UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Casa abierta al tiempo

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

RELACIÓN DE LOS CAMBIOS FÍSICOS, BIOLOGICOS Y AMBIENTALES EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL COCODRILO DE PANTANO (Crocodylus moreletii)

T E S I S

(Idónea Comunicación de Resultados)

Que para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

M.V.Z. Rosa Martha Sánchez Ruíz

COMITÉ TUTORAL:

Directora:

Dra. Marcela Vergara Onofre

Asesor:

Dr. Alejandro Avalos Rodríguez

Ciudad de México, Junio de 2017

Universidad Autónoma Metropolitana - Xochimilco
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Maestría en Ciencias Agropecuarias

Aprobación final del documento de tesis de grado

“ Relación de los cambios físicos, biológicos y ambientales en el desarrollo embrionario del cocodrilo de pantano *(Crocodylus moreletii)”.*

Directora:

Dra. Marcela Vergara Onofre _____

Asesor:

Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez _____

Jurado:

Dra. Edith Arenas Ríos _____

Dr. José Antonio Herrera Barragán _____

Agradecimientos

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la oportunidad y la beca otorgada para la realización de los estudios de Maestría.

Al laboratorio de Suelos y Agua de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco, por el apoyo en el análisis de las muestras de agua y suelo.

Al Instituto de Geología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su valioso apoyo en el análisis de las muestras para la determinación de metales pesados en muestras de agua, suelo y plasma, así como la concentración de los mismos.

A la UMA- CICEA que forma parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, por el apoyo para la colección de muestras en campo.

A mi comité tutoral, Dra. Marcela Vergara por su Dirección y tiempo dedicado a la investigación, al Dr. Alejandro Avalos por su apoyo y ayuda prestada para la realización de este trabajo.

A la Dra. Edith Arenas y al Dr. José Antonio Herrera, por ser parte del jurado evaluador, por sus comentarios para mejorar el escrito y apoyo en la revisión del escrito.

A mis amigos y compañeros que tanto me apoyan en campo, Mariana González, Blanca Rueda, Maestro Marco Antonio López.

Y en especial a mi familia, que siempre me han dado su apoyo incondicional a pesar de tantas ausencias para poder lograr este proyecto.

A pachanga por estar siempre.

Contenido

1. Introducción ……...1

1.1 Aspectos generales del cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii) ……1

1.2 Diferenciación sexual de cocodrilianos ……3

1.3 Disruptores endocrinos ……..6

1.3.1 Plaguicidas organoclorados ……...7

1.3.2 DDT y DDE ……8

1.3.3 Metales pesados ……..9

1.3.3.1 Mercurio (Hg) ……10
1.3.3.2 Magnesio (Mg) ……..11
1.3.3.3 Vanadio (V) …….. 12
1.3.3.4 Cromo (Cr) ……13
1.3.3.5 Hierro (Fe) ……...…13
1.3.3.6 Cobre (Cu) ……...13
1.3.3.7 Zinc (Zn) ……14
1.3.3.8 Arsénico (As) ……...……14
1.3.3.9 Cadmio (Cd) ……..15
1.3.3.10 Estaño (Sn) ……...……...16
1.3.3.11 Bario (Ba) ……..…….17
1.3.3.12 Plomo (Pb) ……..……17

1.4 Descripción del área de trabajo ……..…19

1.5 Justificación ……..20

1.6 Objetivos ……21
1.6.1 General ……21
1.6.2 Específicos ……21

1.7 Hipótesis ……...…...21

1.8 Metodología ……22
1.8.1 Colecta de muestras ……22
1.8.1.1 Suelo ……..22
1.8.1.2 Agua ……..22
1.8.1.3 Plasma ……...……..23

1.8.2 Análisis de muestras …….…...23
1.8.2.1 Suelo ……...23
1.8.2.2 Agua ……23
1.8.2.3 Plasma ……...…….24

1.8.3 Análisis de los datos estadísticos ……..……..25

1.9 Resultados ……...26
1.9.1 Suelo ……...26
1.9.2 Agua ……...……27
1.9.3 Plasma ……...33

2.0 Discusión ……...37

2.1 Conclusión …….……...39

2.2 Literatura citada ……..…….40

1. Introducción

En la actualidad se ha encontrado un fenómeno negativo en la relación de nacimientos de diversas especies, ligado al efecto que tienen los contaminantes del ambiente, que son mayormente producidos por actividades agropecuarias y antropogénicas (Ferri *et al*., 1993).

Cada vez existe mayor evidencia científica que muestra como estas sustancias interfieren en los procesos biológicos regulados por hormonas funcionando como Disruptores endocrinos (DE), interfiriendo y alterando a distintos niveles el eje hipotálamo-hipófisis (Danzo, 1998; Salame *et al.,* 2008).

La exposición a estas sustancias químicas ha provocado serios problemas a las poblaciones de vida silvestre, ya que los organismos están expuestos a estos contaminantes provocándoles anormalidades congénitas, anormalidades del aparato reproductor a ejemplares jóvenes, embriones con desarrollo sexual interrumpido, trastornos del SNC, feminización/masculinización de los embriones e incluso la muerte (Gross *et al.,* 1994; Guillette *et al.,* 1994; Guillette *et al.,* 1996; Guillette *et al.,* 1999; Cambell, 2003; Gunderson *et al.,* 2004).

Por las características que presentan estos disruptores endocrinos (DE) es que son bioacumulables en el suelo, agua e incluso en organismos como plantas y animales, participando así en diversos ciclos biológicos (Wu *et al.,* 2000ª; Wu *et al.,* 2000b; Majewski *et al.,* 1995; Colborn *et al.,* 1995; Muñoz del Toro *et al.,* 2006; Van de Steen *et al.,* 2010).

Tal es el caso de Tabasco donde la Laguna de las Ilusiones se ha visto seriamente afectada por el continuo desemboque de aguas negras provenientes de la urbe y de la industria petrolera, teniendo así una serie de organismos afectados por la contaminación del agua y suelo, como el cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii) (Faeth *et al.* 2005, Shochat *et al*. 2006).

1. Aspectos generales del Cocodrilo de Pantano *(Crocodylus moreletii)*

Los cocodrilianos han existido desde hace aproximadamente 200 millones de años, mucho más tiempo que los mamíferos, durante la era mesozoica existían muchas formas de cocodrilianos tanto en agua dulce como en agua salobre y salada. En la actualidad, los zoólogos los clasifican en tres familias: *Crocodylidae* (cocodrilos) con 13 especies, *Alligatoridae* (caimanes) con 7 especies y la *Gavialidae* representada por una sola especie. Estas 21 especies vivientes, pertenecen a la clase Reptilia, subclase Archosauria y orden Crocodylia, y se pueden localizar en las zonas tropicales y subtropicales de Australia, Nueva Zelanda, Tailandia, Nueva Guinea, China, India, África y América.

Los cocodrilos son en muchos aspectos los reptiles más adelantados, y en la actualidad son los más grandes y los últimos descendientes de la misma rama de los dinosaurios (COMACROM, 2001).

El nombre de (*Crocodylus moreletii)* se le asignó en homenaje al naturalista francés Pierre Marie Arthur Morelet (1809-1892), quien en 1850 descubrió la especie en México. Este cocodrilo es conocido en México con los nombres comunes de lagarto o cocodrilo negro, pardo o de pantano (Casas *et al.,* 1970; Álvarez del Toro, 1974; Sigler, 2001).

El cocodrilo de pantano se encuentra dentro de la lista de especies bajo la categoría de Protección Especial en la NOM-059-ECOL-2001 (SEMARNAT, 2002) y el apéndice I de CITES y según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) con estatus de riesgo menor.

Los cocodrilos de pantano *(Crocodylus moreletii)* se distribuyen en la costa del Golfo de México, lo encontramos en los estados de Tamaulipas, Veracruz, Campeche, Tabasco, Quintana Roo, Yucatán, Chiapas y Oaxaca, actualmente su distribución se amplió hacia los estados de San Luis Potosí y Querétaro (Domínguez-Laso, 2006). Este cocodrilo también lo encontramos distribuido en Belice y norte de Guatemala (CONABIO, 2010).

Se ha calculado que hay más de 100,000 individuos en el medio silvestre; se estimó una población aproximada de 80,000 individuos en México, de los cuales 15,000 son adultos en edad reproductiva (CONABIO, 2010).

La reproducción de esta especie inicia en febrero y concluye en mayo, en esta época se acentúa el instinto de territorialidad, la madurez sexual llega después de los cinco años de edad. Las nidadas del cocodrilo de pantano normalmente son grandes con un promedio de 36 huevos, la ovoposición se da una vez al año y sobre el periodo de incubación la madre cuida del nido hasta que las crías nacen, la temperatura del nido oscila entre los 28-34°C y una húmedad promedio del 90% (INE, 1999).

Desafortunadamente para esta especie de cocodrilo la pérdida de los humedales para su aprovechamiento y uso del ser humano, ha sido un factor de suma importancia que impacta las poblaciones de vida libre (Ross, 1998). Los ambientes urbanos pueden tener efectos negativos sobre la biología de muchas especies, modificando aspectos de la historia de vida, nutrición, reproducción, demografía, etc. (Faeth *et al.* 2005, Shochat *et al*. 2006).

La expansión de actividades industriales, agropecuarias y agrícolas, así como la urbanización dañan los espacios naturales al cambiar los ecosistemas y causar graves problemas a las especies que se encuentran amenazadas o en peligro de extinción entre ellos los cocodrilianos (Ferri *et al*., 1993).

La expansión de la Ciudad de Villahermosa (3.2% anual en población, INEGI, 2010). Ha provocado cambios importantes en los hábitats que rodean la laguna de las Ilusiones que es una de las más importantes en el estado por ser una zona de refugio, anidación y reproducción de fauna silvestre (Pacheco de Cruz, 1996). Estos cambios podrían alterar el microclima de los nidos de cocodrilos modificando su tamaño, temperatura, humedad y composición (López-Luna 2010).

Por otro lado la mayoría de los desechos agrícolas, industriales y domésticos acaban en los suelos y aguas, donde interfieren de manera letal con los ciclos biológicos de las especies que ahí habitan (SEMARNAT, 2002). El 80% de los contaminantes procede de aguas negras urbanas y el 20% de actividades petroleras (Padrón- Rivera, 2004).

Muchos de estos contaminantes como sulfatos, fosfatos y coliformes se acumulan en manglares y pantanos afectando directamente y de manera negativa el desarrollo de poblaciones de especies silvestres (Padrón- Rivera, 2004).

Por ejemplo López-Luna, (2010) describió los nidos del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii)* en un paisaje urbanizado en el sureste de México, y encontró que los nidos de cocodrilos se componían en general de 53% de vegetación compuesta por hojarascas, tallos y ramas, 16% con humus y arcilla y 8% de los nidos fueron construidos con plantas y desechos producidos por los humanos (materiales inorgánicos) y el 23% fueron nidos construidos con una combinación de todos los materiales.

2. Diferenciación sexual en Cocodrilianos

La reproducción sexual asegura la continuidad de las especies, la determinación del sexo de los individuos, comienza al tiempo de la fertilización, seguido por la diferenciación gonadal y culmina con un evento fundamental que es la diferenciación sexual del cerebro (Herrera *et al*., 2005).

Cada etapa está influenciada por la otra, dando así como resultado diferencias de sexo, no solo del sistema reproductivo sino también a nivel cerebral (Wilson *et al*., 2007).

La determinación de sexo en vertebrados puede estar controlada por factores genéticos o ambientales, la identidad de las gónadas depende de dos procesos, la determinación del sexo que es un evento molecular que ocurre en etapas tempranas del desarrollo embrionario y la diferenciación del sexo, en la cual una cascada de eventos fisiológicos y hormonales llevan a la gónada indiferenciada a desarrollarse como un ovario o un testículo (Torres *et al,* 2004).

El sexo de todos los vertebrados se determina a partir del momento en que el aporte genético masculino (procede del espermatozoide) se integra al femenino (óvulo). De esta manera cuando la etapa de fertilización denominada fecundación se lleva a cabo, el embrión se desarrollara como un macho o una hembra dependiendo de la carga genética contenida en los cromosomas sexuales (Salame *et al*., 2008).

La diferenciación sexual en cocodrilianos es homogamético, lo que significa que durante una etapa de la diferenciación la expresión de los genes es regulada por la temperatura, repercutiendo en la diferenciación gonadal y de las estructuras sexuales secundarias (Sarre *et al*., 2004).

El factor genético de la diferenciación sexual esta mediado por la presencia de genes específicos y en el caso de los cocodrilos se observa la expresión del gen Da*x*1 que participa durante la gonadogénesis ya que entre los patrones de expresión de hembras y machos no hay diferencia (Torres, *et al*, 2004).

También se ha reportado la expresión del gen S0x9 solo en gónadas de embriones incubados a temperaturas masculinizantes (34°C), mientras que a temperaturas feminizantes (30°C-32°C) S0x9 se expresa en niveles basales (Torres *et al*, 2004).

Se ha sugerido que éstos mismos podrían formar parte de la cascada de determinación sexual determinada por temperatura (TSD), dado que al estudiar su expresión en distintas etapas del desarrollo gonadal de ciertas especies de tortugas se observa que la temperatura tiene efectos sobre su expresión. Se cree que los genes involucrados en las fases tempranas del desarrollo de la gónada bipotencial se expresan de manera dimórfica en algún momento del periodo termosensible, aunque los genes integrales para el desarrollo final del testículo o el ovario se expresan después de este periodo (Torres *et al*., 2004, Elvira *et al.,* 2008, Shoemaker *et al*., 2008).

En el caso de los cocodrilos, como se mencionó anteriormente la diferenciación sexual está mediada por la temperatura (Piña *et al*, 2007) y las hormonas (estrógenos/andrógenos) durante el periodo crítico termosensible (Kuntz *et al.,* 2004; Pieau *et al*., 2004; Moreno *et al*., 2001), a partir del primer tercio del periodo de incubación produciéndose 100% hembras cuando la temperatura se encuentra entre 30 y 32°C, los embriones producen una mayor cantidad de estrógenos desarrollándose ovarios y 100% machos cuando la temperatura es mayor o igual a 34°C, a estas temperaturas los embriones producen andrógenos, desarrollando así testículos (Aguilar, 1995; Lance 1998; Murray, 2004; Salame *et al.,* 2008).

En los machos se producen hormonas a partir de las células de Sertoli de los testículos fetales como la hormona antimulerina (AMH) que produce la regresión del ducto mulleriano (Josso *et al*., 1993); de manera subsecuente, las células de Leydig producen testosterona, que estimula la diferenciación del ducto wolfiano dentro de los conductos deferentes, vesículas seminales masculinizando los genitales externos.

Cuando el producto es femenino no se producen estas hormonas, lo que permite el desarrollo del conducto mulleriano derivado de la regresión pasiva del ducto wolfiano (Mishina *et al.,* 1996).

Las hormonas esteroides, principalmente los estrógenos, intervienen tanto en la diferenciación sexual del embrión, como en el crecimiento y desarrollo del organismo una vez eclosionado (Lance, 2003; Salame *et al*, 2008).

En la diferenciación del cerebro, la conversión de testosterona a estradiol está a cargo de la enzima aromataza que ejerce una función importante en la biosíntesis de estrógenos, la aromataza es un factor determinante en el desarrollo sexual embrionario (Gray *et al.,* 1976).

Durante el periodo crítico de diferenciación del hipotálamo se presenta un aumento en las respuestas hacia la activación hormonal por los niveles de testosterona, lo que se refleja en el comportamiento sexual (Mode *et al.,* 1984).

Se ha establecido que este comportamiento del dimorfismo sexual está determinado mediante la exposición de andrógenos a los tejidos neurales (McLuscky *et al.,* 1981).

En esta diferenciación sexual del SNC existe la participación de una glicoproteína que es la clave del proceso conocida como alfa-feto-proteína (αAfp) (McLusky, 1998).

Esta proteína secuestra de manera efectiva a los estrógenos circulantes en forma biológicamente activa y ayuda a que el cerebro del embrión disponga de concentraciones elevadas de estradiol (Hadley, 1992; Montano *et al*., 1995).

Cuando αAfp se encuentra con Xenoestrogenos o esteroides sintéticos presenta una baja afinidad al atrapar de forma activa al estradiol, alterando la diferenciación sexual del cerebro (Dohler *et al*., 1984), ya que de manera natural los estrógenos tienden a señalizar hacia diversos tejidos no reproductivos como el tejido cerebral (Vam Saal *et al.,* 1992). Sin embargo esta alfa-feto-proteína no es capaz de sintetizar dichos esteroides para integrarlos al mecanismo de diferenciación sexual, ocurriendo así una disrupción del proceso a nivel del SNC.

Abbott *et., al* (2005), mencionan que una disrupción de la fisiología reproductiva con los niveles hormonales durante el periodo crítico de la diferenciación sexual del cerebro trae repercusiones funcionales en la edad adulta. Los cambios organizacionales se observan a nivel estructural (McLachlan, 2001; Silbergeld *et al.,* 2002), y los efectos resultantes de la exposición durante el periodo crítico de la organogénesis pueden resultar en modificaciones permanentes de los sistemas afectados (SNC-Gónadas) (Richter *et al.,* 2007).

3. Disruptores endocrinos

Un disruptor endocrino (DE) es cualquier compuesto químico contaminante del medio ambiente que una vez incorporado a un organismo afecta el equilibrio hormonal del mismo (Danzo, 1998). Estos DE son diferentes tipos de sustancias químicas que son usadas en una amplia variedad de herbicidas, fungicidas, insecticidas, etc. (Kumar *et al.,* 2008).

Para (Fernández y colaboradores, 2001) se trata de sustancias exógenas al organismo, pueden ser naturales o sintéticas y estas interfieren con la producción, liberación, transporte, metabolismo y eliminación de las hormonas responsables del mantenimiento de la homeostasis y regulación del desarrollo de los organismos.

La estructura química de los disruptores en general es similar a la de una hormona endógena, engaña al receptor de la célula blanco y así es capaz de llevar a cabo el efecto biológico ya sea de manera similar (agonista) o bloqueándola (antagonista), así mismo interfiere con la inactivación y eliminación de la hormona endógena (Salame *et al.,* 2008).

En la actualidad se conocen más de 10 grupos de sustancias sintéticas que en modelos animales se comportan como estrógenos naturales como los bifenoles policlorados (PCBs), los alquiferoles, falatos, el bisfenol A y plaguicidas organoclorados como el DDT (EPA, 1999).

Estos disruptores endocrinos actúan por la vía estrogénicas, conocidos como Xenoestrogenos. Los estrógenos poseen una reconocida capacidad para actuar como reguladores del crecimiento y la diferenciación celular de diversos órganos y tejidos (O´Brien *et al.,* 1990).

En el caso particular de los cocodrilos, el calcio es controlado por estrógenos, cualquier sustancia que interfiera con su regulación metabólica podría estar ocasionando un daño (Moore, 1965).

Debido a la relación entre los primeros registros de efectos y el uso de los Plaguicidas organoclorados y otras substancias que contenían cloro, mercurio, fosforo y azufre, son los causantes de anormalidades en el desarrollo embrionario, reducción en la tasa de eclosión o la feminización/masculinización en tortugas y cocodrilos (De Solla *et al.,* 1998).

4.1 Plaguicidas organoclorados

Los plaguicidas organoclorados son compuestos químicos complejos con esqueletos de carbono e hidrógeno y la presencia de anillos de cloro, sus propiedades físico-químicas les dan una mayor resistencia al ambiente, contra la degradación química, biológica o fotolítica (Wu *et al.,* 2000ª; Wu *et al.,* 2000b).

Debido a estas características los POC´s son compuestos liposolubles lo cual los hace bioacumulables en tejidos y se comportan principalmente como Xenoestrogenos (Majewski *et al.,* 1995; Colborn *et al.,* 1995; Muñoz del Toro *et al.,* 2006; Van de Steen *et al.,* 2010).

El transporte de estos compuestos volatilies es a través de las corrientes de aire, pueden ser depositados sobre el suelo o los cuerpos de agua por la precipitación fluvial que los arrastra desde la atmosfera, también pueden trasladarse a través del ecosistema por medio de la erosión del suelo en campos de cultivo, zonas industriales y urbanas, o pueden ser consumidos y acumulados por la biota (Majewski *et al.,* 1995).

Los plaguicidas organoclorados son componentes orgánicos persistentes que son acumulados en la materia orgánica del sedimento, se encuentran a disposición de los organismos detritívoros, los cuales los introducen a la cadena trófica constituyendo otro medio de dispersión y transporte (Gross *et al.,* 1994).

Debido a que pasan sin degradarse estos compuestos se encuentran almacenados en concentraciones cada vez mayores, afectando a depredadores en el último nivel de la cadena trófica como osos, aves de rapiña y cocodrilos, que son los que registran mayores concentraciones de estos compuestos (Cambell, 2003; Ashpole *et al.,* 2004; Sepulveda *et al.,* 2004; Sokolowski *et al*., 2004; Sakellarides *et al.,* 2006).

Dentro de estos compuestos denominados por el Programa de Medio Ambiente de las Naciones Unidas en 1995 como la “docena sucia” encontramos al DDT (diclorodifeniltricloroetano) y DDE (diclorodifenildicloroetano)que fueron usados para el control de la fauna nociva en la agricultura y de vectores de enfermedades como la malaria, el dengue y el paludismo (Myers *et al.,* 2003).

4.2 DDT y DDE

Los POC´s como él (DDT) y sus metabolitos dieldrin, toxafeno, clordecona, endosulfan o metoxicloro; los cuatro primeros son plaguicidas y están prohibidos en la mayor parte de países desarrollados; mientras que endosulfan es un pesticida aun en uso (Fernández *et al.,* 2001).

Las sustancias como el DDT y su derivado metabólico DDE tienen acciones estrogénicas y/o antiandrogénicas, sus estructuras tienen grupos aromáticos (fenol) con o sin grupo funcional hidroxilo que los hace similares a estrógenos (E2), por lo que al unirse a los receptores en tejidos blanco o proteínas de transporte para esta hormona, se pueden provocar los efectos de disrupción hormonal o endocrina (Tabb *et al.,* 2006).

El efecto como disruptor endocrino se han estudiado en caimán americano (Alligatore mississippiensis) demostrando alteraciones en el sistema reproductor y endocrino de los individuos, alterando la síntesis gonádica de esteroides sexuales y modificando la tasa de estrógenos/andrógenos en machos y hembras, que habitan lagos de Florida, EUA con altos contaminantes de plaguicidas organoclorados (Facamire *et al.,* 1995; Guillette *et al.,* 1996; Matter, 1998; Guillette *et al.,* 1999; Guillette *et al.,* 2001; Gunderson *et al.,* 2004; Milnes *et al.,* 2002).

Algunos otros antecedentes reportados sobre la relación de los POC's y hormonas fueron en *A. mississippiensis* (Gross *et al.,* 1994; Guillette *et al.,* 1994; Guillette *et al.,* 1996; Guillette *et al.,* 1999; Cambell, 2003; Gunderson *et al.,* 2004), encontraron principalmente anormalidades en las gonadas tanto de hembras como de machos, variación en las concentraciones de hormonas esteroides, la viabilidad de los embriones, así como la formación de embriones con defectos y el decremento de huevos incubados, por la pérdida de carbonato de calcio en el cascaron.

En relación con los plaguicidas organoclorados en cocodrilos de pantano se han registrado DDE en concentraciones (103 ng/g) y DDT (15 ng/g) en huevos de *Crocodylus moreletii* en Belice (Wu *et al.,* 2000b; Wu *et al.,* 2000a) y en Cosa Rica se registró DDE (340ng/g) y DDT (254.8 ng/g) en escamas de cocodrilo de rio *C. acutus* (Rainwater *et al.,* 2007).

Billing y colaboradores, (1972) estudiaron varias localidades en Zimbabwe de *C. niloticus* y determinaron concentraciones de DDT y sus metabolitos en huevos y embriones.

Ogden y colaboradores, (1974) estudiaron la concentración de DDT y DDE en la especie de *C. acutus* en Florida, EUA, encontraron en huevos (yema y clara) un promedio de 0.03 ppm (base húmeda).

Wessels y colaboradores (1980) en África estudiaron *Crocodylus niloticus* encontrando residuos de DDT en huevos (base seca) incrementándose la cantidad en sitios habitados y cercanos a las zonas agrícolas.

Por otra parte Phelps y colaboradores, (1986) en otro estudio realizado en Zimbabwe en *Crocodylus niloticus* se encontraron concentraciones en base seca de DDT en huevos (sin incluir el cascaron).

Heinz y colaboradores, (1991); Woodwar (1995) igualmente en varios lagos de Florida, EUA en Alligator mississippiensis determinó concentraciones de DDT en huevos de esta especie de 0.05ppm (incluido 80% de DDE). Asi tambien en otro estudiose determinaron en huevos las concentraciones de DDT (1.80ppm) y de DDE (11.42 ppm).

De acuerdo a estas investigaciones se puede decir que los cocodrilos son indicadores útiles para determinar contaminantes ambientales, sobre todo si se comparan resultados en la concentración de DDT y DDE a través del tiempo y las diferentes localidades.

4.3 Metales pesados

De los elementos químicos que conocemos, aproximadamente un 75% son metales, entre ellos los denominados metales pesados (Rainbow, 1993).

Los metales están presentes en nuestro ambiente debido a fuentes naturales como antropogénicas y ejercen un amplio rango de funciones biológicas importantes, como componentes enzimáticos y sistemas de óxido-reducción, así como activadores de enzimas (Hartwing, 1998).

Los metales pesados como el cadmio, plomo, mercurio y arsénico desde el punto de vista biológico y toxicológico son clasificados como metales con toxicidad aparente y de amplia distribución en el ambiente (Hartwing, 1998).

Los procesos de bioacumulación de los metales se debe a la imposibilidad por parte del organismo afectado de mantener los niveles necesarios de excreción del contaminante, una vez incorporados a los tejidos, estos metales son capaces de reaccionar con una variedad de moléculas, así, los metales pesados muestran gran afinidad por los grupos sulfhídricos y en menor medida por los grupos amino, fosfato, carboxilo e hidroxilo. La toxicidad relacionada a estos metales se podría deber al daño oxidativo inducido en varios tejidos (Stohs *et al.,* 1995; Ercal *et al.,* 2001).

Los metales pesados de transición como el plomo, el cadmio, el mercurio y el arsénico actúan como catalizadores de reacciones de oxidación de macromoléculas biológicas, la toxicidad asociada a estos metales se debe al daño oxidativo que se produce en las células, pueden causar incrementos importantes en los niveles de especies reactivas a oxigeno (ERO´s) como los radicales hidroxilo (OH), superóxido (O2) y peróxido de hidrogeno (H2O2) (Stohs *et al.,* 1995).

Las células bajo condiciones de estrés oxidativo muestran un amplio rango de alteraciones en proteínas y el DNA, muchos de estos metales tienen la capacidad de interactuar con el DNA, ya sea de manera directa o indirecta; afectan la fidelidad de la replicación del mismo, debido a que son capaces de inhibir las enzimas involucradas en la replicación y síntesis de nucleótidos produciendo un efecto genotóxico (Vaisman *et al.,* 2001).

Los radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno generados por los metales pesados pueden promover distintos daños como roturas de cadena simple y modificación de las bases del DNA provocando efectos biológicos negativos para las células, promoviendo el estrés oxidativo, así como alteraciones de las vías de señalización celular y de la homeostasis del calcio (Beyersmann *et al.,* 1994).

La disminución de la habilidad para eliminar el daño genético causado por los metales pesados puede incrementar el riesgo de cáncer (Singh *et al.,* 1998).

4.3.1 Mercurio (Hg)

Es un metal abundante en la corteza terrestre y ampliamente utilizado por el hombre, lo que ha provocado graves efectos sobre el medio ambiente. En su ciclo natural el mercurio elemental y las sales inorgánicas finalizan en los sedimentos de ríos, lagos, mares y océanos y por medio de las bacterias metalogénicas, mediante el proceso de metilación, añaden un átomo de carbono y lo transforman en MeHg siendo de este modo la forma fácil de ser bioacumulado (Gonzales *et al.,* 2002).

Este metal ha demostrado ser extremadamente tóxico afectando principalmente el sistema nervioso central (Crespo et al., 2005). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), (Boffeta, 1993) ha clasificado los compuestos del mercurio como:

- Compuestos del metilmercurio en el grupo 2B, que corresponde a los compuestos que inducen cáncer.
- Compuestos inorgánicos del mercurio y mercurio metálico en el grupo 3, son considerados no cancerígenos.

El MeHg, al ser una sustancias lipofílica, atraviesa con facilidad las membranas biológicas, en sangre se une a la hemoglobina, la actividad reductasa del glutatión interviene en el metabolismo del MeHg disminuyendo su concentración, la desmetilización ocurre en muchos órganos pero principalmente en el cerebro (Pedersen *et al.,* 1999; Kakita *et al.,* 2002).

La exposición crónica al MeHg es especialmente toxica para el SNC embrionario, ya que puede producir alteraciones estructurales (necrosis focal de las neuronas corticales cerebrales, con destrucción de las células gliales perifocales) y de tipo funcional (interferencia con el proceso de migración de las capas neurales corticales (Stasenko *et al.,* 2010; Valko *et al.,* 2005).

Los compuestos de mercurio ejercen un efecto genotóxico sobre los cromosomas (Akiyama *et al.,* 2001; Thier *et al.,* 2003). La genotóxicidad de este metal se debe a la capacidad del mismo a reaccionar con los grupos sulfhídrico de la tubulina, afectando las funciones del huso mitótico y produciendo errores en la segregación de los cromosomas durante la división celular, lo que provoca aberraciones cromosómicas y poliploidía (De Flora *et al.,* 1994).

La formación de complejos entre el mercurio y el glutatión, producen un daño en el DNA debido a la generación de radicales libres, los cuales son eliminadas por el glutatión, disminuyendo la energia celular y la actividad mitocondrial, esto debido a la inhibicion de la sintesis de proteinas mitocondriales (Ercal *et al.,* 2001; Valko *et al.,* 2005).

El mercurio ocasiona alteraciones que ocurren durante el desarrollo embrionario y sus efectos actúan principalmente durante las etapas de la embriogénesis, en altas concentraciones ocasionan la muerte embrionaria temprana y disminución en el tamaño de los embriones, así como un aumentó en la fragilidad ósea (Stasenko *et al.,* 2010).

4.3.2 Magnesio (Mg)

El magnesio es un metal estructural más ligero que se conoce, es soluble y forma compuestos con varios ácidos, es resistente a la corrosión alcalina, este metal no se encuentra en estado puro en la naturaleza, el sulfato de magnesio se utiliza en la fabricación de productos petroquímicos (Hartwing, 1998).

En la medicina se utiliza como analgésico (EPA, 1999), los efectos biológicos adversos al ser un componente esencial de la clorofila las necesidades del magnesio e el cuerpo quedan satisfechos con el consumo de vegetales.

A nivel celular el magnesio se involucra en el metabolismo energético, utilización de la glucosa, síntesis proteica y reacciones hormonales, el magnesio unido al ATP funciona como sustrato para enzimas que actúan en la transducción de señales incluyendo fosfatasas y fosfoquinasas en la membrana plasmática, afectando la síntesis del calcio y el potasio intracelular, provocando modificaciones electronegativas, induciendo confusiones ionicas (Ríos *et al.,* 2009).

Una baja concentración de magnesio en ratas jóvenes produjo una dilación de los vasos sanguíneos periféricos, hiperexaltividad y convulsiones (Goyer *et al.,* 2001; Gwalteney, 2002).

Es un metal de toxicidad baja, sin embargo los humos despedidos pueden causar irritación en el sistema digestivo y conjuntiva nasal y en ojos, pueden provocar fiebre y cicatrización lenta en heridas profundas (Goyer *et al.,* 2001)

4.3.3 Vanadio (V)

El vanadio es un metal que se puedo encontrar el petróleo crudo en bajas cantidades (Henson *et al.,* 2000).

A nivel del organismo el vanadio se acumula en tejido adiposo y lo encontramos también en la sangre, los compuestos tóxicos más importantes desde el punto de vista de salud es el peróxido de vanadio (V_2O_5) y el meta vanadio amónico (NH_4VO_3) (Goyer *et al.,* 2001; Gwalteney, 2002).

Alguna sinología que se presenta a la exposición del vanadio son, lagrimeo profuso, sensación de ardor en la conjuntiva, rinitis serosa o hemorrágica, dolor de garganta, tos, dolor torácico, en una exposición intensa se puede producir neumonía y en una exposición prolongada bronquitis crónica, se han descrito en otros estudios efectos sistémicos en el hígado, riñones, sistema nervioso, órganos formadores de sangre (Goyer *et al.,* 2001)

Entre los efectos metabólicos el vanadio interfiere con la biosíntesis de cisteína y el colesterol e inhibición o estimulación de la síntesis de fosfolípidos, concentraciones elevadas inhiben la oxidación de la serotonina (Ríos *et al.,* 2009).

4.3.4 Cromo (Cr)

El cromo es un metal que se encuentra en la naturaleza, ayudan al metabolizar el azúcar de la sangre en los mamíferos, su acumulación en el suelo es toxica en estado hexavalente, en el cuerpo en el mismo estado se absorbe rápidamente después de la ingesta o inhalación, las ulceras, dermatitis (Gwalteney, 2002)

Se ha demostrado que Cr reacciona con las proteínas formando complejos antígenos-anticuerpos, la exposición por varios días provoca tos, cefalea, disnea y dolor retro esternal (Goyer *et al.,* 2001) en concentraciones de 20 a 30 mg/m^3.

4.3.5 Fierro (Fe)

El hierro es el segundo metal más abundante, el Fe por sí mismo no fuerte, pero su resistencia aumenta de forma notable con carbón. El Fe es esencial en todos los organismos, es un cofactor en muchas enzimas y varias proteínas (Ríos *et al.,* 2009).

La inhalación de polvos puede provocar irritación pulmonar y del tracto gastrointestinal, exposición prolongada al polvo con óxido de hierro puede actuar con agente cancerígeno (Singh *et al.,* 1998).

4.3.6 Cobre (Cu)

Este metal es esencial para todos los organismos, actúa sobre todas las enzimas redox y el transporte de oxígeno, toxico particularmente en suelo ácidos, cuando existe en altas concentraciones puede haber deficiencia de hierro y fosforo (Hartwing, 1998).

El cobre se encuentra en forma de compuestos minerales, las aleaciones no ferrosas más usadas son las de cobre y zinc (latón), estaño (bronce) y níquel (metal monel) (Henson *et al.,* 2000).

Los fragmentos de cobre metálico o de aleaciones pueden alojarse en los ojos provocando uveítis, obsesos y pérdida total del ojo, también se pueden padecer problemas respiratorios provocando lesiones pulmonares y granulomas hepáticos.

4.3.7 Zinc (Zn)

Esencial en todos los mamíferos, la toxicidad es más prevalente en suelos y aguas ácidass, el zinc es un nutriente esencial, componente de las metaloenzimas que participan en el metabolismo de los ácidos nucleicos y en la síntesis de las proteínas (Akiyama *et al.,* 2001).

Este componente no se acumula en el organismo y su absorción es más fácil a partir de proteínas animales, algunos signos de la deficiencia del zinc don atraso en el crecimiento, hipogonadismo,

alteraciones cutáneas. Además de problemas gastrointestinales por la ingesta de alimentos y agua contaminados.

La concentración de zinc en el agua no debe pasar las 15 ppm, cuando se contienen hasta 30 ppm el agua se torna de color lechoso, además de un sabor metálico. Es soluble en aguas ligeramente acidas o en presencia de hierro (Henson *et al.,* 2000).

4.3.8 Arsénico (As)

Es un metal que se puede oxidar de dos formas (arsenito; arsenato) y tiene la capacidad de formar componentes orgánicos e inorgánicos en el medio ambiente y organismos (Rainbow, 1993). El arsénico se absorbe en el organismo y se almacena en corazón, pulmón, músculo y tejido nervioso, este metal es considerado cancerígeno (EPA, 1999).

Los mecanismos de acción tóxica involucra proteínas y enzimas que contengan grupo sulfhídrico como la queratina, presente en piel y uñas (Toscano, 2005).

El arsenato entra al cerebro por mecanismos aun no definidos, acumulándose en los plexos coroideos, los metabolitos del arsenito es similar en estructura al fosfato inorgánico y compite con él en la producción de adenosin tri-fosfato (ATP) desacoplando la fosforilación oxidativa (Thomas, 2001; Abernathy *et al.,* 1999).

Por otro lado el arsenito interactúa con los grupos tioles, bloqueando los grupos sulfhídricos de las proteínas y enzimas (Zang *et al.,* 2000). El sistema de neurotransmisores se ve afectado cuando se ha expuesto a arsénico disminuyendo la actividad de la acetilcolinesterasa en regiones cerebrales como en cerebelo e hipotálamo (Rodríguez *et al.,* 2003).

El arsénico es capaz de inducir generación de ERO´s y un incremento en el estrés oxidativo de las células, así mismo es capaz de inhibir la glutatión reductasa y glutatión peróxidasa todas enzimas antioxidantes necesarias para mantener el balance entre estrés oxidativo y sistema antioxidante en el cerebro (Ríos *et al.,* 2009).

El incremento en la generación de ERO´s, la disminución de los niveles enzimáticos antioxidantes generan alteraciones en las vías de señalización, llevando a la célula a la apoptosis; así como también procesos de reparación del DNA por medio de la excisión de nucleótidos, produciendo cambios en los patrones de metilación y afectando la expresión de los genes (Albernathy *et al.,* 1999); Hartwig *et al.,* 2002).

4.3.9 Cadmio (Cd)

Forma parte de la familia de los metales pesados que existen de manera natural en la corteza terrestre, debido a sus propiedades toxicas es un contaminante del ambiente que produce numerosos efectos adversos sobre los organismos, aun en concentraciones muy pequeñas (Satarug *et al.,* 2003).

La mayor fuente natural de liberación de Cd a la atmosfera es la actividad volcánica, a nivel industrial es utilizado en la elaboración de algunos plaguicidas y fertilizantes; así como la quema de combustibles fósiles (carbón y petróleo) y la incineración de basura doméstica (Goering *et al.,* 1995; Satarug *et al.,* 2003).

Este metal puede acumularse en el agua, suelo y organismos como plantas y animales resistentes al Cd como algunos peces y moluscos (Rayment, 1995; Ling *et al.,* 2011); entra al organismo mediante la ingesta de agua o alimento contaminado, el cadmio entra al torrente sanguíneo por absorción del estómago, pasando por la mucosa y después se almacena en diversos tejidos como hígado y riñón (Henson *et al.,* 2000).

Este metal se une a las metalotioneínas que son una familia de proteínas ricas en cisteína (Cys) y participan en el transporte y regulación del zinc (Klaassen *et al.,* 2009). El Cd entra a la célula a través de los transportadores de calcio (Himeno *et al.,* 2002), dentro de la célula la mayor parte se almacena en el citosol (70%) (Casalino *et al.,* 1997).

Una intoxicación por cadmio manifiesta alteraciones en el desarrollo y funcionalidad de diversos órganos y sistemas, produciendo principalmente alteraciones neurologícas, reproductivas, endocrinas e incluso la formación de tumores (Koller, 1998; Satoh *et al.,* 2002). El cadmio juega un papel importante como inductor de cáncer en tejidos hormono dependientes (Garcia *et al.,* 1994; Antila *et al.,* 1996; Martin *et al.,* 2003; Siewit *et al.,* 2010).

Las proteínas y el ADN sufren estrés oxidativo baja la presencia de Cd. (Polinadri *et al.,* 2006b). Afecta las cadenas de transporte de electrones mitocondriales induciendo la generación de ERO en las células hipofisiarias (Poliandri *et al.,* 2004).

Es capaz de unirse y activar al REα a través del dominio del ligando, en forma similar a los estrógenos (Garcia *et al.,* 1994; Stoica *et al.,* 2000; Bryrne *et al.,* 2009), la interacción con los receptores involucran varios aminoácidos del sitio del unión a la hormona, sugiriendo que el metal puede formar un complejo con el dominio de unión al ligado y así activar al receptor (Stoica *et al.,* 2000).

Entre otras funciones xenoestrogénicas del Cd es la inducción de la proliferación celular y aumenta la expresión de genes regulados por estrógenos (Stoica *et al.,* 2000). La exposición a este metal está relacionada con una disminución en la síntesis de leptina, que es una molécula reguladora de la organogénesis y del desarrollo embrionario (Stasenko *et al.,* 2010).

4.3.10 Estaño (Sn)

Este metal es sumamente dúctil por lo cual se emplea en la industria moderna, una propiedad importante es su aleación con otros metales, es combustible y reacciona violentamente con los oxidantes, ácidos fuertes, azufre en polvo, bicarbonato y dióxido de carbono (Rainbow, 1993).

La inhalación del polvo de óxido de estaño produce neumoconiosis nodular maligna sin insuficiencia pulmonar, el polvo de estaño es o irritante para los ojos y las vías aéreas, la dosis letal por inyección es de 100 mg/kg de peso corporal, la ingesta oral puede provocar náuseas y vomito pero no lesiones permanentes (Gwalteney, 2002)

El hombre puede soportar cantidades de 800 a 1000 mg sin sufrir efectos nocivos, el contacto prolongado puede provocar prurito, lesiones en riñón e hígado, inmunodepresión, asi como, disminución en la fertilidad, daños en el sistema nervioso central (Stasenko *et al.,* 2010).

4.3.11 Bario (Ba)

El bario es abundante en la naturaleza, este metal solo se produce en cantidades limitadas, por reducción del óxido de bario en presencia de aluminio, los compuestos solubles del son sumamente tóxicos por vía oral y la doses letal va de 0.8 y 0.9 g, aumentando la contractilidad muscular en el corazón, aumento de peristaltismo intestinal, espasmo vascular periférico, contracción de vejiga (Goyer *et al.,* 2001)

Este metal estas asociado al deterioro delas gónadas masculinas y femeninas en ratas, los fetos son susceptibles al carbonato de bario durante la vitelizacion (Stasenko *et al.,* 2010).

4.3.12 Plomo (Pb)

El plomo es un metal comúnmente utilizado en la industria y actividades antropogénicas, presenta una alta toxicidad en la mayoría de los organismos, las continuas emisiones al medioambiente ha provocado daños irreversibles (Cohen *et al,* 1996).

Este metal tiene una alta afinidad por los grupos sulfhídricos y puede inactivar enzimas especialmente las involucradas en la síntesis del grupo hemo como la inhibición de ácido α aminolevulino dehidratasa por medio del desplazamiento del calcio (De Flora *et al.,* 1994).

Este metal se almacena principalmente en la mitocondria produciendo daños en su metabolismo energético, induciendo la producción de radicales libres, inhibiendo la captura de calcio mitocondrial a la vez favoreciendo su liberación (Garza *et al.,* 2005) este desarreglo en la actividad mitocondrial conlleva a la liberación del citocromo C favoreciendo la apoptosis.

Los efectos sobre el SNC embrionario influyen sobre la estructura celular del cerebro y sobre la química neuronal, estas alteraciones se relacionan con la proliferación celular, diferenciación, formación de sinapsis y apoptosis celular. Los efectos neuroquímicos incluyen niveles alterados de neurotransmisores como acetil colina, dopamina y glutamato (Silbergeld, 2002).

El plomo entra al organismo por medio de la ingestión de alimentos o agua contaminada, a los pulmones ingresa por la inhalación y en la piel por absorción, una vez que el plomo entra al organismo es transportado por el torrente sanguíneo a órganos y tejidos acumulándose principalmente en hígado, pulmones, cerebro y huesos, es capaz de atravesar la barrera hemato encefálica (Goyer *et al.,* 2001; Gwalteney, 2002).

Altas concentraciones de plomo inorgánico puede ser mutagénico e interferir con los mecanismos de reparación de los nucleótidos, induce aberraciones cromosómicas, intercambio entre cromátides hermanas y micronúcleos. El plomo puede afectar principalmente los ciclos de óxido – reducción en las células, inhibiendo la reparación del DNA, produciendo alteraciones organizacionales en los microtúbulos en las células (Skerfving *et al.,* 2007).

4. Descripción del Área de trabajo

La Laguna de las Ilusiones se localiza dentro de la ciudad de Villahermosa, capital del estado de Tabasco, fue decretada Área Natural protegida el 8 de Febrero de 1995 con categoría de Manejo de Reserva Ecológica Estatal (Diario Oficial, 2002).

Funciona también como vaso regulador, contribuye en el ciclo hidrológico y en la regulación del microclima de la ciudad. Tiene aproximadamente 229 hectáreas de espejo de agua, la profundidad va desde cero a 3.5 metros, con 41 km de perímetro. Está ubicada en la parte noreste de la ciudad. Se encuentra en la zona de formación de lagos por contacto entre los depósitos aluviales del reciente y el Pleistoceno formando parte de la provincia fisiográfica o llanura costera del Golfo de México, entre los paralelos 17° 59' 22", 18°01' 22" de latitud norte y los 92° 55' 20", 92° 56' 40" de longitud oeste (INEGI 2006).

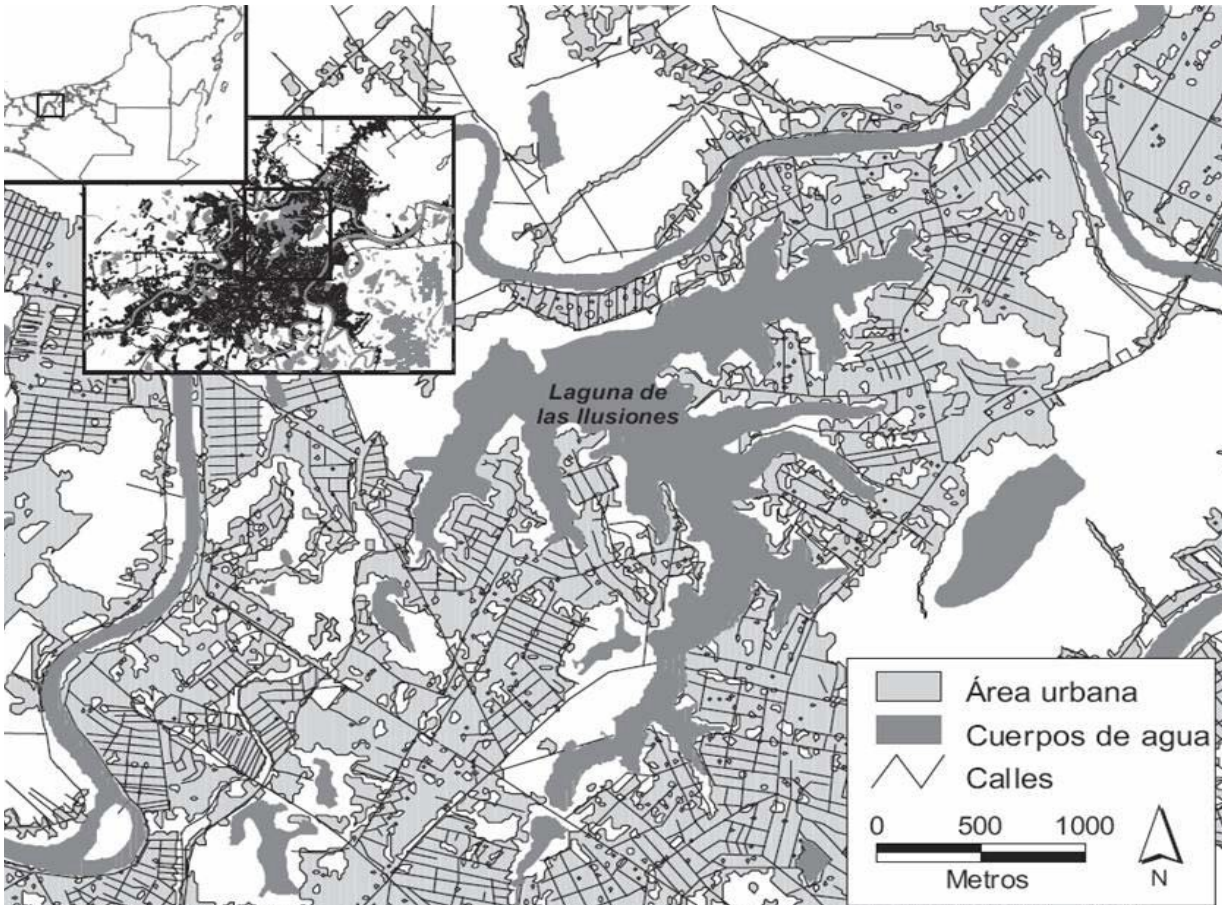


Imagen 1. Laguna de las Ilusiones (INEGI, 2006).

5. Justificación

La temperatura es de suma importancia para los organismos ectotérmicos ya que cambios en el ambiente de manera global podrían tener una amplia gama de consecuencias sobre ellos (López-Luna, 2010).

Incrementos de la temperatura ambiental puede afectar aspectos fisiológicos y conductuales de especies dependientes de la temperatura tanto en ambientes terrestres como acuáticos y probablemente convertirse en una amenaza para la disminución de las poblaciones (Spinks *et al* 2003, Langevelde *et al.,* 2004, Simpson *et al.,* 2004).

El ambiente de la ciudad de Villahermosa es importante en estos aspectos, el efecto de "isla urbana de calor" promueve un aumento y mantenimiento alto en la temperatura de la ciudad (Voogt 2002), que podría influir en la temperatura de incubación y favorecer la formación de machos en el cocodrilo de pantano.

Así mismo, se han encontrado contaminantes en el ambiente que pueden actuar como disruptores hormonales, como metales pesados (Salame *et al.* 2008) que pueden sesgar la proporción sexual en el desarrollo embrionario de cocodrilianos (Stoker *et al.* 2003, 2008). Esto pueden influir de manera significativa en la supervivencia, al provocar un sesgo importante en la determinación sexual, usualmente favoreciendo a los machos (Miller *et al.* 2004).

Los ciclos biogeoquímicos pueden determinar la presencia y concentración de los metales pesados en el suelo, agua, aire e incluso los seres vivos (Moreno, 2003), y la intervención humana puede modificar la concentración de estos metales en la naturaleza.

La concentración de metales pesados en los organismo depende de la capacidad de regular estos niveles, si son eliminados o no, (Gray, 2002) menciona que si estos elementos no son eliminados del organismo, con el tiempo, su concentración va a ser mayor que la del medio ambiente, y se considera que el organismo bioacumula estos metales, transfiriéndolos de las madres a las crías a través del huevo, incluso (Marco et al., 2004; Guirlet et al., 2008) reportaron la trasferencia de metales del ambiente al huevo durante la incubación.

De seguir con esta tendencia a largo plazo las hembras disponibles para la reproducción ovopositaran huevos "contaminados" con metales pesados, diezmando así las poblaciones, reduciendo la calidad genética y el potencial reproductor.

6. Objetivos

General

- Evaluar los factores físicos, biológicos y ambientales relacionados con la eclosión de crías del cocodrilo de pantano *(Crocodylus moreletii).*

Específicos

- Analizar las características físico-químicas del suelo y agua de la Laguna de las Ilusiones.
- Determinar la existencia de metales pesados en el suelo de la laguna de las Ilusiones.
- Determinar la existencia de metales pesados en el agua de la laguna de las Ilusiones.
- Determinar la existencia de metales pesados en el plasma de crías de cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii)
- Determinar las concentraciones de metales pesados en plasma de las crías de cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii) y relacionarlas con las concentraciones encontradas en el suelo y agua.

7. Hipótesis

- Los metales pesados encontrados en el suelo y agua de la Laguna de las Ilusiones están relacionados con la presencia de metales en el plasma de las crías actuando como disruptores hormonales durante el desarrollo embrionario del cocodrilo de pantano *(Crocodylus moreletii),* afectando así la tasa de eclosión de los huevos.

8. Material y Métodos

8.1 Colecta de muestras

La colecta de muestras de suelo, agua, huevos no eclosionados y toma de muestras sanguíneas en crías se llevó a cabo en los meses de septiembre-diciembre que corresponde a la fase de eclosión y post-eclosión de los huevos de cocodrilo de pantano *(Crocodylus moreletii)* en la laguna de las Ilusiones, Villahermosa, Tabasco (Álvarez del Toro y Sigler, 2001).

8.1.1 Suelo

Para la determinación de metales pesados (plomo, arsénico, cadmio, mercurio) se realizó la colecta de 5 muestras de suelo, cada muestra tomada dentro de la cámara de los nidos mediante una draga manual de acero inoxidable. Se colectaron aproximadamente 2 kg de muestra.

Se tomaron 5 muestras de suelo a 1 m de distancia del nido hacia el margen de la laguna de las Ilusiones y 0.3 m de profundidad, cada muestra fue tomada con una draga manual de acero inoxidable. Se colectaron aproximadamente 2 kg de muestra,

Las muestras se transportaron de manera individual envueltas en papel aluminio, etiquetadas e introducidas en bolsas plásticas tipo zipplo, para ser transportadas al laboratorio donde se mantuvieron a -20°C hasta su análisis.

8.1.2 Agua

Para la determinación de metales pesados (plomo, arsénico, cadmio, mercurio) se realizó la colecta de 5 muestras de agua tomadas del margen de la laguna de las Ilusiones y a 0.3 m de profundidad se tomó 1 L de muestra en botella de plástico.

Se tomaron también 5 muestras de agua a 1 m de distancia del margen de la laguna y a 1m de profundidad, Se muestreo 1L de agua en botella de plástico estéril.

Las distancias de muestreo se midieron con un flexómetro y se corroboró mediante coordenadas GPS.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio y se mantuvieron a temperatura de -20°C hasta ser analizadas.

9.1.3 Toma de muestras sanguíneas en crías de cocodrilo de pantano

La muestra sanguínea se colectó por medio de punción en vena caudal extrayendo 0.5 mL de sangre, vertiéndola en un tubo vacutainer con heparina y manteniéndolos en hielo hasta su procesamiento en el laboratorio.

8.2 Análisis de las muestras

9.2.1- Suelo

Las muestras de suelo fueron procesadas en Laboratorio de Suelo y Agua de la Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco, donde se caracterizó el suelo (anexo 11a) determinando pH, textura, densidad aparente, conductividad eléctrica, amonio, nitratos, nitritos, fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio y materia orgánica mediante las técnicas establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2001.

Para la determinación de metales pesados, el análisis se llevó a cabo con un espectrofotómetro de absorción atómica con Llama aire/acetileno y óxido nitroso/acetileno y de doble rayo Varian, modelo SpectrAA 220, con llama generador de hidruros VGA 77.

9.2.2 Agua

Las muestras de agua fueron analizadas en el Laboratorio de Suelos y Agua de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (anexo 11b) observando pH, conductividad eléctrica, magnesio, sodio, potasio, calcio, carbonatos, bicarbonatos, cloruros y sulfatos mediante las técnicas establecidas en la Norma Mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001

Para la determinación de metales pesados se analizaron mediante espectrofotometría de absorción atómica con Llama aire/acetileno y óxido nitroso/acetileno y de doble rayo Varian, modelo SpectrAA 220, con llama generador de hidruros VGA 77.

9.2.3 Muestras sanguíneas de crías de cocodrilo de pantano

Las muestras sanguíneas se centrifugó a 3000rpm durante 5 min, la extracción del plasma fue retirado con micropipetas de puntas desechables y vertido en un crioval de 4ml y congelado a -4°C.

La determinación de metales pesados (plomo, cadmio, mercurio, arsénico) se realizó mediante espectrofotometría de Absorción Atómica con Llama aire/acetileno y óxido nitroso/acetileno y de doble rayo Varian, modelo SpectrAA 220, con llama generador de hidruros VGA 77.

9.3 Digestión de las muestras para determinar metales pesados mediante espectrofotometría de absorción atómica.

La digestión de la muestra consistió en un proceso de incineración de 1.00 ± 0.05 g de muestra a 900°C.

La extracción se realizó con HCl 1+1 disolviendo por adición 10 ml de HF Y 10 ML de HCl y evaporación a sequedad.

Procedimiento de análisis de la muestra en el espectrofotómetro.

Preparar un blanco o matriz volumen a volumen (1 +1), 50% de solución extractante y 50% de solución supresante.

Realizar una serie de diluciones para la corrida en el espectrofotómetro de absorción atómica, la muestra se prepara con 50% la dilución requerida, más el volumen requerido por la dilución de la muestra, y el resto con solución del extracto.

Para la preparación de las soluciones patrón de Cd, Mg, Pb se parte de una solución de concentración conocida (1000 ppm) de cada elemento, de las cuales se toman 2.5 ml y se aforan a 250 ml con la matriz (HCl al 5 %) para obtener una concentración de 10 ppm.

Se debe realizar, para cada metal a determinar, una recta de calibrado con concentraciones conocidas. Los patrones de concentración conocida fueron preparados a partir de diferentes diluciones de una solución estándar de 1000 mg/L del metal a determinar.

La concentración de los patrones depende del metal a analizar. Una vez obtenida la recta de calibración, ya se puede realizar la lectura de concentración de metal para cada muestra.

Parámetros	Cd	As	Hg	Pb
Longitud de onda (nm)	228,8	193, 7	253, 7	217,0
Intensidad de corriente (mA)	5,0	8,0	6,0	8,0
Ancho de rendija (nm)	0,5	1,0	0,5	0,5
Altura de Observación (mm)	12	8,0	10	10

9.4 Análisis de los datos

El análisis de datos se llevara a cabo mediante correlación (correlación lineal de Pearson) se realizó con los datos obtenidos en el análisis del agua, suelo, plasma y huevo mediante una base datos en Excel y el programa estadístico XLSTAT con el objetivo de establecer:

- Las correlaciones que existe entre las concentraciones de metales pesados encontradas en el suelo con las concentraciones encontradas en los huevos no eclosionados.

- Las correlaciones que existen entre las concentraciones de metales pesados encontradas en el suelo con las concentraciones encontradas en el plasma de las crías.

- Las correlaciones que existen entre las concentraciones de metales pesados encontradas en el agua con las concentraciones encontradas en los huevos no eclosionados.

- Las correlaciones que existen entre las concentraciones de metales pesados encontradas en el agua con las concentraciones encontradas en el plasma de las crías.

- La correlación de embriones no eclosionados en relación a la etapa embrionaria observada en los huevos no eclosionados.

10.0 Resultados

Suelo

La caracterización del suelo nos arrojó que en la zona de muestreo dentro de la laguna de las Ilusiones el suelo que mayormente predomina es el franco arenoso arcilloso (F-Ar-Arc) en color verde que se caracteriza por tener una textura equilibrada de arena, limo y arcilla, es permeable al agua y retención de nutrientes, absorbiendo así mayor cantidad de metales pesados.

En este estudio el pH es ácido favoreciendo la disponibilidad de metales pesados. La materia orgánica también presenta un incremento en la toxicidad de estos metales por los complejos organometalicos facilitando la solubilidad, disponibilidad y dispersión.

Tabla 1. Caracterización del suelo de la Laguna de las Ilusiones

Muestra	% Humedad	Textura	pH	Densidad (cm3)	C.E (m/s)	P	Na	K	No2	No3	Ca+Mg+	Ca+	M.O
N1	2.24	F-Arc-Ar	4.80	1.02	1.84	89.53	4.08	0.46	0.253	0.045	14.0	13.9	11.16
N2	8.22	F- Arc-Ar	5.97	0.65	1.70	2946.5	2.34	0.76	0.156	0.019	19.8	17.7	11.16
N3	29.19	F-Ar	7.63	0.29	3.25	105.66	8.69	1.27	0.834	5.888	49.5	36.0	5.58
N4	2.04	F-Ar-Arc	5.85	1.18	0.37	65.11	0.31	0.13	0.120	0.797	8.17	3.65	13.09
N5	2.24	F-Arc-Ar	6.35	1.25	0.49	854.65	0.20	0.11	0.017	0.797	6.15	3.46	4.33
N6	2.04	F-Arc-Ar	6.50	0.87	1.92	854.65	2.78	0.35	0.516	0.434	22.1	17.3	5.18
N7	3.20	F-Ar	7.70	0.90	2.00	22.80	3.21	0.76	0.253	13.65	20.1	15.9	2.68
N8	4.82	F-Ar	6.21	0.60	2.55	927.90	0.60	0.22	0.059	0.234	32.4	20.0	2.51
N9	2.45	F-Ar-Arc	5.85	1.10	1.51	227.90	0.33	0.12	0.031	0.045	9.13	5.19	15.41
N10	1.21	F-Ar	6.37	1.23	1.80	30.75	0.18	0.08	0.037	0.564	5.09	4.42	2.34

Agua

La caracterización del agua nos arrojó resultados de pH ligeramente alcalino, para la digestión de las muestras para esta investigación se aplicó ácido carbónico para reducir el pH del agua obteniendo así un pH de 7.4 promedio de todas las muestras.

Tabla 2. Caracterización del agua de la Laguna de las Ilusiones

Muestra	pH	C.E (m/s)	Na+ (ppm)	Ca+Mg+	Ca+	P (me/L)	Carbo-natos	Bicarbo-natos	cloruros	sulfatos
N1	7.59	0.31	40	2.77	2.03	0.14	0	2.19	2	2.34
N2	7.11	0.51	68	3.70	2.96	0.17	0	2.41	2	1.61
N3	7.32	0.38	52	3.61	2.31	0.15	0	2.19	3	1.31
N4	7.46	0.37	50	2.77	2.40	0.16	0	2.84	4	2.41
N5	7.42	0.40	58	3.14	2.77	0.16	0	2.63	2	1.46
N6	7.33	0.37	48	4.47	3.24	0.14	0	2.84	1	1.75
N7	7.41	0.36	44	2.68	2.40	0.13	0	2.41	3	3.29
N8	7.67	0.38	39	3.24	2.77	0.15	0	2.84	2	2.41
N9	7.46	0.33	48	3.14	2.31	0.16	0	2.19	2	2.19
N10	7.40	0.41	58	3.23	2.68	0.15	0	2.63	2	3.66

Tabla 3. Concentración de metales pesados en el agua de la Laguna de las Ilusiones

	Hg (□g/g$_{Suelo}$)	Mg (□g/g$_{Suelo}$)	V (□g/g$_{Suelo}$)	Cr (□g/g$_{Suelo}$)	Fe (□g/g$_{Suelo}$)	Cu (□g/g$_{Suelo}$)	Zn (□g/g$_{Suelo}$)	As (□g/g$_{Suelo}$)
SN1	0.869	991.682	112.051	114.016	33,688.430	7.275	22.593	3.266
SN1-MD	0.839	1,054.909	89.144	107.330	26,935.378	7.055	22.109	2.631
SN2	1.110	1,272.942	53.017	76.286	14,933.628	9.372	74.643	3.402
SN3	0.722	3,714.530	54.374	51.034	18,128.593	15.409	50.231	3.835
SN7	1.140	2,087.535	40.881	36.206	17,781.185	4.471	38.806	2.818
SN8	1.024	1,085.192	57.745	53.452	18,575.155	7.209	34.467	2.060
SN8-MD	1.125	996.276	53.292	55.037	17,024.069	6.492	32.759	1.760
SC7	0.139	1,687.131	0.947	0.287	2,565.557	0.398	2.938	4.548

	Cd (□g/g$_{Suelo}$)	Sn (□g/g$_{Suelo}$)	Ba (□g/g$_{Suelo}$)	Pb (□g/g$_{Suelo}$)	U (□g/g$_{Suelo}$)
SN1	12.361	4.177	42.307	18.851	1.365
SN1-MD	12.532	4.099	44.957	16.324	1.363
SN2	15.634	6.559	72.523	20.813	1.724
SN3	11.083	6.394	134.175	13.293	1.025
SN7	8.559	4.612	333.810	21.211	1.123
SN8	12.063	4.063	83.380	10.613	1.314
SN8-MD	12.622	3.306	75.729	9.773	1.220
SC7	0.210	0.815	35.321	1.213	0.035

Tabla 4. Concentración de metales pesados en el suelo de la Laguna de las Ilusiones

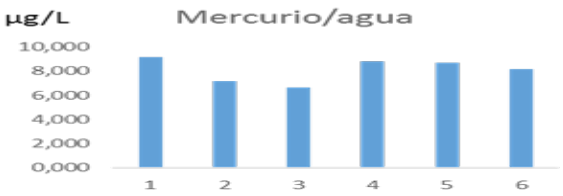
Hg (□g/L)	Mg (□g/L)	V (□g/L)	Cr (□g/L)	Fe (□g/L)	Cu (□g/L)	Zn (□g/L)	As (□g/L)
N2	9.16	10,966.21	91.79	12.44	923.49	0.83	4.68	35.59
N3	7.18	3,035.47	110.48	7.82	519.31	<LDM	5.37	33.73
N6	6.67	1,697.97	85.52	8.35	1,039.15	0.01	16.26	33.09
N7	8.786	4,257.364	89.311	8.059	715.901	0.089	1.565	32.355
N10	8.701	7,088.082	114.774	13.111	2,763.111	0.387	40.139	63.830
MD-N10	8.179	5,563.618	97.618	7.852	1,357.420	0.261	38.004	60.918

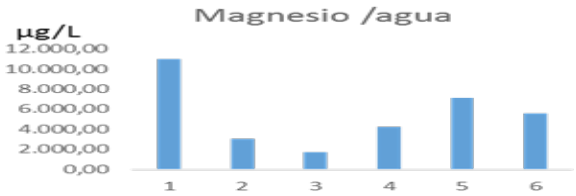
Cd (□g/L)	Sn (□g/L)	Ba (□g/L)	Pb (□g/L)	U (□g/L)	
N2	6.05	60.10	51.24	6.39	2.01
N3	5.74	54.65	44.28	2.54	1.53
N6	5.96	43.15	24.47	3.33	1.49
N7	6.003	45.003	34.392	7.294	1.747
N10	6.535	35.522	70.182	11.245	2.023
MD-N10	6.336	31.531	68.754	10.209	1.848

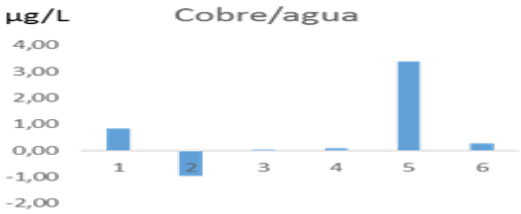
Tabla 5. Concentraciones de metales pesados en el plasma de Cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii)

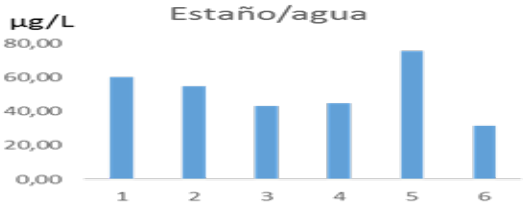
Hg (□g/g_{plasma})	Mg (□g/g_{plasma})	V (□g/g_{plasma})	Cr (□g/g_{plasma})	Fe (□g/g_{plasma})	Cu (□g/g_{plasma})	Zn (□g/g_{plasma})	As (□g/g_{plasma})
A-16	0.046	18.150	0.245	0.068	0.961	0.570	0.773	0.136
A-147	0.031	26.766	0.226	0.097	3.096	0.917	0.999	0.117
A-360	0.077	21.657	0.695	0.138	2.099	0.510	1.469	0.310
A-430	0.032	23.377	0.248	0.087	1.537	0.681	1.153	0.111
A-427	0.076	30.267	0.798	0.192	2.515	1.051	0.903	0.355
MD-A-427	0.075	23.375	0.766	0.143	2.597	1.062	0.586	0.323
MD-A-427	0.058	2.018	0.060	0.063	0.017			

Gráfica 1. Concentraciones de metales pesados en agua de la Laguna de las Ilusiones

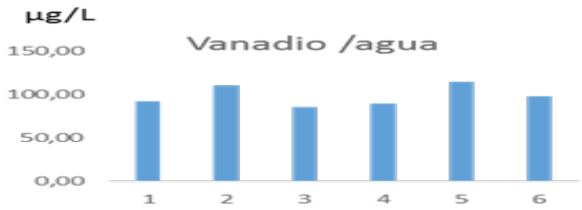


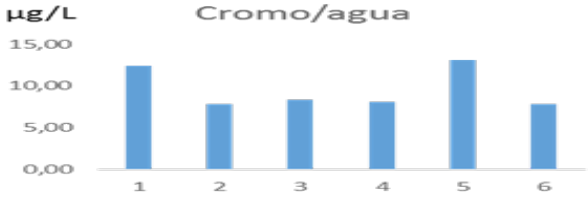


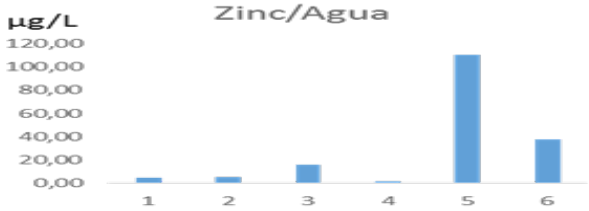


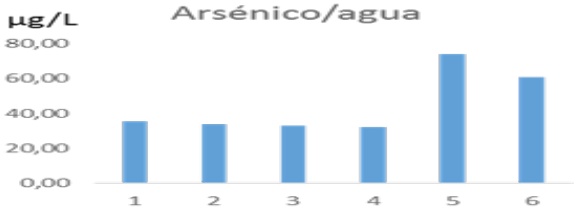


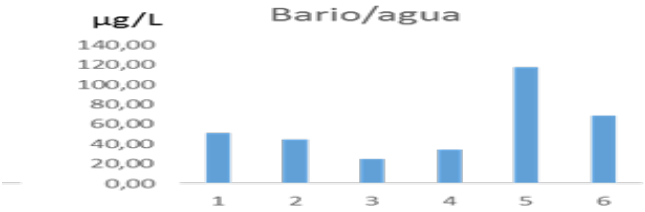
Gráfica 1. Concentraciones de metales pesados en agua de la Laguna de las Ilusiones (continuación)



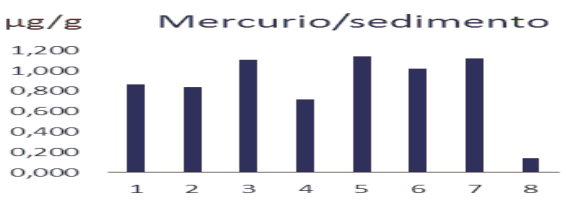


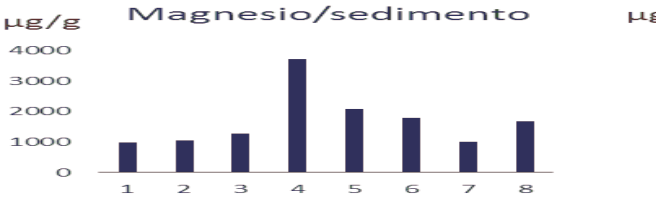


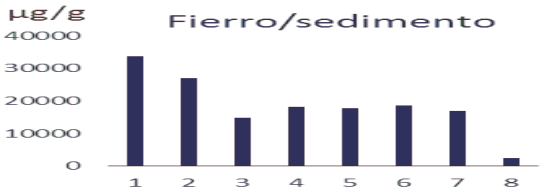


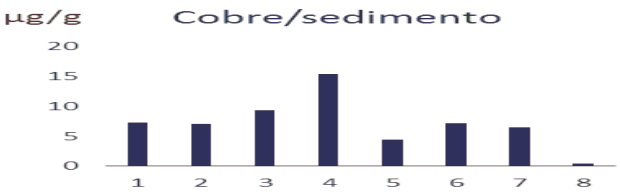


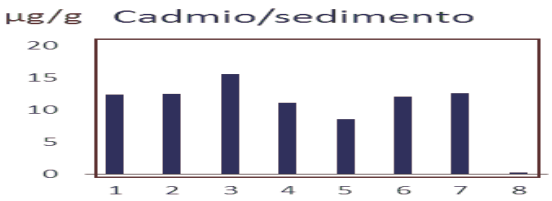
Gráfica 2. Concentración de metales pesados en el sedimento de la laguna de las ilusiones

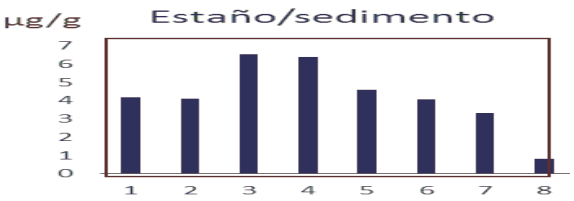




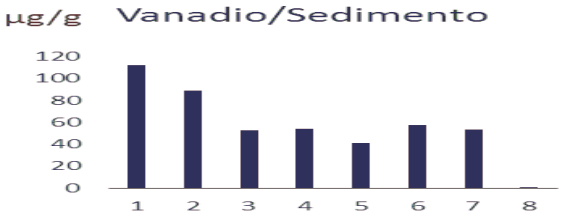


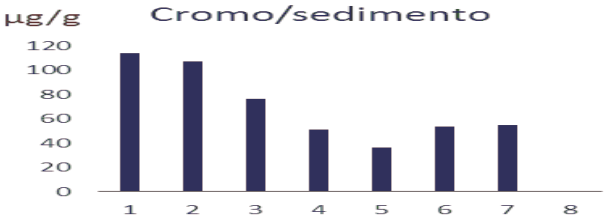


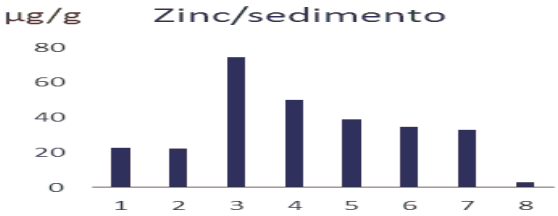


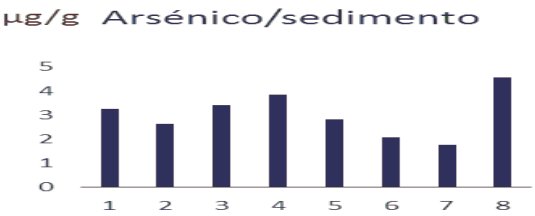


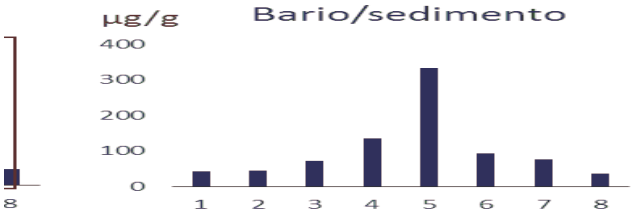
Gráfica 2. Concentración de metales pesados en el sedimento de la laguna de las ilusiones (continuación)



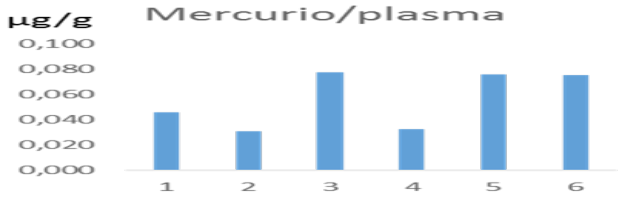


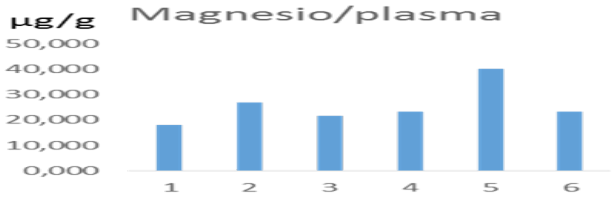


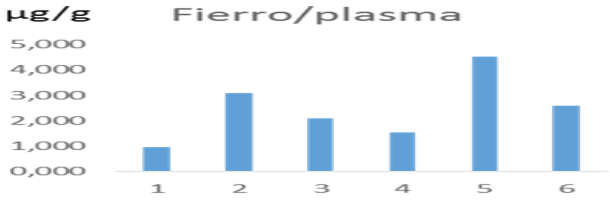


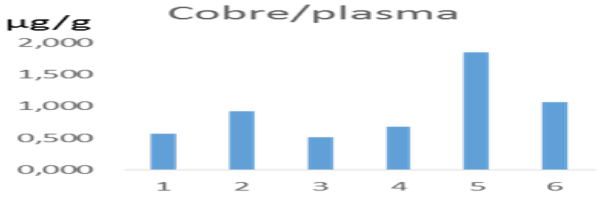


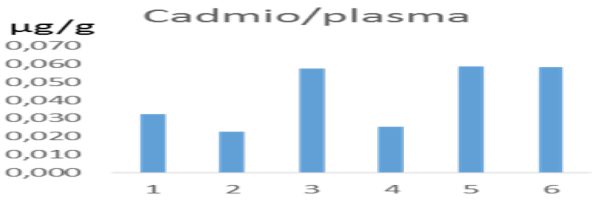
Gráfica 3. Concentración de metales pesados en el plasma de crías de cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii)

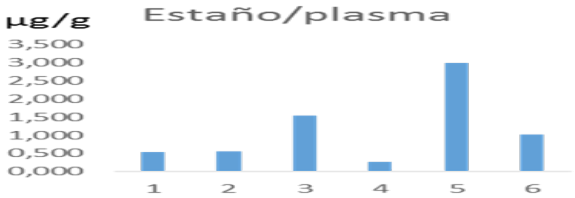




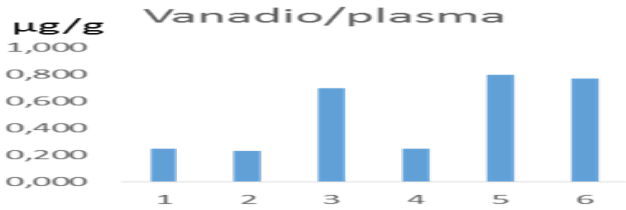


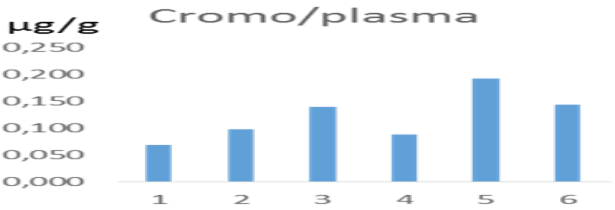


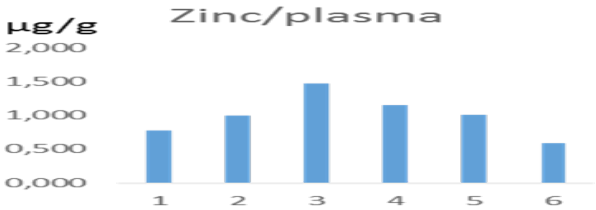


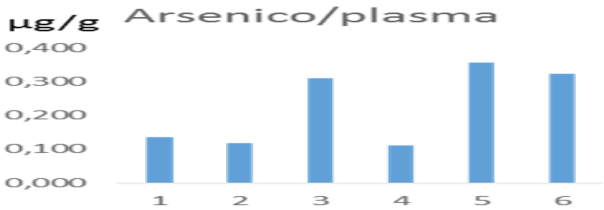


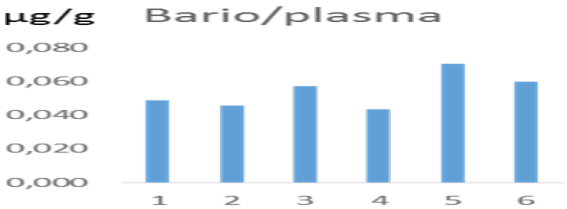
Gráfica 3. Concentración de metales pesados en el plasma de crías de cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii) (continuación)











En las muestras analizadas se detectó la presencia de metales pesados algunos como el mercurio se encontró en baja concentración en los organismos, sin embargo la concentración fue elevada mayormente en el agua y posterior en el suelo de la zona de nidación.

El mercurio en el agua tuvo concentraciones mayores a 8000 µg/L, mientras para el sedimento 1.200 µg/g y en el plasma de cocodrilo se encontraron concentraciones 0.080 µg/L siendo en el plasma las concentraciones más bajas.

El magnesio fue el metal de mayor abundancia en el suelo y agua de la laguna de las Ilusiones, en el plasma de cocodrilo de pantano en tres de los individuos muestreados estuvo sumamente elevada (0.800 µg/L).

El vanadio (poco común en la naturaleza) en la determinación para el presente estudio se encontraron concentraciones mayores de 10µg/L en el plasma de las crías de cocodrilo, y concentraciones mayores de 100 µg/L en el agua y 120 µg/g en el suelo de la laguna de las Ilusiones, de acuerdo con El Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH) de los Estados Unidos de América recomienda que debe considerarse peligroso para la salud y la vida un nivel de 35 $mg/m^{3.}$

Referente al cromo las concentraciones en el sedimento fueron mayores (120 µg/g) que las encontradas en el plasma de crías de cocodrilo (0.200 µg/L), no siendo dañino para la salud de los cocodrilos, mientras que el agua la concentración fue de (12 µg/L).

El fierro se encontró por encima de los valores de referencia, superando la dosis letal de 50 µg/g tanto en el suelo y agua así como en el plasma de las crías de cocodrilo (4000 µg/g) (4000 µg/L) y (3200 µg/L) respectivamente.

Respecto al cobre, este metal se encuentra dentro del rango de detección del método, sin embargo las concentraciones son bajas en el plasma de crías de cocodrilo (0. 0681 µg/L), habiendo presencia pero no una concentración letal, lo mismo pasa para el agua con una concentración (0.261 µg/L), mientras que en el sedimento se encontraron concentraciones superiores a 10 µg/g.

El Zinc tiene un papel importante en el crecimiento y desarrollo del tejido del embrión, en el estudio se encontraron concentraciones inferiores a la referencia (21.15 µg/L) en el plasma de tortugas marinas Ozdilek y Ozdilek (2007), mientras que para el suelo se encontraron valores superiores a 197 µg/g.

La concentración de Arsénico en el agua de la laguna de las ilusiones sobre pasa a las concentraciones permisibles de As (10 µg/L) en el presente estudio obtuvimos concentraciones superiores a 33.90 µg/L teniendo en el agua la mayor concentración de este metaloide, para el plasma de cocodrilos y en el suelo de la laguna de las ilusiones se encuentra por debajo de los límites permisibles con (0.310 µg/L) y (3.83 µg/g) respectivamente.

Las concentraciones de cadmio en el agua es relativamente alta 10 µg/L, para el presente estudio, se encontraron concentraciones en el agua (6.00 µg/L), mientras que para las concentraciones de suelo y plasma de crías de cocodrilo se encontraron (11.083 µg/g) y (0.025 µg/L) respectivamente.

Para el estaño se encontraron valores referentes a la concentración en agua de (70.00 µg/L) mientras que para el plasma de las crías de cocodrilo (3 µg/L) y finalmente en el sedimento la concentración de metal fue (6 µg/g).

El bario lo encontramos en concentraciones de (120 µg/L) en el agua, (200 µg/g) en el sedimento y de (0.080 µg/L) en el plasma.

Para los niveles referentes a plomo en cuerpos de agua ríos o lagunas es de 3 a 30 µg/L, y las concentraciones en seres vivos no debe ser mayor de 10 µg/L según la organización mundial de salud, 2010, en el presente estudio fueron de 7.29 µg/L encontrados en agua, 16.32 µg/g en suelo y 0.056 µg/L en el plasma de crías de cocodrilo.

Finalmente las concentraciones de uranio en el agua fueron (0.007 µg/L), mientras que en el sedimento las concentraciones encontradas (1 µg/g) y en el plasma la concentración fue (0.15 µg/L).

12. Discusión

En el análisis realizado se detectaron metales pesados en el agua y sedimento de la laguna de las ilusiones, así como en el plasma de crías de cocodrilo de pantano (Crocodylus moreletii).

La exposición a estos metales pesados ha provocado serios problemas a las poblaciones de vida silvestre, ya que los organismos están expuestos a estos contaminantes provocándoles anormalidades congénitas, anormalidades del aparato reproductor en ejemplares jóvenes, embriones con desarrollo sexual interrumpido, trastornos del SNC, feminización/masculinización de los embriones e incluso la muerte (Gross *et al.,* 1994; Guillette *et al.,* 1994; Guillette *et al.,* 1996; Guillette *et al.,* 1999; Cambell, 2003; Gunderson *et al.,* 2004).

La contaminación del agua por metales pesados deriva de actividades antropogénicas que alteran la calidad del agua produciendo efectos negativos en la biota. Los metales pesados tienden a formar asociaciones con sustancias minerales (carbonatos y sulfatos, mediante intercambio iónico, adsorción, quelacion y formación de combinaciones químicas como el cadmio, el zinc y el arsénico (Forstner et al., 1980).

La adsorción de los metales pesados está fuertemente ligada al pH del suelo y por lo tanto también su solubilidad (Arce García, 2000) en pH alcalinos como los que presenta el suelo de este testudio pueden disminuir la toxicidad metálica por precipitación como carbonatos.

La materia orgánica en el sustrato puede adsorber algunos metales como el Cu (Arce-García, 200) en la caracterización del suelo de la laguna de las Ilusiones tenemos como resultado una gran cantidad de materia orgánica, relacionando así, la alta concentración del Cu en el sedimento.

Las concentraciones de Zinc y Vario en el sedimento son los metales con mayor biodisponibilidad reportado en un estudio por (García y Ríos en el 2001), (Gonzalez-Bucio, et al., 2006) encontraron también en sedimento en la bahía de Chetumal Hg, Pb, Cd y Zn, en este trabajo se encontraron en concentraciones mayores principalmente el Hg,Cd y el Pb en el sedimento.

Wolfe y colaboradores (1998) mencionan que en reptiles, el Zn tiene un papel importante en el crecimiento y desarrollo del tejido del embrión y que el Cd, Hg y Pb son particularmente tóxicos en este periodo clave del desarrollo. En el presente estudio se encontraron concentraciones elevadas de los mismos metales.

Sin embargo, (Guirlet y colaboradores, 2008) encontraron una correlación significativa entre Cd y Se, y sugieren que el Se pueda tener un papel importante en el desarrollo del embrión y su relación con el Cd puede estar relacionada con el transporte de proteínas, como albumina y vitelogenina. Además, se sabe que el Se, al interactuar con el Cd, disminuye la toxicidad (Sasakura y Suzuki, 1998).

El cadmio es también asociado con defectos óseos, tales como: osteomalacia, osteoporosis y efectos renales, pueden ocurrir como consecuencia de inhalación sub-crónica por exposición al cadmio y sus compuestos (McCluggage, 1991;INECAR, 2000; European Union, 2002; Young, 2005).

Burger y Eirchhorts en 2005 mencionaron que el cadmio causa fallas en la espermatogénesis, así como toxicidad en vertebrados encontrándose principalmente en el hígado.

El Pb provoca disminución en la supervivencia, tasa de crecimiento y metabolismo en vertebrados (Eisler, 1988), en el caso de tortugas marinas se detectaron niveles de Pb en huevo con deformidades mayores a 10ppm, mientras que para el presente estudio se detectaron valores de 0.056 ppm en el plasma de las crías de cocodrilo.

En una especie de lagartija (Marco y colaboradores en 2004), encontraron que las madres transfirieron As a las crías en concentraciones bajas a través del huevo, encontraron una correlación positiva entre la concentración de As en el agua del sedimento, el huevo y las crías, además encontraron que la concentración era mayor en el huevo que en las crías. Mientras que el As en el presente estudio se encontró una concentración (0.310 µg/L) en el plasma de las crías de cocodrilo.

13. Conclusiones

Es importante continuar con estudios referentes a los metales pesados y su presencia en el suelo y agua de la laguna de las Ilusiones, para proponer un saneamiento de la misma, disminuyendo así la contaminación ambiental y recuperando las poblaciones de animales silvestres que en ella habitan.

Las concentraciones de metales pesados en el estudio son altas en comparación con otros estudios donde las dosis no superan las concentraciones de riesgo para la salud, teniendo así una probable causa de disminución de ejemplares, derivados de problemas por contaminación.

La presencia de metales pesados se encuentran tanto en el entorno (hábitat) suelo y agua de la laguna de las Ilusiones, como se muestra en este estudio, así como, en el plasma de las crías de cocodrilo, dándose así una transferencia del medio ambiente a los huevos durante el periodo de incubación, importantes para el desarrollo embrionario, como lo demuestran también en estudios realizados en aves, lagartijas y tortugas, provocando así anormalidades en las crías, bajo peso al nacimiento, disminución en la eclosión de los huevos, feminización o masculinización de los embriones y muerte embrionaria.

Literatura Citada

1. Abbott, D.H., Barnett, D.K., Bruns, C.M., and Dumesic, D.A. 2005. Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental etiology for polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update:* 11:357–374.

2. Abernathy OCh, Liu YP, Longfellow D, Aposhian VH, Beck B, Fowler B, *et al.* 1999. Arsenic: Health effects mechanisms of actions and research issue. *Environ Health Perspect*;107:593-7.

3. Aguilar, X. 1995. Efecto de la temperatura de incubación sobre la determinación del sexo en *Crocodylus acutus* y *C. moreletii*. Bol. Soc. Herpetol. Mex. 6(2): 43.

4. Akiyama, M., Oshima, H., y Nakamura, M. 2001. Genotoxicity of mercury used in chromosome aberration tests. Toxicol In Vitro 15: 463-467.

5. Álvarez del Toro, M. 1974. *Los Crocodylia de México*. Inst. Mexicano de los RecursosNaturales Renovables, A.C. México, 70 pp.

6. Álvarez del Toro, M. y Sigler, L. 2001. Los *Crocodylia* de México. Inst. Mexicano de los Recursos Naturales Renovables, A.C. México, 70 pp.

7. Anderson, J.M. and Ingram, J.S.I. 1996. "Tropical Soil Biology and Fertility. A Hand- book of Methods". CAB International U.K.

8. Antila E, Mussalo-Rauhamaa H, Kantola M, Atroshi F and Westermarck T, 1996. Association of cadmium with human breast cancer. Sci Total Environ 186:251–256.

9. Ashpole, S.L., C.A. Bishop y R.J. Brooks. 2004. Contaminant Residues in Snapping Turtle (Chelydra s. serpentina) Eggs from the Great Lakes-St. Lawrence River Basin (1999 to 2000). Archives of Evironmental Contamination and Toxicology 47: 240-252.

10. Beyersmann, D., y Hartwig, A. 1994. Genotoxic effects of metal compounds. Arch Toxicol Suppl 16: 192- 198.

11. Billing, K.J., Phelps, R.J. 1972. Records of chlorinated hydrocarbon pesticide levels from animals in Rhodesia. Proc. Trans. Rhodesia Scientif. Ass. 55:6-9.

12. Black, C. A. 1965. "Methods of Soil Analysis " Part 2 Chemical and Microbiological Properties. Number 9 in the series Agronomy. American Society of Agronomy. USA.

13. Boffetta, P. 1993. Carcinogenicity of trace elements with reference to evaluations made by the International Agency for Research on Cancer. Scand J Work Environ Health 19 Suppl 1:67-70.

14. Byrne C, Divekar S D, Storchan G B, Parodi D A and Martin M B, 2009. Cadmium – a metallohormone?. Toxicol Appl Pharmacol 238(3): 266–271.

15. Cambell, K.R. 2003. Ecotoxicology of crocodilians. Applied Herpetology 1:45-163.

16. Casa-Andreu, G.; Guzmán Arroyo, M. 1970. Estado actual de las investigaciones sobre cocodrilos mexicanos. Boletín del Instituto Nacional de Investigaciones Biológicas Pesqueras. Serie de Divulgación 3:1-52.

17. Casalino E, Sblano C and Landriscina C, 1997. Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: The possibility of iron involvement in lipid peroxidation. Arch Biochem Biophys 346(2):171-9.

18. Chapman, H. D. ; Pratt, P. F. 1984. "Métodos de Análisis para Suelos, Plantas y Aguas" Editorial Trillas. México.

19. CITES 1973. Convención Sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre. Ed. CITES. 7 pp.

20. CITES 1995. Identification Guide. Crocodilians, Publish Enviroment Canadá.

21. CITES 1995. The Evolution of CITES. Ed. CITES, Ginebra, Suiza. 284 pp.

22. Cohen, M. D., Bowser, D. H., y Costa, M. 1996. Carcinogenicity and genotoxicity of lead, berilium, and other metals. In Toxicology of metals. Louis W. Chang, L. Magos, Tsuguyoshi Suzuki (ed). CRC Press, pp. 253-286.

23. Colborn, T. 1995. Pesticides-how research has succeeded and failed to translate science into policy: endocrinological effects on wildlife. Environ Health Perspect. 103:81-85.

24. COMACROM 2001. Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de los Crocodylia en México.

25. CONABIO 2011. Programa de monitoreo del Cocodrilo de Pantano *(Crocodylus moreletii)* Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

26. CONABIO 2010. Taller Trinacional México-Guatemala-Belice sobre el Programade Monitoreo del Cocodrilo de Pantano (*Crocodylus moreletii*), 201. Documento de Acuerdos. CONABIO, México, D. F. 18 pp.

27. Crespo-López, M. E., Herculano, A. M., Corvelo, T. C., y Do Nascimento, J. L. 2005. Mercury and neurotoxicity. Rev Neurol 40: 441- 447.

28. Danzo BJ. 1998. The effects of environmental Hormones on reproduction. Cell Mol Life Sci 54:1249-1264.

29. De Flora, S., Bennicelli, C., y Bagnasco, M. 1994. Genotoxicity of mercury compounds. A review. Mutat Res 317: 57- 79.

30. De Solla, S.R., C.A, Bishop, G. Van Der Kraak y R.J. Brooks. 1998. Impac of Organochlorine contamination on levels of sex hormones and external morphology of common snapping turtles

(Chelydra serpentina serpentina) in Ontario, Canada. Environmental Health perspectives 106: 253-260.

31. Diario Oficial de la Federación (D.O.F) 2002. NOM-ECOL-2001.

32. Döhler, K.D., Hancke, J.L., Srivastava, S.S., Hofmann, C., Shryne, J.E. and Gorski, R.A. 1984. Participation of estrogens in female sexual differentiation of the brain: neuroanatomical, neuroendocrine, and behavioral evidence. *Prog Brain Res:* 61: 99-117.

33. Domínguez -Lasso, J. 2006. Determinación del estado de las poblaciones silvestres del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) en México y evaluación de su Status en la CITES. Instituto de Historia Natural y Ecología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No.CS009, México. D.F.

34. Domínguez, R. I. ; Aguilera, H. N. 1985. "Metodología de Análisis Físico-Químicos de Suelos" UNAM. Facultad de Ciencias. Biología. México.

35. Elvira B y A. Almodóvar. 2008. La proporción de machos en algunos peces puede aumentar por el cambio climático. Trofeo Pesca. Nº 166, págs. 134,135.

36. EPA (Environmental Protection Agency). 1999. Special Report on Environmental Endocri- ne Disruption: an effects assessment and analysis. Washington, D.C.: EPA.

37. Ercal, N., Gurer-Orhan, H., y Aykin- Burns, N. 2001. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal induced oxidative damage. Curr Top Med Chem 1: 529- 539.

38. Facamire, C.F., T.S. Gross y I.J.J. Guillete. 1995. Reproductive impairment in the Florida panther: nature or nurture? Environmental Health Perspective 103: 79-86.

39. Faeth, S.H., P.S. Warren, E. Shochat y W.A. Marussich. 2005. Trophic dynamics in urban communities. *Bioscience* 55:399.

40. Ferguson, M.J. y T. Joanen 1982. Temperature of egg incubation determines sex in (*Alligator mississippiensis*). *Nature*, Vol. 296: 850-852.

41. Fernández MF, Rivas A, Pulgar R, Olea N. 2001. Human expo- sure to endocrine dirupting chemiclas: The case of bis- phenols. En Nicolopoulou-Stamati P, Hens L, Howard CV editores. Endocrine.Disrupters, environmental health and policies, Kluwer Academic Publishers. Holanda; p.149-69.

42. Ferri V. y A. Dell´ Acqua. 1993. El terrario y el Acuaterrario. Edit. De Vecchi, S. A. Barcelona. pp.158. Free Radic Biol Med. 18: 321- 336.

43. García-Morales P, Saceda M, Kenney N, Salomon D S, Kim N, Salomon D S, Gottardis M M, Solomon H B, Sholler P F, Jordan V C and Martin M B, 1994. Effect of cadmium on estrogen receptor levels and estrogen-induced responses in human breast cancer cells. J Biol Chem 269:16896–16901.

44. Garza A, Chávez H, Vega R, Soto E. 2005. Mecanismos celulares y moleculares de la neurotoxicidad por plomo. *Salud Mental*; 28:48-58.

45. Goering P L, Waalkes M P and Klaassen C D, 1995.Toxicology of cadmium, in: Toxicology of Metals: Biochemical Aspects, Handbook of Experimental Pharmacology, Goyer RA, Cherian MG (eds), Springer, New York, 189–213.

46. González F, Schalscha E, Becerra J, Silva M. 2002. Mercury in a marine trophic chain. Bull Environ Contam Toxicol.; 68: 448-454.

47. Goyer RA, Clarsksom WT. 2001. Toxic effects of metals. En: Klaassen CD editor. Casarett and Doull's Toxicology. The basic Science of poisons. New York: McGraw-Hill,;811-67.

48. Gray, G.D., Davis, H.N. and Dewsbury, D.A. 1976. Masculine sexual behavior in male and female rats following perinatal manipulation of androgen: effects of genital anesthetization and sexual experience. *Horm Behav:* 7:317–329.

49. Gross, T.S., L.J.J. Guillette, H.F.Percival, T.S. Masson, G.R. Matter y A.R. Woodward. 1994. Contaminant-induced reproductive anomalies in florida. Comp. Path. Bull. 26:6-8.

50. Guillete, L.J.J., D.B. Pickford, D.A. Crain, A.A. Rooney y M.F. Percival. 1996. Reduction in penis size and plasma testosterone concentration in juvenile Alligators living in a contaminated enviroment general and comparative. Endocrinology 101:32-42.

51. Guillette L. J. Jr. and M. P. Gunderson. 2001. Alterations in development of reproductive and endocrine systems of wildlife populations exposed to endocrine-disrupting contaminants. Reproduction 122(6):857-864.

52. Guillette LJ Jr, Gross TS, Masson GR, Matter JM, Percival HF, Woodward AR. 1994. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. Environ Health Perspect 102:680-688.

53. Guillette, L.J., Brock, J.W., Roonet, A.A., Woodward, A.R. 1999. Serum concentrations of various environmental contaminants and their relationship to sex steroid concentrations and phall size in juvenile American alligators. Arch Environ. Contam. Toxicol. 36: 447-455.

54. Gunderson, M.P., D.S. Bermudez, T.A. Bryan, S. Degala, T.M. Edwards, S.A. E. Kools, M.R.Milnes, A.R.Woodward y L.J.J.Guillette. 2004. Variation in sex steroid and phallus size in juvenile alligator (Alligator mississippiensis) collected from 3 sites witthing the Kissmmee-everglades drainage in Florida (USA). Chemosphere 56: 335-345.

55. Gwalteney-Brant SM. Heavy Metals. 2002 En: Haschek WM, Rosseaux CG, Wallig AM, editors. Handbook of Toxicologic Pathology. New York. *Academic Press*:701-32.

56. Hadley, M. 1992. Endocrinology (3rd edition ed). New York: Prentice Hall.

57. Hartwig A, Pelzer A, Asmuss M, Burkel A. 1998. Very low concentrations of arsenite suppress poly ADP-ribosylation in mammalian cells. *International J Cancer*;104:1-6.

58. Hartwig, A., y Schwerdtle, T. 2002. Interactions by carcinogenic metal compounds with DNA repair processes: toxicological implications. Toxicol Lett 127: 47-54

59. Hazelton, P. and Murphy, B. "Interpreting Soil Test Results. What Do All The Numbers Mean.

60. Heinz, G.H., Percival, H.F., Jennings, M.L. 1991. Contaminants in American alligator eggs from Lake Apopka, Lake Grif'n, and Lake Okeechobee, Florida. Eviron. Monitor. Assess. 16: 277-285.

61. Henson M C and Anderson M B, 2000. The effects of cadmium on placental endocrine function. Recent Res Dev Endocrinol 1:37–47.

62. Herrera Gutiérrez, H; Vergara Onofre, M; Rosado García, A; Rosales Torres, A.M. 2005. Diferenciación sexual en el sistema nervioso central. Veterinaria México, julio- septiembre, año/vol. 36. Num.003, Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 339-360.

63. Himeno S, Yanagiya T, Enomoto S, Kondo Y and Imura N, 2002. Cellular cadmium uptake mediated by the transport system for manganese. Tohoku J Exp Med 196(1):43-50.

64. INEGI 2006. Centro Tabasco: cuaderno estadístico municipal 2006 /Gobierno del Estado de Tabasco. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. H. Ayuntamiento Constitucional de Centro.

65. Instituto Nacional de Ecología (INE). 1999. Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de los Crocodylia en México. SEMARNAP, México.

66. Joanen, T. y L. McNease. 1981. Culture of the American alligator. Intl. Zoo Yearbook, 19: 61-66.

67. Josso, N., Cate, R.L., Picard, J.-Y., Vigier, B., di Clemente, N., Wilson, S., Imbeaud, R.B., Pepinsky, D., Guerrier, L., Boussin, N., Legeai, L. and Carro Eushbe. D. 1993. Anti-Mfillerian hormone the Jost factor. *Recent Prog. Horm. Re:* 48: 1-59.

68. Kakita A, Inenaga C, Sakamoto M, Takahashi H. 2002. Neuronal migration disturbance and consequent cytoarchitecture in the cerebral cortex following transplacental administration of methylmercury. Acta Neuropathol; 104: 409-417.

69. Klaassen C D, Liu J and Diwan B A, 2009. Metallothionein protection of cadmium toxicity. Toxicol Appl Pharmacol 238(3):215-20.

70. Koller L D, 1998. Cadmium. In: Immunotoxicology of Environmental and Occupational Metals. Zelikoff J T, Thomas, P T (eds.), Taylor & Francis, London, 41–61.

71. Kumar V, Majumdar C, Roy P. 2008. Effects of endocrine disrupting chemicals from leather industry effluents on male reproductive system. J Steroid Biochemistry Mol Biol 111: 208-216.

72. Kuntz S., A. Chesnel, S. Flament and D. Chardard. 2004. Cerebral and d gonadal aromatase expressions are differently affect during sex differentiation of Pleurodeles walti. J. Mol. Endocrinology 33(3):717-727.

73. Lance, V. A. 1998. Sex determination in reptiles: an Update. Amercian Zoologist 37:504-513.

74. Lance, V. A. 2003. Alligator physiology and life history: the importance of temperature. Experimental Gerontology, 38: 801-805.

75. Lang, J.W. y H.V. Andrews. 1994. Temperature-dependent sex determination in Crocodilians. The Journal of Experimental Zoology 270: 28-44.

76. Langevelde F.V. y C.F. Jaarsma. 2004. Traffic flow Theory to Model Traffic Mortality in Mammals. Landscape Ecology 19:895–907.

77. Ling X, Zhang Y, Lu Y and Huang H, 2011. Superoxide dismutase, catalase and acetylcholinesterase: biomarkers for the joint effects of cadmium, zinc and methyl parathion contamination in water. Environ Technol 32(13-14):1463-70.

78. López-Luna, M.A. 2010. Ecología termal de la anidación de Cocodrilo de Pantano (Crocodylus moreletii) en la Laguna de las Ilusiones, Villahermosa, Tabasco. Tesis de Maestría. División Académica de Ciencias Biológicas. UJAT. 106 pp.

79. MacLusky, N.J. 1988. Developmental actions of gonadal steroids. *Prog Clin Biol Res:* 281: 243-263.

80. MacLusky, N.J. and Naftolin, F. 1981. Sexual differentiation of the central nervous system. *Science*: 211:1294–1302.

81. Majewski, M.S y P.D.Capel. 1995. Pesticides in the atmosphere-distribution, trends and goveming factors. Ann. Arbot: Press, Inc, Chelsea, Mich.

82. Martin M B, Reiter R, Pham T, Avellanet Y R, Camara J, Lahm M, Pentecost E, Pratap K, Gilmore B A, Diverakar S, Dagata R S, Bull J L and Stoica A, 2003. Estrogen-like activity of metals in MCF-7 breast cancer cells. Endocrinology 144:2425–2436.

83. Matter, J. M., D.A.Crain, C. Sills-McMurry, D.B.Pickford, T.R.Rainwater, K.D.Reynolds, A.A.Rooney, R.L.Dicjerson y L.J.J.Guillette. 1998. Effects of endocrine-disrupting contaminants in reptiles: alligators. Pages 267-287 en R.J:Kendall, R.L.Dickerson, J.P.Giesy y W.P.Suk, editors. Principles and processes for evaluating edocrine disruption in wildlife. SETAC Press.

84. McLachlan, J. 2001. Environmental signaling: what embry- os and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals. Endocrine Rev. 22: 319-341.

85. Miles, R.M., A.r. Woodward, A.A. Rooney and L.J. Guillette. 2002. Plasma steroid concentrations in telation to size and age in juvenile alligators from two florida lakes. Cmparative biochemistry and Physiology. Part A 131, 923-930.

86. Miller D., J. Summers y S. Silber. 2004. Environmental Versus Genetic Sex Determination: A Possible Factor in Dinosaur Extinction? Fertility & Sterility. 81(4):954-964.

87. Miramontes, F. B. 2008 “Manual de Técnicas Selectas de Análisis Químicos y Físicos de Suelos” Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de Salud. Departamento de Producción Agrícola y Animal.

88. Miramontes, F. B. 2010 “Manual de Técnicas Selectas de Análisis Químicos y Físicos de Suelos” Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de Salud. Departamento de Producción Agrícola y Animal.

89. Mishina, Y., Rey, R., Milton, J.F. Martin, M.M. Josso, N., Cate, R.L. and Behringer, R.R. 1996. Genetic analysis of the Miillerian-inhibiting substance signal transduction pathway in mammalian sexual differentiation. *Genes Dev:* 10: 2577-2587.

90. Mode, A., Gustafsson, J.A., Sodersten, P., and Eneroth, P. 1984. Sex differences in behavioural androgen sensitivity: possible role of androgen metabolism. *J. Endocrinol*: 100: 245-248.

91. Montano, M.M., Welshons, W.V. and vom Saal F.S. 1995. Free Estradiol in Serum and Brain Uptake of Estradiol during Fetal and Neonatal Sexual Differentiation in Female Rats. *Biology of Reproduction*: 53: 1198-1207.

92. Moore, N.W. 1965. In birds-a review of the situation in Great Britan in 1965. Bird Study. 222-252.

93. Moreno-Mendoza, N., V. R. Harley and H. Merchant-Larios. 2001. Temperature regulates Sox9 expression in cultured gonads of Lepidochelys olivacea, a species with temperature sex determination. Dev. Biol., 229:319-326.

94. Muñoz deToro, M.; Beldoménico, H.R., García, S.R., Stoker, C.; De Jesús, J.J., Beldoménico, P.M Ramos, J.G., Luque, E.H. 2006. Organochlorine levels in adipose tissue of women from a littoral region of Argentina. Environ Res. 102(1):107-12.

95. Murray, J.D. 2004. Temperature-dependent Sex Determination (TSD): Corcodilian SurvivorShip. Pages 552 en Mathematical Biology. An Introduction. Springer.

96. Myers, J.P., J.J.Guillette, P. Palanza, S.Pamigiani, S.H.Swan y F.S.Vom Sall. 2003. The emerging science of endocrine disruption. En A. Zichichi, editor. International Seminar on Nuclear War and Planetary Emergencies 28th Session, Erice, Italy.

97. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-021-RECNAT-2001. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad, clasificación, muestreo y análisis de suelos.

98. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano - límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización".

99. O´Brien, H.M. 1990. Ecología. Política/ Cultural. 2:5. Ed. Regina de las Ángeles. S.A. Mexico, D.F. 32-34 pp.

100. Ogden, J.C., Robertson, W.B., Davis, G.E., Schimidt, T.W. 1974. Pesticides, polychlorinated biphenyls and heavy metals in upper food chain levels, Everglades National Park and vicinity. U.S. Department of the Inteior, National Park Service, Atlanta, Georga.

101. Pacheco de la Cruz, C. 1996. Análisis Preliminar sobre el estado actual de la población de *Crocodylus moreletii* en la Laguna de Las Ilusiones, Villahermosa, Tabasco, 40. México. Tesis Licenciatura. División Académica De Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

102. Padrón-Rivera , 2004. Calidad del agua en la laguna de las ilusiones y su relación con la distribución delmanatí (*Trichechus m. manatus*) en el municipio del Centro, Tabasco. Tesis de licenciatura en Ecología, Unidad Sierra, División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, 102 pp.

103. Palmer, R.; Troeh, F. 1977 "Introductory Soil Science Laboratory Manual" Second edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa U.S.A.

104. Pedersen MB, Hansen JC, Mulvad G, Pedersen HS, Gregersen M, Danscher G. 1999. Mercury accumulations in brains from populations exposed to high and low dietary levels of methylmercury. Int J Circumpolar Health. 58: 96-107.

105. Phelps, R.J., Focardi, S., Fossi, S., Leonzio, C., Renzoni, A. 1986. Chlorinated hydrocarbons and heavy metals in crocodile eggs Zimbabwe. Trans. Zimbabwe Scient. Assoc. 63: 8-15.

106. Pieau C., and M. Dorizzi. 2004. Oestrogens and temperature-depend sex determination in reptiles: All is in the gonads. J. Endocrinol., 181:367-377.

107. Piña, C.I; Larriera A, Cabrera R, Medina M, Grahame, J.W. 2007. Effects of Incubation Temperature on the Size of Caiman latirostris(Crocodylia: Alligatoridae) at Hatching and after One Year. Journal of Herpetology, Vol. 41, No. 2, pp. 205–210.

108. Poliandri A B, Machiavelli L I, Quinteros A F, Cabilla J P and Duvilanski B H, 2006a. Nitric oxide protects the mitochondria of anterior pituitary cells and prevents cadmium-induced cell death by reducing oxidative stress. Free Radic Biol Med 40:679 – 688.

109. Poliandri A H, Velardez M O, Cabilla J P, Bodo C C, Machiavelli L I, Quinteros A F and Duvilanski B H, 2004. Nitric oxide protects anterior pituitary cells from cadmiuminduced apoptosis. Free Radic Biol Med 37:1463-1471.

110. Polo, C. 2000. "Estadística Multivariable Aplicada". Ed. EPOP Terraza.

111. Rainbow, P.S. 1993. Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Elsevier, New York. 371 pp.

112. Rainwater. T.R., T.H.Wu, A.G.Finger, J.E.Cañas, L.Yu, K.D.Reynolds, G.Coimbatore, B. Barr, S.G.Platt, G.P.Cobb, T.A.Anderson y S.T.McMurry. 2007. Metals and organochlorine pesticides in caudal scutes of cocodriles from Belize and Costa Rica. Science of the Total Environment 373: 146-156.

113. Rayment G E, 1995. Sources of cadmium in agricultura products. National Cadmium Workshop. DPIE/NFA Canberra, Australia.

114. Richter, C.A.; Birnbaum, L.S.; Farabollini, F.; Newbold, R.R.; Rubin, B.S.; Talsness, C.E.; Vandenbergh, J.G.; Walser-Kuntz, D.R.; vom Saal, F.S. 2007. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. Reprod Toxicol 24:199- 224.

115. Ríos R, Zarazúa S, Santoyo ME, Sepúlveda-Saavedra J, Romero- Díaz V, Jiménez V, et al. 2009. Decreased nitric oxide markers and morphological changes in the brain of arsenic-exposed rats. Toxicology 261:68-75.

116. Rodríguez VM, Jiménez-Capdeville ME, Giordano M. 2003. The effects of arsenic exposure on the nervous system. Toxciol Lett;145: 1-18.

117. Ross, J.P., 1998. Crocodiles Status Survey and Conservation Action Plan. 2nd Edition. IUCN/SSC Crocodile Specialist Group. IUCN, Gland,Suiza y Cambridge, Inglaterra. 96 pp.

118. Sakellarides, T.M., I.K.Konstantinou, D.G.Hela, D.Lambropoulou, A.Dimou y T.A. Albanis. 2006. Accumulation profiles of persistent organochlorines in liver and fat tissues of various waterbird species from Greece. Chemosphere 63: 1392-1409.

119. Salame-Méndez, A., F. Méndez-de la Cruz, G. Aguirre-León y H. Serrano. 2008. Disrupción endocrina de la diferenciación sexual. Contacto S 70:43–49.

120. Sarre S. D., A. Georges and A. Quin. 2004. The ends of a continuum: genetic and temperature- dependent sex determination in reptiles. BioEs-says 26:639-645.

121. Satarug S, Baker J R, Urbenjapol S, Haswell-Elkins M, Reilly P E B and Willians D J, 2003. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. Toxicol Lett 137: 65–83.

122. Satoh M, Koyama H, Kaji T, Kito H and Tohyama C, 2002. Perspectives on cadmium research. Tohoku J Exp Med 196:23–32.

123. SEMARNAT, 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 Protección Ambiental- Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías De Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista De Especies En Riesgo. Miércoles 6 de marzo de 2002. Diario Oficial (Segunda Sección).

124. Sepúlveda, M.S., J.J.Wiebe, D.C.Honeyfield, H.R.rauschenberger, J.P.Hinterkopf, W.E.Johnson y T.S.Gross. 2004. Organochlorine Pesticides and Thiamine in Eggs of Largenmouth Bass and American Alligators and Their Relationship with Early Life-stage Mortality. Journal of Wildlife Diseases 40: 782-786.

125. Shochat, E., P.S. Warren, S.H. Faeth, N.E. McIntyre y D. Hope. 2006. From patterns to emerging processes in mechanistic urban ecology. Trends in Ecology and Evolution 21(4):186-191.

126. Shoemaker, J. Queen y D. Crews. 2008. Their Involvement in the Molecular Network Underlying Temperature-Dependent Sex. Determination". Molecular Endocrinology. 21(11), 2750-2783.

127. Sigler, L. 2001. Los Crocodylia de México. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. Procuraduría Federal de Protección Ambiental. México.

128. Silbergeld EK. . 1992Mechanisms of lead neurotoxicity, or looking beyond the lamppost. FASEB J.; 6: 3.201-3.206.

129. Silbergeld, E.K.; Flaws, J.A.; Brown, K.M. 2002. Organizational and activational effects of estrogenic endocrine disrupting chemicals. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro 18:495-504.

130. Simpson B.K. y S. Han, 2004. Siamese crocodile (Crocodylus siamensis) surveys in Cambodia. Pp 110-120. En Crocodiles. Proceeding of the 17th Working Meeting Crocodile of the IUCN-SSC Crocodile Specialist Group. Darwin. IUCN: Gland.

131. Singh, J., Y Snow, E. T. 1998. Chromium(III) decreases the fidelity of human DNA polymerase beta. Biochemistry 37: 9371- 9378.

132. Skerfving, S., y Bergdahl, I. A. 2007. Lead. In Handbook of the toxicology of metals. G. Nordberg, B. Fowler, M. Nordberg y L. Friberg (eds). Third Edition edn. Elsevier Inc., pp. 599- 643.

133. Sokolowski, A., A.S.Bawazir y M.Wolowicz. 2004. Trace Metals in the Brown Mussel Perna perna from the Coastal Waters off Yemen (Gulf of Aden): How concentrations are Affected by Weight. Sex, and Seasonal Cycle. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 46: 67-80.

134. Spinks P.Q., G.B. Pauly, J.J. Crayon y H.B Shaffer. 2003. Survival of the Western Pond Turtle (*Emys marmorata*) in an Urban California Environment. Biological Conservation 113:257–267.

135. Stasenko S, Bradford E M, Piasek M, Henson M C, Varnai V M, Jurasović J and Kusec V, 2010. Metals in human placenta: focus on the effects of cadmium on steroid hormones and leptin. J Appl Toxicol 30(3):242-53.

136. Stohs, S. J., y Bagchi, D. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Mol Endocrinol

137. Stoica A, Katzenellenbogen B S and Martin M B, 2000. Activation of estrogen receptoralpha by the heavy metal cadmium. Mol Endocrinol 14:545–553.

138. Stoker, C., F. Rey, H. Rodriguez, J.G. Ramos, P. Sirosky, A. Larriera, E.H. Luque y M. Muñoz-de-Toro. 2003. Sex reversal effects on Caiman latirostris exposed to environmentally relevant doses of the xenoestrogen bisphenol. A General and Comparative Endocrinology 133(3):287-296.

139. Stoker, C., P.M. Beldoménico, V.L. Bosquiazzo, M.A. Zayas, F. Rey, H. Rodríguez, M. Muñoz-de-Toro y E.H. Luque. 2008. Developmental exposure to endocrine disruptor chemicals alters follicular dynamics and steroid levels in Caiman latirostris. General and Comparative Endocrinology 156(3):603-612.

140. Tabb, M.M.; Blumberg, B. 2006. New modes of action for endocrine-disrupting chemicals. Mol Endocrinol. 20(3):475-82.

141. Thier, R., Bonacker, D., Stoiber, T., Bohm, K. J., Wang, M., Unger 2003. Interaction of metal salts with cytoskeletal motor protein systems.Toxicol Lett 140- 141: 75- 81.

142. Thomas JD, Styblo M, Lin S. 2001. The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic. *Toxicol Appl Pharmacol* 176:127-44.

143. Torres Maldonado, L; Merchant Larios, H; 2004. Aspectos moleculares de la determinación del sexo en tortugas; Ciencia Ergo Sum, julio-octubre, año/vol. 13, núm. 002. Universidad Autónoma del Estado de México, pp. 176-182.

144. Toscano CD, Guilarte RT. 2005. Lead neurotoxicity: from exposure to molecular effects. *Brain Res Rev* 49:529-54.

145. UICN, 1992. Directory of Crocodilian Farming Operations.Segunda Edición, Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. 341 pp.

146. Vaisman, A., Warren, M. W., Y Chaney, S. G. 2001. The effect of DNA structure on the catalytic efficiency and fidelity of human DNA polymerase beta on templates with platinum-DNA adducts. J Biol Chem 276: 18999- 19005.

147. Valko, M., Morris, H., y Cronin, M. T. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. Curr Med Chem 12: 1161- 1208.

148. Vam Saal, F.S., Montano, M.M. and Wang, M.S. 1992. Sexual differentiation in mammals. Chemically Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife-Human Connection. Princeton, NJ: *Princeton Scientific Pub*: 17-83.

149. Van den Steen, E.; Eens, M.; Geens, A.; Covaci, A.; Darras, V.M.; Pinxten, R. 2010. Endocrine disrupting, haematological and biochemical effects of polybrominated diphenyl ethers in a terrestrial songbird, the European starling (Sturnus vulgaris). Sci Total Environ. 408(24):6142-7.

150. Voogt, J.A. 2002. Urban Heat Island. Pp. 660–666. In: T. Munn (Ed). Encyclopedia of Global Environmental Change, vol. 3. Wiley, Chichester.

151. Wessels, C.L., Tannock, J., Blake, D., Phelps, R.J. 1980. Chlorinated hydrocarbon insecticide residues in *Crocodilus niloticus* Laurentius eggs from Lake Kariba. Trans. Zimbabwe Scient. Assoc. 60: 11-17.

152. Wilson, C.A. and Davies, D.C. 2007. The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. *Reproduction:* 133: 331–359.

153. Woodward, A.R. 1995. DDE, DDD, and DDT concentrations in alligator eggs from Lakes Apopka, Grif n and Orange in 1982. Lake Apopka planning Workshop, Monte Verde, Florida, January 18-19, 1995, St. Jhons Water Management Distric.

154. Wu, T.H., T.R. Rainwater, S.G., Platt, S.T., Mc Murry & T.A. Anderson. 2000ª. DDE in eggs of two crocodile species from Belize. Journal of agriculture and Food Chemistry 48:6416-6420.

155. Wu, T.H., T.R. Rainwater, S.G., Platt, S.T., Mc Murry & T.A. Anderson. 2000b. Organochlorine contaminants in Moreletii Crocodile *(Crocodylus moreletii)* eggs from Belize. Chemistry 40: 671-678.

156. Zang TL, Gao YX, Lu JF, Wang K. 2000. Arsenite, arsenate and vanade affect human erythrocyte membrane. *J Inorg Biochem* 79: 195-203.