).



## H. Observaciones acerca del comportamiento de los especímenes de *H. horridum charlesbogerti*

Se observó que *H. horridum charlesbogerti* cuando se siente amenazado adopta una postura curva, de lado al oponente, levantando la cabeza y la parte anterior de su cuerpo, de forma similar al comportamiento de defensa observado en otras especies de saurios como *Corytophanes* spp. Seguidamente, el animal comienza a expeler fuertemente el aire a través de su boca y fosas nasales, efectuando arremetidas con su cuerpo en la dirección del oponente. Al mismo tiempo, el animal comienza a salivar profusamente por la boca. Esta saliva (posiblemente conteniendo ya secreciones venenosas), posee un fuerte olor agridulce. Se observó que esta secreción bucal es transparente, pero al caer sobre los guantes de cuero, cambió a un color violeta azulado semitransparente. La figura 6 muestra fotografías de la posición de defensa y de la salivación producida cuando el animal es irritado.

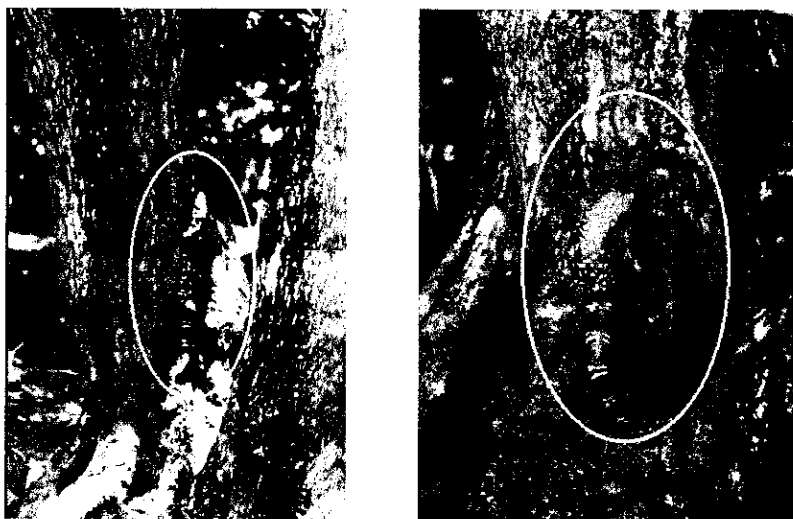


**Figura 6.** Posturas defensivas de *H. horridum charlesbogerti*

Aparentemente el olor de la secreción de los machos es menos fuerte que la secreción de las hembras, la cual tiene un olor intenso. El autor de este trabajo

corroboró la sensación de mareo descrita por los pobladores del área donde habita el Escorpión, al estar expuesto por mucho tiempo a este olor. Esta secreción salival al parecer es muy volátil.

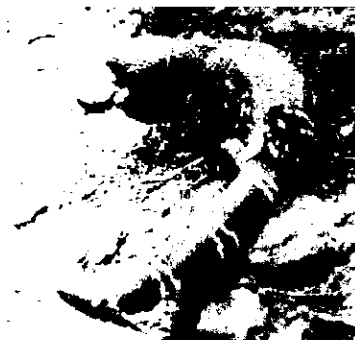
Cuando especímenes de *H. horridum charlesbogerti* se liberaron en espacios abiertos buscaban inmediatamente un agujero donde esconderse o un árbol en que subirse (HHC-01, HHC-02, HHC-05, HHC-06 y HHC-10), siendo común que estos treparan inmediatamente en el árbol más cercano con gran agilidad. Asimismo cabe recalcar que el espécimen No. 004 fue encontrado sobre un arbusto de *Acacia spadicigera* a aproximadamente 2 m del suelo. (cuadro 2). En la figura 7 se muestra a un espécimen de *H. horridum charlesbogerti* (HHC-10) subido en el tronco de un roble *Bucida macrostachya*, árbol dominante en el hábitat típico de esta subespecie.



**Figura 7.** *H. horridum charlesbogerti* trepado en tronco de *Bucida macrostachya*

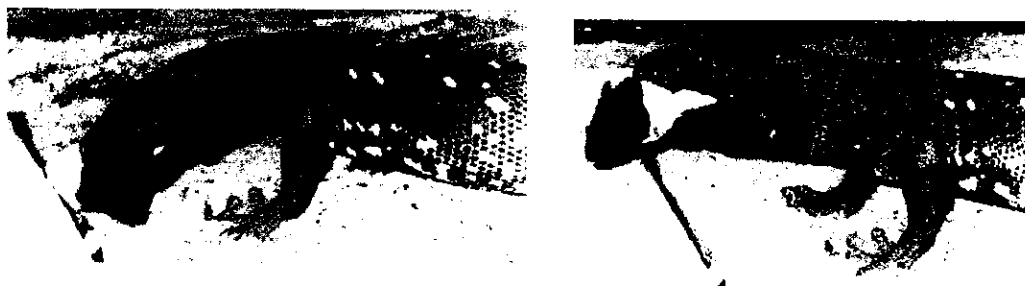
A dos especímenes en cautiverio (HHC-02 y HHC-10), se les estuvo ofreciendo diferentes clases de alimento: huevos de gallina, codorniz y de perica australiana colocados en el suelo y tomados directamente del nido. Ante éstos siguieron el siguiente patrón de comportamiento: Comenzaron a examinar continuamente los huevos con su lengua, para luego dar vuelta en círculo examinando los alrededores. Luego se dirigieron a los huevos y comenzaron movimientos excavatorios con sus patas anteriores. Los animales se mostraban excitados y sus movimientos eran rápidos y fuertes. En el caso de los huevos de gallina, los especímenes procedieron a morder lateralmente los huevos (figura 8), produciéndoles un agujero pequeño y

sorbieron el contenido con ayuda de la lengua. Luego procedían a romper completamente el cascarón, mordiéndolo y lamiendo los restos del contenido que quedaba adherido a la cáscara. En el caso de huevos de codorniz y de perica australiana se observó que los tragaban enteros.



**Figura 8.** *H. horridum charlesbogerti* procediendo a comerse un huevo de gallina

A tres especímenes (uno recién capturado y HHC-02 Y HHC-10) se les ofrecieron ratones vivos. Se observó que los perseguían activamente y que al alcanzarlo lo muerde fuertemente y lo sacude, luego lo engulle entero (figura 9). En estos casos, se observa salivación pero no tan intensa como en las posturas defensivas.



**Figura 9.** *H. horridum charlesbogerti* cazando y engullendo un ratón. Fotografía: O. Cezeña

Un espécimen recién capturado en campo (No. 003), regurgitó un pichón de un pájaro probablemente *Zenaida asiática* y bastantes semillas del arbusto Subin, *Acacia spadicijera*.

El espécimen (No. 005) defecó luego de ser capturado recientemente en campo. Al analizar la excreta se encontraron dos cascarones de huevos de reptil, probablemente de Iguana de roca, *Ctenosaura*. Asimismo se encontraron gran cantidad de restos de insectos, dentro de estos restos de dos especies no determinadas de escarabajos

copronecrofágos (scarabeidae) y varios restos de especímenes de escarabajos tenebrionidae, restos de un ortóptero, restos de aproximadamente 4 especímenes de una cucaracha (blatidae) bastante común en el área, la cual se ha observado con abundancia debajo de la hojarasca y entre las *Hechtia guatemalensis* del tipo de bosque en que se ha encontrado *H. horridum charlesbogerti*. También se encontraron diversos restos vegetales (ramitas), restos de una semilla no identificada y piedras pequeñas. Se observó que al ofrecerle tenebrios al espécimen HHC-10 este los comió con avidez.

En cuanto a comportamiento agonístico se observó a dos especímenes hembras peleando por espacio en una madriguera en cautiverio. Este comportamiento consistía de topes con la cabeza hacia la región abdominal del adversario, siempre en la posición arqueada observada en la figura 6. Luego de estos topes, los especímenes intentaban introducir la cabeza debajo de su oponente y levantarla, como para voltear o alejar al contrincante. Este comportamiento se observó durante aproximadamente 20 minutos, luego de eso los especímenes se tranquilizaron y compartieron la madriguera.

De acuerdo a los datos de colectas recabados durante las entrevistas, observaciones en cautiverio y épocas de colecta en campo durante el presente estudio, se presume que *H. horridum charlesbogerti* realiza un período de estivación que abarca desde noviembre hasta el mes de mayo (siete meses de estivación). Los especímenes HHC-13 y HHC-14 de la Facultad de Veterinaria de la USAC se ocultaron en una cueva que ellos mismos cavaron a principios de noviembre y no salieron hasta finales de mayo. Este patrón de estivación se ha observado dos años consecutivos. En el caso de HHC-10 mantenido en cautiverio, se ocultó en su cueva a mediados de noviembre. Comenzó a salir esporádicamente hasta finales del mes de abril, reiniciando su actividad normal a mediados de mayo. Nunca se ha reportado haber colectado o encontrado un *H. horridum charlesbogerti* entre estos meses. Ninguno de los especímenes monitoreados se alimentaron durante este período de estivación.

También es importante resaltar que todos los especímenes mantenidos tanto en colecciones vivas como preservadas en el país y en el extranjero fueron colectados

entre los meses de junio hasta octubre. Los especímenes colectados entre junio y agosto presentaron colas muy delgadas, mientras que los especímenes colectados entre septiembre y octubre presentaron colas gruesas al momento de su colecta.

Un 70% de las capturas documentadas hasta la fecha de esta subespecie han ocurrido a media mañana (9:00-11:00 hrs), mientras que un 30% ocurrió en las últimas horas de la tarde y primeras de la noche (16:00-20:00hrs). De los cinco especímenes encontrados durante el estudio, cuatro fueron encontrados a media mañana y uno fue encontrado en la tarde. Los especímenes monitoreados en cautiverio y en vida silvestre han mostrado actividad diurna, principalmente entre 9:00-11:30 y entre 15:00-20:00hrs. Estos datos sugieren que *H. horridum charlesbogerti* es de hábitos diurnos, presentando dos picos principales de actividad, entre 9:00-11:00 hrs y entre 15:00-20:00 hrs. En un espécimen monitoreado en cautiverio (HHC-10), se observó que de mediados de mayo a principios de junio su actividad era primordialmente nocturna, entre 20:00-22:00 hrs., principalmente luego de las lluvias. A mediados de junio su actividad pasó a ser la indicada anteriormente, siendo principalmente diurna.

#### **I. Manejo en cautiverio de *H. horridum charlesbogerti***

La mayoría de los recintos donde se mantienen los especímenes de *H. horridum charlesbogerti* en el país no cumplen con las condiciones espaciales vitales para los animales. Todos los recintos carecen de madrigueras para ocultarse, a excepción del recinto del Museo de Historia Natural de la USAC. Luego de las recomendaciones generadas por la investigación de campo, dadas a los encargados de las colecciones a las que pertenecen los especímenes, se mejoraron diversos aspectos del manejo a que son sometidos estos animales. Cabe resaltar que el cambio más notorio fue en el Zoológico Nacional la Aurora, donde los especímenes inicialmente ocupaban un recinto de 1\* 0.6\*0.6 m carente de refugio y troncos, y fueron trasladados a un recinto de 2.5\*2\*2 m con poza de agua, refugio y enramado para la actividad trepadora de estos animales.

Lamentablemente las recomendaciones realizadas para el Autosafarí Chapín no han sido puestas en práctica, debido principalmente a razones presupuestarias. Los recintos de estos especímenes se encuentran al aire libre, con excesiva humedad y

están infestados de hormigas. El alto nivel de humedad ha causado infecciones fúngicas en los especímenes de dicha entidad. Tanto así que dos especímenes murieron entre noviembre 2002 y marzo 2003. En cuanto a régimen alimenticio la mayoría de los encargados brindaron una dieta a base de ratones y huevos sin cáscara a los especímenes. Esta dieta se les da cada 15 días.

Únicamente los especímenes del Auto Safari Chapín eran alimentados exclusivamente con huevos sin cáscara una vez por semana. Estos especímenes presentaron sobrepeso y protuberancias (HHC-06) en las extremidades como producto de acumulación de ácido úrico. Un logro del presente trabajo fue el cambio en el régimen alimenticio de estos especímenes. El nuevo régimen se basa principalmente en ratones y huevos enteros (con cáscara) cada quince días. No existe control estricto de fotoperíodo ni temperatura en ninguno de los recintos observados.

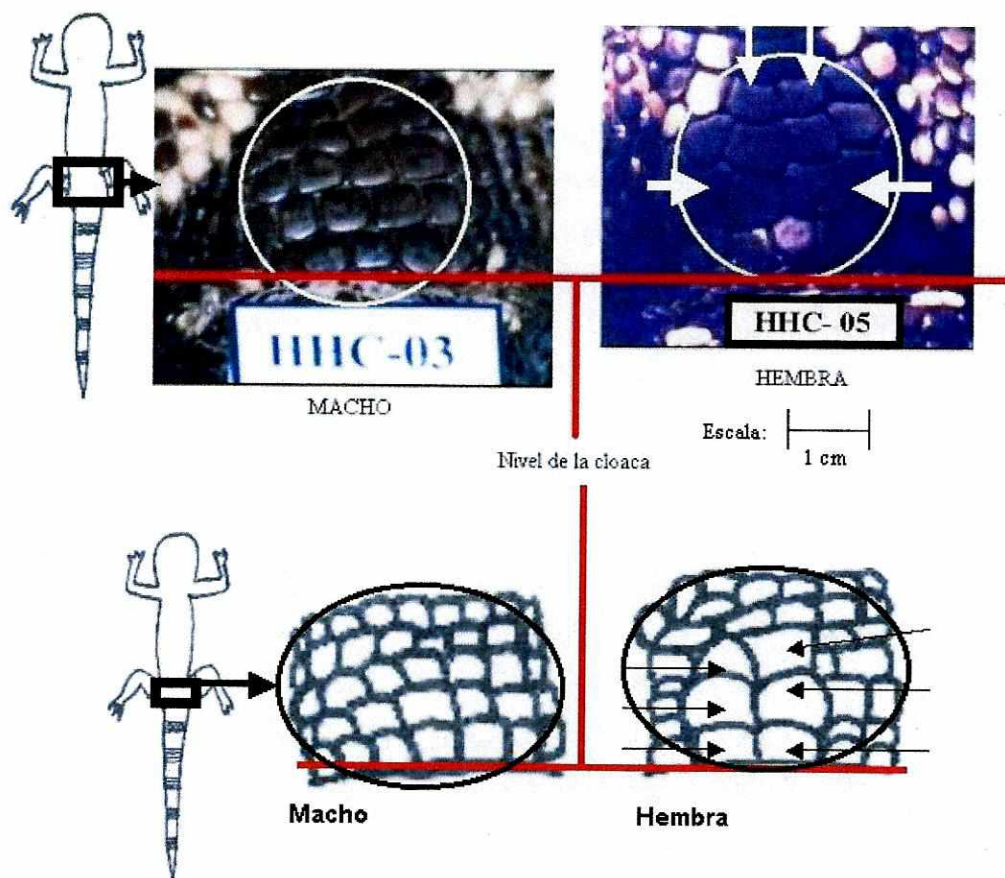
Al inicio de la tesis, los siete especímenes del Museo de Historia Natural "Jorge Ibarra" se encontraban hacinados en una pecera de 1.5\*0.5\*0.5 m. Actualmente han sido agrupados en parejas y colocados en recintos relativamente pequeños pero en mejores condiciones que en las que se encontraban al principio.

Ninguna de las instituciones que poseen *H. horridum charlesbogerti* en cautiverio en el país se encuentra realizando algún tipo de investigación con sus especímenes. Únicamente se tiene el antecedente de un proyecto de reproducción en cautiverio que se realizó en el Zoológico Nacional la Aurora el cual no tuvo éxito.

## **J. Análisis morfométricos**

Se analizaron los datos morfométricos de largo total (TL), largo naricas-cloaca (SVL), largo de cola (T), ancho de cabeza (H), distancia tímpano-naricas, diámetro de mentón, ancho y largo de cabeza, diámetro del ojo izquierdo, y se calcularon las razones H/SVL, T/SVL, diámetro de ojo/SVL, diámetro de mentón/SVL y ancho de cabeza/SVL de un total de 21 especímenes de *H. horridum charlesbogerti* (9 especímenes preservados en colecciones de museos en USA, Costa Rica y Guatemala; 12 especímenes mantenidos en cautiverio en Guatemala) (Apéndice 2). Al comparar los datos con pruebas de t independientes ( $\alpha=0.05$ ), se observó que no

existe diferencia significativa en ninguno de los caracteres morfométricos analizados ( $p > 0.05$ ) con respecto a los sexos de éste (Apéndice 5). Se observó que existe una diferencia altamente significativa en cuanto a la frecuencia de la presencia de escamas preanales agrandadas con respecto al sexo de éste ( $p = 0.0001$ ). Esto es el primer caso confirmado de dimorfismo sexual en *Heloderma horridum* ssp. Los resultados concuerdan con las observaciones realizadas por Campbell y Vannini (1988). Como se observa en la figura 10, las hembras poseen escamas preanales agrandadas en comparación con las escamas preanales de los machos.



**Figura 10.** Dimorfismo sexual en cuanto a escamas preanales en *H. horridum charlesbogerti*. Con flechas se señalan las hileras de escamas preanales agrandadas. En el esquema de cuerpo completo (vista ventral) se encuentra enmarcada en un cuadro el área mostrada en las fotografías. Encerrada en un círculo se encuentra el área de las escamas preanales y con una línea roja se indica el nivel de la cloaca.

Se observó que todas las hembras analizadas (n=13) presentaban las primeras cuatro hileras de escamas preanales con la fila central de escamas mucho más grandes que las demás (principalmente los pares de escamas centrales de la primera y segunda hilera), mientras que todos los machos analizados (n=8) presentaban escamas preanales distribuidas en 4 filas de igual tamaño (figura 10). Se observó una tendencia de los machos a tener cabezas más anchas que las hembras, aunque estadísticamente no fue significativa esta diferencia.

La identificación de este tipo de dimorfismo sexual es de gran ayuda para realizar programas de reproducción en cautiverio de la especie (es una especie endémica del Valle del Motagua sumamente amenazada) y especialmente para trabajos de campo, en los cuales la aplicación de cualquiera de los otros métodos utilizados para sexar *Heloderma* resulta sumamente difícil.

La figura 11 muestra una comparación entre las escamas preanales de 8 especímenes (4 hembras y 4 machos positivos respectivamente).



**Figura 11.** Comparación de escamas preanales entre sexos de *H. horridum charlesbogerti*. Con una línea roja se indica el nivel de la cloaca. Arriba de dicha línea se encuentran la zona de las escamas preanales y hacia abajo se extiende la cola.

El único carácter morfométrico que está completamente diferenciado entre los sexos de *H. horridum charlesbogerti* es el de la presencia o no de escamas preanales agrandadas en la hilera central ( $p < 0.005$ ). Éste fue analizado con la prueba de chi cuadrado. El otro carácter morfométrico que presentó cierta diferencia con respecto al sexo de *H. horridum charlesbogerti* es la tendencia en los machos a tener cabezas más anchas que las hembras, aunque estadísticamente no fue significativa esta diferencia.

## K. Caracterización del veneno

Con el método descrito en el presente trabajo, para extracción de veneno de *H. horridum charlesbogerti*, se extrae un promedio de 0.5 ml de veneno por cada espécimen. Esto coincide con lo reportado por Alagón *et al.* (1982). Se observó que el veneno posee un fuerte olor agridulce algo similar a amoníaco diluido, no descrito anteriormente en la literatura. Su consistencia es sumamente viscosa. La secreción bucal de las hembras presentó un olor más fuerte que la de los machos.

**1. Determinación de la concentración de proteínas totales presentes en el veneno.** Al determinar la concentración de proteínas totales por medio de Bradford, se realizó una regresión lineal a partir de la curva patrón de BSA obteniéndose la ecuación:  $y = 0.2408x + 0.0719$  ( $R^2 = 0.9949$ ). Se eliminó el valor correspondiente a 1mg/ml debido a que se salía de la tendencia. Con esto se determinó que el veneno analizado poseía una concentración de proteínas totales de aproximadamente 23 mg/ml. Este valor difiere de lo reportado por Alagón *et al.* (1982) para *H. horridum horridum* y *Heloderma h. alvarezii* el cual es de 80mg/ml.

**2. Proteínas detectadas en el veneno.** Se detectaron 12 bandas al realizar la SDS-PAGE con tinción en azul de Coomassie del veneno. Como se puede observar en el cuadro 3, de estas 12 bandas, 5 bandas (banda 2, 4, 5, 6, 11 y 12) mostraron masas moleculares similares a la hialurodinasa, factor de secreción pancreático PSF, gilatoxina, hemorragina, helotermina, helodermina y exendin-3, respectivamente.

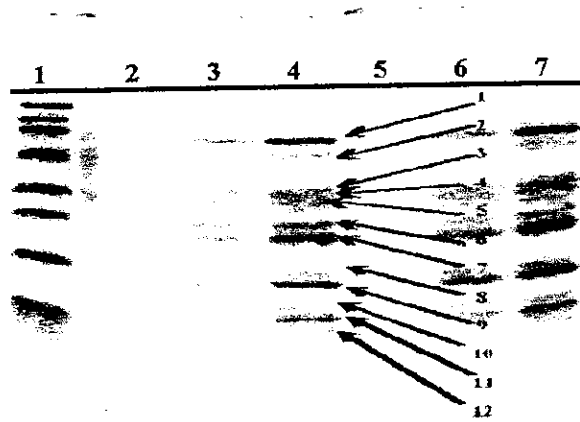
**Cuadro 3.** Masas moleculares de las proteínas detectadas en el veneno de *H. h. charlesbogerti* por medio de SDS-PAGE con tinción en azul de Coomassie.

No. de Banda	Masa molecular (Daltons)	Proteína a la cual es similar <sup>a</sup>
1	78,158	*
2	63,961	Hialurodinasa (63,000 Da)
3	39,791	*
4	34,895	Gilatoxina (35,000 Da)
5	30,448	Hemorragina (31,000 Da)
6	23,299	Helotermina (24,200 Da)
7	17,828	PSF (17,500 Da)
8	12,711	*
9	9,677	*
10	7,405	*
11	6,051	Helodermina (5,900 Da)
12	4,000	<b>Exendin-3</b> (4,200 Da)

a= entre paréntesis se incluye su masa molecular en daltons.

\*= No reportada.

En la figura 12 se observan estas bandas. El pozo 1 corresponde a los marcadores moleculares, mientras que los pozos 2-7 corresponden al veneno de *H. horridum charlesbogerti*. Los pozos 4 y 7 corresponden a 10  $\mu$ l de veneno diluido 1/25, siendo éstos en los que se observa una mayor intensidad en la tinción de las bandas.



**Figura 12.** SDS-PAGE de veneno de *H. horridum charlesbogerti*.

No se observaron diferencias en el patrón electroforético de las proteínas del veneno de *H. horridum charlesbogerti* con respecto al reportado por Alagón *et al.* (1982) para *H horridum horridum* y *H horridum alvarezii*.

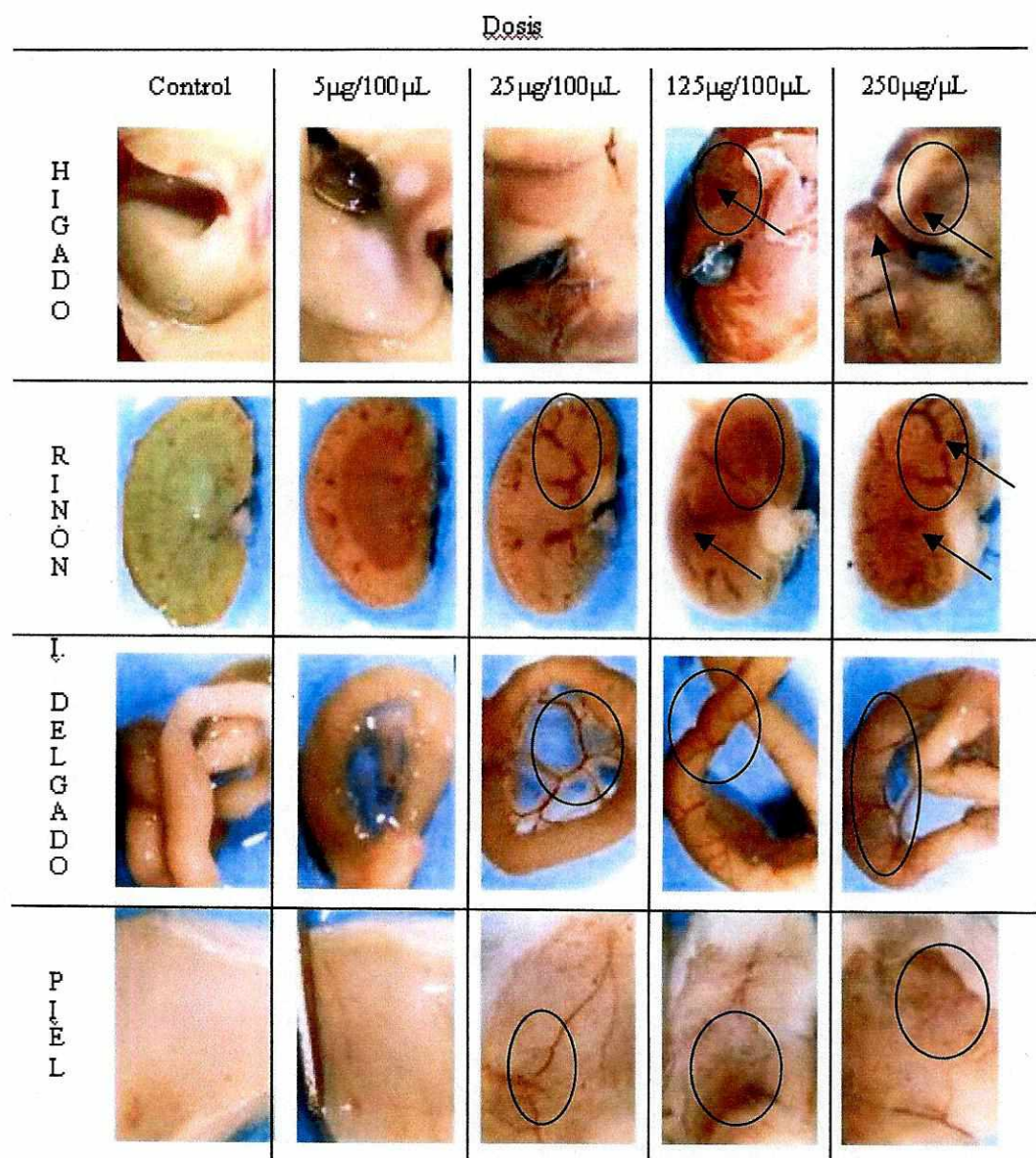
**3. Análisis microbiológico de secreción bucal de *H. horridum charlesbogerti*.** Se realizó un análisis microbiológico rápido de la secreción bucal. Se identificaron dos de las colonias aisladas de enterobacterias de la secreción bucal. Las colonias identificadas corresponden a los géneros *Pseudomonas* y

*Aeromonas*. Se determinó que la colonia de *Pseudomonas* correspondía a la especie *P. cepacia*. La patología de las infecciones con estos tipos de bacterias no posee similitud alguna con el cuadro sintomatológico observado en el envenenamiento de los ratones.

4. **Efectos *in vivo* y DL<sub>50</sub> del veneno.** Al inyectar a los ratones se observó que éstos procedían a lamerse el área inyectada y se mostraban hiperactivos al inicio. Posteriormente entraron en un estado de letargo. Los machos sufrieron efectos más inmediatos que las hembras. En el grupo de 5µg/100µl, la aparición de espasmos musculares ocurrió aproximadamente a los 10 minutos de haber sido inyectados. Los otros grupos presentaron espasmos a los 8 minutos (25µg/100µl), 5 min (125µg/100µl) y 2 min (250µg/µl) observándose que el tiempo de aparición de los espasmos era inversamente proporcional a la dosis. Los controles no sufrieron ningún efecto. El grupo de 5µg/100µl, al principio inactivo, fue mejorando su estado físico con el transcurso del tiempo. Otros efectos observados fueron problemas de coordinación y parálisis de extremidades posteriores (grupos de dosis de 25µg/100µl o mayores) y exoftalmía (hembra del grupo de 25µg/100µl y los grupos de dosis mayores) lo cual coincide con la literatura (Mebs 1972). Se observaron signos de hipotermia y de cianosis en todos los ratones envenenados. El tiempo mínimo de muerte fue de 37 min (hembra grupo de 125 µg/100µl). Todos los ratones de las dosis de 125µg/100µl y de 250µg/100µl murieron antes de 24 horas, siendo el tiempo máximo de muerte de 204 min. Un ataque de espasmos precedía a la muerte lo cual coincide con reportes anteriores (Mebs y Raudonat 1966). También se observó que los ratones intentaban respirar, lo cual puede indicar muerte por paro respiratorio. Del grupo de 25µg/100µl únicamente murió la hembra, por lo que la DL<sub>50</sub> se calculó a partir de esta dosis y del peso de los ratones de este grupo. Se obtuvo una DL<sub>50</sub> de entre 0.9 mg de veneno/kg ratón y 1.02 mg/kg, siendo en promedio una DL<sub>50</sub> de 1 mg/kg lo cual indica una mayor toxicidad del veneno de *H. horridum charlesbogerti* con respecto a lo reportado para *H. horridum horridum* (Mebs y Raudonat 1966).

5. **Efectos sistémicos del veneno.** Se observaron hemorragias severas en riñones, hígado, intestinos y piel circundante del área de punción (figura 13). Las hemorragias renales se observaron desde la dosis de 5µg. El apareamiento de

necrosis tubular ocurrió en la dosis de 125  $\mu\text{g}$ , mostrándose una necrosis total del riñón en la dosis de 250  $\mu\text{g}$ , no pudiéndose diferenciar entre zona cortical y medular de éste. En cuanto al hígado las hemorragias aparecieron desde la dosis de 5  $\mu\text{g}$ , pero se hicieron generalizadas hasta la dosis de 125  $\mu\text{g}$ .



**Figura 13.** Efectos patológicos macroscópicos en hígado (mostrando vesícula biliar), riñón, intestino delgado y piel de ratones sometidos a distintas dosis de veneno de *H. horridum charlesbogerti*. Circuladas se encuentran las zonas con hemorragias intensas y señaladas con flechas las zonas necróticas.

Fue notorio el aparecimiento de zonas necróticas en el lóbulo medio del hígado, justo arriba de la vesícula biliar, existiendo extensas áreas necróticas en la dosis de 250  $\mu\text{g}$ . Los intestinos y la piel siguieron los mismos patrones de aumento en la intensidad y área hemorrágica, proporcionalmente con la dosis aplicada de veneno.

#### **6. Histopatología renal y hepática del envenenamiento por *H. horridum***

***charlesbogerti* en ratones.** Fue notorio el aparecimiento de eritrocitos dentro de la zona cortical de los riñones, en las dosis correspondientes a 5 $\mu\text{g}$  y 25 $\mu\text{g}$ . En las dosis de 125 $\mu\text{g}$  y 250 $\mu\text{g}$  se observaron abundantes eritrocitos en la región medular del riñón. Esto es indicativo de hemorragias severas. El aparecimiento de necrosis tubular y glomerular ocurrió en la dosis de 125  $\mu\text{g}$ , mostrándose una necrosis generalizada del riñón en la dosis de 250 $\mu\text{g}$ , no pudiéndose diferenciar entre zona cortical y medular de éste. En general se observó un patrón de aumento en la intensidad y área hemorrágica, proporcionalmente con la dosis aplicada de veneno.

Al momento de realizar los cortes histológicos de los riñones fue notoria la friabilidad del tejido, sobretodo en los riñones de los ratones sometidos a dosis de veneno mayores a 25 $\mu\text{g}$ . El tejido se mostraba resquebrajado y poco consistente al momento de realizar los cortes. Esto no ocurrió con el control ni en los tratamientos de 5 $\mu\text{g}$  y 25 $\mu\text{g}$ . Esto puede indicar necrosis del tejido.

Las lesiones tubulares renales, hemorragias renales y necrosis renal, coinciden con observaciones previas (Mebis 1972).

En cuanto a los cortes histológicos de hígado, las hemorragias aparecieron desde la dosis de 5 $\mu\text{g}$ , pero se hicieron generalizadas hasta la dosis de 125  $\mu\text{g}$ . También se observaron eritrocitos dentro de varias lagunas hepáticas, siendo más frecuente su aparecimiento en las dosis de 125 $\mu\text{g}$  y 250 $\mu\text{g}$  de veneno. Estos eritrocitos indican hemorragias severas por ruptura de la capa basal de los capilares y lisis del endotelio vascular hepático.

Asimismo, se observó que los hepatocitos en los hígados de ratones sometidos a dosis de veneno superiores a 25 $\mu\text{g}$  mostraron disminución en sus zonas basófilas, lo

que puede indicar una disminución en su volumen citoplásmico. Esta disminución puede estar asociada con una disminución en el glucógeno almacenado. Fue notorio el apareamiento de zonas necróticas en los lobulillos del hígado, justo arriba de la vesícula biliar, existiendo extensas áreas necróticas en la dosis de 250  $\mu\text{g}$ .

## VII. DISCUSIÓN

Es preocupante la gran cantidad de especímenes de *H. horridum charlesbogerti* que se encuentran en cautiverio, en condiciones no óptimas y con los cuales no se está realizando ningún proyecto de investigación. Se necesita fomentar la cooperación entre las instituciones propietarias de estos animales para un mejor manejo en cautiverio de estos animales, desarrollar programas de reproducción *ex situ* y desarrollar investigación con estos especímenes.

### A. Comportamiento

Los datos de colecta hasta la fecha y observaciones en cautiverio del comportamiento de *H. horridum charlesbogerti* sustentan la hipótesis de que estos animales tienen un período de estivación de aproximadamente siete meses, entre noviembre y mayo. Tomando en cuenta que todos los especímenes capturados durante los primeros meses de actividad de la subespecie (junio-agosto) presentan colas delgadas y que los especímenes capturados durante los últimos meses (octubre y noviembre) presentan colas gruesas, se puede inferir que estos animales efectivamente realizan este período de estivación. Es sabido que los miembros de la familia Helodermatidae almacenan energía en forma de grasa en la cola y cuerpo (Álvarez del Toro 1982). Es probable que durante el período anual de actividad (mediados de mayo-principios de noviembre) estos animales se dediquen a comer para almacenar grasas en su cola y así soportar el largo período de estivación (finales de noviembre-principios de mayo) sin salir de su cueva. Eso explicaría por qué los especímenes colectados entre mayo-agosto presentan colas delgadas, debido a que agotaron la mayoría de su reserva energética de dicha región corporal durante el período de estivación.

En cuanto a los hábitos alimenticios, es interesante el haber encontrado gran cantidad de restos de insectos en las heces de un *Heloderma* recién capturado. Bogert y Martín del Campo (1956) encontraron restos de insectos en las heces de varios especímenes de *Heloderma horridum* pero indicaban que probablemente se debían a ingestiones accidentales. La abundancia de Scarabeidae, Tenebrionidae y Blattidae en estas heces parece indicar que este animal se alimenta, además de huevos, pichones

de ave y pequeños mamíferos, también de insectos. Es poco probable que un espécimen haya ingerido accidentalmente tantos insectos. Este comportamiento insectívoro se pudo comprobar en cautiverio con el espécimen HHC-10 el cual comió tenebrionidae al serle ofrecidos, lo que sustenta esta hipótesis. Los escarabajos copronecrófagos son relativamente abundantes en la región debido a la práctica de la ganadería. Asimismo se observó que a mediados del invierno (agosto) la población de la cucaracha encontrada en las heces de dicho *Heloderma* aumentó notoriamente, encontrándose ésta, principalmente en el tipo de bosque identificado en este estudio como el hábitat preferido por *H. horridum charlesbogerti*. Por lo tanto, los escarabajos copronecrófagos y las cucarachas constituyen una fuente alimenticia abundante y fácil de obtener durante la segunda etapa del invierno, cuando la mayoría de especies de aves del lugar ha terminado de anidar y ya no se encuentran tan disponibles pichones y huevos.

La abundancia de columbiformes con nidos ubicados a poca altura, podrían propiciar que *H. horridum charlesbogerti* consuma huevos y pichones de palomas como parte importante de su dieta. Otro punto a favor de esta hipótesis es la facilidad con que *Heloderma* trepa a los árboles (figura 7) y el hecho de que la mayoría de la gente que ha visto *Heloderma* dice haberlos visto más de alguna vez trepados en los arbustos y árboles. El comportamiento de excavación al detectar huevos en el suelo, fortalece la hipótesis de que este animal depreda nidos de otros reptiles como serpientes grandes e iguanas de roca (*Ctenosaura* sp.). Esto se corrobora con el análisis del material fecal del espécimen No. 005. Esto se relaciona también con las observaciones realizadas por Campbell y Vannini (1988), en cuanto a contenidos estomacales de *H. horridum charlesbogerti*.

## B. Dimorfismo sexual

La ausencia de diferencias morfológicas entre los sexos de *Heloderma horridum* ssp. está bien documentada (Bogert y Martín del Campo 1956). Es por esto que no sorprende que no existan diferencias significativas en los distintos aspectos morfométricos analizados entre sexos. Únicamente Campbell y Vannini (1988) mencionaron que todas sus hembras analizadas poseían escamas preanales agrandadas pero no estaban seguros si esto indicaba cierto dimorfismo sexual. Todos

los machos y hembras analizados ( $n= 19$ ) difirieron en este aspecto, confirmándose esta clase de dimorfismo sexual en *H. horridum charlesbogerti*. Campbell y Vannini (1988) mencionan también que aparentemente los machos poseían una relación cabeza/SVL menor que las hembras pero los datos analizados no muestran una diferencia significativa en este aspecto. La confirmación de dimorfismo sexual, la identificación de hábitos alimenticios, pautas de comportamiento en vida silvestre y de las requerimientos específicos de hábitat, podrían sentar las bases para un futuro proyecto de reproducción en cautiverio de la especie. El único problema que se plantea es que la mayoría de los machos mantenidos en cautiverio son mayores de 12 años, por lo que probablemente se encuentren cerca del fin de su etapa reproductiva.

### **C. Estado actual de las poblaciones de *H. horridum charlesbogerti***

La poca frecuencia de avistamientos de *H. horridum charlesbogerti* en los últimos años, aunado a la baja densidad de la población, lo restringido de su distribución y la gran cantidad de amenazas que enfrenta, ponen una nota de alarma sobre la situación actual de las poblaciones de éste en vida silvestre. Es indispensable generar una campaña de concientización a los pobladores del área acerca de la importancia de la conservación de esta especie, así como involucrarlos en las tareas de conservación. El establecimiento de las áreas protegidas municipales y privadas en el municipio de Cabañas, Zacapa, contribuirán a este fin, así como generarán empleos para los pobladores del área que tradicionalmente se dedicaban a la cacería y a la agricultura de subsistencia.

### **D. Caracterización del veneno**

El olor agridulce detectado en el veneno de *H. horridum charlesbogerti* probablemente sea una especie de almizcle defensivo para ahuyentar posibles depredadores. Es probable que sea secretado por alguna glándula accesoria y que no sea propiamente un elemento constitutivo del veneno secretado por la glándula productora de veneno.

En cuanto al cuadro sintomático de envenenamiento, los problemas de coordinación y parálisis de extremidades posteriores coinciden con los efectos reportados para la helotermia (Komori *et al.* 1988). La exoftalmía había sido descrita

anteriormente (Mebs 1972) y probablemente sea causada por la hemorragina y la gilatoxina (Komori *et al.* 1988; Utaisincharoen *et al.* 1993). Los signos de hipotermia y de cianosis observados pueden ser efectos de la helotermina y de la helodermatina, respectivamente (Alagón *et al.* 1986; Komori *et al.* 1988). Como se observa en el cuadro 3, se detectó una banda con masa molecular similar a la helotermina, lo cual puede indicar la presencia de helotermina en el veneno, causando los efectos indicados anteriormente.

Las lesiones tubulares renales, hemorragias renales, hemorragias intestinales y necrosis renal, coinciden con observaciones previas en análisis del veneno de *H. horridum horridum* (Mebs 1972). No se menciona nada acerca de la patología del hígado ni de la aparición de extensas zonas hemorrágicas en la piel, lo cual puede indicar un mayor efecto hemorrágico del veneno de *H. horridum charlesbogerti* con respecto a los venenos de las otras subespecies estudiadas. La extensa necrosis en el hígado puede ser causada por el PSF, la helodermina y el secretin-3, ya que estos tres, al estimular la producción enzimática en el páncreas e incrementar los niveles de insulina drásticamente (en el caso de un envenenamiento severo como en las dosis superiores a 25µg/kg), pueden acabar las reservas de glucógeno en el hígado. Esto aunado a las hemorragias e hipertensión, posiblemente causadas por la hemorragina y la gilatoxina (Alagón *et al.* 1986; Sosa *et al.* 1986; Utaisincharoen *et al.* 1993), pueden causar fallo hepático, conduciendo a la muerte. La necrosis observada en los riñones indica fallo renal. Además las observaciones *in vivo* de que los ratones antes de morir presentaban ataques convulsivos así como dificultades notorias para respirar (con signos de cianosis en orejas y cola), indican paro respiratorio. En resumen, la muerte de los ratones probablemente halla sido causada por fallo hepático, fallo renal y fallo respiratorio en conjunto como se ha mostrado en análisis de veneno de otras subespecies de *H. horridum*. Aparentemente el veneno de *H. horridum charlesbogerti* presenta un mayor efecto hemorrágico que el de otras subespecies.

La necrosis renal y la aparición de extensas áreas hemorrágicas pudo deberse a los efectos conjuntos de la gilatoxina, hialurodinasa y la hemorragina. La gilatoxina y la hialurodinasa poseen efectos proteolíticos (Sosa *et al.* 1986; Utaisincharoen *et al.* 1993), que degradan la capa proteica basal de los vasos capilares, con lo cual las paredes de éstos carecen de soporte y se vuelven frágiles. Al producirse hipertensión

arterial por los efectos de la hemorragina, los capilares pueden no soportar ya la presión dentro de los vasos, produciéndose extravasación de la sangre, generando hemorragias generalizadas.

En cuanto a las bacterias identificadas en la secreción bucal de *H. horridum charlesbogerti*, su patología no coincide con el cuadro sintomatológico del envenenamiento, lo cual indica que la muerte de los ratones sobrevino por efectos del veneno y no por patologías asociadas a *Pseudomonas cepacia* y *Aeromonas* sp. Aún así, estas bacterias son altamente infectivas por lo que se puede considerar que en el caso de sufrir una mordedura de *Heloderma* es importante considerar en el protocolo de tratamiento, la aplicación de antibióticos de amplio espectro, para evitar infecciones sistémicas en el organismo.

La mayor toxicidad del veneno de *H. horridum charlesbogerti* con respecto a lo reportado para *H. horridum horridum* (Mebs y Raudonat 1966) puede indicar una diferencia en la composición entre ambos venenos. El fuerte olor agridulce del veneno de *H. horridum charlesbogerti* no descrito para otros helodermátidos y el aislamiento de esta subespecie por más de 350 km de la subespecie más cercana (*H. horridum alvarezii*) (Campbell y Lamar 1989; Campbell y Vannini 1988), constituyen fundamentos muy importantes que justifican la realización de estudios sobre la composición completa del veneno de esta subespecie. Es probable que se encuentre en un proceso fuerte de especiación debido a su aislamiento geográfico, lo que puede incidir en una composición diferente de su veneno.

Es de suma importancia la aparición de una banda con una masa molecular similar al exendin-3 (ver fig. 13 y cuadro 3), ya que esto es un valor agregado más para la conservación del *H. horridum charlesbogerti*. Esta subespecie es un recurso único de los guatemaltecos y probablemente en su veneno encontremos la cura para la diabetes.

## VIII. CONCLUSIONES

- A. La distribución de *H. horridum charlesbogerti* en el departamento de Zacapa se ha reducido notoriamente durante los últimos cinco años. Actualmente se ha encontrado únicamente en las áreas montañosas del municipio de Cabañas.
- B. El tipo de hábitat de *H. horridum charlesbogerti*, según puntos de colecta actual e histórica, comprende terrenos entre 300-950 m SNM. El bosque dominante es una asociación vegetal consistente de Roble (*Bucida macrostachya*), Manzanote (*Pereskia autumnalis*), Flor blanca (*Moringa oleifera*), Quebracho (*Licania hypoleuca*) y el cactus cabeza de viejo (*Cephalocereus maxonii*). El estrato de sotobosque es ralo, con preponderancia de una bromeliácea terrestre denominada piña de coche (*Hechtia guatemalensis*) y el terreno es sumamente quebrado (45°-60° de pendiente) y arenoso.
- C. La densidad poblacional mínima de *H. horridum charlesbogerti* para el área de estudio es de 0.27 individuos / ha (1 individuo/3.65 ha). El índice de captura para la subespecie con la metodología empleada en este estudio fue de 1 individuo/87 horas / hombre.
- D. Existen 19 especímenes de *H. horridum charlesbogerti* mantenidos en cautiverio en el país.
- E. Existe diferencia significativa en la frecuencia de escamas preanales agrandadas entre sexos de *H. horridum charlesbogerti* ( $p < 0.005$ ), presentando las hembras escamas preanales agrandadas y los machos escamas preanales normales.
- F. *H. horridum charlesbogerti* es de hábitos diurnos, presentando dos picos principales de actividad, entre 9:00-11:00 hrs y entre 15:00-20:00 hrs. Asimismo realiza un período de estivación que abarca desde noviembre hasta el mes de mayo.
- G. *H. horridum charlesbogerti* se alimenta principalmente de huevos de aves y reptiles, pichones de aves, pequeños roedores e insectos. Es bastante arborícola en su comportamiento de búsqueda de alimento, trepando con gran agilidad a los árboles en busca de nidos.

- H. El comportamiento de defensa de *H. horridum charlesbogerti* consiste en curvar el cuerpo en dirección al oponente, levantando la cabeza y la parte anterior de su cuerpo. Seguidamente el animal comienza a expeler fuertemente el aire a través de su boca y fosas nasales, efectuando arremetidas con su cuerpo en la dirección del oponente, salivando profusamente por la boca.
- I. La  $DL_{50}$  en ratones por vía subcutánea del veneno de *H. horridum charlesbogerti* es de 1mg/kg. Se observaron hemorragias severas en los riñones e hígados de los ratones sometidos a dosis de veneno de *H. horridum charlesbogerti* superiores a 25µg/kg. El cuadro clínico sintomático del envenenamiento por *H. horridum charlesbogerti* en los ratones consistió de espasmos musculares, exoftalmía, cianosis, hipotermia, letargo, parálisis de extremidades posteriores.
- J. La secreción bucal de *H. horridum charlesbogerti* presenta un fuerte olor agridulce que produce mareos al estar expuesto a ella por largo tiempo. Este olor en la secreción bucal no ha sido reportado para otras subespecies de *H. horridum*.
- K. Se detectaron 12 proteínas en el veneno de *H. horridum charlesbogerti* por medio de SDS-PAGE y tinción con azul de Coomassie con intervalo de masas moleculares de entre 4 y 78 kDa. Siete de las 12 proteínas detectadas mostraron masas moleculares similares a ciertos componentes activos del veneno de otras subespecies de *Heloderma horridum*.

## IX. RECOMENDACIONES

- A. Monitorear el comportamiento en vida silvestre de *H. horridum charlesbogerti* por medio de radiotelemetría con el fin de definir bien sus patrones de movimiento y comportamiento a lo largo del año.
- B. Continuar la investigación del veneno de *H. horridum charlesbogerti*, aislando sus componentes activos para evaluar sus efectos patológicos por separado en ratones y evaluar la función del olor agridulce de la secreción bucal de éste.
- C. Realizar análisis de parentesco genético entre los especímenes de *H. horridum charlesbogerti* mantenidos en cautiverio en el país, con el fin de diseñar un plan de cruces para un programa de reproducción en cautiverio viable de esta subespecie.
- D. Elaborar normativas para que las instituciones que tienen a su cargo especímenes de esta subespecie, desarrollen programas de investigación e intercambio de éstos con fines de reproducción. Los especímenes nacidos en estos programas deben ser utilizados para reintroducirlos a su medio ambiente natural, de preferencia dentro de las reservas naturales, tanto privadas como municipales, establecidas en el municipio de Cabañas, Zacapa.
- E. Elaborar normativas para limitar la cantidad de especímenes que poseen las entidades en la ciudad capital, siempre y cuando se tengan proyectos de investigación y de reproducción con fines de liberación, así como se cuente con recintos adecuados. Es recomendable trasladar los especímenes de las entidades que no cumplan con dichos requisitos a otras entidades que sí los cumplan.
- F. Iniciar propuestas de ley a fin de que *H. horridum charlesbogerti* sea trasladado del apéndice II de CITES al apéndice I de dicho tratado, tomando en cuenta lo escaso de sus poblaciones, la acelerada destrucción de su hábitat y su alta demanda en el extranjero para colecciones particulares y de zoológicos.
- G. Desarrollar programas de educación ambiental con los pobladores de las áreas donde habita el Escorpión para desmitificar las creencias que se tienen sobre éste y se enfatice sobre la importancia de su conservación.
- H. Extender la realización de este estudio a otros departamentos como El Progreso y Chiquimula. Asimismo extender la fase de campo de este estudio en otras regiones del departamento de Zacapa.

- I. Desarrollar estrategias de protección del sistema montañoso de Cabañas, principalmente el área conocida como "El Pashtal" y "Cerro Viejo" para proteger el hábitat de *H. horridum charlesbogerti*.

## X. LITERATURA CITADA

- Alagón, A., M. Maldonado, J. Juliá, C. Sánchez y L. Posan. 1982. Venom from two sub-species of *Heloderma horridum* (Mexican Beaded Lizard): General characterization and purification of N-benzoyl-L-arginine ethyl ester hydrolase. *Toxicon* 20 (2): 463-475.
- Alagón, A., L. Possani, J. Smart, y W. Schleuning. 1986. Helodermatine, a kallikrein-like hypotensive enzyme from the venom of *Heloderma horridum horridum* (Mexican beaded lizard). *Journal of Experimental Medicine* 164: 1835-1845.
- Alvarez del Toro, M. 1982. Los reptiles de Chiapas. Instituto de Historia Natural, Tuxtla Gutierrez. México 248pp.
- Beck, D. y C. Lowe. 1991. Ecology of the beaded lizard, *Heloderma horridum*, in a tropical dry forest in Jalisco, México. *Journal of Herpetology* 25(4): 395-406.
- Bogert, C. y R. Martín del Campo. 1956. The Gila monster and its allies. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 109: 1-238.
- Bradford, 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.
- Brodie, E. y R. Savage. 1993. A new species of *Abronia* (Squamata:Anguidae) from a dry oak forest in eastern Guatemala. *Herpetologica* 49:420-427.
- Campbell, J. 1999. Distribution patterns of amphibians in Middle America. *en*: W.E. Duellman (ed.), *Distribution patterns of amphibians: a global perspective*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. Pp. 111-209.
- Campbell, J. y D. Frost. 1993. Anguid lizards of the genus *Abronia*: revisionary notes, descriptions of four new species, a phylogenetic analysis, and key. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 216:1-121.
- Campbell, J. y W. Lamar. 1989. *The venomous reptiles of Latin America*. Comstock Publishing Associates, New York. 415pp.
- Campbell, J., M. Sasa, M. Acevedo y J. Mendelson, III. 1998. A new species of *Abronia* (Squamata:Anguidae) from the high Cuchumatanes of Guatemala. *Herpetologica* 54: 221-234.
- Campbell, J. y J. Vannini. 1988. A new subspecies of beaded lizard, *Heloderma horridum*, from the Motagua Valley of Guatemala. *Journal of Herpetology* 22(4): 457-468.
- Campbell, J. y J. Vannini. 1989. Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize. *Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology* 4: 1-21.
- Card, W. Y D. Mehaffey. 1994. A radiographic sexing technique for *Heloderma suspectum*. *Herpetological Review* 25(1): 17-19.
- Casarett, L. y J. Doull. 1975. *Toxicology: The Basic Science of Poisons*. McMillian Publishing Co., New York. 768pp.
- CONAP. 1996. *Ley de Areas Protegidas y su reglamento, Decreto 4-89*. 5ª ed. Litho Impresiones, Guatemala. 68pp.

- Conners, S. 1987. Captive breeding of beaded lizards at the Detroit Zoo. AAZPA regional conference proceedings 1: 514-516.
- Conners, S. 1993. A longterm breeding programme for the beaded lizard, *Heloderma horridum*, at the Detroit Zoo. International Zoo Yearbook 32: 184-188.
- Eng, J., P. Andrews, W. Kleinman, L. Singh, y J. Raufman. 1990. Purification and structure of exendin-3, a new pancreatic secretory factor isolated from *Heloderma horridum* venom. Journal of Biological Chemistry 265: 20259-20262.
- Fahrenholz, C. 1937. Drüsen der mundhöhle. *En* Handbuch der vergleichenden anatomie der wirbeltiere. (Bolk L., E. Goppert, E. Kallius y W. Luboschm, eds). Urban und Schwarzenberg, Berlin. Pp 1115-210.
- Gabe, M. y H. Saint Girons. 1969. Données histologiques sur les glandes salivaires des lépidosauriens. Mémoires Museum National de Histoire Naturelle 58:1-118
- Holdridge, L. 1967. Life Zone Ecology. Tropical Science Center, San José. 89pp.
- Humason, G. 1979. Animal Tissue Techniques. 4a ed. W. H. Freeman, San Francisco. 661pp.
- INSIVUMEH. 2003. Registros climatológicos. Internet [www.insivumeh.gob.gt](http://www.insivumeh.gob.gt)
- Johnson, B., J. Tullar y H. Stahnke. 1966. A quantitative protozoan bioassay method for determining venom potencies. Toxicon 3: 297-300
- Laszlo, J. 1995. Probing as a practical method of sex recognition in snakes. International Zoo Yearbook 15: 178-179.
- Lidikay, C. y K. Stone. 1997. Biochemistry of helodermatid venom. Stanislaus Journal of Biochemical Reviews 2: 35-37.
- Loeb, L., C. Alsberg, E. Cooke, E. Curson, M. Fleischer, H. Fox, T. Githens, S. Leopold, M. Meyers, M. Rehfuss, D. Rivas y L. Tuttle. 1913. The venom of *Heloderma*. Carnegie Institute of Washington 177:1-98pp.
- Komori, Y., T. Nikai, and H. Sugihara. 1988. Purification and characterization of lethal toxin from the venom of *Heloderma horridum horridum*. Biochemical and Biophysical Research Communications 154: 613-619.
- Marcus, L. 1981. Veterinary biology and medicine of captive amphibians and reptiles. Lea and Febiger, Philadelphia. 218pp.
- Mebs, D. 1972. Biochemistry of *Heloderma* venom. *En* Toxins of Animal and Plant Origin (Vries, A. y E. Kockva, eds.). Gordon and Beach Press, New york, 2, pp. 499-513.
- Mebs, D. 1979. Untersuchungen über die wirksamkeit einiger schlangengift-seren gegenüber *Heloderma*-gift. Salamandra 6: 135-136.
- Mebs, D. y K. Raudonat. 1966. Biochemical investigations on *Heloderma* venom. Memoria del Institutuo Butantan 33: 907-912.

- Meier, J, B. Banks, E. Creppy, G. Habermehl, F. Kornalik, C. Lee, D. Mebs, P. Rosenberg y R. Theakston. 1986. Ethical standards and guidelines for animal experiments in toxinological research. *Toxicon* 24(4): 327-330.
- Patterson, R. 1967. Some physiological effects caused by venom from the Gila monster, *Heloderma suspectum*. *Toxicon* 5: 5-10.
- Patterson, R. y S. Lee. 1969. Effects of *Heloderma suspectum* venom on blood coagulation. *Toxicon* 7: 321-324.
- Perry, J. 1996. Manejo en cautiverio del lagarto perlado/escorpión. Museo del Desierto de Arizona-Sonora, México D.F. 14pp.
- Phisalix, M. 1922. Animaux venimeux et venins. Masson, Paris 718pp.
- Pregrill, G., J. Gauthier y H. Greene. 1986. The evolution of helodermatid squamates, with description of a new taxon and an overview of Varanoidea. *Transactions of the San Diego Society of Natural History* 21(11):167-202.
- Ramírez, A. Y C. Guichard. 1989. El escorpión negro: combates ritualizados. Instituto de Historia Natural, Tuxtla Gutierrez. México. 20pp.
- Raufman, J., L. Singh, y J. Eng. 1991. Exendin-3, a novel peptide from *Heloderma horridum* venom, interacts with vasoactive intestinal peptide receptors and a newly described receptor on dispersed acini from guinea pig páncreas. *Journal of Biological Chemistry* 266: 2879-2902.
- Russell, F. 1983. Snake venom poisoning. Scholium International, New York 165pp.
- Sosa, B. A. Alagón, B. Martín, y L. Posanni. 1986. Biochemical characterization of the phospholipase-A2 purified from the venom of the Mexican beaded lizard (*Heloderma horridum horridum*). *Biochemistry* 25: 2927-2933.
- Tinkhan, E. 1971. The biology of the Gila Monster. en "Venomous animals and their venoms. Vol II. Venomous vertebrates". W. Burcherl and E. Buckley (eds). New York Academic Press, New York Pp. 387-413
- Tu, A. 1991. Reptile venoms and toxins. Marcel Dekker Inc., New York. 218pp
- UICN. 1999. Listas de fauna de importancia para la conservación en Centroamérica y México. UICN-WWF Centroamericana, San José. 230pp.
- Utaisincharoen, P., S. Mackessy, R. Miller, y A. Tu. 1993. Complete primary structure and biochemical properties of Gilatoxin, a serine protease with kallikrein-like and angiotensin-degrading activities. *Journal of Biological Chemistry* 268: 21975-21983.
- Wiegman, A. 1829. Ueber das Acaltepan oder Temaculcahua des Hernandez, eine neue Gattung der Suarer, Heloderma. *Isis Von Oken* 22:624-629.
- Vandermeers, A., M. Vandermeers-Piret, P. Robberecht, M. Waelbroeck, J. Dehaye, J. Winland, y J. Christophe. 1984. Purification of a novel pancreatic secretory factor (PSF) and a novel peptide with VIP and secretin-like properties (helodermin) from gila monster venom. *Federation of European Biochemical Societies letters*. 166: 273-276.
- Vaz-Ferreira, R. 1984. Etología: El estudio del comportamiento animal. OEA, Washington. 149 pp.

Villa-Ramírez, B. 1978. Especies mexicanas de vertebrados silvestres raros ó en peligro de extinción. Anales de la Universidad Nacional Autónoma de México 49 (1): 303-320.

Zweifel, R. y K. Norris. 1955. Contribution to the herpetology of Sonora, México: descriptions of two new subspecies of snakes (*Micruroides euryxantus* and *Lampropeltis getulus*) and miscellaneous collecting notes. American Midland Naturalist 54(1): 230-249.

APENDICE 1. Entrevista para pobladores de Zacapa sobre avistamientos de  
*H. horridum pharlersboeerti*

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
PROYECTO HELODERMÁ

No.

ENTREVISTA

1. Departamento: \_\_\_\_\_
2. Municipio: \_\_\_\_\_
3. Sitio: \_\_\_\_\_

Sexo: M      F

2. Edad:

- Menos de 15 años
- 16-25
- 26-35
- 36-45
- 46-55
- 56-65
- más de 65 años

3. ¿Ha visto usted alguna vez al escorpión?    Si    NO

Preguntar descripción del animal observado y anotar qué características de las siguientes coinciden con descripción.

- Color negro con manchas amarillas pálido
- Cinco anillos amarillos en la cola
- Escamas granulares
- Movimientos lentos
- Saliva espesa color morado
- Lengua bífida protrusible
- Cabeza ancha
- Garras fuertes
- Dorsosin cresta

4. Datos exactos del sitio donde observó al animal:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

5. ¿A qué hora observó al animal? Si sabe hora exacta anotarla:

- Madrugada
- Temprano en la mañana
- Media mañana
- Medio día
- Tarde
- Tarde en la tarde
- Primeras horas de la noche
- Noche
- Medianoche

6. ¿El animal se encontraba activo?    Si    NO

7. Fecha aproximada de cuando lo encontró: \_\_\_\_\_

Apéndice 2. Datos morfométricos de especímenes de *horridum charlesbogerti* preservados y mantenidos en cautiverio

Procedencia	Sexo	TL (mm)	T (mm)	SVL (mm)	H (mm)	Ancho de cabeza (mm)	Menton Ojo (mm)	Diám. Imparicarios (mm)	% Ojo SVL	% Mentón SVL	% anch. Cabeza SVL	% HISVL % T SVL	Escamas preanales	
JTA R-15000, Holotipo*	Hembra	645	275	370	68							18.38	74.32	Agrandadas
JTA R-15001*	Macho	615		380	74							19.47		Normales
JTA R-15002*	Macho	690	295	395	71							17.97	74.88	Normales
JTA R-15003*	Hembra	635	275	360	65.5							18.19	76.39	Agrandadas
JTA R-18693*	Macho	580	247	333	55							16.52	74.17	Normales
UCR 9602*	Hembra	570	247	323	56							17.34	76.47	Agrandadas
UCR 9603*	Hembra	745	325	420	71.8							17.1	77.38	Agrandadas
ZNLA (HHC-01)	Hembra	615	255	350	60	54	27	10	60.1	2.78	7.5	16.67	70.83	Agrandadas
ZNLA (HHC-02)	Hembra	585	245	340	57	50	20	9	60.1	2.65	5.88	16.76	72.06	Agrandadas
JVG R-3641 (HHC-03)*	Macho	727	335	392	69	60		12		3.06		17.6	85.46	Normales
Autosafari Chapin (HHC-04)	Hembra	689	309	380	56	60	22	10	63	2.63	5.79	14.74	81.32	Agrandadas
Autosafari Chapin (HHC-05)	Hembra	767	325	442	63	65	29	10	65	2.26	6.56	14.25	73.53	Agrandadas
Autosafari Chapin (HHC-06)	Macho	845	378	467	69	67	30	9	68	1.93	6.42	14.78	80.94	Normales
MHN Jorge Ibarra (HHC-07)	Hembra	700	295	405	66	57.5	24	8	68	1.98	5.93	16.3	72.84	Agrandadas
MHN Jorge Ibarra (HHC-08)	Macho	617	267	350	60	55	22	6	61	1.71	6.29	17.14	76.29	Normales
MHN Jorge Ibarra (HHC-09)	Hembra	575	241	334	55	44	21	6	57	1.8	6.29	16.47	72.16	Agrandadas
Proyecto Heloderma (HHC-10)	Hembra	635	275	360	62	55	22	9	63	2.5	6.11	17.22	76.39	Agrandadas
MHN USAC (HHC-11)	Macho	830	350	480	68	66	32	9	74	1.88	6.67	14.17	72.92	Normales
MHN USAC (HHC-12)	Hembra	700	290	410	65	55	30	9	67	2.2	7.32	15.85	70.73	Agrandadas
USAC- Veterinaria (HHC-13)	Hembra	616	273	343	60	50	18	10	58	2.92	5.25	17.49	79.59	Agrandadas
USAC- Veterinaria (HHC-14)	Macho	628	265	362	57	54	25	8	62	2.21	6.91	15.75	73.2	Normales

**Apéndice 3. Instituciones que poseen especímenes preservados de  
*H. horridum charlesbogerti*.**

<b>Institución</b>	<b>País</b>	<b>Cantidad</b>	<b>No. de identificación</b>	<b>Sexo<sup>a</sup></b>	<b>Estado de conservación</b>
<i>Universidad de Arlington Texas</i>	USA	5	UTA R-15000	H	Bueno
			UTA R-15001	M	Bueno
			UTA R-15002	M	Bueno
			UTA R-15003	H	Bueno
			UTA R-18693	M	Bueno
<i>Universidad de Costa Rica</i>	Costa Rica	2	UCR 9602	H	Bueno
			UCR9603	H	Bueno
<i>Universidad del Valle de Guatemala</i>	Guatemala	1	UVG R-3641	M	Eviscerado
<i>Universidad de San Carlos de Guatemala</i>	Guatemala	7	No poseen	indet. *	Tres de ellos se encuentran disecados, dos en mal estado y uno en buen estado. Los otros se encuentran mal preservados y deformados, incluyendo un neonato sin datos. Ninguno posee etiquetas de identificación

<sup>a</sup> H= hembra; M= macho.

\*Indeterminado

Apéndice 4. Fotografías de especímenes de *H. horridum charlesbogerti* encontrados en Guatemala.



HHC-01



HHC-06



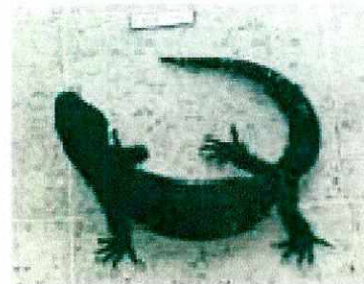
HHC-03



HHC-07



HHC-04



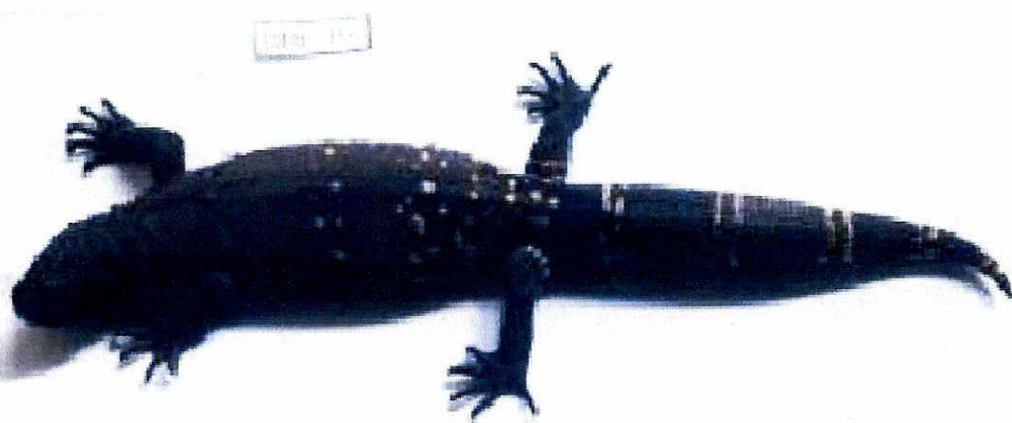
HHC-08



HHC-05



HHC-09



**HHC-10**



**HHC-11**



**HHC-12**

Anexo 5. Pruebas de t de los datos morfométricos de *H. horridum charlesbogerti*

	t	gl	Sig. (2 colas) $\alpha=0.05$	diferencia media	Error estándar de la diferencia
Longitud TL	1.167	17	0.259	45.49	38.97
longitud de la Cola	1.715	16	0.106	32.25	18.8
Longitud SVL	1.151	17	0.266	24.24	21.06
Longitud H (Cabeza)	1.597	17	0.129	4.461	2.793
% H/SVL	0.296	17	0.771	0.2079	0.703
% I/SVL	1.533	16	0.145	2.8754	1.876
Ancho de cabeza	1.857	10	0.093	6.938	3.578
Mentón	1.278	9	0.233	3.625	2.835
Diámetro del ojo	0.116	10	0.91	0.125	1.076
Distancia tímpano naricas	1.564	9	0.152	4.767	3.048
Diámetro del ojo/SVL	0.745	10	0.474	0.203	0.2736
Mentón/SVL	0.093	9	0.928	0.003	0.398
Ancho de cabeza/SVL	0.449	10	0.663	0.2462	0.548

\*= ninguna de las medidas morfométricas analizadas resultó significativa a un nivel de decisión de  $\alpha=0.05$ .

**Apéndice 6. Lista de especies de fauna vertebrada encontradas durante este estudio para el área del municipio de Cabañas, Zacapa**

**FAUNA**

**Clase Mammalia**

- Orden Edentata
  - Familia Myrmecophagidae
    - Tamandua mexicana* (Oso hormiguero)
  - Familia Dasypodidae
    - Dasypus novemcinctus* (Armadillo)
- Orden Carnívora
  - Familia Procyonidae
    - Conepatus semistriatus* (Zorrillo)
    - Procyon lotor* (Mapache)
  - Familia Felidae
    - Herpailurus jaguarundi*. (Onza canela, Jaguarundi).
  - Familia Canidae
    - Urocyon cinereoargenteus* (Zorrita gris, gato de monte).
- Orden Artiodactyla
  - Familia Cervidae
    - Odocoileus virginianus* (Venado cola blanca).

**Clase Aves**

- Orden Falconiformes
  - Familia Accipitridae
    - Caracara plancus* (Caracara, Quebrantahuesos).
- Orden Galliformes
  - Familia Cracidae
    - Penelope purpurascens* (Chachalaca)
- Orden Columbiformes
  - Familia Columbidae
    - Zenaida asiatica* (Paloma)
- Orden Cuculiformes
  - Familia Cuculidae
    - Crotophaga sulcirostris* (Pijuy)
    - Piaya cayana* (Tabacón)
- Orden Caprimulgiformes
  - Familia Caprimulgidae
    - Caprimulgus* sp (Tapacamino)
- Orden Trogoniformes
  - Familia Trogonidae
    - Trogon collaris* (Quetzalio)
- Orden Pssitaciformes
  - Familia Pssitacidae
    - Aratinga canicularis*
- Orden Strigiformes
  - Familia Strigidae
    - Glaucidium gnoma* (Aurorita)

## Orden Ciconiformes

## Familia Stringidae

*Cathartes aura* (Zopilote)**Clase Reptilia**

## Orden Squamata

## Familia Iguanidae

*Ctenosaura similis* (Iguana negra)*Ctenosaura palearis* (Jiote)

## Familia Teiidae

*Ameiva undulata* (Murishca)*Cnemidophorus lemniscatus* (Murishca rayada)*Aspidoscelis motaguae* (Polvorín)

## Familia Boidae

*Boa constrictor* (Mazacuata)

## Familia Colubridae

*Conopsis lineatus* (Sabanera)*Oxybelis fulgidus* (Bejuquillo verde)*Masticophis mentovarius* (Zumbadora)*Lampropeltis triangulum* (Falso coral)*Trimorphodon biscutatus* (Falsa Castellana)*Stenorrhina freminvillei* (Sabanera)

## Familia Loxocemidae

*Loxocemus bicolor* (Cantil cola de hueso)

## Familia Viperidae

*Crotalus durissus* (Víbora, Cascabel)*Porthidium ophryomegas* (Castellana)

## Familia Helodermatidae

*Heloderma horridum charlesbogerti* (Escorpión)

## Familia Gekkonidae

*Phyllodactylus tuberculosus* (Cuija)*Coleonyx elegans* (Florecilla)**Clase Amphibia:**

## Orden Anura

## Familia Ranidae:

*Rana berlandieri*

## Familia Bufonidae:

*Bufo marinus**Bufo luetkenii*

## Familia Hylidae

*Smilisca baudinii*

Apéndice 7. Fotografías del hábitat típico de *H. horridum charlesbogerti*



Vista de la zona montañosa de Cabañas, Zacapa, entre las aldeas de El Arenal y El Rosario.



Hábitat típico de *H. horridum charlesbogerti* en época seca (Abril 2003).



Hábitat típico de *H. horridum charlesbogerti* en época lluviosa



Fotografías varias: A. Nido de *Zenaida asiatica* sobre arbusto. B. vista en invierno.  
C. Autor junto con *H. horridum charlesbogerti*