

Jorge Alberto Pérez León
(Coordinador)

UACJ



*Ciencia en la frontera:
revista de ciencia y tecnología
de la Universidad Autónoma
de Ciudad Juárez*

DIRECTORIO

Javier Sánchez Carlos
Rector

David Ramírez Perea
Secretario General

Martha P. Barraza de Anda
*Coordinadora General de
Investigación y Posgrado*

Hugo Staines Orozco
Director del ICB

Alejandro Martínez Martínez
*Jefe del Departamento de Ciencias
Químico Biológicas*

Servando Pineda Jaimes
*Director General de Difusión
Cultural y Divulgación Científica*

CONSEJO EDITORIAL
Hugo Staines Orozco
Director General

Jorge Alberto Pérez León
Coordinador Editorial

ESQUEMADO
Marco López Hernández

CONSEJO EDITORIAL INTERNACIONAL

Dra. Leda Carolina Torres Maldonado

Laboratorio de Citogenética, Departamento de Investigación Genética Humana. Instituto Nacional de Pediatría. México, DF, México.

Dra. Alba Yadira Corral Avitia

Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Instituto de Ciencias Biomédicas, UACJ, Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

MC. Paloma Carton de Grammont

Centro de Investigaciones en Geografía Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, México.

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas

Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán, México, DF, México.

Dra. Rosalba Rojas

Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos, México.

Dr. Gilberto Anzuetto Sánchez

Centro de Investigaciones en Ingeniería y Ciencias Aplicadas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México.

Dr. Gaspar Ros

Departamento de Bromatología e Inspección de Alimentos. Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia, España.

Dr. Álvaro Álvarez Parrilla

Matemáticas, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California Ensenada. Baja California, México.

Dr. Roberto González Garduño

Centro Regional Universitario del Suroeste, Universidad Autónoma de Chapingo. San José Puyacatenco, Teapa, Tabasco, México.

Dr. Néstor Ledesma Martínez

Departamento Medicina y Zootecnia y Aves. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Coyoacán, DF, México.

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ / Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Coordinación General de Investigación y Posgrado. Vol. 9. (2011). Ciudad Juárez, Chih.: UACJ, 2012.
v.; 21 cm.
Seriado

Apoyado con Recursos PIFI

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ Vol. 9, Número 1, 2011, es una publicación semestral editada por la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, a través del Instituto de Ciencias Biomédicas y de la Coordinación de Investigación y Posgrado del ICB y el Departamento de Ciencias Básicas. Editor responsable: Luis Fernando Plenge Tellechea. Reserva al uso exclusivo otorgada por INDAUTOR Núm. 04-2010-11301126-0000-102 y el ISSN 2007-042X. Publicidad, anuncios y suscripciones, dirigirse a: *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, Heroico Colegio Militar 3775, 32310, Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Tel. (656) 688 18 85. Copyright © UACJ. Esta obra se terminó de imprimir en septiembre de 2011 en Talleres Gráficos de México, Av. Canal del Norte, No. 80, Col. Felipe Pescador, Delegación Cuauhtémoc, C.P. 06280. México, Distrito Federal. Tiraje: 100 ejemplares.

Los manuscritos propuestos para publicación en esta revista deberán ser inéditos y no haber sido sometidos a consideración a otras revistas simultáneamente. Al enviar los manuscritos y ser aceptados para su publicación, los autores aceptan que todos los derechos se transfieren a *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, quien se reserva los derechos de reproducción y distribución, ya sean fotográficos, en micropelícula, electrónicos o cualquier otro medio, y no podrán ser utilizados sin permiso por escrito de *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*; véase además notas para autores.

Permisos para otros usos: el propietario de los derechos no permite utilizar copias para distribución en general, promociones, la creación de nuevos trabajos o reventa. Para estos propósitos, dirigirse a *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, correo electrónico: fplenge@uacj.mx.

Contaminación y ecotoxicología

Arturo Salame-Méndez, Moisés Andrade-Herrera, José Luis Gómez-Olivares,
Jaime Rendón von Osten, Alondra Castro-Campillo, José Ramírez-Pulido,
Ma. Dolores García-Suárez y Héctor Serrano7

Crecimiento de corderos de lana y pelo del destete hasta los 152 días de edad

E. Jaramillo-López, F. Molinar-Holguín, E. Pérez-Eguía, G. Peraza-Mercado,
S. Martínez-González, H. Macías-Coronel, O. J. Aguirre.21

Identificación de sexo en *Crocodylus acutus* por medio de hormonas esteroideas en heces

H. Hernández-Hurtado, E. Orrantia-Borunda, A. Borrego-Ponce, E. Pérez-Eguía,
F. Molinar-Holguín, J. L. Stephano-Hornedo, P. S. Hernández-Hurtado,
M. Gould-Chambers (†), R. García de Quevedo, J. Romero-González
y R. Rivas-Cáceres27

History of gestational diabetes as risk factor for type 2 diabetes on the U.S.-Mexico border

Carlos E. Cano, Elideth Martínez Ladrón de Guevara y Beatriz Aracely Díaz Torres.....43

Prevalencia de malnutrición en mujeres en edad reproductiva (14-49 años) en Ciudad Juárez, Chih.

Silvia Yolanda Chacón Rodríguez, Homero Martínez Salgado,
Hugo Staines Orozco, Elia del Socorro García Sosa,
Patricia M. Valles Ortiz, Juan Carlos Zevallos49

Mosquitos vectores de enfermedades arbovirales en Ciudad Juárez, Chihuahua, México

De la Mora, Antonio y Corral-Díaz, Rafael.....55

ABSTRACTS

Pollution and ecotoxicology

Arturo Salame-Méndez, Moisés Andrade-Herrera, José Luis Gómez-Olivares, Jaime Rendón von Osten, Alondra Castro-Campillo, José Ramírez-Pulido, Ma. Dolores García-Suárez y Héctor Serrano.7

The contaminants produced by industrial activities can act as xenobiotics that affect the health of humans, domesticated animals, and wildlife; indeed some species of the latter have been pushed to danger of extinction. Ecotoxicology deals with these problems and allows us to understand the molecular, biochemical and/or physiological mechanisms by which these contaminants affect organisms. Here we review the different kinds of contaminants and its effects on organisms; we also explain what are biomarkers and bioindicators, together with its utility in ecotoxicological studies.

Keywords: Environmental pollution, xenobiotics, bioindicators, biomarkers, Ecotoxicology.

Growth of wool and hair lambs from weaning to 152 days of age

E. Jaramillo-López, F. Molinar-Holguín, E. Pérez-Eguía, G. Peraza-Mercado, S. Martínez-González, H. Macías-Coronel, O. J. Aguirre.21

In this study a regression was used to characterize the growth curve in wool (*Polipay x Rambouillet*) and hair (*Pelibuey*) lambs from weaning to 152 days of age. They were weighed each 14 days and given a 15.25% crude protein and 3.01 MCal metabolizable energy ration. A highly significant effect was found ($P < 0.01$) among age (time in days) regarding weight. The determination coefficients for wool and hair lambs were 0.774 and 0.782, respectively. The prediction equation went from: $\hat{y} = 19.108 - 0.357(\text{days}) + 0.006(\text{days})^2 - 0.00001688(\text{days})^3$ to: $\hat{y} = 7.737 - 0.150(\text{days}) + 0.005(\text{days})^2 - 0.00001913(\text{days})^3$. The cubic model explains that the 77.4% of the growth in the wool lambs is related to the days elapsed from weaning to the age of slaughter and for hair lambs the relation was 78.2%. The daily weight gain (DWG) was higher for wool than for hair lambs.

Keywords: lambs, growth curve, daily weight gain

Identificación de sexo en *Crocodylus acutus* por medio de hormonas esteroideas en heces.

H. Hernández-Hurtado, E. Orrantia-Borunda., A. Borrego-Ponce, E. Perez-Eguía, F. Molinar-Holguín, J. L. Stephano-Hornedo, P. S. Hernández-Hurtado, M. Gould-Chambers (†), R. García de Quevedo, J. Romero-González y R. Rivas-Cáceres27

American crocodile (*Crocodylus acutus*) is a reptile with amphibious habits and is protected by national and international laws. Sex was identified for this species analyzing fecal and urine samples by immunoassay in microtiter plate for Elisa to get qualitative (colorimetric) and quantitative (Elisa test) results identifying sexual steroid hormones testosterone and estradiol. Samples were taken from 64 crocodiles during 2004 (n=12), 2006 (n=41) and 2007 (n=11), 40 were young, 18 juveniles, 2 sub adults and 4 adults

living in the Center for Wild Life Integration “La Palma” in San Blas, Nayarit and Management and Conservation Unit of Wild life “Reptilario Cipactli” belonging to University of Guadalajara in Puerto Vallarta, Jalisco. Results show that an accurate detection of sexual steroid hormones is not possible in urine samples with colorimetric or Elisa test; with solid feces there was a better detection of steroids, but only testosterone was positive in both tests. At a larger amount of feces the test is more sensitive to the steroids hormones. Minimum quantity of solid feces sample to assign crocodiles sex is of 1 gram. This method could be used in commercial crocodile farms to determine gender in juvenile animals, and provide a tool to improve conservation management *in situ* and *ex situ*.

Key words: *Crocodylus acutus*, immunoassay, testosterone, estradiol, feces.

History of gestational diabetes as risk factor for type 2 diabetes on the U.S.-Mexico border

Carlos E. Cano, Elideth Ladrón de Guevara y Beatriz Aracely Díaz Torres43

Gestational diabetes (GDM) is one of the types of diabetes that has its onset or diagnosis during pregnancy. This type of diabetes is associated with an increased risk for a woman’s and that of her baby. Between 5% and 10% of women with GDM will continue with type 2 diabetes after birthing, and up to 60% of them will develop it in the following 10 to 20 years. The age of the mother, ethnic group, parity physical constitution, and family history of GDM are some of the risk factors for GDM. The present study had the objective of knowing the frequency and risk factors for T2DM among women along the US-Mexico border with history of GDM.

Methodology. This study was based on data from the results of the U.S.-Mexico Border Diabetes Prevention and Control Project, which consisted of a population-based, cross-sectional survey conducted on both sides of the U.S.-Mexico border between 2001 and 2002.

Results. Out of the 2560 women in the study, 168 (6.6%) reported to have had a diagnosis of gestational diabetes during at least one of their pregnancies, 47% of them had type 2 diabetes at the time of the study. Most of these women were ≤40 years of age, 70% of all women were diagnosed with T2DM before 40 years of age and 84.8% of them were overweight or obese. When women with history of gestational diabetes and with and without T2DM are compared, women with T2DM are significantly older ($p<0.0001$); were more overweight and obese ($p= 0.023$) than women without diabetes. No difference was observed in socioeconomic status and number of pregnancies.

Keywords: Gestational diabetes, type 2 diabetes, risk factors

Malnutrition prevalence of reproductive aged women (14-49 years old) in Ciudad Juárez, Chih.

Silvia Yolanda Chacón Rodríguez, Homero Martínez Salgado, Hugo Staines Orozco, Elia del Socorro García Sosa, Patricia M. Valles Ortiz, Juan Carlos Zevallos49

Introduction. Malnutrition is an important public health problem and is the result of a decreased (undernutrition) or an excessive (overnutrition) food consumption. Both conditions are the result of an imbalance between the body needs and the consumption of essential nutrients.

Objective. To determine the prevalence of malnutrition in women of reproductive age in Cd. Juárez, Chihuahua, using as indicators body mass index (BMI) and anemia.

Methodology. A population-based study was carried out with 1064 women between 14 and 49 years of age, randomly selected based on the geographical distribution of their homes (AGEBS). After the visit and previous informed consent, they filled in a structured questionnaire with socio-demographic characteristic, anthropometrics measurements (weight and height), and capillary hemoglobin.

Results. The prevalence of undernutrition in this group of women was 5%, and overweight and obesity 53.6%. Anemia was 36.4%, with an OR of 15.1 (IC 95% 6.09-39.6) of malnutrition risk for anemia.

Discussion. High rates of malnutrition and anemia in this group of women signals a public health problem, and results as a reflection of poor health care processes, rooted in an unfair and only fairly effective health services provision.

Key words: Malnutrition Overweight Obesity Anemia Women

Mosquitoes as arboviral diseases vectors in Ciudad Juárez, Chihuahua, México

De la Mora, Antonio y Corral-Díaz, Rafael..... 55

The purpose of this research was to identify culicid species within the urban area of Ciudad Juárez, Chihuahua, México as its importance like arboviral disease vectors. To ensure collection of all prevalent mosquito species, several trapping techniques were applied in various spatial-temporal settings during three consecutive years from 2004 to 2006. Collected mosquitoes were sexed, identified, and counted. Thirteen species in six genera were detected. *Aedes*, *Psorophora* and *Stegomyia* were represented by one species each, *Anopheles* by two species, and *Culex* and *Ochlerotatus* by four species each. *Culex* was the predominant genus by relative abundance during the three years.

Key words: culicidofauna, arbovirus, minimum infection rate



■ ARTÍCULO DE REVISIÓN

Contaminación y ecotoxicología

Arturo Salame-Méndez,² Moisés Andrade-Herrera,¹ José Luis Gómez-Olivares,³ Jaime Rendón von Osten,⁵
Alondra Castro-Campillo,¹ José Ramírez-Pulido,¹ Ma. Dolores García-Suárez¹ y Héctor Serrano³.

RESUMEN

Los contaminantes producidos por actividades industriales pueden actuar como xenobióticos que alteran la salud humana, de los animales domesticados y de la fauna silvestre; en esta última a grado tal, que han llevado a algunas especies al peligro de extinción. La ecotoxicología aborda estos problemas y permite entender los mecanismos moleculares, bioquímicos y/o fisiológicos por los cuales esos contaminantes alteran a los organismos. Aquí se revisan los diversos tipos de contaminantes y sus efectos sobre los organismos; se explica qué son y qué utilidad tienen los biomarcadores y bioindicadores en los estudios ecotoxicológicos.

Palabras clave: Contaminación ambiental, xenobióticos, bioindicadores, biomarcadores, ecotoxicología.

INTRODUCCIÓN

Nuestro ambiente es constantemente alterado con compuestos químicos elaborados por actividades humanas (antropogénicas) como son las industrias químicas (v. gr., industrias petroquímica y químico-farmacéutica). En conjunto, tanto los diversos productos como los subproductos derivados de su fabricación, son sustancias generalmente ajenas y

tóxicas para los organismos, de ahí su nombre de xenobióticos (Van der Oost *et al.*, 2003; Sarkar *et al.*, 2006; Salame-Méndez *et al.*, 2010). Entre ellos están los *contaminantes atmosféricos*, todos ellos perjudiciales para la salud (Pope y Dockery, 2006), por lo que diferentes países consideran el efecto nocivo que provocan actividades antropogénicas sobre el medio ambiente en sus legislaciones (Environmental Protection Agency, 2004; World Meteorological

¹ Departamento de Biología.

² Biología de la Reproducción.

³ Ciencias de la Salud.

⁴ Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco # 186, Col. Vicentina. Iztapalapa. CP 09340. Apdo. Postal 55-535. México, 09340, D. F. México.

⁵ Centro EPOMEX. * correspondencia: asam@xanum.uam.mx

Universidad Autónoma de Campeche. Av. Agustín Melgar S/N. Buenavista. CP 24030. Apartado Postal 520. Campeche, 240390, Camp., México.

Organization, 2006). En México, diferentes normas oficiales consideran los límites máximos permisibles de algunos xenobióticos ambientales. En ellas se cubren aspectos específicos que se refieren a los hidrocarburos y oxidantes fotoquímicos (NOM-020-SSA1-1993), monóxido de carbono (NOM-021-SSA1-1993), los límites permisibles para los óxidos de azufre (SO_2 , NOM-022-SSA1-1993), óxidos de nitrógeno (NO_x , NOM-023-SSA1-199) y partículas suspendidas (PS, NOM-025-SSA1-1993). Los hidrocarburos, el monóxido de carbono, los óxidos de azufre y los óxidos de nitrógeno son denominados contaminantes primarios, ya que son emitidos principalmente por la combustión de productos fósiles y procesos industriales. Mientras que los oxidantes fotoquímicos como el ozono, se producen en la atmósfera como resultado de reacciones fotoquímicas de los contaminantes primarios (World Meteorological Organization, 2006). Por su parte, las PS son las mezclas de materiales cuyas características de tamaño, densidad o la combinación de ambos, permiten que se mantengan dentro de la masa gaseosa del aire.

PARTÍCULAS SUSPENDIDAS Y CONTAMINANTES PRIMARIOS

El origen de las PS es variado: pueden ser productos de procesos naturales o antropogénicos, básicamente a partir de la quema de combustibles fósiles transformados en gasolinas y emitidos por automóviles o procesos industriales que requieren el uso de motores de combustión. Las diversas características de este tipo de materiales son lo que provoca varios riesgos sobre la salud. Por ejemplo, si la combustión de un motor libera metales pesados, éstos pueden disminuir las defensas del aparato respiratorio por inmovilización de las prolongaciones de las células que recubren las vías respiratorias altas, además de que inducen mayor cantidad de secreciones en nariz y garganta que pueden dificultar o disminuir la eficiencia del intercambio gaseoso del organismo (Hernández Garduño *et al.*,

1997). Los productos de combustión del Diesel afectan la expresión de algunos genes importantes en las células del epitelio bronquial (Senechal *et al.*, 2003; Takisawa, 2004). El tamaño de las PS es la característica física más importante para determinar su toxicidad: las partículas que miden más de $10 \mu m$ se retienen básicamente en las vías respiratorias altas; las que miden menos de $10 \mu m$ tienen un efecto indirecto sobre el aparato respiratorio, ya que pueden absorber agentes microbiológicos que predominan en la fracción respirable y que penetran hasta el espacio alveolar del pulmón (Hazucha, 1987; Díaz-Guzmán y Mannino, 2010; Nadeau *et al.*, 2010).

Uno de los metales pesados más ampliamente distribuidos en la Tierra es el plomo (Pb), por lo que el riesgo a la exposición con este metal es, en general, muy variado. Desde hace varios años el uso de pinturas en las cuales se incorporaban sales con Pb para obtener el aspecto brillante en el recubrimiento de paredes ha sido prohibido, dada su relación con la alta incidencia de envenenamiento, cuya mortandad obligó a varios países a emitir normas que regulasen el contenido del metal pesado en este tipo de materiales (White *et al.*, 2007; Meyer *et al.*, 2008; Kordas, 2010). En la actualidad, una de las formas más comunes en las cuales se encuentra este metal es combinado con etanol, formando el tetraetilo de plomo (PbTEt), utilizado como antidetonante de las gasolinas y siendo uno de los aditivos principales en su combustión. La cantidad de PbTEt en las gasolinas que se utilizan en México ha disminuido paulatinamente.

A pesar de que en las zonas urbanas la principal fuente de Pb corresponde a las emisiones de los automotores, éste también puede ingresar al organismo por otras vías, principalmente por ingesta debido a sus diversas aplicaciones, como ocurre con el recubrimiento de platos o botellas de plástico, así como (Chang *et al.*, 2010). El uso de tecnologías como el horno de microondas libera de manera efectiva el Pb contenido en éstos y otros utensilios de mesa y lo mezcla con los alimentos, por lo que

la ingesta e incorporación del metal al organismo se hace mucho más eficiente. Cualquiera que sea la vía, la incorporación de Pb en el cuerpo puede causar una intoxicación aguda, o bien, al acumularse de manera crónica en dientes, huesos y sistema hematopoyético, ocasiona además alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso central e interfiere en los mecanismos de defensa del organismo (Meyer *et al.*, 2008; Kordas, 2010).

El deficiente desarrollo neuronal e intelectual en la población infantil es otro de los efectos de la intoxicación por Pb con mayor impacto en las poblaciones humanas. Diversos estudios en varios países han mostrado la relación entre aumento en la concentración de Pb en la sangre y la obtención de bajas calificaciones en la medición del desempeño escolar. Se ha demostrado que la asociación entre la presencia de Pb y su efecto sobre los elementos utilizados para evaluar el desempeño escolar, tiene una base genética relacionada con el polimorfismo TaqI_A del receptor DRD2 para la dopamina (Roy *et al.*, 2010). Es relevante mencionar que a pesar de la disminución en el octanaje de plomo de la gasolina en países que se encuentran en vías de desarrollo, la cantidad de éste es mayor que en los países desarrollados; en consecuencia, la cantidad del metal en la sangre de los niños es diferente entre estos países. Así pues, mientras que en China y Bangladesh la cantidad de Pb sanguíneo de la población infantil es de 13 µg/dL en Estados Unidos es de sólo 1.9 µg/dL (Roy *et al.*, 2010; Singh y Aggarwal, 2010). En México, los niños que habitan en las principales urbes presentan 11.5 µg/dL, mientras que los de las zonas rurales es cercano a los 10µg/dL (Calderón Garcidueñas *et al.*, 1995).

El monóxido de carbono (CO) es un gas inodoro e incoloro que se produce por la combustión incompleta de compuestos de carbono; es vertido al aire por los automóviles, la industria y, en menor proporción, por algunos procesos naturales como los incendios forestales (Johnston *et al.*, 2002; Hanigan *et al.*, 2008), así como por el hábito de

fumar (Dennekamp y Abramson, 2010). Su principal efecto se debe a la capacidad de combinarse con la hemoglobina; la unión del CO con el grupo hemo de la hemoglobina evita el intercambio gaseoso que deberían tener las células, dando lugar a una concentración elevada de la forma reducida de la molécula, llamada carboxihemoglobina. El aumento en la carboxihemoglobina se hace a expensas de la forma oxidada de la hemoglobina u oxihemoglobina, lo que provoca la disminución en la cantidad de oxígeno (O₂) hacia los tejidos. Además de afectar a las células epiteliales de los vasos sanguíneos, otros órganos también se ven afectados. El CO debilita las contracciones del corazón, reduciéndose la cantidad de sangre bombeada, lo que resulta en una reducción del O₂ disponible, por ejemplo, para los músculos (Bravo, 1987). De la misma forma, la disminución de O₂ en el sistema nervioso central produce inicialmente la pérdida del sentido, pero posteriormente puede afectar la función contráctil de músculos como el diafragma (Singh y Aggarwal, 2010).

Los diversos tipos de óxidos de nitrógeno (NOx) son vertidos a la atmósfera por procesos de combustión, teniendo un efecto dañino en diversos organismos, además de ser uno de los precursores del ozono. La acumulación de NOx en el cuerpo humano, constituye un riesgo para las vías respiratorias, ya que alterará la capacidad de respuesta de linfocitos y macrófagos, provocando la disminución tanto de la respuesta inmune como del proceso de inflamación, ya sea a nivel de las vías respiratorias altas (Calderón Garcidueñas *et al.*, 1995) o de las porciones alveolares en donde además de la afectación fisiológica de las células epiteliales, se aumentan las secreciones pleurales, poniendo en riesgo la integridad del individuo (Hernández Garduño *et al.*, 1997).

El dióxido de azufre (SO₂) proviene tanto de fuentes naturales como de la combustión de compuestos ricos en azufre. Es hidrosoluble y al hidrolizarse origina compuestos ácidos, lo que le confiere características potencialmente agresivas. Al asociar-

se con la humedad de las mucosas, provoca irritación e inflamación aguda o crónica (Englert, 2004).

CONTAMINANTES PELIGROSOS DEL AIRE

Otro grupo de xenobióticos son los denominados *contaminantes peligrosos del aire*, sustancias con características carcinogénicas y mutagénicas que representan graves riesgos a la salud (Costa, 2008) y que son producidas de diversas maneras, entre las que está la combustión incompleta de hidrocarburos o productos elaborados para fines industriales, tales como aislantes y catalizadores, por mencionar sólo algunos. En este grupo de contaminantes están los asbestos y metales como el mercurio y el berilio; los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) como el benzo(a)pireno y los policlorobifenilos (PCBs) como el Aroclor, que conforman una familia de hasta 209 compuestos (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2000; Costa, 2008; Banni *et al.*, 2009).

COMPUESTOS ORGÁNICOS PERSISTENTES

Al grupo de contaminantes descritos en párrafos anteriores se añaden otros que son de igual importancia, debido a su repercusión en la salud y al impacto sobre los ecosistemas en los que se depositan. Los *compuestos orgánicos persistentes* (COPs) son mezclas de compuestos químicos a base de carbono, siendo doce los de mayor impacto a nivel mundial (Albert, 1990). Por sus características fisicoquímicas son resistentes a la degradación fotoquímica en grado variable, por lo que tienen una vida media prolongada en el ambiente y están presentes en todas las regiones del mundo, incluyendo áreas muy distantes de su lugar de origen (Baird, 2001). De hecho, los COPs se han detectado en tanto en ecosistemas acuáticos como terrestres; es decir, en el aire, el agua —lluvia y nieve— y en el suelo y sus sedimentos. Otra parti-

cularidad relevante es que los COPs son sustancias lipofílicas y, por lo tanto, tienen efecto de bioacumulación por su deposición en el tejido adiposo, lo cual al aumentar exponencialmente, repercute en la fisiología del individuo. Un ejemplo del efecto de los COPs en algunas especies de anfibios y reptiles es que se ha demostrado que revierten el sexo, es decir, feminizan machos y masculinizan hembras (Salame-Méndez *et al.*, 2008), además de que alteran el comportamiento sexual y favorecen el desarrollo de tumores, cáncer y malformaciones congénitas (Baird, 2001). Los COPs también provocan cambios en los procesos neuroendocrinos y sobre el desarrollo y funcionamiento del sistema endocrino, alterando la homeostasis de órganos como la tiroides y/o las gónadas, por lo que son considerados como disruptores endocrinos (Salame-Méndez *et al.*, 2008; 2010). Un grupo particular dentro de los COPs son los plaguicidas organoclorados (OCs) como el DDT, empleado para el control de fauna nociva en la agricultura y de vectores de enfermedades tales como el paludismo.

PLAGUICIDAS

Debido a las demandas alimenticias, la agricultura provocó que a mediados de los años cuarentas del siglo pasado se intensificara el uso de plaguicidas sintéticos como medida principal para la lucha contra las plagas que amenazaban los cultivos (Karam *et al.*, 2004). Los plaguicidas son un conjunto de sustancias heteromórficas definidas por la Agencia Ambiental de las Naciones Unidas como “—cualquier sustancia tóxica diseñada para interferir o modificar mecanismos fisiológicos fundamentales de los insectos y animales que se consideren nocivos—”. Aunque la intención de utilizar estos xenobióticos es eliminar organismos no deseados, su aplicación y uso indiscriminado interfiere con la vida de otros organismos de manera indirecta, ya que las funciones que son interrumpidas o modificadas por estos compuestos son compartidas por otros animales, incluyendo al hombre (Baird, 2001; Karam *et al.*, 2004).

Existen varias formas de agrupar a los plaguicidas: de acuerdo al organismo que afectan (*v. gr.*, acaricidas, fungicidas, insecticidas, raticidas); por su modo de acción (de contacto, por ingestión, fumigantes, sistémicos); por su naturaleza química (inorgánicos y orgánicos), o por su composición química (organoclorados, organofosforados, carbámicos, piretroides como grupos principales), siendo esta última la que se utiliza más frecuentemente junto con el tipo de daños que ocasionan en la salud (Reigart y Roberts, 1999; Baird, 2001; Karam *et al.*, 2004).

Por ejemplo, los plaguicidas organofosforados no son persistentes, ya que su permanencia es relativamente corta (de días a semanas); sin embargo, representan un mayor peligro para los seres humanos (y para mamíferos en general) porque la exposición a estos compuestos, mediante inhalación, ingestión o absorción a través de la piel, provoca problemas inmediatos de salud, ya que por su capacidad de unirse a las colinesterasas, afectan su sistema nervioso, inhibiendo así la hidrólisis de la acetilcolina (ACh) que necesaria para la regulación de la interacción sináptica interneuronal. La presencia continua de ACh mantiene la estimulación constante de las neuronas involucradas, lo que puede reflejarse en la inadecuada contracción constante del músculo liso de los intestinos, dando un cuadro similar a la intoxicación característica del cólera; si es en el músculo esquelético, asemeja el estado catatónico; o de espasmos, similar al de los epilépticos; y, finalmente, si esto ocurriera en las venas y arterias del sistema circulatorio, el aumento en la presión arterial podría llevar a rompimientos de capilares, induciendo daños que implicarían hemorragias internas o isquemias en órganos tan diversos como corazón, hígado y cerebro.

Los insecticidas carbámicos tienen mecanismos de acción similares a los de los insecticidas organofosforados debido a que se unen a las colinesterasas; sin embargo, los carbámicos se unen a las colinesterasas por medio del átomo de carbono y no al de fósforo como los organofosforados.

Estos compuestos también tienen una vida media corta en el ambiente, ya que reaccionan con el agua transformándose en productos más simples e inactivos (Baird, 2001; Hoffman *et al.*, 2003).

ECOTOXICOLOGÍA Y EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL

Durante el siglo XX, se produjeron y liberaron al ambiente cientos de xenobióticos como los COPs, HAPS y PCBs, entre otros. La evaluación del riesgo que representaba para el humano y para hábitats específicos de su producción y uso, se hizo muy compleja debido a la capacidad de estos contaminantes y sus derivados de afectar y ejercer sus acciones tóxicas. También fue, y aún lo sigue siendo, difícil determinar sus efectos negativos sobre las poblaciones biológicas en organismos ferales, ya que sus efectos sólo son detectables cuando ya ha pasado un largo periodo de tiempo desde que el compuesto fue aplicado o debido a la movilidad que tienen los animales silvestres (Van der Oost *et al.*, 2003). Lo anterior dio lugar a la profesionalización del estudio toxicológico de xenobióticos en los ecosistemas acuáticos y terrestres, a partir del desarrollo de la ecotoxicología.

La ecotoxicología es la rama de la toxicología encargada de estudiar el efecto de sustancias naturales o sintéticas en la fisiología de los organismos y el ambiente, así como las alteraciones que provocan en las interacciones entre los individuos y su entorno. Los estudios realizados con este enfoque han permitido describir los efectos tóxicos de uno o más componentes en un ecosistema (Hoffman *et al.*, 2003). En un sentido más amplio, se puede decir que la ecotoxicología es la ciencia que mide los efectos químicos, físicos y biológicos adversos que tiene el empleo de una o varias sustancias en un ecosistema. Esta ciencia ha permitido responder preguntas sobre si los compuestos químicos industriales y los utilizados en actividades agrícolas ponen en riesgo o puedan tener un efecto en los ecosistemas y, por lo tanto, sienta las bases para una

evaluación de riesgo y para un manejo adecuado de ellos en el futuro (Callow y Forbes, 2003). La base teórica que le confiere la toxicología está fundamentada en la relación dosis-respuesta, es decir, que en una población experimental es el número de individuos que responden a diferentes dosis de un compuesto que se utiliza para medir su toxicidad; en la ecotoxicología, el término clásico de dosis (la cantidad de un compuesto químico que se administra a un individuo o población por inyección o ingestión), se sustituye por el de concentración de determinado compuesto químico en el ambiente y/o individuo (Callow y Forbes, 2003). Por cuanto a su complemento ecológico, la evaluación de riesgo ambiental (ERA), es el procedimiento mediante el cual se asignan magnitudes de los actuales o probables efectos adversos de los contaminantes y otras actividades antropogénicas, así como catástrofes naturales en los ecosistemas; esto implica la identificación de riesgos, tales como la liberación de una sustancia química tóxica, estimándose su impacto a partir de, por ejemplo, modelos bioestadísticos que permiten evaluar la relación entre el evento inicial y los efectos que se suscitan (Suter, 1993; Depledge y Fossi, 1994; Van der Oost *et al.*, 2003).

BIOINDICADORES Y BIOMARCADORES

La utilización y búsqueda de bioindicadores es una práctica que ha crecido en los últimos 40 años de investigación científica para resolver preguntas relacionadas con los problemas que se enfrentan las comunidades ecológicas expuestas a xenobióticos. Esta búsqueda ha permitido el desarrollo y uso de nuevos indicadores cuya aplicación ha llegado a la salud ambiental (Niemy y McDonald, 2004).

Bioindicadores

Se pueden definir como una especie o conjunto de especies silvestres adaptadas a su ambiente que responden a los cambios o alteraciones ocurridos

en el medio en que se desarrollan, es decir, que reflejan los efectos de las variaciones o de la presencia de compuestos que alteran su fisiología y que genéricamente se denominan como contaminantes. Este tipo de organismos permiten la identificación o determinación cuantitativa de los factores ambientales causales de sus afecciones (Paoletti, 1999; Conti y Cecchetti, 2001; Perelmal *et al.*, 2007). Los bioindicadores han permitido obtener información detallada de la influencia del ambiente sobre las poblaciones de flora y fauna provenientes de hábitats contaminados, o de organismos expuestos experimentalmente a contaminantes (McCarthy y Shugart, 1990).

Biomarcadores

Otra forma de valorar el daño por contaminación en fauna silvestre, es utilizar herramientas bioquímicas tales como los biomarcadores, los cuales se desarrollaron en respuesta a la necesidad de tener indicadores más sensibles a los efectos subletales de los contaminantes (Bickham *et al.*, 2000) y han tomado relevancia en los últimos años. Estos pueden ser usados para valorar el estado de salud de un organismo que muestr daño a diferentes niveles, ya que permiten hacer determinaciones a nivel celular y/o molecular con lo que facilitan obtener *señales* tempranas de riesgo ambiental por contaminación (Hagger *et al.*, 2006; Sarkar *et al.*, 2006). Walker y colaboradores (2001) definen a los biomarcadores, o marcadores biológicos, como cualquier respuesta biológica a una sustancia química a nivel individual o por debajo de él que demuestra una alteración de la situación normal y, por lo tanto, son medidas de respuesta bioquímica, fisiológica, histológica, morfológica y/o de comportamiento. Bodin y colaboradores (2004) los definen como medidas de fluidos corporales, celulares o tisulares que indican, en términos bioquímicos o celulares, la presencia de contaminantes o las respuestas del organismo que los captó. Los biomarcadores que han sido investigados más ampliamente son los re-

lacionados con la detoxificación de xenobióticos y sus derivados (enzimas de biotransformación y antioxidantes), especialmente en el hígado de vertebrados, por ser el órgano encargado de la destoxificación de la mayoría de los compuestos contaminantes (Van der Oost, y col., 2003).

CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMARCADORES

Los biomarcadores se pueden clasificar en tres tipos: de exposición, de efecto y de susceptibilidad. Los *biomarcadores de exposición*, indican que un organismo ha estado expuesto a algún contaminante, o a cualquier otro agente inductor de estrés, pero su respuesta no necesariamente está relacionada con algún mecanismo de defensa contra algún contaminante en particular, ya sea a nivel de organismo o de población. Sin embargo, permiten tener estimaciones de exposición a varios compuestos, por lo que pueden sustituir los análisis químicos de gran costo (Chambers *et al.*, 2002). Los *biomarcadores de efecto* se relacionan específicamente los mecanismos de acción del tóxico, por lo que estos mecanismos se deben tener bien identificados y caracterizados para poder relacionar el grado de cambio del biomarcador con el de los efectos adversos (Chambers *et al.*, 2002). Por lo tanto, estos biomarcadores pueden ofrecer respuestas cuantitativas de la identificación del peligro, demostrando así que existe y sus posibles mecanismos de acción; además, dependiendo del grado de especificidad del biomarcador con la presión ejercida por el contaminante, proveen una comprensión de los efectos causales del peligro y sus consecuencias ecológicas (Hagger *et al.*, 2006). Por su parte, los *biomarcadores de susceptibilidad*, al contrario de los de efecto, no muestran las variaciones en las diferentes etapas que tiene el efecto de la dosis, pero sí reflejan un incremento en la tasa de transición entre ellas, ya que evalúan solamente los procesos reguladores de los fenómenos fisiológicos o fenomenológicos de los individuos (Hagger *et al.*, 2006).

En los años 80 del siglo pasado se establecieron criterios para la selección de un adecuado biomarcador (Mayer *et al.*, 1992). Por ejemplo, la sencillez para realizar las medidas; si su respuesta era dependiente de la dosis o el tiempo de exposición al contaminante y su grado de sensibilidad. Un criterio adicional es el de constatar si la variabilidad en la respuesta del biomarcador es provocada por variaciones naturales bien conocidas (Hagger *et al.*, 2006). Las características más importantes en el uso de biomarcadores para evaluar el impacto de contaminantes ambientales — xenobióticos — sobre los organismos se muestra en la Tabla 1. Ejemplos de biomarcadores que permiten evaluar el efecto de xenobióticos incluyen enzimas tales como colinesterasa, glutatión-S-transferasa, y catalasa.

TABLA 1. Características relevantes en la selección, adaptación y evaluación de biomarcadores (Domouthsidou *et al.*, 2004; Behrens y Segner, 2005; Sarkar *et al.*, 2006).

Identifican las interacciones que se suscitan entre los contaminantes y los organismos.
Permiten medir los efectos subletales.
Miden sólo una fracción de los contaminantes pero no revelan efectos adversos.
Detectan la presencia de contaminantes conocidos y desconocidos.
Permiten la detección pronta de los efectos tóxicos, lo que provee señales de alerta para remediar o realizar acciones de prevención.
Proveen medidas espacio-temporales de la biodisponibilidad de contaminantes.
Permiten atribuir la exposición y riesgo a contaminantes ambientales.
Permiten anticipar los cambios que ocurrirán en el ecosistema debido a la presión por contaminación.
Pueden ser usados como predictores, permitiendo el establecimiento de estrategias de biorremediación antes de que se suscite un daño ambiental irreversible.
Ayudan a establecer rutas importantes de exposición debido a la aplicación a especies de diferentes niveles tróficos, lo que ayuda en la priorización de planes de monitoreo y estrategias de remediación.

Continúa

Permiten hacer bioensayos de toxicidad, lo que da información del grado de toxicidad relativa de sustancias específicas; sin embargo, su extrapolación a situaciones de campo es muy difícil por varias razones, por ejemplo, especiación química, efectos de absorción y captación, acumulación a lo largo de las redes tróficas y modos de acción tóxica no detectados en pruebas a corto plazo.

Permiten detectar la exposición y los efectos tóxicos de los compuestos originales y sus metabolitos.

Permiten integrar las interacciones toxicológicas de las mezclas de contaminantes.

Permiten predecir a corto plazo los efectos ecológicos a largo plazo a través de la integración en un conjunto de medidas y comprensión a diferentes niveles de contaminación.

Son aplicables en estudios de campo y de laboratorio.

Colinesterasas

Las colinesterasas (ChE) son enzimas imprescindibles para el control normal de la transmisión de los impulsos nerviosos (Reigart y Roberts, 1999) que van desde las fibras nerviosas hasta las células musculares, glandulares y de los ganglios autónomos, así como también hacia el sistema nervioso central (SNC). Su función en el organismo es la inactivación rápida de la ACh, uno de los principales neurotransmisores ligado a los receptores nicotínicos, muscarínicos y otros del SNC (Gómez-Olivares, 2000).

Una alta concentración de ACh se encuentra en las uniones colinérgicas del músculo liso y las células glandulares, lo que puede provocar contracciones y secreciones continuas, respectivamente. En las uniones músculo-esqueléticas provoca una hiperexcitación, lo que causa espasmos musculares. En el SNC la alta concentración de ACh induce alteraciones sensoriales y de comportamiento, incoordinación, depresión de las funciones motoras y respiratorias (Hoffman *et al.*, 2003). Como ya se hizo mención, la inhibición de estas enzimas puede ser provocada por la presencia de plaguicidas organofosforados y carbámicos, razón por la que estas enzimas

son utilizadas ampliamente como biomarcadores bioquímicos para elucidar intoxicación por este tipo de contaminantes.

Glutación-S-transferasa

En cantidades superiores al 5%, el oxígeno puede ser tóxico, provocando incluso estados de estrés oxidativo, debido a las especies reactivas de oxígeno (ROS) también nombrados radicales libres de oxígeno u oxiradicales. Estos productos de reducción del oxígeno molecular (O_2) son el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$), el cual es un oxidante altamente potente, capaz de reaccionar con lípidos, ácidos nucleicos y glicoproteínas, que induce la peroxidación de los lípidos, tanto de las membranas celulares como de aquellos que deberían ser incorporados en el metabolismo por la ruta de la beta oxidación. Puede inducir alteraciones en la conformación de las uniones entre las dos cadenas que conforman la doble hélice del ADN o romper las uniones fosfodiéster que mantienen la integridad de las cadenas. Las porciones de azúcares asociadas a las glicoproteínas pueden ser modificadas por entrecruzamiento de los residuos expuestos, por lo que la movilidad de la porción proteica es alterada y con ello se evita una interacción adecuada con las moléculas que deberían unirse. Por lo tanto, la vía de estimulación mediada por la glicoproteína receptora se altera. Si la acción de los ROS es continua, provocan inactivación enzimática, disminución de las funciones metabólicas y, en última instancia, inducen la muerte celular (Winston y Di Giulio, 1991). Uno de los biomarcadores que reflejan un estado de estrés oxidativo es la glutación-S-transferasa (GST), perteneciente a una superfamilia multigenérica de enzimas primariamente solubles, dímeras y multifuncionales de la fase II del proceso de desintoxicación, la cual se encarga de catalizar la conjugación de los compuestos electrofílicos (Van der Oost y col., 2003). Aparte de sus funciones esenciales en el

transporte intracelular de grupos hemo, bilirrubina o aminoácidos y de la biosíntesis de leucotrienos y prostaglandinas, su papel fisiológico fundamental es iniciar el proceso de destoxificación contra agentes potencialmente alquilantes. También actúa como defensa en el ADN y los lípidos contra daño oxidativo y por productos peroxidativos. La GST puede ser inducida por xenobióticos como los HAP y PCBs (Van der Oost y col., 2003).

Catalasa

Otro biomarcador que refleja el efecto de toxicidad de contaminantes o sus derivados sobre el estrés oxidativo es la catalasa (CAT), la cual degrada el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). A diferencia de algunas peroxidasas, la CAT sólo puede reducir al H_2O_2 principalmente en el hígado y particularmente en los peroxisomas, organelos con una alta tasa de producción de ROS (Boelsterli, 2003). La CAT se utiliza a menudo en ensayos espectrofotométricos para constatar su actividad, a partir de valorar la degradación del H_2O_2 exógeno, razón por la cual esta enzima es utilizada como biomarcador de exposición a contaminantes ambientales que provocan estrés oxidativo, tales como el Benzo(a)pireno (Wang *et al.*, 2009), Atrazina (Nwani *et al.*, 2010), PCBs (Spencer *et al.*, 2009) e incluso partículas suspendidas (Sierra-Vargas *et al.*, 2009). Sin embargo, es necesario realizar aún estudios para precisar su acción, debido a que presenta tanto inducción como inhibición (Van der Oost y col., 2003).

CONSIDERACIONES FINALES

Ante la presencia de sustancias que son potencial o demostradamente tóxicas en el ambiente y que, por ende, pueden afectar la salud tanto del ser humano como de otros organismos que habitan diversos hábitats, es relevante evaluar su presencia y el efecto que pueden provocar, por ejemplo, sobre la dinámica poblacional de organismos silvestres en vida libre. Por lo tanto, realizar estudios que con-

templen aspectos tanto ecológicos como toxicológicos permitirá determinar el grado de alteración que tiene un ecosistema debido al tipo y la cantidad de compuestos tóxicos que pudiesen estar presentes en las poblaciones animales. En este sentido, al hacer estos estudios es necesario que se tomen en consideración no solamente especies modelo o cuya abundancia o importancia económica sea el factor determinante, sino que también se consideren aquellas especies cuya función en el mantenimiento de las condiciones ambientales sea relevante, como ocurre con la denominada “mini y microfauna”. Por ejemplo, se puede abordar el impacto que tendrían los contaminantes atmosféricos sobre especies de micromamíferos (*v. gr.*, roedores silvestres y murciélagos), las cuales juegan un papel relevante en su hábitat debido a que son dispersores de semillas, reforestadores e intervienen en la conformación de la estructura vegetal, pero además son reguladores de insectos nocivos para el humano y la flora. Por lo tanto, el desarrollo de estudios con un enfoque ecotoxicológico, utilizando las comunidades de vertebrados silvestres en vida libre, permitiría evaluar el grado de afectación toxicológica, ya fuese ésta aguda, crónica, primaria o secundaria.

La exposición por periodos cortos a plaguicidas, por ejemplo, puede afectar a las especies de micromamíferos, induciendo desde una disminución funcional leve hasta derivar en su muerte. El efecto crónico provocado por la exposición a contaminantes durante periodos largos de tiempo, permite determinar la afectación y selección de organismos capaces de responder a esta nueva presión de selección. Por eso es necesario establecer si es el agente introducido o es alguno de los metabolitos que implica su procesamiento el responsable de la afectación o la muerte de los animales expuestos, o si el envenenamiento es de tipo secundario, como ocurre cuando algunas especies animales han consumido presas que contenían contaminantes o residuos de éstos (Badii *et al.*, 2009).

Por lo tanto, ese tipo de estudios permite evaluar el problema de la contaminación ambiental en

el hábitat, al determinar qué tipo de xenobióticos están presentes y cuál es su repercusión sobre la fauna a corto, mediano o largo plazos. El determinar claramente el impacto de estas sustancias permitiría proponer acciones a tomar para poder evitar el deterioro y la pérdida potencial, o la extinción, de especies de flora y fauna. En este sentido, los estudios ecotoxicológicos *in situ*, al utilizar bioindicadores y biomarcadores apropiados para evaluar el impacto de la contaminación ambiental, coadyuvarían en la toma de decisiones para el manejo adecuado de los ecosistemas, dilucidando alternativas para su conservación y/o biorremediación.

REFEENCIAS

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2000). "Toxicological profile for polychlorinated Biphenyls (PCBs)". Disponible en la URL <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/TP.asp?id=142&tid=26>. Consulta 1 de abril, 2011.
- Albert, L. A. (1990). "Curso básico de toxicología Ambiental". México, D. F.: LIMUSA-Noriega. 2da ed. 311 pp.
- Badii, M., Hernández, S. H., Guerrero, S. (2009). "Efecto de los plaguicidas en pequeños mamíferos". *CULCyT, Ciencia y Tecnología*. 6(30), 5-16.
- Baird C. (2001). *Química Ambiental*. Barcelona, España: Editorial Reverte. 1ra. ed. 622 pp.
- Banni, M., Bouraoui, Z., Ghedira, J., Clerandeanu, C., Guerbej, H., Narbonne, J. F., Boussetta, H. (2009). "Acute effects of benzo[a]pyrene on liver phase I and II enzymes, and DNA damage on sea bream *Sparus aurata*". *Fish Physiol. Biochem*, 35, 293-299.
- Behrens. A., Segner, H. (2005). "Cytochrome P4501A induction in brown trout exposed to small streams of an urbanised area: results of a five-year-study". *Environmental Pollut.* 136, 231-242.
- Bickham, J. W., Sandhu, S., Hebert, P. D. N., Chikhi, L., Athwal, R. (2000). "Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: Implications for biomonitoring and ecotoxicology". *Mutation Research*, 463, 33-51.
- Bodin, N., Burgueot, T., Stanisi Stanisière, J. Y., Bocquené, G., Menard, D., Minier, C., Boutet, I., Amat, A., Cherel, Y., Budzinski, H. (2004). "Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea". *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.*, 138, 411-427.
- Boelsterli, U. A. (2003). "Mechanistic Toxicology: The molecular basis of how chemicals disrupt biological targets". Taylor & Francis Group. London, UK: 314 pp.
- Bravo, H. (1987). "La contaminación del Aire en México". Editorial Fundación Universo XXI. México, D. F.: 296 pp.
- Calderón Garcidueñas L., Rodríguez Alcaraz, A., García, R., Ramírez, L., Berlanga, G. (1995). "Nasal inflammatory response in children exposed to a polluted urban atmosphere". *J. Toxicol. Environ. Health*. 45, 427-437.
- Callow, P., Forbes, V. E. (2003). "Does ecotoxicology inform, ecological risk assessment?" *Environ. Sci. Technol.* 37, 146-151.
- Conti, M. E., Cecchetti, G. (2001). "Biological monitoring: Lichens as bioindicator of air pollution assessment: a review". *Environmental Pollution*. 114, 471-492.
- Costa, D. L. (2008). "Air pollution". En: C. D. Klassen (ed.). *Toxicology: The Basic science of poisons*. McGraw Hill, USA. Pp. 1119-1156.
- Chambers, J. E., Boone, J. S., Carr, R. L., Chambers, H. W., Stratus, D. L. (2002). "Biomarkers as predictors in health and ecological risk assessment". *Human Ecol. Risk Assess.* 8, 165-176.
- Chang, X., Shi, H., Adams, C. D., Ma, Y. (2010). "Assessment of metal contaminations leaching out from recycling plastic bottles upon

- treatment". *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 17, 1323-1330.
- Dennekamp, M., Abramson, M. J. (2010). "The effects of bushfire smoke on respiratory health". *Respirology* doi: 10.1111/j.1440-1843-2010.01868.x
- Depledge, M. H., Fossi, M. C. (1994). "The role of biomarkers in environmental assessment (2)". *Ecotoxicology*. 3, 161-172.
- Díaz-Guzman E., Mannino, D. M. (2010). "Airway obstructive diseases in older adults: From detection to treatment". *J. Allergy Clin. Immunol.* 126, 702-709.
- Domouthsidou, G. P., Kaloyianni, S., Dimitriadis, V. K. (2004). "Lisosomal membrane stability and metallothionein content in *Myrtilus galloprovincialis* (L.) as biomarkers. Combination with trace metals concentrations". *Marine Pollution Bulletin*. 48, 572-586.
- Englert, N. (2004). "Fine particles and human health. A review of epidemiological studies". *Toxicol. Lett.* 149, 235-242.
- Environmental Protection Agency. (2004). "Particulate matter research program: Five years of progress". EPA, Washington DC. USA.
- Gómez-Olivares, J. L. (2000). "Propiedades estructurales de las colinesterasas de corazón, eritrocito e hígado de ratones normales y distróficos *Lama2^{dy}*". *Tesis doctoral*. Universidad de Murcia. Murcia, España. 346 pp.
- Hagger, J. A., Jones, M. B., Leonard, D. R.P., Owen, R., Galloway, T. S. (2006). "Biomarkers and integrated environmental risk assessment: Are more questions than answers?" *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2, 312-329.
- Hanigan, I. C., Johnston, F. H., Morgan, G. G. (2008). "Vegetation fire smoke, indigenous status and cardio-respiratory hospital admission in Darwin, Australia, 1996-2005: a time-series study". *Environ. Health*. 7, 42-49.
- Hazucha, M. (1987). "Relationship between ozone exposure and pulmonary functional changes". *J. Appl. Physiol.* 62, 1671-1680.
- Hernández-Garduño, E., Pérez-Nevia, J., Paccagnella, A. M., Piña-García, M. A., Murguía-Castro, M., Catalán-Vázquez, M., Rojas-Ramos, M. (1997). "Air pollution and respiratory health in Mexico City". *J. Occup. Environ. Med.* 39, 299-307.
- Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Burton, G. A., Cairns Jr. J. (2003). "*Handbook of Ecotoxicology*". Chelsea, Mich, USA: Lewis Publishers. 755 pp.
- Johnston, F. H., Kavanagh, A. M., Bowman, D. M., Scott, R. K. (2002). "Exposure to bushfire smoke and asthma: an ecological study". *Med. J. Aust.* 176, 535-538.
- Karam, M. A., Ramírez, G., Bustamante-Montes, L. P., Galván, J. M. (2004). "Plaguicidas y salud de la población". *Ciencia Ergo Sum.* 1(11), 246-254.
- Kordas, K. (2010). "Iron, lead and children's behavior and cognition". *Annu. Rev. Nutrition.* 30, 123-148.
- Mayer, F. L., Versteeg, D. J., McKee, M. J., Folmar, L. C., Graney, F. L., McCume, D. C., Rattner, B. A. (1992). "Physiological and nonspecific biomarkers". En: H. L. Bergman (ed.), *Biomarkers: Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. Boca Raton, FL, USA: Lewis Publ. 5-85.
- McCarthy, J. F., Shugart, L. R. (eds.). (1990). *Biomarkers of Environmental Contamination*. Chelsea, Mich. USA: Lewis Publishers. 457 pp.
- Meyer, P. A., Brown, M. J., H Falk, H. (2008). "Global approach to reducing lead exposure and poisoning". *Mutat. Res.* 659, 166-175.
- Nadeau, K., McDonald-Hyman, C., Noth, E. M., Pratt, B., Hammond, S. K., Balmes, J., Tager, I. (2010). "Ambient air pollution impairs regulatory T-cell function in asthma". *J Allergy Clin. Immunol.* 126, 845-852.
- Niemy, G. J., McDonald, M. E. (2004). "Application of ecological indicators". *Annu. Rev. Ecol. System.* 35, 89-111.

- Norma Oficial Mexicana-020-SSA1. (1993). "Salud ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al ozono (O₃) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México".
- Norma Oficial Mexicana-021-SSA1. (1993). "Salud ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al monóxido de carbono (CO) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México".
- Norma Oficial Mexicana-022-SSA1. (1993). "Salud ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al bióxido de azufre (SO₂) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México".
- Norma Oficial Mexicana-023-SSA1. (1993). "Salud ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al bióxido de nitrógeno (NO₂) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México".
- Norma Oficial Mexicana-025-SSA1. (1993). "Salud Ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al material particulado en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México".
- Nwani, C. D., Singh Lakra, W., Nagpure, N. S., Kumar, R., Kushwana, B., Srivastava, S. K. (2010). "Toxicity of the herbicide Atrazine: effects of lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the freshwater fish *Channa punctatus*". *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 7, 3298-3312.
- Paoletti, M. G. (1999). "Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability". *Agricult. Ecosystems Environ*. 74, 1-18.
- Perelmal, P., Martínez-Carretero, E., Moreno, G., Castro, M. A., Faggi, A. (2007). "El uso de la corteza de mora (*Morus alba*) como biomonitor para detectar contaminación en la Ciudad de Mendoza". *Hologramática*. 7, 205-214.
- Pope, C. A., Dockery, D. W. (2006). "Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect". *J. Air Waste Manag. Assoc.* 56, 709-742.
- Reigart, J. R., Roberts, J. R. (1999). "*Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas*". Baltimore, MD. USA: United Book Press. 5th ed. 252 pp. www.epa.gov/pesticides/safety/healthcare
- Roy, A., Hu, H., Bellinger, D. C., Mukherjee, B., Modali, R., Nasaruddin, K., Schwartz, J., Wright, R. O., Ettinger, A. S., Palaniapan, K., Balakrishnan, K. (2010). "Hemoglobin, lead exposure, and intelligence quotient: effect of modification by the dopamine receptor 2D2 TaqIA polymorphism". *Environ. Health Perspect.* Doi: 10.1289/ehp.0901878. Disponible en línea desde septiembre 24, 2010.
- Salame-Méndez, A., Méndez de la Cruz, F., Aguirre-León, G., Serrano, H. (2008). "Disrupción endocrina de la diferenciación sexual". *ContactoS*. 70, 43-49.
- Salame-Méndez, A., Pérez-Rivero, J., Gómez-Olivares, L., Valencia-Quintana, R., Castro-Campillo, A., Ramírez-Pulido, J., García-Suárez, M. D., Serrano, H. (2010). "Xenobióticos: una paradoja biomédica". *Ciencia en la Frontera*. 8(1), 45-50.
- Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava, A. N., Sarker, S. (2006). "Molecular biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring". *Ecotoxicology*. 15, 333-340.
- Senechal, S., de Nadai, P., Ralainirina, N., Scherpereel, A., Vorng, H., Lassalle, P., Tonnel, A. B., Bigopulos, A., Wallaert, B. (2003). "Effect of diesel on chemokines and chemokine receptors involved in helper T cell type1/type2 recruitment in patients with asthma". *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 168, 215-221.
- Sierra-Vargas, M. P., Guzmán-Greenfell, A. M., Blanco-Jiménez, S., Sepúlveda-Sánchez, J. D., Bernabé-Cabanillas, R. M., Cárdenas-González, B., Ceballos, G., Hicks, J. J. (2009). "Airborne particulate matter PM_{2.5} from Mexico City affects the generation of reactive oxygen species by blood neutrophils from asthmatics: an *in vitro* approach". *J. Occup. Med. Toxicol.* 4, 17.

- Singh, H., Aggarwal, S. (2010). "Carbon monoxide poisoning". *Indian J. Crit. Care Med.* 14, 105.
- Spencer, W. A., Lehmler, H.-J., Robertson, L. W., Gupta, R. C. (2009). "Oxidative DNA adducts following Cu²⁺-mediated activation of dihydroxy PCBs: role of reactive oxygen species". *Free Rad. Biol. Med.* 46, 1346-1352.
- Suter, G. W. (1993). "*Ecological Risk Assessment*". Boca Raton, FL, USA: Lewis Publishers. 538 pp.
- Takisawa, H. (2004). "Diesel exhaust particles and their effect on cytokine expression in human bronchial epithelial cells". *Current Opinion in Allergy Clinical Immunology.* 4, 355-359.
- Van der Oost, R., Beber, J., Vermeulen, N. P. E. (2003). "Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review". *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 13: 57-149.
- Walker, C. H., Hopkin, S. P., Sibly, R. M., Peakall, D. B. (2001). *Principles of Ecotoxicology*. London, UK: Taylor and Francis, Publishers. 2nd ed. 309 pp.
- Wang, Z., Ramesh, A., Roberts, L. R., Zhou, L. C., Lin, X. H., Zhao, Y., Guo, Z. M. (2009). "Overexpression of Cu/Zn superoxide dismutase and/or catalase accelerates benzo(a) pyrene detoxification by upregulation of the arylhydrocarbon receptor in mouse endothelial cells". *Free Rad. Biol. Med.* 47, 1221-1229.
- White, L. D., Cory-Slechta, D. A., Gilbert, M. E., Tiffani-Castiglioni, E., Zawia, N. H., Virgolini, M., Rossi-George, A., Lasley, S. M., Qian, Y. C., MD Riyaz-Basha, M. D. (2007). "New and evolving concepts in the neurotoxicology of lead". *Toxicol. Applied Pharmacol.* 225, 1-27.
- Winston, G. W., Di Giulio, R. T. (1991). "Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organism". *Aquatic Toxicology.* 19, 137-161.
- World Meteorological Organization. (2006). Scientific assessment of ozone depletion. 2006. Global Ozone Research and Monitoring Project. Report 50. 572 pp.

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Crecimiento de corderos de lana y pelo del destete hasta los 152 días de edad

Jaramillo-López E^{1*}, Molinar-Holguin F¹, Pérez-Eguía E¹, Peraza-Mercado G¹,
Martínez-González S², Macías-Coronel H², Aguirre OJ².

RESUMEN

En este estudio se utilizó una regresión para caracterizar la curva de crecimiento en corderos de lana (Polipay X Rambouillet) y pelo (Pelibuey) del destete hasta los 152 días. Se pesaron cada 14 días, se les suministró una ración con 15.25% de proteína cruda y 3.01 MCal de energía metabolizable. Se encontró un efecto altamente significativo ($P < 0.01$) de la edad (tiempo en días) con respecto al peso. Para los corderos de lana y pelo el coeficiente de determinación fue de 0.774 y 0.782. La ecuación que mejor predijo la curva de crecimiento fue cúbica: $\square = 19.108 - 0.357 (\text{días}) + 0.006 (\text{días})^2 - 0.00001688 (\text{días})^3$ y de: $\square = 7.737 - 0.150 (\text{días}) + 0.005 (\text{días})^2 - 0.00001913 (\text{días})^3$. El modelo explica que el 77.4% del crecimiento de los corderos de lana se relaciona con los días transcurridos desde el destete hasta la edad de sacrificio y en los de pelo fue del 78.2%. La ganancia diaria de peso (GDP) fue mayor en corderos de lana que en los de pelo.

Palabras clave: corderos, curva de crecimiento y ganancia diaria de peso.

INTRODUCCIÓN

En México, la producción de carne ovina para el año 2008 fue de 101406 toneladas (SIAPA, 2010), la cual es insuficiente para satisfacer la demanda nacional, por lo que se debe importar el 46.2% de la carne que se consume en el país (SAGARPA, 2010), las importaciones provienen principalmente de Nueva Zelanda, Australia y Chile (de Lucas y Arbiza, 2006).

En la actualidad, el precio de la carne ovina de importación es 21% más alto que el precio de la carne ovina nacional (Martínez *et al.*, 2009). Sin embargo, para aprovechar esta gran demanda, se requiere de un incremento en la productividad de los ovinos de forma competitiva, principalmente mejorando los índices productivos y reproductivos, ya que los productores no tienen control sobre el precio de venta ni sobre los precios de los granos y forrajes (Martínez,

¹ Cuerpo Académico de Producción Animal, Departamento de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, Chihuahua. ejaramil@uacj.mx tel. 6881825, ext. 1667

² Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nayarit. Carretera de Cuota Compostela-Chapalilla, Km. 3.5. C.P. 63700. Compostela Nayarit.

2007). El crecimiento es uno de los caracteres productivos más importantes en la cría de corderos, ya que éste varía de acuerdo a la raza y tipo de alimento que se le proporciona.

El peso de los corderos relacionado con la edad es uno de los temas de mayor interés en los productores e investigadores debido a la importancia económica del peso adulto y la madurez fisiológica, porque varía de acuerdo a la raza, ya que hay razas que alcanzan la madurez fisiológica en menor tiempo que otras (Bathaei y Leroy 1998). En corderos Santa Cruz y Dorper, alimentados en pastoreo con *Panicum maximum*, se demostró la relación del peso con la edad: ambos tipos de corderos se sacrificaron a los 30 kg de peso vivo, los corderos Santa Cruz tardaron 153.2 ± 6.8 y los Dorper 118.9 ± 7.4 días; la GDP fue de 0.125 ± 0.0047 y 108.1 ± 0.043 kg/día para ambos tipos de corderos (Godfrey *et al.*, 2005).

En México, Macedo y Hummel (2006), al estudiar el comportamiento productivo de corderos Pelibuey, encontraron una GDP de 0.174 kg. En razas de pelo (Katahdin, Santa Cruz y Black Belly) alimentadas con heno, la GDP fue de 0.171; 0.165 y 0.158 kg respectivamente (Whitley y Wildeus, 2005).

En corderos de lana de la raza Columbia (Snowder y Duckett, 2003) reportaron una GDP 0.230 kg y para corderos Dorper de 0.239 kg; la cruce de Suffolk por Columbia fue de 0.259 kg. Cloete *et al.* (2000), reportaron una GDP de 0.230 kg para corderos Dorper. Esta raza debe de usarse como cruce terminal en sistemas de producción de corderos para carne y no para pie de cría, porque es importante mantener la pureza del germoplasma de las razas de pelo (Godfrey y Weis, 2005).

En los programas de selección de corderos el peso a los 150 días de edad es uno de los criterios de selección (Lewwis y Brotherstone, 2002). La estimación de la heredabilidad, correlaciones fenotípicas y genéticas, indican que la selección para mejorar el peso corporal debe de hacerse después del destete, a los seis meses porque la heredabilidad es alta (Thiruvankadan *et al.*, 2011). Las funciones de crecimiento se han usado ampliamente para representar cam-

bios en el tamaño corporal con respecto a la edad, para que el potencial genético de los animales para crecimiento pueda ser evaluado (López *et al.*, 2000). El crecimiento de los corderos está definido por una serie de parámetros medidos dentro de rangos establecidos de peso y edad (Fisher *et al.*, 2004). En corderos Blackbelly, la curva de crecimiento entre el nacimiento y el peso final mostró un crecimiento sostenido hasta los 100 días de edad; posteriormente la pendiente de la curva disminuyó hasta los 150 días. A partir de entonces tuvo un nuevo repunte que fue más pronunciado entre los 200 a 250 días de edad (González *et al.*, 2002). En otro estudio se observó que la eficiencia biológica de crecimiento es mayor en los corderos de 100 días de edad que en los de 180, y además, los parámetros de crecimiento son mayores en los corderos obtenidos por cruzamiento que los provenientes de razas puras, debido al vigor híbrido que se produce en el cruzamiento de diferentes razas de ovejas (Portolano y Todazo, 1997).

OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo fueron caracterizar la curva de crecimiento de corderos de lana y pelo, del destete (60 días) hasta los 158 días de edad, para establecer una ecuación de predicción y la GDP para corderos de lana y pelo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Departamento de Ciencias Veterinarias, perteneciente al Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, del 21 junio al 21 de septiembre de 2005. Se utilizaron once corderos de lana (Polipax X Rambouillet) y diez de pelo (Pelibuey) la diferencia en el número de observaciones fue debida a que el rebaño del Departamento de Ciencias Veterinarias cuenta con diferente número de ovejas de pelo y lana. Para que los corderos se destetaran a una edad similar, se sincronizó el celo de las ovejas y se realizó empadre dirigido.

Los corderos se destetaron a los 60 días, después de un periodo de adaptación a la ración de 13 días, y se asignaron a dos grupos (lana y pelo). Se mantuvieron en estabulación y se les ofreció alimento dos veces al día, a las 8:00 y 18:00 horas. La ración que se proporcionó contenía 15.25% de proteína cruda y 3.01 Mcal de energía metabolizable. El alimento se pesó diariamente, mañana y tarde, y se incrementó el alimento ofertado si el rechazo era inferior al 5%. Los corderos se pesaron cada catorce días; solamente en la última pesada el tiempo transcurrido fue de siete días. Se pesaron a las 6:00 horas en una báscula digital, para evitar errores de medición. La GDP se estimó al restar el peso del día 74 menos el del día 60 dividido entre catorce, así se hizo sucesivamente hasta el día 152. Para estimar la curva de crecimiento, los datos obtenidos se analizaron por medio de análisis de regresión cúbica mediante el empleo del paquete estadístico SPSS versión 15 (George y Mallery, 2006) de acuerdo a la metodología descrita por Steel y Torrie (1980). Para la GDP se utilizó un diseño completamente al azar, empleando el mismo paquete estadístico y la metodología propuesta por Steel y Torrie (1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La GDP de los corderos de lana y pelo y el número de pesadas durante el periodo experimental se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Peso de los corderos (kg) de lana y pelo del destete (60 días) hasta la finalización (158 días).

Días de en que se pesaron	Corderos de lana	Corderos de pelo
74	0.152±0.041 ^a	0.204±0.020 ^b
88	0.256±0.022 ^b	0.218±0.022 ^b
102	0.250±0.035 ^b	0.228±0.017 ^b
116	0.308±0.021 ^b	0.257±0.017 ^{bc}
130	0.260±0.041 ^b	0.113±0.022 ^a
144	0.223±0.018 ^b	0.165±0.021 ^a
152	0.481±0.028 ^c	0.270±0.037 ^{bc}

Dentro de columnas valores con diferente letra difieren entre sí (P<0.01).

Al analizar los datos se encontró un efecto altamente significativo (P<0.01) del tiempo (edad en días) con respecto al peso vivo de los corderos. Para los corderos de lana el coeficiente de determinación fue de 0.774 y la ecuación de predicción fue de: $\square = 19.108 - 0.357 (\text{días}) + 0.006 (\text{días})^2 - 0.00001688 (\text{días})^3$. Para los corderos de pelo el coeficiente de determinación fue de 0.783 y la ecuación de predicción de: $\square = 7.737 - 0.150 (\text{días}) + 0.005(\text{días})^2 - 0.00001913 (\text{días})^3$. El coeficiente de determinación para ambas razas fue inferior al indicado por Lewis y Brotherstone (2002), quienes encontraron un coeficiente de 0.83. Estas diferencias pueden deberse al tiempo entre las pesadas y al tipo de alimento que recibieron. En aquel estudio los pesaron cada 28 días y la alimentación fue en pastoreo y estabulación. La ecuación de predicción obtenida en la presente investigación no es tan precisa como la obtenida por López *et al.* (2000), quienes utilizaron el modelo propuesto por Betteni (año), en este modelo, en el tercer parámetro se incluye el logaritmo natural que multiplica a la edad en días. El modelo cúbico explica en un 77.40% el crecimiento de los corderos de lana en función de los días transcurridos a partir del destete y el peso al sacrificio y en los de pelo el coeficiente de determinación fue del 78.2%. González *et al.* (2002) obtuvieron un coeficiente de determinación del 0.83 con un polinomio de tercer grado en corderos Blackbelly hasta los 250 días de edad, sin diferenciar sexo o tipo de parto. La diferencia en el coeficiente de determinación puede ser debida a los días y a que estos autores aplicaron el polinomio a hembras y machos.

Con respecto a la GDP se encontraron diferencias altamente significativas (P<0.01) entre los dos tipos de corderos; fue mayor para los de lana $0.276 \pm 0.0156 \text{ kg. vs } 0.207 \pm 0.0101 \text{ kg}$ respectivamente. La GDP de los corderos de lana fue similar a la reportada por Snowder y Duckett (2003) quienes reportaron 0.230 kg para corderos Columbia. Sin embargo, para los corderos de pelo la GDP fue superior a lo reportado por

Macedo y Hummel (2006), quienes reportaron 0.174 kg para corderos Pelibuey.

Las diferencias en la GDP entre los corderos de lana y pelo puede deberse a los programas de selección que se han realizado en ovejas de lana, porque hasta mediados del siglo pasado y finales del mismo no se empezaron a realizar programas de selección en los corderos de pelo.

La GDP durante el período experimental fue variable: para los corderos de lana, la GDP más baja se registró en el día 74 y la más alta en el día 152; en el resto fue muy similar. Las diferencias fueron altamente significativas ($P < 0.01$). Sin embargo, en los corderos de pelo, las menores GDP se registraron en los días 130 y 144, y la GDP más alta correspondió al día 152. Las variaciones registradas en la GDP entre los tipos de corderos puede deberse al desarrollo corporal, porque varía entre razas.

Se concluye que el peso de los corderos del destete hasta los 152 días de edad se puede predecir al emplear los días. Se recomienda en futuras investigaciones estimar la curva de crecimiento hasta el año de edad en diferentes razas de ovinos.

LITERATURA CITADA

- Bathaei, S. S., Leroy, P. L. (1998). Genetic and phenotypic aspects of the growth curve characteristics in Mehraban Iranian fat-tailed sheep. *Small Ruminant Research*, 29, 261-269.
- Cloete, S. W., Snyman, M. A., Herselam, M. J. (2000). Productive performance of Dorper sheep. *Small Ruminant Research*, 36, 119-135
- Fischer, T. M., Vander Werf, J. H. J., Banks, R. G., Ball, A. J. (2004). Description of lamb growth using random regression on field data. *Livestock Production Science*, 18, 175-185.
- George, D., Mallery, P. (2006). *SPSS for Windows step by step. A simple guide and reference*. Sixth edition. Ed. Pearson, Boston, MA. USA.
- Godfrey, R. W., Weis, A. J. (2005). Post-weaning growth and carcass traits of St. Crix White and Dorper x St. Croix White lambs fed concentrate diet in the U.S. Virgin Islands. *Sheep Goat Research Journal*, 20, 32-36
- González, G. R., Torres, H. G., Castillo, A. M. (2002). Crecimiento de corderos Blackbelly entre el nacimiento y el peso final en el trópico húmedo de México. *Veterinaria México*, 33, 443-453.
- Lewis, R. M., Brotherstone, S. A., (2002). Genetic evaluation of growth in sheep using random regression technique. *Animal Science*, 74, 63-70.
- López, S. J., France, W. J., Gerrits, M. S., Dhanoa, D. J., Humphries, J. A., Dijkstra, J. A. (2002). Generalized Michaelis-Menten equation for the analysis of growth. *Journal of Animal Science*, 78, 1816-1818.
- Lucas, T. J., Arbiza, A. S. (2006). Situación y perspectivas; la producción de carne ovina en México. *Bayvet*, 21, 22-28.
- Macedo, R., Hummel, J. D. (2006). Influence of parity on productive performance of Pelibuey ewes under intensive management in the Mexican dry tropics. *Livestock for Rural Development*, 18 (6).
- Martínez, G. S., Aguirre, O. J., Zepeda, G. J., Ulloa, C. R., Figueroa, M. R., Macías, C. H., Moreno, F. L. A. (2009). La ovinocultura de Nayarit, México. En: Cavallotti V. B., Marcof A. C., Ramírez V. B., comp. *Ganadería y seguridad alimentaria en tiempo de crisis*. Chapingo, México, 305-310.
- Martínez, N. J. (2007). Cálculo de la rentabilidad de los sistemas de producción ovina. En: *Memorias Congreso rentabilidad de la ganadería ovina*. Feb CD s/p; Querétaro, México.
- Portolano, B., Todazo, M. (1997). Courbes et efficacité biologique de croissance de agneux de différents types génétiques abtus á l' age de 100 et 180 j. *Annales de Zootechnie*, 46, 245-253.
- SAGARPA (2005). *Estimación del consumo nacional aparente de carne de ovino 1990-2005* [en línea] www.sagarpa.gob.mx/Dgg/CNAovi.htm. Consulta: 29 jul. 2010.
- SIAP (2008). Servicio de Información Agroali-

- mentaria y Pesca. www.siap.gob.mx. Consulta: 21 de juni de 2011.
- Snowder, G. D., Duckett, S. K. 2003. Evaluation of South African Dorper as a terminal sire breed for growth carcass and palatability characteristics. *Journal of Animal Science*, 81, 368-375.
- Steel, R. G. D., Torrie, J. H. (1980). Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. Mc.Graw-Hill Kogakusha, LTD. Tokyo, Japan.
- Thiruvankadan, A. K., Karunanithi, K., Muralidharan, J., Marendra Babu, R. (2011). Genetic analysis of pre-weaning and post-weaning traits of Mecheri Sheep under dry land farming conditions. *Asian Australian Journal of Animal Science*, 24, 1041-1047

■ ARTÍCULO...

Identificación de sexo en *Crocodylus acutus* por medio de hormonas esteroides en heces

Hernández-Hurtado, H.^{1,6}, Orrantía-Borunda, E.⁸, Borrego-Ponce, A.², Pérez-Eguía, E.², Molinar-Holguín, F.², Stephano-Hornedo, J. L.³, Hernández-Hurtado P. S.^{4,6}, Gould-Chambers, M.⁵ (†),
García de Quevedo, R.⁶, Romero-González, J.⁷ y Rivas-Cáceres, R.^{2,3}

RESUMEN

El cocodrilo de río (*Crocodylus acutus*) es un reptil de hábitos anfibios y está protegido por leyes nacionales e internacionales. Se realizó la identificación de sexos de esta especie en heces sólidas y líquidas por un inmunoensayo competitivo en placa de Elisa para obtener una evaluación cualitativa (colorimétrica) y una cuantitativa (lector de placa de Elisa) de las hormonas esteroides Testosterona y Estradiol. Se tomaron muestras de heces de 64 cocodrilos de todas las tallas en los años 2004 (n=12), 2006 (n=41) y 2007 (n=11), distribuidos en 40 crías, 18 juveniles, 2 subadultos y 4 adultos del Centro de Integración de la Vida Silvestre (CIVS) "La Palma" en San Blas, Nayarit, y de la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) "Reptilario Cipactli" del Centro Universitario de la Costa de la Universidad de Guadalajara en Puerto Vallarta, Jalisco. Los resultados de las heces líquidas no detectaron con precisión las hormonas tanto en el análisis colorimétrico como en el lector de placa de Elisa; en heces sólidas existió una mejor detección de esteroides, pero sólo la testosterona da positivos en ambas pruebas. Se determinó que a mayor cantidad de heces la prueba es más sensible a las hormonas esteroides. La cantidad mínima de heces para asignar sexo es de 1 gramo de excreta sólida. Este método puede utilizarse en la crianza comercial de cocodrilos ya que muestra el sexo con certeza en cocodrilos juveniles. Lo anterior da mejores elementos para un manejo adecuado en la conservación de esta especie *in situ* y *ex situ*.

Palabras clave: *Crocodylus acutus*, inmunoensayo, testosterona, estradiol y heces.

¹ Doctorado en Ciencias Biológicas, Agropecuarias y Pesqueras, Universidad Autónoma de Nayarit.

² Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

³ Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California.

⁴ Doctorado en Ciencias en Biosistemática, Ecología y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas, Universidad de Guadalajara.

⁵ University of California at San Diego.

⁶ Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre "Reptilario Cipactli", CUC, Universidad de Guadalajara.

⁷ University of Texas at El Paso.

⁸ Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C.

^{1,6}UMA Reptilario Cipactli, Centro Universitario de la Costa, Universidad de Guadalajara. Avenida Universidad #203, Delegación Ixtapa C.P. 48280, Puerto Vallarta, Jalisco, México.

INTRODUCCIÓN

La especie *Crocodylus acutus* Cuvier (1807), al igual que todos los cocodrilianos tiene una dieta carnívora, alcanza una talla máxima de seis metros, aunque es raro observar cocodrilos mayores a 4 m. Su reproducción es interna y tiene ciclos anuales, pone huevos en hoyos que cava. Habita en zonas tropicales, en aguas dulces y salobres; en México se distribuye desde Sinaloa hasta Chiapas y en algunos sitios del estado de Quintana Roo y Yucatán. Esta especie actualmente se encuentra protegida por la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, como sujeta a protección especial; su comercio internacional está regulado por el CITES en su Apéndice I y para Cuba en Apéndice II, la IUCN considera a la especie como vulnerable (VU A1 ac) (Álvarez de Toro y Sigler, 2001 y Hernández-Hurtado *et al.*, 2006). De esta especie solamente se ha documentado un estudio relacionado a hormonas esteroides sexuales (Ponce-Campos, 2005); investigaciones sobre determinación de sexos con hormonas esteroides hasta el momento no se han registrado y han sido sexados por métodos invasivos tradicionales.

Identificar los sexos de reptiles sirve para conocer la proporción de hembras y machos que existe en una población y lugar determinado. Esto es de interés para la evolución, ecología y conservación. Además, permite crear los lineamientos para el manejo y aprovechamiento de estos organismos (Eckert *et al.*, 2000 y Arcos-García *et al.*, 2005).

La proporción de sexos en una población ejerce efectos en su índice reproductivo potencial e influye en las relaciones sociales de los vertebrados (Krebs, 1985). Los cuestionamientos relacionados con la proporción de sexos son los siguientes: ¿Cuáles son las proporciones del sexo naturales en las poblaciones de reptiles? ¿Varían las proporciones sexuales dentro y entre poblaciones? ¿Qué efecto tienen las proporciones sexuales en el éxito reproductivo de una población? ¿Existen ciertas proporciones de sexo óptimas para la supervivencia de

una población? Este tipo de preguntas son de particular interés para los conservacionistas, puesto que información de esta clase es esencial para entender la dinámica reproductiva de la población y de este modo generar estrategias de manejo adecuadas para poblaciones en peligro de extinción (Eckert *et al.*, 2000 y Arcos-García *et al.*, 2005).

Según Eckert *et al.*, 2000, para examinar las proporciones sexuales en las poblaciones de reptiles se debe decidir qué porción de la población se va a examinar: embriones, crías, jóvenes, adultos, ya que pueden presentarse diferencias de supervivencia relativas al sexo y de este modo las proporciones sexuales pueden variar entre las diferentes clases de edad dentro de la población. Por lo tanto, estudios óptimos de la proporción sexual deben incluir las diferentes clases de edad existentes dentro de una población.

Para asignar el sexo a los cocodrilos existen dos métodos: los invasivos que son aquellos que requieren manipular físicamente al organismo, introducir elementos ajenos al organismo y extracción de órganos o muestras biológicas, con la desventaja de que los organismos se estresan durante el manejo o mueren; y los métodos no invasivos, que se trabajan con muestras o residuos fisiológicos, para lo cual no se manipulan organismos. Su desventaja es que muchas veces no se sabe con exactitud de qué individuo es la muestra y las hormonas y ADN pueden contaminarse con facilidad si no se manejan adecuadamente.

Las técnicas para monitorear hormonas esteroides fecales son no invasivas y se ha incrementado su uso considerablemente en investigaciones con fauna, debido a que tienen amplias aplicaciones, permitiendo estudios experimentales de la fisiología reproductiva en animales cautivos o de vida silvestre. Schlinger y Callar (1987) probaron estas técnicas en vertebrados e identificaron hormonas sobre tejido neuroendocrino; Schlinger y Arnold (1991) identificaron hormonas esteroides en aves como reguladoras de canto; Monfort *et al.* (1993) determinaron ciclos estrales y preñez a través de hormonas en ex-

cretas de alces cautivos; Wasser *et al.* (1993) midieron efectos de dietas en concentraciones de hormonas en heces y sangre de mandriles cautivos; Wasser *et al.* (1994) identificaron hormonas en heces y orina de mandriles cautivos para determinar la fase folicular y ciclos estrales; Brown *et al.* (1994) determinaron el metabolismo de esteroides y actividad ovárica en el gato doméstico; Wasser *et al.* (1995) midieron esteroides fecales para determinar ovulación y preñez de lobos en cautiverio; Wasser (1996) midió esteroides fecales para determinar ciclos estrales en mandriles silvestres; Wasser *et al.* (1996) midieron esteroides fecales para determinar ciclos estrales de elefantes africanos silvestres; Soto *et al.* (2004) describieron perfiles hormonales sexuales por inmunoanálisis en heces del lobo mexicano en cautiverio; Brousset *et al.* (2005) evaluaron metabolitos del cortisol a partir de saliva, orina o heces de diferentes especies de mamíferos silvestres; Baraja-Gema *et al.* (2006) determinaron el sexo y describieron perfiles hormonales sexuales por inmunoensayo del lobo ibérico silvestre; Valdespino *et al.* (2007) realizaron un ensayo sobre las dificultades y ventajas al utilizar las heces para evaluar eventos reproductivos y estrés fisiológico en vertebrados. Finalmente Macchi *et al.* (2010) evaluaron progesterona, estrógenos y andrógenos por radioinmunoensayo en hembras y machos silvestres de jabalí en Italia; los resultados demostraron una correlación positiva entre la concentraciones de esteroides fecales y plasmáticos. Estos resultados sugieren la aplicabilidad de esta técnica no invasiva para monitorear el estado reproductivo del jabalí, permitiendo el manejo informado y correcto en esta especie. Lu *et al.* (2011) colectaron muestras fecales en monos (*Trachypithecus phayrei crepusculus*), de diez hembras adultas para analizar estrógenos y progesterona. Fueron encontrados niveles elevados de esta hormona, observándose un periodo en el cual las hembras tuvieron ciclos reproductivos más largos en sus fases foliculares cuyos periodos de receptibilidad permanecieron sin cambios, sin embargo cuando ocurrieron las ovulaciones, las hembras tuvieron mayor probabilidad de concebir. Por otro

lado, la concepción fue también más probable cuando las condiciones fisiológicas hubieron mejorado, sugiriendo que los efectos hormonales y el estado energético en la reproducción pueden ser difíciles de separar. Por otro lado, Dehnhard *et al.* (2008), analizaron muestras fecales de hembras preñadas y pseudopreñadas del lince europeo durante un periodo de tres años; se compararon los niveles de progesterona fecal antes del apareamiento de estas mismas hembras y posteriormente cuando ya se encontraban preñadas. Los niveles de progesterona revelaron una tendencia hacia niveles más altos, tanto en hembras preñadas como pseudopreñadas, pero no se observó alguna diferencia entre ambas categorías. Los niveles de estrógenos también aumentaron con una tendencia a ser más elevada y prolongada en hembras preñadas. Este estudio contribuyó a identificar estrógenos y gestágenos como método no invasivo en las hembras de esta especie. Baria *et al.* (2008), determinaron el género en especímenes del lobo ibérico utilizando muestras fecales para investigar las concentraciones de hormonas sexuales durante periodos reproductivos y no reproductivos, tanto en hembras como en machos. Los resultados de este estudio mostraron que los niveles de testosterona en machos fueron más altos durante el periodo reproductivo en comparación con el periodo no reproductivo. Sin embargo, las concentraciones de progesterona, estradiol y testosterona también fueron más altos en hembras durante el periodo reproductivo en comparación con el periodo no reproductivo. Capezzuto *et al.* (2008) colectaron muestras fecales y sanguíneas de 11 cabras hembras adultas semanalmente desde el apareamiento, continuando con la preñez hasta las dos semanas posteriores al parto, para determinar progesterona y estrógenos y correlacionar sus concentraciones tanto en muestras fecales como en muestras séricas a través de un radioinmunoensayo. Las concentraciones de estradiol, tanto en heces fecales como en suero, se incrementaron desde la semana siete a la once, alcanzando valores más altos antes del parto y disminuyendo significativamente en el periodo posterior al mismo. Un incremento de

la progesterona, tanto en heces como en suero, ocurrió durante la segunda semana y a partir de ahí las concentraciones permanecieron más altas hasta la semana veinte; posteriormente, disminuyeron en la última semana de gestación, así como en las dos semanas posteriores al parto. Los resultados indicaron que las concentraciones de estas hormonas, tanto en suero como en heces, estuvieron muy altamente correlacionadas ($r=0.79$ para progesterona y $r=0.84$ para estradiol, con $p < 0.001$). El análisis de regresión mostró que el modelo logarítmico permitió una predicción significativa de las concentraciones de estas dos hormonas tanto en suero como en heces fecales. Por lo tanto, los perfiles de estradiol y progesterona en muestras fecales reflejan con mucha exactitud las mismas concentraciones de estas hormonas en muestras séricas en cabras preñadas.

En el caso específico de los cocodrilianos, al no presentar dimorfismo sexual, algunos investigadores describieron aspectos reproductivos y utilizaron diferentes técnicas para identificar el sexo y proporción sexual: Singh (1984) identificó el sexo de *Crocodylus palustris* y *Crocodylus porosus* con las técnicas de tacto en cloaca, presión en cloaca para expulsión del pene y observación por sonda en cocodrilos de 70 a 80 cm; Lance (1987) describió aspectos generales en el control hormonal sobre la reproducción en cocodrilianos. Allsteadt y Lang (1995) identificaron el sexo en crías y juveniles de *Alligator mississippiensis* con las técnicas de presión en cloaca; Hernández-Hurtado (1997) identificó el sexo en *Crocodylus acutus* por la técnica de tacto en cloaca en organismos adultos mayores a 2 m de longitud, y en crías de 45 cm utilizó un otoscopio para observar la estructura reproductora; como parte de estudios reproductivos de *Alligator mississippiensis*, Guillette *et al.* (1997) analizaron muestras de sangre para medir hormonas sexuales y de estrés por radioinmunoensayo específico; Morrish y Sinclair (2002) trabajaron con *Alligator mississippiensis*, realizando la determinación del sexo en gónadas durante el periodo de embriogénesis, utilizando los genes SOX9, AMH, WT1,

SF1, DAX1 y DMRT1. Ponce-Campos (2005) evaluó factores ambientales en la reproducción de *Crocodylus acutus* silvestres y en cautiverio analizando muestras de sangre para medir hormonas sexuales y de estrés por radioinmunoensayo; Cabrera *et al.* (2007) realizaron la descripción histológica del aparato genital masculino en *Caiman crocodilus crocodilus*; y Ziegler y Olbort (2007) describieron las estructuras genitales e identificaron el sexo en diferentes especies de cocodrilianos mediante las técnicas de presión en cloaca para expulsión de pene o clítoris y observaron con pinzas o sexador de reptiles.

El objetivo de este trabajo consistió en determinar, a través de un método no invasivo en las heces del cocodrilo de río (*Crocodylus acutus*), los niveles de concentración de las hormonas testosterona y estradiol, como un indicador para identificar su sexo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se realizó en dos sitios: el primero en el Centro de Integración de la Vida Silvestre (CIVS) “La Palma” en San Blas, Nayarit, localizado en 21°31’42” latitud norte y 105°12’22” longitud oeste. El CIVS colinda con un cuerpo de agua de 2 Ha denominado el Tanque o el Camalote; el área de albergues para cocodrilos es de 2000 m² y se trabajó con organismos de dos acuaterrios para cocodrilos crías y juveniles de 6 m² c/u. El clima de este lugar es cálido húmedo con lluvias en verano, la temperatura promedio de 27° C y la precipitación pluvial anual fluctúa entre 1000 y 1500 mm. La vegetación es una mezcla de bosque de galería y bosque tropical subcaducifolio. El segundo sitio fue la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) “Reptilario Cipactli”, que se localiza dentro de las instalaciones del Centro Universitario de la Costa de la Universidad de Guadalajara en Puerto Vallarta, Jalisco, en 20°42’17” LN y 105°13’16” LO. La UMA presenta una superficie de 2500 m² con ocho acuaterrios para cocodrilos. El

clima de la UMA es cálido húmedo con lluvias en verano, temperatura promedio de 27° C y precipitación pluvial anual entre 1000 y 1500 mm. La vegetación es una mezcla de bosque de galería, bosque tropical subcaducifolio y plantas de ornato.

Manejo de organismos

Los cocodrilos estudiados fueron medidos (del hocico a la punta de la cola), pesados y en organismos mayores de 1 m se identificó el sexo mediante la técnica de palpación y observación de genitales. Se utilizó endoscopio en dos cocodrilos de talla de 30 cm y dos cocodrilos de talla de 1.15 m. El estudio se realizó en las siguientes fechas y grupos:

Grupo A en octubre 2004. Se experimentó con 12 organismos de la UMA "Reptilario Cipactli", divididos en seis crías con talla promedio 34.76 cm (intervalo 31.2-38.4 cm) y peso 118.33 g (intervalo 80-170 g), y seis cocodrilos juveniles con intervalo de talla 70-143 cm y peso 1.1-11.7 kg. Se identificaron 4 machos por palpación y observación de genitales.

Grupo B, de septiembre y octubre 2006. Se experimentó con 31 crías de el CIVS "La Palma", una camada (2006) de 16 organismos con talla promedio 32.81 cm (intervalo 31.5- 34 cm) y peso 99 g (intervalo 80-110 g) y una camada (2005) de 15 organismos con un promedio de talla 57.84 cm (intervalo 50- 65 cm) y peso 659.33 g (intervalo 380-920 g). Además, se trabajó con un grupo de 10 organismos de la UMA "Reptilario Cipactli"; tres crías con un intervalo de talla 28-30.5 cm y peso 58-78 g; tres juveniles con un intervalo de talla 98-115 cm y peso 3 - 5.5 kg. Sólo se identificó una hembra, dos preadultos, —macho y hembra—, con tallas de 190 y 195 cm, peso de 24 y 27 kg, respectivamente, y dos adultos machos, con tallas de 288 y 350 cm, peso de 130 y 250 kg, respectivamente.

Grupo C, de julio y agosto 2007. Se realizó el experimento con 11 organismos albergados en la UMA "Reptilario Cipactli". Se trabajó con nueve juveniles, cuatro machos y cuatro hembras, con un

promedio de talla 116.11 cm (intervalo 98-133 cm) y peso 4.44 kg (intervalo 3-6 kg), y dos cocodrilos adultos machos, con tallas de 213 y 350 cm, peso de 30 y 250 kg, respectivamente.

Los cocodrilos menores a 143 cm fueron separados en jaulas individuales para evitar que sus heces se mezclaran; los organismos mayores a 143 cm se encontraban en albergues separados. Dos semanas antes de la colectar las heces, los cocodrilos sólo se alimentaron con pescado marino fresco. La colecta se realizaba 24 horas después de que los cocodrilos se alimentaban. Para la toma de muestras de heces se utilizó bisturí y espátula en muestra sólida y émbolos en muestra líquida; cada muestra fue colectada individualmente en tubos de ensayo de vidrio con 1 ml de dietil éter; se homogenizó en heces sólidas entre 1 y 2 g, en orina y almizcle entre 1 y 2 ml.

Identificación de hormonas esteroides por inmunoensayo competitivo

Se siguió el método establecido por Orrantia-Borunda y Rivas-Cáceres (2004). Para la identificación de testosterona y estradiol, se utilizó 1 ml de dietil éter en cada uno de los tubos de vidrio provenientes del homogenizado por vórtice con orina o heces fecales, y se dejaron en un extractor hasta que se evaporara el éter para dejar la fase orgánica en 100 μ l de metanol.

El número de micropozos fue predeterminado para agregar extractos de heces y orina de cada uno de los cocodrilos elegidos y se adicionaron 10 μ l de muestras de heces u orina o 10 μ l de estándares de estradiol 0, 10, 30, 100, 300 y 100 picogramos por mililitro o 10 μ l de testosterona 0, 0.1, 0.5, 2, 6 y 18 nanogramos por ml. Se agregaron 50 μ l del conjugado testosterona-HRP o estradiol HRP a una placa de un Kit Biokwitech.

Después se añadieron 50 μ l de antitestosterona o antiestradiol de conejo en cada micropozo, se mezcló manualmente por 30 segundos y se colocó la placa dentro de una bolsa de plástico cerrada

herméticamente; se incubó a 37 °C por 90 minutos; posteriormente se lavó cinco veces con agua destilada o desionizada.

Se agregaron 50 µl de TMB en cada micropozo y 50 µl de peróxido de hidrógeno y se agitó por 5 segundos, se incubó a temperatura ambiente por 15 minutos y posteriormente se determinó el sexo por evaluación cualitativa o colorimétrica.

La reacción se detuvo agregando 50 µl de 1% de SDS agitando suavemente por 30 segundos. Los resultados fueron evaluados cuantitativamente en un lector de Elisa a 450 nm, marca Awareness, modelo stat fax-2100, a través de un control como la utilización de una curva estandarizada previamente.

Se utilizó estadística descriptiva, media y desviación estándar para evaluar los datos del lector de Elisa.

RESULTADOS

Identificación cualitativa de hormonas

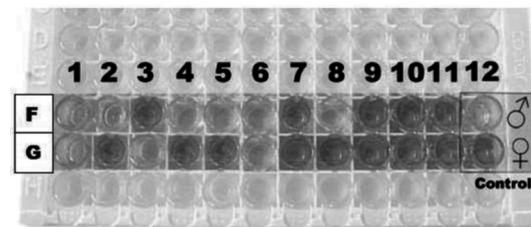
Los resultados del Grupo A con 1 gramo de heces sólidas arrojaron con el análisis colorimétrico que si la hormona esteroide, testosterona, se encuentra en el micropozo, el color vira a traslúcido-cristalino, y si no, el color permanece en azul intenso. La figura 1 muestra que los micropozos F1, F2, F6, F8, G3 y G6 son cocodrilos machos en vista de que no hay viraje de color, es traslúcido. Los micropozos F7, F9, F10, F11, G7, G8, G9, G10 y G11 son hembras, ya que el color es azul intenso. Los cocodrilos que fueron sexados previamente por otras técnicas se identificaron como machos son los micropozos F1, F2, G3 y G6, donde la prueba colorimétrica viró a traslúcido. Para corroborar los resultados, 48 horas después se llevaron a cabo tres repeticiones de los mismos organismos y los resultados fueron iguales.

La placa de Elisa también muestra otras especies de organismos (aunque esto no fue el objetivo del presente trabajo) como testigos: los micropozos

F3, F4, F5 y G4 son aves canoras y los micropozos G1, G2 y G5 son mamíferos marinos, donde el sexo determinado por colorimetría fue correcto.

Los resultados muestran que la prueba de colorimetría es sensible a la testosterona, habiendo identificado el sexo en organismo de tallas entre 31 y 143 cm.

Figura1.- Prueba de Elisa para identificación colorimétrica de sexo por hormonas esteroides en heces de *Crocodylus acutus*.



Identificación cuantitativa de hormonas

Para medir la concentración de hormonas esteroides del Grupo B en la mínima cantidad de muestra, se experimentó con muestra de heces un organismo de la UMA "Reptilario Cipactli": un cocodrilo macho de 350 cm, sexado previamente por palpación y observación de genitales. Las muestras de heces se estandarizaron en masa de 0.03, 0.105, 0.3, 0.5 y 1 gramo. La testosterona en concentraciones que identifica como macho se detectó con muestras de 0.5 a 1 g, las muestras inferiores a 0.5 g no permitieron discriminar entre los niveles de testosterona (T) y estradiol (E). Los datos son presentados como la media más menos la desviación estándar (DE). Los rangos de concentración son los siguientes: T en machos es mayor a 0.443 ng/g y menor en hembras; E en hembras es mayor a 0.538 pg/g y menor en machos.

De la camada 2006 (n=16) se obtuvo muestra promedio de 0.027 g de heces que presentó concentración de T= 23.37 + 19.7 ng/g y E= 67.96 + 58.39 pg/g. La camada 2005 (n=15), con muestra promedio de 0.085 g de heces, presentó T= 9.376 + 6.6 ng/g y E= 21.9 + 18.69 pg/g. Las anteriores dispersiones de las desviaciones estándar con respec-

to a la media impidieron identificar con certeza el sexo de los individuos en ambas camadas. El peso de las muestras de heces sólidas fue menor a 0.1 g y las concentraciones de hormonas se cuantificaron al relacionar la hormona con la muestra (ng/g); para este caso se considera que es una concentración alta para crías de cocodrilo.

Los organismos de la UMA "Reptilario Cipactli" presentaron las siguientes concentraciones de hormonas: tres crías con muestras de heces sólidas menores a 0.1 g presentaron la $T=50.21 + 37.83$ ng/g y $E=135.34 + 117.36$ pg/g. Con 10 g de heces presentaron $T=0.056 + 0.004$ ng/g y $E=0.24 + 0.45$ pg/g, lo que muestra que la prueba es precisa con cantidades mayores de heces. De los tres cocodrilos juveniles sólo en uno se obtuvieron heces sólidas menores a 0.1 g; los resultados caen en rango mencionados para esta cantidad.

De los organismos del Grupo B (16 crías, dos juveniles, dos preadultos y un adulto) se obtuvieron heces líquidas (orina y almizcle). Las muestras se estandarizaron en volúmenes de 0.5, 1, 1.29, 2, 3, 4, 5 y 8 ml se observó que en 8 ml $T=0.85 + 0.009$ ng/g y $E=0.125 + 0.075$ pg/g. Cabe destacar que un cocodrilo adulto de 288 cm de longitud, sexado previamente por técnica de palpación de genitales como macho, fue identificado con el inmunoensayo en la prueba de Elisa como hembra con el máximo volumen de heces líquidas, 8 ml, con concentraciones de $T=0.067$ ng/ml y $E=0.358$ pg/ml. Las concentraciones anteriores son bajas, por lo que la prueba en heces líquidas es poco eficaz en cualquier volumen de las mismas.

En el Grupo C (once organismos de la UMA "Reptilario Cipactli") se obtuvieron 8 muestras de heces sólidas las cuales se estandarizaron en masa de 0.5 y 1 g; de cada muestra se realizaron tres repeticiones. Para 0.5 gramos de heces los resultados fueron: dos machos adultos con $T = 56 + 3$ ng/g y $E = 21375.73 + 23 485.38$ pg/g; tres hembras juveniles presentaron $T = 8.05 + 4.96$ ng/g y $E = 2249.44 + 1532.59$ pg/g; dos machos juveniles $T = 4.13 + 1.76$ ng/g y $E = 1142.79 + 807.69$ pg/g;

y un cocodrilo juvenil indeterminado presentó $T = 18.44 + 1.38$ ng/g y $E = 3022.79 + 771.36$ pg/g.

Con un gramo de heces los resultados fueron los siguientes: dos machos adultos con $T = 64 + 5.53$ ng/g y $E = 20593.66 + 20749.12$ pg/g; tres hembras juveniles con $T = 6.34 + 3.91$ ng/g y $E = 3512.48 + 2687.53$ pg/g; dos machos juveniles con $T = 15.04 + 2.33$ ng/g y $E = 5180.55 + 306.89$ pg/g; siendo que la muestra del cocodrilo juvenil indeterminado fue insuficiente para experimentar con 1 gramo.

Los datos anteriores muestran que el estradiol en heces sólidas no permite una identificación de sexos confiable, tanto en la prueba colorimétrica, donde no se observó viraje de color azul a claro-cristalino, como en la prueba cuantitativa, donde se observó que existe mucha dispersión de datos en cuanto a la media.

Del Grupo C se obtuvieron heces líquidas (orina y almizcle) de ocho organismos juveniles. En la prueba por colorimetría con las muestras estandarizadas en 5 y 10 ml, se observó que el reactivo para identificar estradiol no viró de azul a claro-cristalino y el reactivo para testosterona viró de muy tenue de azul intenso a azul claro. En la prueba cuantitativa (lector de placa de Elisa) se observó que en 10 ml la $T = 3.86 + 5.17$ ng/g y $E = 6484.93 + 2428.42$ pg/g, lo que no permite identificar con certeza el sexo de los individuos. El inmunoensayo en heces líquidas de cocodrilos es poco eficaz.

En la figura 2 se observan los datos de las muestras de las heces fecales de donde fueron extraídas las respectivas soluciones de testosterona depositadas en cada micropozo. Las diluciones estándares para la curva de calibración se hicieron por duplicado para tener mayor precisión, figura 2, carril H, S_1-S_8 . Los estándares de control se localizan en los micropozos E11 (NC) y F11 (PC). El sombreado de las celdas indica que el test reporta negativo para la presencia de testosterona en el micropozo correspondiente.

Los resultados positivos mostrados en las columnas 1(A-C), 0.5g M11 y 1(E-C), 1g M11 demuestran que utilizar muestras fecales de un co-

codrilo macho de entre 0.5 y 1 g no afecta en la identificación de su género. Además, los resultados de las heces fecales que fueron colectadas a la semana siguiente, columnas 3 (A-C), 0.5gM21 y 3(D-F), 1gM21, confirman la confiabilidad de la metodología propuesta para especímenes adultos a lo largo del tiempo.

La identificación de sexo por medio del proceso Elisa para muestras de heces fecales de un macho semiadulto de 0.5 a 1 g es confirmada en las columnas 4-8 (A-C), 0.5gM1-52 y 4-8(D-F), 1gM1-52. Además, estos resultados avalan que dentro de un periodo de al menos cinco semanas en que las muestras fueron colectadas semanalmente, los resultados positivos no se verán alterados.

Los resultados negativos en las filas G(4-6), 0.5gM13 y 11(A-C), 0.5gM14, junto con los positivos en la fila G(7-9), 1gM13, sugieren que para un

codrilo macho juvenil, el peso de la muestra de heces fecales debe de ser igual o mayor de 1g para conocer su género mediante Elisa.

Los resultados negativos de la fila G(1-3), 0.3F11 y las columnas 2(D-E), 1gF11; 12(A-C), 0.5gF13; 12(D-F), 1gF13 sugieren que el peso de la muestra de las hembras no afecta el resultado negativo esperado para testosterona. En adición, los resultados negativos de las columnas 9(A-C), 0.5gF12; 9(D-F), 1gF12; 10(A-C), 0.5gF22 y 10(D-F), 1gF12, que representan las muestras tomadas cada semana, x indican que estos resultados de Elisa no se verán afectados con el transcurso del tiempo.

Finalmente, el presente estudio sugiere que para la extracción de la testosterona de al menos 1 g de heces fecales del codrilo acutus y la prueba de Elisa son confiables para la identificación de su sexo.

Figura 2.- Resultados de los micropozos en la prueba de ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.5gM ₁ ¹		0.5gM ₂ ¹	0.5gM ₂ ¹	0.5gM ₂ ²	0.5gM ₂ ³	0.5gM ₂ ⁴	0.5gM ₂ ⁵	0.5gF ₂ ¹	0.5gF ₂ ²	0.5gM ₄ ¹	0.5gF ₃ ¹
B	0.5gM ₁ ¹		0.5gM ₂ ¹	0.5gM ₂ ¹	0.5gM ₂ ²	0.5gM ₂ ³	0.5gM ₂ ⁴	0.5gM ₂ ⁵	0.5gF ₂ ¹	0.5gF ₂ ²	0.5gM ₄ ¹	0.5gF ₃ ¹
C	0.5gM ₁ ¹		0.5gM ₂ ¹	0.5gM ₂ ¹	0.5gM ₂ ²	0.5gM ₂ ³	0.5gM ₂ ⁴	0.5gM ₂ ⁵	0.5gF ₂ ¹	0.5gF ₂ ²	0.5gM ₄ ¹	0.5gF ₃ ¹
D	1gM ₁ ¹	1gF ₁ ¹	1gM ₂ ¹	1gM ₂ ¹	1gM ₂ ²	1gM ₂ ³	1gM ₂ ⁴	1gM ₂ ⁵	1gF ₂ ¹	1gF ₂ ²		1gF ₃ ¹
E	1gM ₁ ¹	1gF ₁ ¹	1gM ₂ ¹	1gM ₂ ¹	1gM ₂ ²	1gM ₂ ³	1gM ₂ ⁴	1gM ₂ ⁵	1gF ₂ ¹	1gF ₂ ²	NC	1gF ₃ ¹
F	1gM ₁ ¹	1gF ₁ ¹	1gM ₂ ¹	1gM ₂ ¹	1gM ₂ ²	1gM ₂ ³	1gM ₂ ⁴	1gM ₂ ⁵	1gF ₂ ¹	1gF ₂ ²	PC	1gF ₃ ¹
G	0.3gF ₁ ¹	0.3gF ₁ ¹	0.3gF ₁ ¹	0.5gM ₃ ¹	0.5gM ₃ ¹	0.5gM ₃ ¹	1gM ₃ ¹	1gM ₃ ¹	1gM ₃ ¹	0.5gM ₅ ²	0.5gM ₅ ²	0.5gM ₅ ²
H	S ₁	S ₁	S ₂	S ₂	S ₃	S ₃	S ₄	S ₄	S ₅	S ₅	S ₆	S ₆

Nota: Nomenclatura ${}^aM^b{}_c$ o ${}^aF^b{}_c$ o S_d

M: Macho.

F: Hembra.

S: Solución standard.

NC: Control negativo.

PC: Control positivo.

a: Peso de la muestra fecal.

b: Número de semana de toma de muestra.

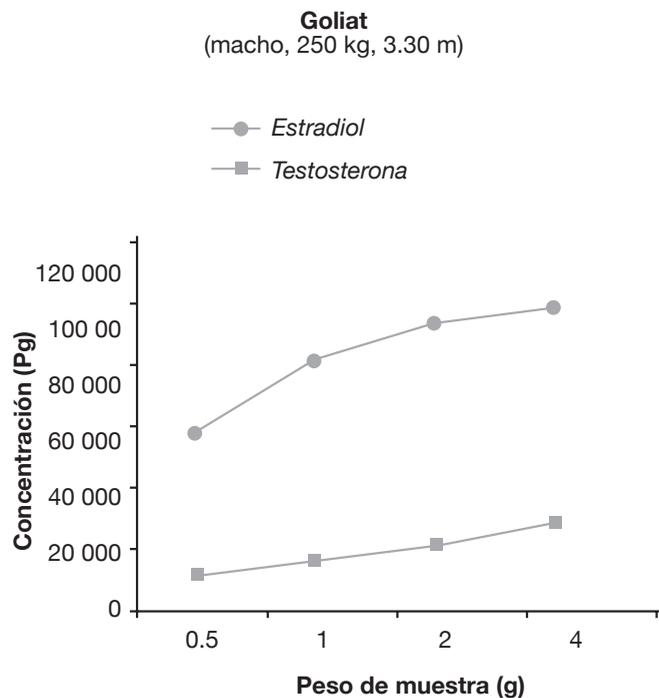
c: Número de especimen.

d: Número de dilución Standard.

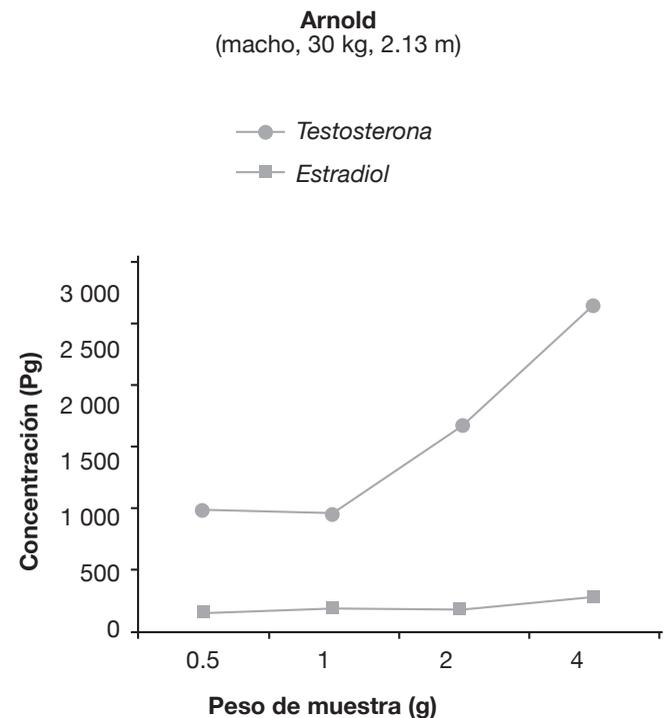
Para corroborar lo anterior se diseñó otro inmunoensayo con dos cocodrilos machos adultos. Del primer macho de 3.3 m se prepararon muestras 0.5, 1, 2 y 4 g de heces; se obtuvieron intervalos de concentraciones de hormonas de T = 59001 a 101233 pg/g y E = 12359 a 29787 pg/g. Del macho de 2.13 m se obtuvieron intervalos de concentraciones de hormonas T = 9800 a 26200 pg/g y E = 1532 a 2723 pg/g donde T significa testosterona y E estradiol.

En los gráficos de la figura 3a y 3b se observa el aumento de concentración de testosterona al incrementar el peso de la muestra de cocodrilos machos adultos, y observándose que comparativamente el aumento del estradiol es poco significativo. El peso óptimo para distinguir entre sexos por concentración de hormonas es a partir de un gramo. También se observa que la talla y peso del individuo influyen en la concentración de hormonas, por la diferencia en madurez de cada individuo.

Figura 3. a) Concentración de hormonas esteroides (estradiol y testosterona) en relación con el peso de la muestra en gramos, en el macho Goliat.



b) Concentración de hormonas esteroides (estradiol y testosterona), en relación con el peso de la muestra en gramos, en el macho Arnold.



DISCUSIÓN

La identificación de hormonas esteroides fecales se ha utilizado en vertebrados para hacer perfiles hormonales en periodos largos. Con éstos se ha determinado su influencia en el comportamiento reproductivo, ciclos estrales, fases foliculares, ovulación, preñez, estrés fisiológico y determinación de sexo en aves y mamíferos en cautiverio y silvestres (Schlinger y Callar, 1987; Shideler *et al.*, 1989; Schlinger y Arnold, 1991; Monfort *et al.*, 1993; Wasser *et al.*, 1993, 1994, 1995, 1996; Brown *et al.*, 1994; Packer, 1995; Soto *et al.*, 2004; Brousset *et al.*, 2005; Baraja-Gema *et al.*, 2006 y Valdespino *et al.*, 2007), pero no se encontraron investigaciones referentes a reptiles, por lo que estos resultados son exploratorios y la base para futuros trabajos de investigación en cocodrilos.

La identificación de sexo en reptiles se efectúa generalmente por un factor ambiental denominado determinación del sexo dependiente de la temperatura (DST), en la cual, mediante control de la temperatura durante la incubación de los huevos; se tendrán diferentes proporciones de cada sexo. En el caso del género *Crocodylus sp.* la temperatura de incubación oscila entre 28° y 34° C. Obteniendo por debajo de 31° y entre 33° y 34° C hembras y machos entre 32° y 32.9° C. Las proporciones de sexos 1:1 se obtienen entre 31° y 31.9° C (Lang, 1992). Aguilar-Miguel *et al.* (1998) encontraron en recién nacidos de *Crocodylus acutus* y *Crocodylus moreletii* que la temperatura de incubación de 30°, 32° y 34° C regula los niveles de andrógenos y estrógenos; los incubados a 34° C registraron los más altos niveles de testosterona y estradiol; además observaron fuerte actividad esteroidogénica en glándula adrenal, muy débil en mesonefros y negativa en gónada. En el caso del presente estudio, la temperatura de incubación de los cocodrilos de todas las tallas se desconoce.

Otras técnicas para determinar el sexo en cocodrilos son tacto de cloaca, presión en cloaca para que expulse el pene y observación directa de genitales con aparatos como pinzas, sexadores, otoscopios y endoscopios (Singh, 1984; Allsteadt y Lang, 1995; Hernández-Hurtado, 1997 y Ziegler y Olbort, 2007). También se han descrito cortes histológicos del aparato genital (Cabrera *et al.*, 2007), sin embargo, la principal desventaja de estas técnicas es que son invasivas y provocan estrés. Debe tomarse en cuenta que los cocodrilos son organismos ectotérmicos y su fisiología más lenta, por lo que después de la manipulación tardan en recuperarse más que un mamífero; si el manejo es prolongado, el estrés fisiológico puede causar la inmovilidad y en caso grave deceso.

Lance (1987 y 1989) menciona que factores ambientales y biológicos como temperatura, fotoperiodo, lluvia, alimentación e interacciones sociales estimulan y activan ciclos de secreción hormonal en cocodrilos. Este autor encontró un

pico máximo en abril y mayo de concentraciones de las hormonas testosterona y estradiol en plasma de hembras y machos reproductores de *Alligator mississippiensis* que decrecieron en los siguientes meses. Sin embargo, Ponce-Campos (2005) encontró en plasma de reproductores machos de *Crocodylus acutus*, en estado silvestre y cautiverio, un pico máximo de concentraciones de testosterona en enero y febrero; las concentraciones máximas de estradiol en hembras se observaron en enero, marzo y mayo; la concentración de ambas hormonas en ambos sexos decreció después de mayo.

El presente estudio se realizó en época no reproductiva para *Crocodylus acutus*, de julio a octubre en tres años diferentes, con organismos de todas las tallas, no sólo reproductores. Se detectaron las hormonas esteroides en heces y no en plasma, por lo que los estudios anteriores sólo se toman como referencias.

Orrantia-Borunda y Rivas-Cáceres (2004) y Rivas-Cáceres (2004) mencionan que se puede identificar el sexo por hormonas esteroides en aves, reptiles y mamíferos con el método seguido en esta investigación; además, se pueden reconocer las hormonas esteroides por colorimetría o por lector de placa Elisa. En esta investigación se detectaron las hormonas esteroides por colorimetría, siendo ésta la identificación cualitativa. En el grupo A hubo reacción en la prueba donde el color azul del reactivo viró a translúcido-cristalino identificando correctamente a seis cocodrilos como machos y nueve cocodrilos como hembras. En los grupos B y C, además de realizar el análisis cualitativo, se efectuó el análisis cuantitativo por lector de placa de Elisa y los resultados coinciden con el grupo A. Para que esta prueba detecte las hormonas esteroides en viraje de color es necesario 1 g o más de heces sólidas.

Las concentraciones de hormonas esteroides en el Grupo B (crías y juveniles) del presente estudio (T=9.376-50.21 ng/g y en E=21.9-135.34 pg/g en heces menores a 0.5 g) difieren de lo encontrado por Aguilar-Miguel *et al.* (1998), quienes registran en

suero sanguíneo de recién nacidos de *Crocodylus acutus* concentraciones de T=0.022 ng/ml y E= 18 pg/ml, y en *Crocodylus moreletii* concentraciones de T=0.047 ng/ml y E=79 pg/ml. Asimismo, difiere de los estudios realizados por Guillette *et al.* (1999a), con *Alligator mississippiensis* juveniles, donde las concentraciones de hormonas en plasma oscilan en T=0.08-0.215 ng/ml y en E=26-82 pg/ml. Otra investigación de *Alligator mississippiensis* en siete sitios en Florida. Guillette *et al.* (1999b) encuentran, en crías de 40 a 79 cm de longitud total, concentraciones de hormonas en plasma que oscilaron en T=0.07-0.110 ng/ml y en E=13-50 pg/ml; en juveniles de 80 a 130 cm de longitud total, las concentraciones de T=0.08-0.990 ng/ml y en E=10-70 pg/ml. Ponce (2005) encontró en adultos de 1.98 a 4.44 m de *Crocodylus acutus*, concentraciones de hormonas en plasma que oscilaron en T=0.18-16.22 ng/ml en machos y en E=29-152.5 pg/ml en hembras.

Al comparar las investigaciones anteriores con el presente estudio se considera que las concentraciones de hormonas esteroides que se obtuvieron son altas, lo cual dificultó la identificación de sexos en cocodrilos crías y juveniles.

Sin embargo, en el presente estudio se experimentó con 10 g de heces de crías de 30 cm de longitud total, con promedio de T=0.056 ng/g y E=0.24 pg/g, que dio resultados similares a estudios realizados en Florida (Guillette *et al.*, 1999a). Los resultados muestran que a mayor cantidad de heces sólidas, mayor certeza en la prueba de detección de hormonas esteroides.

Diferentes volúmenes de heces líquidas no dieron resultados precisos: con 8 ml de muestra se detectó T=0.85 ng/ml y E=0.125 pg/ml, sin embargo, en el análisis cuantitativo se identificó incorrectamente como hembra a un cocodrilo macho adulto, por lo que la prueba es poco eficaz.

Los experimentos con los grupos A y B permitieron diseñar un tercer experimento con el Grupo C, organismos juveniles y adultos, en el cual se obtuvieron muestras de 0.5 y 1g de heces, y se corroboró con muestras de 0.5, 1, 2 y 4g. Resultó que existe

mayor precisión para detectar testosterona tanto en el análisis colorimétrico como en el análisis cuantitativo cuando la muestra tiene un peso mayor. Sin embargo, la detección del estradiol no es precisa, ya que en la colorimetría los virajes de color son muy tenues y la concentración detectada por el lector de la placa de Elisa muestra datos muy dispersos. Gunderson *et al.* (2004) encontraron a lo largo de 3 años en lagos limpios y con altos niveles de contaminación, que no hay diferencia significativa en la concentración de estradiol tanto en machos como en hembras de *Alligator mississippiensis* juveniles (talla 0.9 a 1.5 m). Sin embargo, la concentración de testosterona muestra diferencias significativas en todos los organismos de la misma muestra; el andrógeno puede mostrar cambios por la contaminación en los patrones de dimorfismo sexual.

Cabe mencionar que se han utilizado andrógenos y estrógenos para determinar el sexo de excretas en el lobo mexicano y el ibérico (Soto *et al.*, 2004 y Baraja-Gema *et al.*, 2006); en el presente estudio los resultados son parecidos pero no fue posible realizar la asignación de sexo a partir de la relación diferencial entre testosterona respecto al estradiol.

No se obtuvieron resultados satisfactorios en las muestras de heces líquidas (orina y almizcle) del grupo C, tanto en análisis colorimétrico como cuantitativo de ambas hormonas, por lo que no se identificó el sexo de los organismos. Es muy probable que tanto los metabolitos de andrógenos como de estrógenos se encuentren muy diluidos. Lo anterior coincide con lo mencionado por Brousset *et al.* (2005) quienes encontraron que en mamíferos silvestres la cantidad de metabolitos de hormonas en la orina producida a lo largo del día no es constante y su concentración se modifica de acuerdo con la cantidad de agua y sales inorgánicas filtradas a través del riñón.

Se puede concluir que la identificación de sexo en cocodrilos a partir de hormonas en heces es efectiva para muestras con un mínimo de 1 g, a través de la prueba de Elisa, tanto cualitativa como cuantitativa, pero poco eficaz para heces líquidas a

cualquier volumen. La hormona que presentó mayor sensibilidad y por lo tanto pudo asignar sexos a las muestras de heces fue la testosterona; el estradiol no presentó sensibilidad suficiente.

Como recomendación para la aplicación de estas pruebas, debe considerarse la época del año en la toma de heces de cocodrilos, ya que éstos realizan mayor consumo de alimento a temperaturas entre 30 y 32°C, lo cual se ve directamente relacionado con la cantidad de excretas lo cual varía a lo largo del año. Las crías con tallas entre 25-60 cm presentan un incremento en peso hasta en 100%, por lo que se obtendrá baja cantidad de excretas.

Debido a que no se encontró registro de investigaciones de *Crocodylus acutus* con el método propuesto en el presente trabajo, se recomienda continuar con los esfuerzos para estudiar el ciclo de las hormonas esteroides sexuales por periodos largos, para conocer sus efectos en la reproducción en organismos en cautiverio y vida silvestre.

La importancia de dicho método consiste en que presenta la ventaja de ser no invasivo y el análisis colorimétrico es sencillo, lo que puede abaratar costos en la determinación de sexos. Con esto último se puede realizar un manejo adecuado para la conservación *in situ* y *ex situ*. Este método también puede utilizarse en la crianza comercial de cocodrilos, ya que puede conocerse con certeza el sexo de los cocodrilos juveniles.

En conclusión, esta investigación nos permite identificar el sexo en animales en cautiverio, lo cual nos puede ayudar a seleccionar y diferenciar las características fenotípicas que se deseen, desde subadultos hasta adultos con fines reproductivos. Lo anterior serviría a las granjas dedicadas a la cría comercial, pero también sería de suma importancia en proyectos dedicados a la conservación de especies en riesgo o peligro de extinción, ya que con estos métodos conservamos el acervo genético de las especies (biodiversidad). Por lo tanto, este estudio nos puede ayudar a identificar el sexo a través de un *kit* de bolsillo, de una forma rápida y sencilla, directamente con los animales de granja y de vida silvestre.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado con recursos de las siguientes instituciones: Centro Universitario de la Costa (CUC) de la Universidad de Guadalajara, Centro de Investigación en Materiales Avanzados, División de Estudios de Posgrado, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez y Universidad Autónoma de Baja California. Nuestro agradecimiento al rector del CUC Dr. Javier Orozco Alvarado. Al Dr. Juan Luis Cifuentes Lemus por haber realizado las gestiones para la realización del trabajo en campo y laboratorio. Al MVZ. Jesús Romero y al M C Carlos Villar de la Delegación de SEMARNAT Nayarit por su apoyo en el trabajo en el CIVS La Palma. Agradecemos sus revisiones, comentarios y sugerencias a Elaine Espino, Isabel Cárdenas, Luis Sigler y Jerónimo Domínguez.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Miguel, X., J. Herrera-Muñoz, H. Merchant-Larios y G. Casas-Andreu. (1998). Efecto de la temperatura de incubación sobre la Actividad Esteroidogénica en *Crocodylus acutus* y *Crocodylus moreletii*. *Rev. Soc. Hist. Nat.*, 48:95-103.
- Allsteadt, J. y Lang, J. W. (1995). Sexual dimorphism in the genital morphology of young American alligators, *Alligator mississippiensis*. *Herpetologica*, 51: 314-325.
- Álvarez del Toro, M. y L. Sigler. (2001). *Los Crocodylia de México*. 1ª edición. IMERNAR, PROFEPA. México. 134 p.
- Arcos-García, J. L., Reynoso-Rosales, V. H., Mendoza-Martínez, G. D. Hernández-Sánchez. D. (2005). Identificación del sexo y medición de crecimiento de iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) en las etapas de cría y juvenil. *Revista Veterinaria*. México. 36(1):53-62
- Baraja-Gema, S. I., Illera, J. C., Rosellini, S. y Piñeiro, A. (2006). La cuantificación de hormonas esteroides sexuales en heces de lobo

- ibérico (*Canis lupus signatus*): un método no invasivo de sexado como alternativa a los análisis moleculares. Universidad SEK, *Opipidum*, 2:363-380.
- Barja, I., Silvan, G., Rosellini S., Piñeiro, A., Illera, M. J., Illera, J. C. (2008). Quantification of sexual steroid hormones in faeces of iberian wolf (*Canis lupus signatus*): a non-invasive sex typing method. *Reprod. Domest. Anim.* 43 (6): 701-707.
- Brousset, D.M., F. Galindo, R.A. Valdez, M. Romano y. Schuneman de Aluja, A. (2005). Cortisol en saliva, orina y heces: Evaluación no invasiva en mamíferos silvestres. *Vet. Méx.*, 36 (3): 325-337.
- Brown, J. L., Wasser, S.K. Wildt, D. E. y Graham L. H. (1994). Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. *Biology of Reproduction*, 51 (4): 776-786.
- Cabrera, F. A., García, M. González-Vera, A. y Rossini M. (2007). Características histológicas del aparato genital masculino de la baba (*Caiman crocodilus crocodilus*). *Revista Científica, FCV-LUZ*, 17(2): 123-130.
- Capezzuto, A., Chelini, M. O., Felipe, F. C., Oliveira, C. A. (2008). Correlation between serum and fecal concentrations of reproductive steroids throughout gestation in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 103 (1-2): 78-86.
- Dehnhard, M., S. Naidenkoi, A. Frank, B. Braun, F. Goritz, K. Jewgenow (2008). Non-invasive monitoring of hormones: a tool to improve reproduction in captive breeding of the Eurasian lynx. *Reprod Domest Anim.* 43 (Suppl 2): 74-82.
- Eckert, K. L., Bjordal, K. A. Abreu-Grobois, F. A. y Donnelly M. (2000). *Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas*. Center for Marine Conservation, Convention on Migratory Species, U.S. National Marine Fisheries Service y el Worldwide Fund for Nature and SSC/IUCN Marine Turtle Specialist Group. Consolidated Graphic Communications, Blanchard, Pennsylvania. USA. 270 pp.
- Guillette, L. J., Woodward, A. R., Crain, D. A., Masson, G. R., Palmer, B. D. Cox, . S. M. C. You-Xiang Q. y Orlando, E. F. (1997). The reproductive cycle of the female American alligator (*Alligator mississippiensis*). *General and Comparative Endocrinology*, 108: 87-101.
- Guillette, L. J., Brock, J. W. Rooney, A. A. y Woodward, A. R. (1999a). Serum concentration of various environmental contaminants and their relationship to sex steroid concentration and phallus size in juvenile American alligators. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 36: 447-455
- Guillette, L. J., Woodward, A. R. Crain, D. A. Pickford, D. B. Rooney, A. A. y Percival, H. F. (1999b). Plasma steroid concentrations and male phallus size in juvenile alligator from seven Florida Lakes. *General and Comparative Endocrinology*, 116: 356-372.
- Gunderson, M. P., Bermúdez, D. S. Bryan, T.A. Degala, S. Edwards, T. M. Kools, S. A. E. Milnes, M. R. Woodward A. R. Guillette, y L. J. (2004). Variation in sex steroids and phallus size in juvenile American alligator (*Alligator mississippiensis*) collected from 3 sites within the Kissimme-Everglades drainage in Florida (USA). *Chemosphere*, 56: 335-345
- Hernández-Hurtado, H. (1997). *Recomendaciones para el desarrollo de un centro de acopio de cocodrilos en el Rancho Ecológico El Quelele, Municipio de Bahía de Banderas, Nayarit*. Tesis de licenciatura. Universidad de Guadalajara. 60 pp.
- Hernández-Hurtado, H., García de Quevedo, R. y Hernández-Hurtado, P. (2006). *Los cocodrilos de la costa Pacífico occidental (Michoacán, Colima y Jalisco) de México. Los recursos pesqueros y acuícolas de Jalisco, Colima y Michoacán*. SAGARPA e Instituto Nacional de la Pesca, CRIP-Manzanillo. 375-388 pp.

- Krebs, C. J. (1985). *Ecología: Estudio de la distribución y abundancia*. Ed. Harla. México. 753 pp.
- Lang, J. (1992). *Determinación del sexo. Cocodrilos y caimanes*. Ed. Materia Viva. Singapur 120 pp.
- Lance, V. (1987). *Hormonal control of reproduction in crocodilians. Wildlife management: crocodiles and alligators*. Surrey Beatty and Sons Pty Limited, The Conservation Commission of the Northern Territory. 409-415 pp.
- Lance, V. (1989). Reproductive cycle of the American alligator. *American Zoologist*, 29 (3): 999-1018.
- Lu, A., J. C. Beehner, N. M. Czekala, A. Koenig, E. Larney, C. Borries. (2011). Phytochemicals and reproductive function in wild females Phayres leaf monkeys (*Trachypithecus phayrei crepusculus*). *Horm Behav.* 59 (1): 28-26.
- Macchi, E., A. Starvaggi Cucuzza, P. Badino, R. Odore, F. Re, L. Bevilacqua, A. Malfatti (2010). Seasonality of reproduction in wild boar (*Sus scrofa*) assessed by fecal and plasmatic steroids. *Theriogenology*, 73 (9): 1230-1237.
- Monfort, S. L. Schwartz C. C y Wasser, S. K. (1993). Monitoring reproduction in captive moose using urinary and fecal steroid metabolites. *Journal of Wildlife Management*, 57 (2): 400-407
- Morrish, B. C. y Sinclair, A. H. (2002). Vertebrate sex determination: many means and end. *Society for Reproduction and Fertility. Reproduction Review*, 124: 447-457.
- Orrantia-Borunda, E. y Rivas-Cáceres, R.R. (2004). *Determinación de sexos por hormonas esteroides en aves, reptiles y mamíferos*. Patente. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. 20 pp.
- Packer, C. (1995). Reproductive constraints on aggressive competitions in female baboons. *Nature*, 373: 60-63
- Ponce-Campos, P. (2005). *Influencia del ambiente en las hormonas sexuales y de estrés durante el ciclo reproductivo del "Caiman" Crocodylus acutus Cuvier, 1807*. Tesis de maestría. Universidad de Guadalajara. 131 pp.
- Rivas-Cáceres, R. (2004). Determinación de sexos por hormonas esteroides. Apuntes de curso; realizado en el Centro Universitario de la Costa de la Universidad de Guadalajara, en Puerto Vallarta, Jalisco. 9 pp.
- Schlinger, B. A. y Callard, G. (1987). A comparison of aromatase, alfa, and 5 beta-reductase activities in the brain and pituitary of male and female quail (*C. c. japonica*). *The Journal of Experimental Zoology*, 242: 171-180.
- Schlinger, B. A. y Arnold, A. (1991). Brain is the major site of estrogen synthesis in a male songbird. *Proc. Ntl. Acad. Sci.*, 88: 41-94.
- Singh, L. A. K. (1984). *Developments in crocodilian research and management*. Establishment of the Wildlife Institute of India, Food and Agriculture Organization of the United Nations. India. 120 pp.
- Shideler, S. Hafggerti, M. A. y Lasley B. L. (1989). The excretory time course and metabolic, fate of ovarian and adrenal steroids in *Macaca mulata*. *Biology of Reproduction supplement I*. 40-105.
- Soto, M. A., Salame-Méndez, A. Ramírez-Pulido, J. Yañez L. y Armella, M. A. (2004). Valoración de hormonas esteroides en heces de una pareja de lobo mexicano (*Canis lupus bailey*) en cautiverio. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 20(2): 187-196.
- Valdespino, C. R. Martínez-Mota, L. García-Feria, M. y Martínez-Romero, L. E. (2007). Evaluación de eventos reproductivos y estrés fisiológico en vertebrados silvestres a partir de sus excretas: Evolución de una metodología no invasiva. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 23(3): 151-180.
- Wasser, S. K. (1996). Reproductive control in wild baboons measured by fecal steroids. *Biology of Reproduction*, 55 (2): 393-399.
- Wasser, S. K., Thomas, R. Nair, P. P. Guidry, C. Southers, J. Lucas, J. Wildt D. E. y Monfort, S. L. (1993). Effects of dietary fiber on fecal

- steroid measurements in baboons *Papio-cynocephalus-cynocephalus*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 97 (2): 569-574.
- Wasser, S. K., Monfort, S. L. Southers J. y Wildt, D. E. (1994). Excretion rates and metabolites of oestradiol and progesterone in baboon (*Papio cynocephalus cynocephalus*) faeces. *Journal of Reproduction and Fertility*, 101 (1): 213-220.
- Wasser, S. K. Velloso, A. D. Rodden, M. D. (1995). Using fecal steroids to evaluate reproductive function in female maned wolves. *Journal of Wildlife Management*, 59(4): 889-894.
- Wasser, S. K.; Papageorge, S. Foley, C. Brown, J. L. (1996). Excretory fate of estradiol and progesterone in the African elephant (*Loxodonta africana*) and patterns of fecal steroid concentrations throughout the estrous cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 102 (2): 255-262.
- Ziegler, T. y Olbort, S. (2007). Genital structures and sex identification in crocodiles. *Crocodile Specialist Group Newsletter, the extend version*, 26(3): 1-12.

ARTÍCULO ORIGINAL

History of gestational diabetes as risk factor for type 2 diabetes on the U.S.-Mexico border

Carlos E. Cano, Elideth Ladrón de Guevara y Beatriz Aracely Díaz Torres

ABSTRACT

Gestational diabetes (GDM) is one of the types of diabetes that has its onset or diagnosis during pregnancy. This type of diabetes is associated with an increased risk for a woman's and that of her baby's health. Between 5% and 10% of women with GDM will continue with type 2 diabetes (T2DM) after birthing, and up to 60% of them will develop it in the following 10 to 20 years. The age of the mother, ethnic group, parity physical constitution, and family history of GDM are some of the risk factors for GDM. The present study's objective is to identify the frequency and risk factors for T2DM among women along the US-Mexico border with history of GDM.

Methodology. This study was based on data from the results of the U.S.-Mexico Border Diabetes Prevention and Control Project, which consisted of a population-based, cross-sectional survey conducted on both sides of the U.S.-Mexico border between 2001 and 2002.

Results. Out of the 2560 women in the study, 168 (6.6%) reported to have had a diagnosis of gestational diabetes during at least one of their pregnancies, 47% of them had type 2 diabetes at the time of the study. Most of these women were ≤ 40 years of age, 70% of all women were diagnosed with T2DM before 40 years of age and 84.8% of them were overweight or obese. When women with history of gestational diabetes and with and without T2DM are compared, women with T2DM are significantly older ($p < 0.0001$); were more overweight and obese ($p = 0.023$) than women without diabetes. No difference was observed in socioeconomic status and number of pregnancies.

Keywords: Gestational diabetes, type 2 diabetes, risk factors

INTRODUCTION

Gestational diabetes mellitus (GDM) is one of the different types of diabetes characterized by its onset or diagnosis during pregnancy, and

usually disappears a short time after the end of the pregnancy.

Diabetes during pregnancy is associated with an increased risk towards the health of the woman and her baby. For the baby, the risks are neonatal

hyper insulinemia, neonatal hypoglycemia, abortion, alterations in the development of the fetus, birth weight that is considered large for gestational age, and excess of fetal adiposity; and for the woman, the complications include hyperemesis, urinary tract infections, candidiasis, hypertension, preeclampsia, eclampsia, premature labor, and higher rate of cesarean section. Between 5% and 10% of the women that develop gestational diabetes will continue with type 2 (T2DM) diabetes after birthing, and up to 60% of them, will develop it in the following 10 to 20 years. [1-4]

Diabetes is a recognized risk factor for several complications and women with GDM are at a higher risk than women without the disease. Among the most frequent complications are preeclampsia (increase up to 80%); shoulder dystocia (three times more); cesarean section (50% more); and large for gestational age babies (three times more).

Gestational diabetes, is defined as “any degree of glucose intolerance with onset or first recognition during pregnancy” [5] or “carbohydrate intolerance of varying severity which is diagnosed in pregnancy and may or may not be resolved after pregnancy.” [6]

Prevalence of GDM varies depending on the ethnic group from 2% to 13%. An international multi-center study of GDM found that using the new American Diabetes Association diagnosis criteria (2010), the prevalence of GDM increases up to 18% of all pregnant women. (1) Several studies document that the prevalence of GDM has had an increase from 10% to 100% in the last twenty years, becoming an important public health problem. (2)

Different genetic, environmental and social risk factors have an influence on the development of GDM. Among these factors are the age of the mother, ethnic group, parity, physical constitution, family history of GDM and presence of hypertension. [2] Native Americans, Asians, Hispanics, and African-American women are at a higher risk for GDM than non-Hispanic white women in the US. [2, 7] The socio economic level of the women

has also been mentioned as a risk factor. When women belong to a low socio economic level, they have up to a 65% higher risk of developing diabetes during pregnancy when compared with women from higher socio economic levels. Regarding age, it has been documented that pregnant women older than 40 years of age have up to 6 times more risk for GDM; and women with a body mass index $BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$, have 6 times more risk than women with a $BMI \leq 25 \text{ kg/m}^2$. The risk of smoking and developing GDM is still controversial. [2, 8] Other factors that have been associated with negative results of GDM include lack of low folic acid ingestion before the pregnancy; alcohol consumption during pregnancy; and in the case of pre-existing diabetes, no control of the glycemia and the presence of complications. [6, 9] To date, BMI and history of GDM are the two most important risk factors for gestational diabetes. [3, 10]

In the last 20 years, the prevalence of type 2 diabetes and GDM have increased. (3) T2DM is now considered a pandemic, and GDM is related to it. (8)

The present study was done to identify the frequency and risk factors for T2DM among women with history of GDM in at least one pregnancy, along the US-Mexico border.

MATERIALS AND METHODS

The current study was based on data from the results of Phase I of the U.S.-Mexico Border Diabetes Prevention and Control Project, which consisted of a population-based, cross-sectional survey conducted on both sides of the U.S.-Mexico border between April 2001 and November 2002 using two-stage cluster sampling. Based on 1990 Mexican and U.S. census population estimates, communities with a population of at least 2500 persons were eligible to participate. A stratified, multistage probability sampling design with substitution was used, and selections were made from sampling units based on geographic area. On the U.S. side of the border, census tracts

within communities were divided into two strata based on 1990 population estimates of ethnicity. The individuals aged 18 or older in each enumerated household with the most recent birthday was selected to participate in the survey.

Potential interviewers were selected by state and local agencies on both sides of the border who participated in the project. On the U.S. side, interviewers had to be bilingual and included nurses, community health workers, and university students. In Mexico, interviewers included physicians and nurses.

A questionnaire was administered to each participant face-to-face, in his/her home, by a trained interviewer. As mentioned above, on the U.S. side, interviewers were fluent in both English and Spanish, so participants could choose to complete the survey in whichever language he/she felt more comfortable. Signed consent forms were obtained from all participants before administration of the questionnaire. Data was obtained for six sections with a total of 65 questions covering general knowledge of diabetes; health and medical services; lifestyle (physical activity, diet, and tobacco and alcohol use); reproductive health; and socio-cultural characteristics.

Ethical clearance was obtained from the U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and from Mexico's Secretariat of Health.

Following the completion of the interview, various health indicators were measured, including body weight (in kg, with participants wearing light clothing and no shoes), and height (in cm). BMI was calculated as weight divided by the square of height in meters.

Blood samples were taken the morning after a minimum of eight hours of fasting. Samples were centrifuged and stored locally at -20° and then packed in ice and transported by air to the central laboratory in each country (the University of Missouri Diabetes Diagnostic Laboratory, in the United States, and the Nuevo León State Laboratory in México). Plasma glucose was measured using the Cobas Mira Chemistry System (Roche Diagnostic Systems, Inc., Montclair, N. J., USA);

a Sorvall GLC-2B centrifuge (DuPont Instruments, Wilmington, DE, USA); and a Jouan GR4-22 refrigerated centrifuge (Valley Biomedical, Winchester, VA., USA). HbA1c was analyzed with the Primus Automated CLC385 HPLC system (Primus IV, Kansas City, MO USA). Laboratory personnel from both countries were trained by personnel from the central laboratory from each country and by Primus personnel. To ensure the integrity of the laboratory results, both laboratories used the same equipment and the same specifications. For simultaneous quality control, both laboratories exchanged 20 samples every three months. Samples were tested in both countries and the results were compared between laboratories. The laboratories agreed to accept a 3% variance in the results.

Drawing from the study sample above, the current study analyzed data for the women participants with diabetes. Study participants were classified as having diabetes if they 1) reported a pre-study diagnosis of diabetes from a doctor or other health care professional and/or 2) had a fasting plasma glucose value ≥ 7.0 mmol/L (126 mg/dL). Study participants were classified as having "history of gestational diabetes" if they reported being diagnosed by a physician or other health care professional during any previous pregnancy.

The current study's analyses were restricted to women on both sides of the border in order to identify gestational diabetes as risk factor for T2DM. Type 2 diabetes was based on HbA1c and BMI measurements, and the results were grouped as follows: HbA1c ($< 6.0\%$, $6.0-6.9\%$, $7.0-7.9\%$, and $\geq 8.0\%$); and BMI (< 24.9 , $25.0-29.9$, and ≥ 30).

Type 2 diabetes was based on HbA1c and BMI measurements, and the results were grouped as follows: HbA1c ($< 6.0\%$, $6.0-6.9\%$, $7.0-7.9\%$, and $\geq 8.0\%$); and BMI (< 24.9 , $25.0-29.9$, and ≥ 30).

A dummy variable was created for "gestational diabetes" and classified as "yes" if study participants reported history of gestational diabetes and "no" when they did not mention it. Responses of "Don't know," "Refuse," or "Not sure" were coded

as “missing data” for the respective variables.

Study participants’ socioeconomic status was categorized separately for each country based on employment status and educational indicators.

STATISTICAL ANALYSIS

The initial statistical analysis described various study participant characteristics, including age distribution, diagnosis of T2DM, (based on plasmatic glucose and HbA1c levels), and BMI. Differences were tested for statistical significance using Pearson’s chi-squared test and the Student’s t-test for grouped and continuous data respectively.

The analyses focused on the effects of having previous diagnosis of gestational diabetes, and to have T2DM at the time of the study. In the current study, all women from both sides of the border were considered. All statistical analyses were performed using STATA 12 for Windows (StataCorp LP, College Station, Texas, USA).

RESULTS

- Out of the 2560 women in the study, 168 (6.6%) reported to have had diagnosis of gestational diabetes during at least one of their pregnancies.
- Table 1 presents selected characteristics of women with history of gestational diabetes and with and without T2DM in the time of the study.
- When women with history of gestational diabetes and with and without T2DM are compared, women with T2DM are significantly older than women without diabetes ($p < 0.0001$).
- Regarding BMI, women with T2DM and history of gestational diabetes were more overweight and obese than those without the diagnosis of T2DM: 84.8% vs. 78.1%, $p = 0.023$.
- No significant difference was observed

in socioeconomic status and the number of pregnancies between women with and without T2DM

- From the women that mentioned to have gestational diabetes, 79 (47%) had type 2 diabetes on the time of the study.
- As presented on Table 1, 50% of the women with type 2 diabetes and history of gestational diabetes were ≤ 40 years of age.
- Seventy percent of the women with T2DM and history of gestational diabetes were diagnosed with T2DM before 40 years of age.
- More than two thirds of the women were overweight or obese (84.8%). See Table 2.

Table 1

General characteristics of women with history of gestational diabetes and T2DM US-Mexico border, 2002-2003

Characteristic	n	%	Mean (SD)	Range
Age (years)	79	100	40 (11)	18-80
Age group (years)				
18-29	8	10.1		
20-39	32	40.5		
40-49	14	17.7		
50-59	17	21.5		
≥ 60	8	10.1		
Socio-economic status				
High	19	24.1		
Medium	50	63.3		
Low	10	12.7		
BMI (Kg/m ²)	79		31.8 (7.1)	15.7-49.8
BMI(kg/m ²)				
<24.9	12	15.2		
25.0-29.9	21	26.6		
≥ 30	46	58.2		
Age of diagnosis T2DM	70		36 (12)	18-70

Continúa...

Characteristic	n	%	Mean (SD)	Range
Age of diagnosis group				
<29	23	32.9		
30-39	25	35.7		
40-49	15	21.4		
50-59	4	5.7		
≥60	3	4.3		
Systolic blood pressure (mmHg)	78		128 (20)	98-180
Number of pregnancies	79		4.2 (2.5)	1-11

Table 2 General characteristics of women with history of gestational diabetes and with and without T2DM US-Mexico border, 2002-2003

Characteristic	With T2DM		Without T2DM		p
	N	%	n	%	
Age group (years)					<0.0001*
18-29	8	10.1	22	24.7	
20-39	32	40.5	35	39.3	
40-49	14	17.7	25	28.1	
50-59	17	21.5	5	5.6	
≥60	8	10.1	2	2.3	
Socio-economic status					0.315 ¹
High	19	24.1	15	16.9	
Medium	50	63.3	66	74.2	
Low	10	12.7	8	9.0	
BMI(kg/m ²)					0.023*
<24.9	12	15.2	19	21.8	
25.0-29.9	21	26.6	33	37.9	
≥30	46	58.2	35	40.2	
Number of pregnancies (mean (SD))	4.2 (2.5)		3.6 (2.5)		0.0719*
t test ¹					
X ²					

CONCLUSIONS

Gestational diabetes is an important driver for the type 2 diabetes mellitus epidemic in many subpopulations, such as the Hispanic population. As proved in this study, Hispanic (Mexican and Mexican-American) women with a history of were at an increased risk for T2DM.

Xiang [11], in his article mentioned that in Hispanic women, GDM represents detection of a chronic insulin resistance, and that women who are diagnosed early and/or deteriorating most rapidly are most likely to develop type 2 diabetes within 12 years after the pregnancy with gestational diabetes, as could be in this study, where most of the women with history of gestational diabetes were diagnosed with T2DM before 40 years of age.

This study shows that women with T2DM were older and were more overweight or obese than those without diabetes as mentioned in the literature (. This study did not find any difference in the number of pregnancies or socio-economic status as mentioned.

GDM is a readily identifiable, preventable, and treatable condition, when activities are directed to modify risk factors for this condition, such as obesity, weight gain, and subsequent pregnancies. An early diagnosis and treatment of GDM, will offer the benefit of decreasing the prevalence of T2DM in future generations. All preventative GDM activities should be directed to women in reproductive age, and health personnel in women's clinics should be taught the importance of early diagnosis and the adequate treatment of this group.

REFERENCES

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Gestational diabetes in the United States. 2011 [cited; Available from: http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/pdf/ndfs_2011.pdf].
- Lawrence J. M., Women with diabetes in pregnancy: different perceptions and expectations. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*, 2011. 25(1): p. 15-24.
- Simmons D., Diabetes and obesity in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*, 2011. 25(1): p. 25-36.
- Arulkumaran S., *Diabetes in pregnancy. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*, 2011. 25(1): p. 1.
- Weinert LS., International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy: comment to the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel. *Diabetes Care.*, 2010. 33(7): p. e97.
- National Collaborating Centre for Women's and Children's Health, *Diabetes in Pregnancy: Management of diabetes and its complications from preconception to the postnatal period.*, A. Welsh, Editor. 2008, RCOG Press at the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 27 Sussex Place, Regent's Park, London NW1 4RG.
- Ferrara A., Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes Care*, 2007. 30(Suppl 2): p. S141-6.
- Anna V. *et al.*, *Sociodemographic correlates of the increasing trend in prevalence of gestational diabetes mellitus in a large population of women between 1995 and 2005. Diabetes Care*, 2008. 31(12): p. 2288-93.
- Fadl HE, *et al.*, Maternal and neonatal outcomes and time trends of gestational diabetes mellitus in Sweden from 1991 to 2003. *Diabet Med.*, 2010. 27(4): p. 436-41.
- Heude B, *et al.*, Pre-Pregnancy Body Mass Index and Weight Gain During Pregnancy: Relations with Gestational Diabetes and Hypertension, and Birth Outcomes. *Matern Child Health J.*, 2011.
- Xiang AH, *et al.*, Detailed physiological characterization of the development of type 2 diabetes in Hispanic women with prior gestational diabetes mellitus. *Diabetes*, 2010. 59(10): p. 2625-30.

■ ARTÍCULO...

Prevalencia de malnutrición en mujeres en edad reproductiva (14-49 años) en Ciudad Juárez, Chih.

MCI Silvia Yolanda Chacón Rodríguez,¹ Dr. Homero Martínez Salgado,² Dr. Hugo Staines Orozco,³
MCE Elia del Socorro García Sosa,¹ MCE Patricia M. Valles Ortiz,¹ Dr. Juan Carlos Zevallos^{4,4}

RESUMEN

La malnutrición es un problema importante de salud pública y es el resultado de una disminución de la ingestión (desnutrición) o de un aporte excesivo (hipernutrición). Ambas condiciones son el resultado de un desequilibrio entre las necesidades corporales y el consumo de nutrientes esenciales.

Objetivo. Determinar la prevalencia de malnutrición en las mujeres en edad reproductiva en Ciudad Juárez Chih. a través de indicadores de IMC y anemia

Metodología. Se realizó un estudio poblacional donde se estudiaron 1064 mujeres entre 14 y 49 años seleccionadas a través de un muestreo aleatorio estratificado por AGEBS. Posterior a la visita y previo consentimiento informado se recopiló información a través de encuesta, con un cuestionario estructurado y autoadministrado sobre características sociodemográficas como peso, edad, medidas antropométricas de peso y talla, y determinación de hemoglobina capilar.

Resultados. La prevalencia de la desnutrición en este grupo de mujeres fue de 5%, y de sobrepeso y obesidad 53.6%, y la anemia fue reportada en un 36.4%, obteniendo un OR de 15.1 (IC95% 6.09-39.6) de desnutrición para anemia.

Discusión. La presencia de porcentajes tan elevados tanto de bajo peso como de sobrepeso/obesidad y anemia en este grupo de mujeres evidencia uno de los principales indicadores del proceso salud-enfermedad, como lo es la nutrición

Conclusión. El bajo peso y la anemia es un problema prevalente en la mujer mexicana.

Palabras clave. Malnutrición, Desnutrición, Sobrepeso, Obesidad, Anemia

¹ PTC Enfermería, CA 8 Salud Pública y del Trabajo ICB UACJ

² Investigador titular en Ciencias Médicas del Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

³ M.C. PTC Medicina, SNI 1, CA No. Medicina ICB UACJ .

⁴ M.D. Associate Professor of Medicine and Public Health. University of Puerto Rico.

INTRODUCCIÓN

La malnutrición puede ser el resultado de una disminución de la ingestión (desnutrición) o de un aporte excesivo (hipernutrición). Ambas condiciones son el resultado de un desequilibrio entre las necesidades corporales y el consumo de nutrientes esenciales. Hacia la mitad de los noventa, el Banco Mundial estimó que en los países en desarrollo, 450 millones de mujeres adultas fueron raquílicas durante su niñez por causa de la desnutrición.^{1,2} Cálculos conservadores muestran que alrededor de 250 millones de mujeres están en riesgo de sufrir desórdenes causados por la insuficiencia de hierro y yodo, y que casi dos millones de mujeres se quedaron ciegas debido a una insuficiencia de vitamina A. Aproximadamente la mitad de las mujeres adultas en países en desarrollo (745 millones) son anémicas.³ Se ha sabido que las deficiencias de hierro y yodo afectan de manera desproporcionada a mujeres y niñas durante la infancia, así como antes y después del embarazo.^{4,5}

La malnutrición que resulta del consumo excesivo de alimentos o de energía conduce al sobrepeso o la obesidad, reconocidos factores de riesgo para varias enfermedades. Además, al interactuar con factores genéticos, los patrones de consumo excesivo de determinados alimentos o nutrimentos pueden conducir a padecimientos como la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial, la diabetes y algunos tipos de cáncer.⁵ La malnutrición que resulta del consumo deficiente de alimentos o nutrimentos se conoce genéricamente como desnutrición. La desnutrición tiene como causas biológicas inmediatas la ingestión dietética inadecuada y la elevada incidencia de enfermedades infecciosas y parasitarias, que aumentan las necesidades de algunos nutrimentos, disminuyen su absorción o provocan pérdidas de micronutrimentos. Sin embargo, tanto la ingestión inadecuada de nutrimentos como la alta incidencia de enfermedades tienen sus raíces en la pobreza y en la falta de servicios sanitarios y

de salud efectivos y equitativos.⁶

En cuanto a la obesidad, durante mucho tiempo se pensó que ésta era una enfermedad exclusiva del estrato socioeconómico elevado, lo cual ha cambiado en los últimos años, ya que investigaciones recientes han determinado una relación inversa entre el nivel socioeconómico de las mujeres y su desarrollo. La Organización Panamericana de la Salud menciona la existencia de factores genéticos adaptativos y postula la hipótesis de que poblaciones con un consumo alimentario fluctuante o inadecuado son capaces de generar formas adaptativas para utilizar muy eficientemente la energía y el depósito de grasa.⁷ El peso ajustado por la estatura es una herramienta de monitoreo utilizado para identificar el bajo peso y el sobrepeso.

La insuficiencia de hierro es una de las deficiencias nutricias más extendidas en el mundo, particularmente en los países en desarrollo, y es la causa más común de anemia.⁸

La hemoglobina (Hb) es el indicador más común de deficiencia de hierro, y a pesar de que algunos autores mencionan que la Hb es un indicador de aparición tardía en la deficiencia de hierro, el costo y la facilidad de la técnica para la toma y conservación de la muestra hace que la Hb sea el indicador más recomendado para evaluar la deficiencia de hierro en encuestas de población. Una limitante al evaluar la presencia de anemia con base en la Hb es que no se puede distinguir la anemia por insuficiencia de hierro de aquéllas causadas por otras deficiencias nutricias. La Hb varía con la altitud sobre el nivel del mar (ASNM) en la que se encuentra el sujeto.⁹

En México, la última Encuesta Nacional de Nutrición 2006¹⁰ reveló una prevalencia de 2.0% de desnutrición en mujeres de 14 a 49 años, de acuerdo con el índice de masa corporal (IMC). Por otra parte, las estadísticas de la Secretaría de Salud (DGIS) muestran que las deficiencias de la nutrición ocuparon el noveno lugar en México con un 1.9% en 2005.¹¹

El área metropolitana de Ciudad Juárez, Chih., tiene una población aproximadamente de dos millones de habitantes. Se considera un polo de desarrollo importante y, por ende, un centro de atracción en el proceso migratorio. La migración como cambio social incide, de manera fundamental, en la salud nutricional y el estilo de vida, y tiene repercusiones en un organismo que se encuentra en proceso activo de crecimiento y desarrollo.

Los problemas de malnutrición tienen gran trascendencia en la salud y el desarrollo de la sociedad, por lo que las acciones para combatirlas son importantes, así como el contar con información actualizada que permita replantear estrategias.¹² En este contexto, se considera relevante analizar la frecuencia de anemia y sus repercusiones en el estado nutricional de las mujeres, por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de malnutrición a través de indicadores de IMC y anemia en mujeres en edad reproductiva en Ciudad Juárez, Chih.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio poblacional en el que se estudiaron 1047 mujeres entre 14 y 49 años, seleccionadas a través de un muestreo aleatorio simple; la unidad muestral fue la vivienda. Se utilizó un muestreo aleatorio estratificado por áreas geográficas básicas o AGEBS; previa selección aleatoria, se procedió a identificar las calles y números para ubicar geográficamente las viviendas. Cuando no fue posible localizar las mujeres en el domicilio seleccionado se tomó la siguiente vivienda de la misma calle.

Posterior a la visita y previo consentimiento informado se recopiló información a través de un cuestionario estructurado autoadministrado sobre características sociodemográficas como edad y peso, se tomaron las medidas antropométricas de peso y talla y la determinación de hemoglobina capilar.

Antes de llevar a cabo la evaluación antropométrica puntual, se capacitó al personal participante con la finalidad de estandarizar los criterios para tomar las medidas antropométricas, en relación con los métodos, técnicas y procedimientos que se emplearían, de acuerdo con lo recomendado internacionalmente.

El estado nutricional se evaluó a través del índice de masa corporal a través de la relación peso/talla² midiendo el peso en kilogramos y talla en metros; se clasificó de la siguiente manera: bajo peso si el IMC era 18.5, peso normal entre 18.5 y 24.9, sobrepeso ≤ 25 y obesidad cuando el IMC ≥ 30 .

Se determinó la concentración de hemoglobina a través de un fotómetro portátil (Hemocue). El punto de corte para clasificar anemia se definió como una concentración de hemoglobina menor de 11 g/dL, conforme a los criterios de la OMS (), y fue ajustado de acuerdo a la altitud en metros sobre nivel de mar mediante la siguiente ecuación: %Hb = $(93.3197) * (10 - 0.0000251 * \text{altitud})$

El procesamiento de la información se realizó con el paquete Stata versión 8, utilizando estadística descriptiva y medidas de asociación como X^2 y OR.

RESULTADOS

Se obtuvo información de 1047 mujeres, con una edad promedio de 28 años, peso de 66.5 kg, talla de 161.1 cm y un IMC de 26.3 kg/m² (tabla No. 1).

De acuerdo a la clasificación de IMC la prevalencia de bajo peso fue de 5%, peso normal 41.4%, sobrepeso 32.5 y obesidad 21.1% (tabla No.1).

La prevalencia observada de anemia fue de 36.4% (342/937). Al analizar el estado nutricional a través de IMC y cifras de hemoglobina capilar se encontró que el tener bajo peso incrementaron 15.1 las probabilidades de tener anemia, en comparación con las mujeres que presentan un peso normal y sobrepeso, con un OR 15.1 (IC 6.09-39.9) y un $p < 0.05$ (tabla No.2).

Tabla No. 1 Estado nutricional de mujeres en edad reproductiva (14-49 años) en Ciudad Juárez, Chih.

Características	Promedio Cd. Juárez, Chih.	Promedio Zona Norte**	Promedio Nacional**
Muestra	1 047		
Edad	28 años		
Peso	66.5 kg.		60.1 kg.
Talla	161.1 cm	155.7 cm	152.9 cm.
IMC	26.3	27	25.7
Anemia	36.4%	15.7%	12.4%

**ENSANUT 2006= resultados de encuesta nacional de nutrición 2006

Tabla No. 2 Estado nutricional de mujeres en edad reproductiva (14-49 años) en Ciudad Juárez, Chih. Relación clasificación IMC-Hemoglobina capilar (n=937).

Clasificación	Hb < 10 g/dl*	Hb > 10 g/dl
Bajo peso**	44 (4.6%)	6 (0.6%)
Peso normal	124 (13.2%)	250 (26.7%)
Sobrepeso	113 (12.0%)	198 (21.1%)
Obesidad	61 (6.5%)	143 (15.2%)

**OR 15.1 (IC 6.09-39.9) p<0.05

* valores ajustados.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio contrastan con los mencionados en la ENSANUT 2006. En el presente trabajo el peso promedio fue de 66.5 kg, y el reportado como valor promedio a nivel nacional fue de 60.1 kg. La talla promedio se reportó en 161.1 cm en este estudio, por encima del indicador nacional, que para la región norte es de 155.7 cm, en tanto que el valor promedio nacional es de 152.9 cm. El IMC de las mujeres fue de 26.3 kg/m², cifra por debajo de lo que refiere la Encuesta Nacional de Nutrición, en que el IMC es de 25.7 y para la región norte es de 27. Sobre el estado nutricional de las mujeres, encontramos alta prevalencia de sobrepeso y obesidad de acuerdo al IMC. Utilizando este mismo indicador, encontramos un porcentaje de bajo peso en un 5% de la población, porcentaje muy superior a lo reportado en la encuesta nacional, que fue de 1.7%. La prevalencia observada de anemia fue de 36.4% (342/937),

menos elevada que el promedio a nivel nacional, que es de 12.4%, y para la zona norte 15.7%. Está ampliamente demostrado que la presencia de desnutrición de acuerdo a la clasificación de IMC tiene relación directa con cifras bajas de anemia capilar, sin embargo, fue interesante encontrar que un porcentaje importante de mujeres con obesidad tiene cifras de hemoglobina por debajo de 10g/dl. La anemia en la mujer de edad reproductiva tiene particular importancia, pues afecta no sólo a la mujer, sino también al producto de la concepción. La consecuencia más drástica es la elevación en la mortalidad maternal: en el más de medio millón de muertes maternas anuales, se ha estimado que la anemia es causa principal o contribuyente en 20 al 40% de los casos, especialmente en países en desarrollo.

Conclusión: los resultados de esta encuesta muestran que el bajo peso y la anemia son un problema prevalente en la mujer mexicana. Las acciones en este sentido deberán enfocarse a mejorar la educación nutricional de acuerdo a necesidades, capacidades y recursos, y la suplementación rutinaria con hierro a la mujer embarazada, apoyando lo establecido en las normas oficiales de la Secretaría de Salud.

AGRADECIMIENTO

El presente estudio fue apoyado con el fondo de CONACYT-SIVILLA No. 19990402018

BIBLIOGRAFÍA

- World Health Organization. Maternal health and safe motherhood. The prevalence of nutritional anemia in women. Geneva: Division of Family Health, WHO, 1991.
- World Health Organization. II. Special subjects: Causes of death. 1. Anemias. *World Health Stat Q* 1962; 15:594.
- Viteri F. The consequences of iron deficiency and anemia in pregnancy. En: Allen L. King J. Ln-

- nerdal B. eds. *Nutrient regulation during pregnancy, lactation and infant growth. Advances in experimental medicine and biology*. New York: Plenum Press, 1994:127-139.
- Rivera D. J., Barquera S. C., *et al.* The epidemiological and nutritional transition in Mexico: rapid increase of communicable chronic diseases and obesity. *Public Health Nutr.* 2002,14(44):113-122
- Prendes-Labrada Marianela de la C., Baños-Rodríguez Alberto, Olga Toledo-Dieppa Olga, Lescaj-Megret Orlando. Prevalencia de anemia en gestantes en un área de salud. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2000;16(1):25-30
http://www.who.int/nutrition/mdic.page/tr_summary-spanish.pdf
- Organización Panamericana de la Salud. *La salud en las Américas* 2002.
- Martínez-Salgado H. *et al.* Anemia en mujeres en edad reproductiva. Resultados de una encuesta probabilística nacional. *Salud Pública de México*, marzo-abril 1995, vol 37, No.2 pp. 108-119.
- Ruiz-Arguelles G, Llorente-Peters A. Predicción algebraica de parámetros de serie roja de adultos sanos residentes en alturas de 0 a 2670 metros. *Rev Invest Clin* 1981; 33:191-193
- Shamah Levy T., Villalpando Hernández, Rivera Dommarco J. A. Encuesta Nacional de Nutrición ENSA 2006. Capítulo 1. Estado Nutricio, capítulo 2. Anemia. Instituto Nacional de Salud Pública, primera edición, 2007. ISBN 978-970-9874-33-4
- Dirección General de Información en Salud 2006. Secretaría de Salud
- De Caballero Eira, Atalah-S. Eduardo. Evaluación de la aceptabilidad y consumo de un suplemento alimentario en la República de Panamá. *Rev Chil Nutr*, vol. 30, N1, abril 2003.

■ ARTÍCULO ORIGINAL

Mosquitos vectores de enfermedades arbovirales en Ciudad Juárez, Chihuahua, México

De la Mora¹, Antonio y Corral-Díaz, Rafael^{2,5}

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue elaborar un listado de las especies de culícidos presentes en la zona urbana de Ciudad Juárez, Chihuahua, México, dada su importancia como portadores de enfermedades arbovirales. Con el fin de asegurar la colecta de las especies prevalentes de mosquitos en la zona se utilizaron tanto diversas técnicas de captura, como variaciones espaciotemporales durante los tres años consecutivos del 2004 al 2006. Los mosquitos colectados fueron transportados al laboratorio para ser sexados, identificados y contabilizados. Se detectó la presencia de trece especies agrupadas en seis géneros. Los géneros *Aedes*, *Psorophora* y *Stegomyia* estuvieron representados por una sola especie, el género *Anopheles* por dos, y *Culex* y *Ochlerotatus* por cuatro especies. El género *Culex* resultó predominante por abundancia relativa en cada uno de los años de colecta.

Palabras clave: culicidofauna, arbovirus, tasa mínima de infección

INTRODUCCIÓN

El espectro de las enfermedades transmisibles ha variado en las últimas décadas, especialmente en ciudades sin un desarrollo integral. Esto es consecuencia de la presión demográfica, cambios climáticos, falta de infraestructura básica en las comunidades y algunos aspectos socioeconómicos de los habitantes. Todos estos factores se combinan para que potencialmente se puedan presentar epidemias de

nuevas enfermedades ya sea de carácter emergente y/o reemergente (Schatzmayr, 2001; Wolf, 2003). En el Continente Americano, durante el periodo 1999- 2003, las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes con mayor incidencia y número de fatalidades entre la población fueron la malaria, la fiebre amarilla, el dengue hemorrágico, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, el síndrome respiratorio agudo grave y la infección por el virus del oeste del Nilo (Mesa-Ridel *et al.*, 2004).

¹ Antonio de la Mora Covarrubias*, Philosophy Doctor. Manejo de Recursos Naturales. Programa de Biología, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

² Rafael Corral-Díaz, Philosophy Doctor. Environmental Science. Programa de Biología, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

Los mosquitos (*Diptera: Culicidae*) representan un aspecto clave debido a su naturaleza como vectores de algunas de estas enfermedades. Esto se debe a los hábitos de hematofagia de las hembras, lo que permite la transmisión y rápida diseminación de parásitos entre la población. Actualmente se han descrito cerca de 3000 especies agrupadas en 34 géneros de culícidos en el mundo (Almirón, 2002), Darsie y Ward (2005) reportan para Norteamérica 174 especies y subespecies de culícidos distribuidos en 14 géneros y 29 subgéneros. En México, Ibáñez-Bernal *et al.* (1996) reportan 247 especies y la página electrónica del Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica menciona 65 especies. Los géneros de importancia en salud pública son *Anopheles* como portador de *Plasmodium vivax*, causante de la Malaria (Rozendaal, 1997); *Aedes*, portador del dengue, enfermedad que, se estima, infecta a 50 millones de personas en todo el mundo (Pérez-Martínez *et al.*, 2003) y *Culex*, *Ohclerotatus*, y *Psorophora*, transmisores de arbovirus asociados a diversas encefalitis como la Equina del Oeste (EEO) la de San Luis (ESL) y la del Oeste del Nilo (VON) (Goddard *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2003; Turell *et al.*, 2005).

Los estudios faunísticos sobre culícidos, son una de las herramientas básicas para actualizar datos relativos a la estructura poblacional y composición específica de estos organismos vectores en una región geográfica determinada, lo que permite generar políticas encaminadas a su manejo y control. En la literatura, son pocos los estudios actuales realizados en México sobre listados de culicidofauna. A escala local, aún considerando estudios como los de Leyva (2005) y Vilchis (2001), existe un vacío informativo al respecto, por lo que nuestro objetivo fue identificar y generar el listado de las especies de culícidos presentes en la zona urbana de Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ciudad Juárez es una ciudad fronteriza ubicada al noroeste del municipio de Juárez del estado de

Chihuahua, México. Se localiza a 31° 44' 22" latitud norte y 106° 26' 29" longitud oeste a una altura de 1116 msnm. La ciudad se encuentra delimitada por las elevaciones de la Sierra de Juárez al poniente, el valle agrícola al oriente, el ecosistema de los médanos de Samalayuca al sur y los Estados Unidos de Norteamérica al norte (Figura 1). El clima es seco templado (BWk en la clasificación de Köppen) con temperatura media anual de 18° C, alcanzando las más altas en los meses de junio, julio y agosto. La temperatura extrema es de 41° C en verano. La precipitación es de 264.5 mm anuales, catalogada de tipo torrencial y se presenta en los meses de julio a septiembre. La población de Ciudad Juárez oscila entre 1187275 y 1330000 habitantes (Anónimo, 2001a; Anónimo, 2001b) y como la mayoría de las metrópolis fronterizas, se caracteriza por una precaria planeación urbana. Esta realidad ha originado una serie de asentamientos irregulares de difícil acceso, que dificulta el ofrecimiento de servicios públicos de infraestructura como drenaje, agua potable y recolección de basura (Anónimo, 2001b). Además, es notorio el incremento de virtuales criaderos artificiales como maceteros, vasijas, tambos y llantas usadas. Particularmente, Ciudad Juárez esta, considerada como la segunda ciudad fronteriza con el mayor número de neumáticos de desecho. Se estima que alrededor de cinco millones de neumáticos se encuentran dispersos, tanto en la vía pública como en tiraderos establecidos. La red hidrológica está sustentada por el Río Bravo/Río Grande, múltiples arroyos que conducen la escorrentía proveniente de la Sierra de Juárez, diversos canales de irrigación en áreas residenciales, una serie de obras de retención o diques, lagunas, lagos artificiales y albercas las cuales en sinergia proveen a los mosquitos de sitios ideales de proliferación y crianza.

Con el fin de asegurar la colecta de todas las especies de mosquitos de la zona, se utilizaron tanto diversas técnicas de captura como variaciones espaciotemporales. En el año 2004,

el muestreo se realizó del 15 de mayo al 30 de agosto. Los sitios se seleccionaron de forma dirigida en áreas de la ciudad que presentaban encharcamientos, diques y depósitos permanentes de agua. Se utilizó la red entomológica de golpeo convencional dando 100 redazos por sitio. También se recurrió a la captura directa en cebo humano. Se capturaban los ejemplares que se posaban sobre uno de los colectores, quien se inmovilizaba por lapsos de 15 minutos, por medio de aspiradores manuales.

En la colecta del 2005, del 4 de julio al 3 de agosto, se utilizaron minitrampas CDC de luz (modelo 512) y CO₂ (hielo seco) como atrayente siguiendo la metodología propuesta por Gleiser *et al.*, (2002). Las trampas operaron durante 12 horas consecutivas, desde las 19:00 a las 7:00 horas diariamente. En este año, la intención fue lograr una cobertura total del área de estudio. Para ello, se colocó una trampa en cada una de los 419 áreas geográficas básicas de referencia (AGEB), generadas por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) durante el Censo Nacional de Población y Vivienda. Se calculó el centroide de cada AGEB y se seleccionó en su cercanía una casa habitación donde colocar la trampa. Se formaron dos equipos de colecta con tres integrantes por equipo. Cada uno de ellos trampeaba un total de 16 sitios diarios, lo que permitió tomar las 419 muestras en cuatro semanas. El tercer muestreo, del 13 de mayo al 30 de septiembre del 2006, pretendió cubrir diferentes condiciones ambientales. Se colocaron 14 minitrampas en sitios fijos de colecta con un radio de influencia de 2000 m, cubriendo el área urbana. La colecta se realizó en periodos semanales hasta no obtener ejemplares en ninguna de las trampas. Los sitios de colecta durante el periodo 2004-2006 se muestran en la Figura 2.

Los mosquitos adultos fueron colocados en recipientes con hielo seco y transportados al laboratorio para ser sexados, identificados y contabilizados. El sexado fue con el fin de facilitar la identi-

ficación, dado que las claves taxonómicas se basan sólo en hembras. La identificación se llevó a cabo bajo microscopio estereoscópico usando las claves taxonómicas de Carpenter (1955), Slaff y Apperson (1989) y Darsie y Ward (2005). Los ejemplares obtenidos durante los años 2004 y 2006 fueron depositados en la Colección de Artrópodos del Programa de Biología de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ).

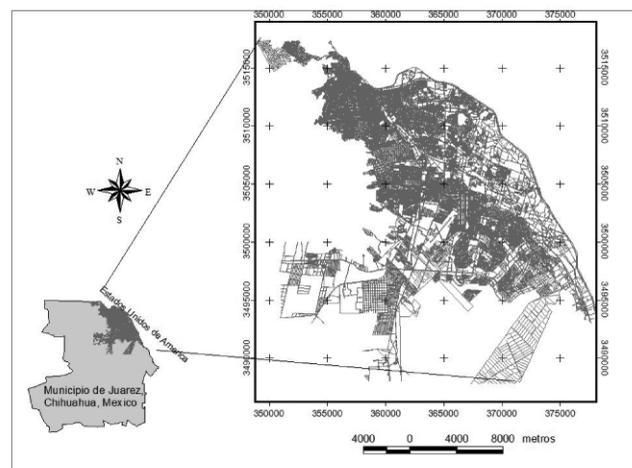


Figura 1. Ubicación geográfica de la zona de estudio

RESULTADOS

En los tres años de estudio se colectaron un total de 21524 mosquitos hembra; 277 en el 2004, 9044 en el 2005 y 12203 en el 2006. La Tabla 1 muestra las especies de mosquitos encontradas durante el periodo 2004-2006 y se identifica su competencia como vector.

En el año 2004 se colectaron 11 especies distribuidas en seis géneros. El género *Culex* estuvo representado por cuatro especies, *Ochlerotatus* por tres especies y *Aedes*, *Anopheles*, *Psorophora* y *Stegomyia* por una sola especie. Para este año, la especie de mayor abundancia relativa fue *Culex quinquefasciatus*, alcanzado un porcentaje arriba del 40% del total capturado.

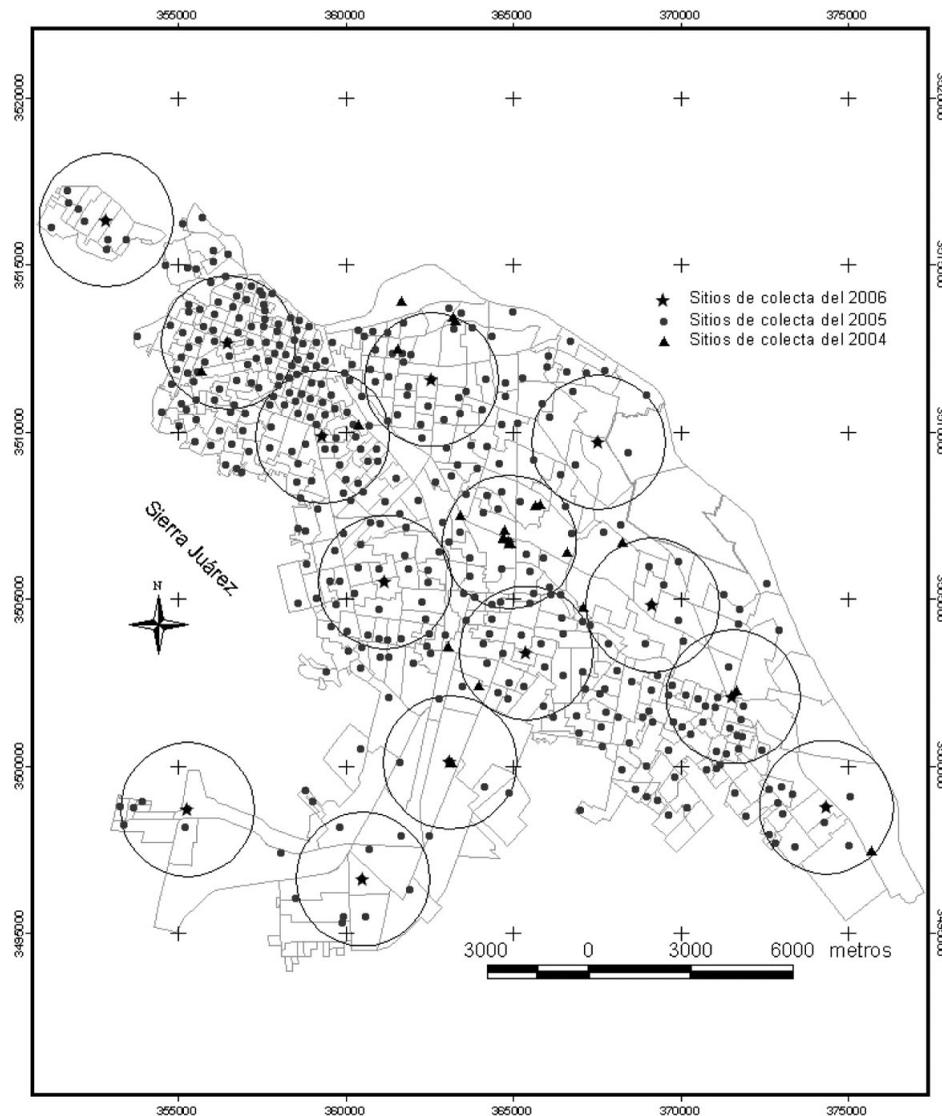


Figura 2. Ubicación de los sitios de colecta durante los tres años del estudio en Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Los círculos representan las áreas de influencia de 2.000 m alrededor del punto de trapeo.

En el 2005, con las 419 trampas se colectaron 9.044 especímenes. En este año los géneros *Anopheles*, *Culex* y *Ochlerotatus* estuvieron representados por dos especies cada uno de ellos y sólo una especie en *Aedes*, *Psorophora* y *Stegomyia*. La especie de mayor abundancia relativa fue *Cx. quinquefasciatus* con un porcentaje superior al 75% del total capturado.

Para el tercer año de muestreo, se colectaron 21524 ejemplares de las especies *Aedes vexans*, *An. franciscanus*, *An. pseudopunctipennis*, *Cx tarsalis*, *Cx quinquefasciatus*; *Oc. dorsalis*, *Oc.*

triseriatus, *Ps columbiae* y *St aegypti*. La mayor abundancia relativa correspondió a *Cx quinquefasciatus* con un valor cercano al 50%. La Tabla 2 resume la cantidad de mosquitos hembra colectadas por año.

La mayor diversidad de especies se presentó durante el año 2004, donde se colectaron once de las trece especies localizadas en los tres años de estudio. En general los géneros *Ochlerotatus* y *Culex* fueron los más representativos, con cuatro especies. En el caso de *Aedes*, *Psorophora* y *Stegomyia* sólo fueron representados por una sola especie. Independientemente del año de colecta, las especies con mayor abundancia relativa fueron *Cx quinquefasciatus*, *Cx. tarsalis*, *Ps. columbiae* y *St. aegypti* (Figura 3).

Todas las especies encontradas tienen importancia en salud pública, ya que son vectores competentes para diversas enfermedades. El

mosquito *Anopheles franciscanus* (McCracken) y *Anopheles pseudopunctipennis* (Theobald) son vectores de malaria. El género *Ochlerotatus*, *Aedes vexans* (Meigen) y *Psorophora columbiae* (Dyar y Knab) han sido asociados a las encefalitis equina del este, oeste, Venezolana y de San Luis. El mosquito *Stegomyia aegypti* (L.) está reconocido como el principal vector del dengue y el género *Culex* está identificado como el vector principal del Virus del Oeste del Nilo (VON).

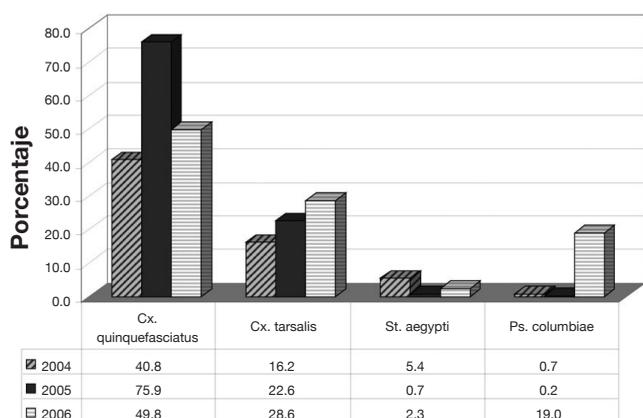


Figura 3. Comparativo en porcentaje de las cuatro principales especies colectadas en el periodo 2004-2006 en la zona urbana de Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

Tabla 1. Especies de mosquitos colectados con referencia a su competencia como vectores para cada uno de los años muestreados.

ESPECIE	Enfermedad asociada	2004	2005	2006
<i>Aedes vexans</i>	ESL, EEE, EEO, LC	x	x	x
<i>Anopheles franciscanus</i>	Malaria	x	x	x
<i>Anopheles pseudopuctipennis</i>	Malaria		x	x
<i>Culex tarsalis</i>	VON, EEO, ESL	x	x	x
<i>Culex quinquefasciatus</i>	VON, ESL, filariasis, EEO	x	x	x
<i>Culex restuans</i>	VON	x		
<i>Culex erythrothorax</i>	EEO, VON	x		
<i>Ochlerotatus dorsalis</i>	EEO	x	x	x
<i>Ochlerotatus epactius</i>	ESL	x		
<i>Ochlerotatus sollicitans</i>	EEE	x	x	
<i>Ochlerotatus triseriatus</i>	LC, filariasis			x
<i>Psorophora columbiae</i>	EEO, EEV	x	x	x
<i>Stegomyia aegypti</i>	DEN, VON	x	x	x

EEE= Encefalitis Equina del Este; EEO= Encefalitis Equina del Oeste; EEV= Encefalitis Equina Venezolana; ESL= Encefalitis de San Luis; LC=Encefalitis de LaCrosse; VON= Virus del Oeste del Nilo; DEN=Dengue

Tabla 2. Número de mosquitos hembra por especie colectados durante los años 2004, 2005 y 2006 en Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

ESPECIE	2004	2005	2006
<i>Aedes vexans</i>	15	12	10
<i>Anopheles franciscanus</i>	1	10	1
<i>Anopheles pseudopuctipennis</i>	0	3	1
<i>Culex tarsalis</i>	45	2 047	3 497
<i>Culex quinquefasciatus</i>	113	6 871	6 080
<i>Culex restuans</i>	53	0	0
<i>Culex erythrothorax</i>	23	0	0
<i>Ochlerotatus dorsalis</i>	1	4	5
<i>Ochlerotatus epactius</i>	1	0	0
<i>Ochlerotatus sollicitans</i>	8	7	0
<i>Ochlerotatus triseriatus</i>	0	0	1
<i>Psorophora columbiae</i>	2	20	2 322
<i>Stegomyia aegypti</i>	15	70	286
TOTALES	277	9 044	12 203

DISCUSIÓN

Las características ambientales de la región ofrecen condiciones favorables para la proliferación y desarrollo de mosquitos. Desde que Martini (1935) realizó los primeros registros ocasionales de las especies *Ae. vexans* y *Ae. dorsalis*, hasta la fecha no se habían generado esfuerzos sistemáticos y continuos de estudios de vectores en Ciudad Juárez, Chihuahua, México. El listado de especies obtenido representa un primer acercamiento científico al estudio de culicidos en la localidad.

De las 13 especies identificadas, el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica de México sólo tiene reportadas para esta zona a *Culex quinquefasciatus* (Say), *Culex tarsalis* (Coquillett), y *Psorophora columbiae columbiae* (Anónimo, 2004). Los mapas de distribución proporcionados por Darsie y Ward (2005) sugieren la posibilidad de 26 especies para la región bajo estudio; sin embargo 13 de ellas no fueron colectadas en los muestreos.

En algunos países, caso concreto en los Estados Unidos de America, cada estado genera el

listado de la culicidofauna presente y su distribución espacial. Citamos los trabajos de Sames *et al.* (2007) con registro de 44 especies para el estado de Washington y de Hutchison *et al.* (2008) con 62 especies para el estado de Pennsylvania. En México los registros son escasos y más localizados como el estudio de Muñoz-Cabrera *et al.* (2006) que en colectas del 2004, describen 26 especies de mosquitos en Tlaxcala.

Se describen a continuación los inventarios de mosquitos llevados a cabo en zonas aledañas al área de estudio con fines de comparación. Leyva (2005) realizó colectas en el condado de El Paso, Texas, EUA, durante el año 2005, registrando 13 especies para la región agrupadas en 7 géneros. De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se coincide con *Ae. aegypti*, *Ae. vexans*, *An. franciscanus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tarsalis*, *Oc. dorsalis*, *Oc. sollicitans* y *Ps. columbiae*. Bradford *et al.* (2008) en un estudio realizado en el periodo 2002-2004 reportaron 39 especies en el condado de Lubbock, Texas, EUA. En ellas, se coincide en 12 de las reportadas en el presente trabajo y únicamente *Oc. epactius* es la excepción.

En cuanto a abundancia, Vilchis (2001) durante el periodo 1995 a 1999 reporta las especies *Ae. dorsalis*, *Ae. sollicitans*, *Ae. vexans*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tarsalis* y *Ps. columbiae* como las más abundantes en el condado de Dona Ana, NM.; Bradford *et al.* (2008) registran a las especies *Ae. vexans*, *Cx. tarsalis* y *Ae. sollicitans* como las más abundantes en el condado de Lubbock, TX. durante el periodo 2002-2004. DiMenna *et al.* (2006) en un estudio en los márgenes del Río Bravo en el estado de Nuevo Mexico, EUA, detectó a *Cx. tarsalis* como la especie más abundante en zonas rurales y a *Cx. salinarius* y *Cx. pipiens quinquefasciatus* en la zona urbana. Leyva (2005) en El Paso, Texas, EUA, estableció como el más abundante a *Cx. tarsalis* (77%) seguido por *Ps. columbiae* (9%), y en tercer sitio a *Cx. quinquefasciatus* (8%).

Si bien el método y las técnicas de colecta fueron diferentes para cada año muestreado, en el

presente estudio, *Cx. quinquefasciatus* fue la especie de mayor abundancia relativa durante todas las temporadas de colecta, coincidiendo como una especie con fuerte tendencia antropofílica. Esta especie tiene una distribución mundial y está asociada a aguas transitorias, contaminadas y residuales. Le siguió en abundancia *Cx. tarsalis*, que se ha reportado como una especie de preferencia por hábitats rurales y, que en el caso especial de este estudio, fue colectada en las trampas ubicadas en la antigua zona agrícola así como en colonias clasificadas como semiurbanas. Con respecto a la especie *St. aegypti* y a pesar de la baja densidad poblacional relativa, con un promedio de 2.6% en los tres años, se le debe considerar de alto riesgo para la población por su potencial como transmisor del dengue. Esta enfermedad se transmite vía humano-mosquito-humano sin mediar otro huésped. *Psorophora columbiae* es un mosquito característico de aguas de inundación y su presencia se asocia a fuertes precipitaciones. Su población fue muy baja en los años 2004 y 2005, que coincidió con la presencia de escasas lluvias (tan solo 102 mm durante el muestreo); sin embargo, su aumento poblacional concuerda con las precipitaciones récord del año 2006, que superaron los 350 mm.

Las diferencias en cuanto a las especies colectadas y su abundancia relativa en Ciudad Juárez durante los tres años de captura en comparación con los estudios de zonas aledañas, pueden ser explicadas tanto por la técnica de colecta empleada así como la cobertura de suelo, condiciones ambientales y microhábitat.

La especie *Cx. quinquefasciatus*, ampliamente distribuida en Norteamérica, ha demostrado una alta capacidad como transmisora del Virus del Oeste del Nilo y de la Encefalitis de San Luis. Zinser *et al.*, (2004) demostraron que en áreas urbanas de regiones desérticas este mosquito se alimentaba tanto de humanos como de aves, lo que aumenta considerablemente su peligrosidad como transmisor.

Dada la importancia que representa el mapeo de vectores por su impacto en salud pública,

los resultados obtenidos en este trabajo son una herramienta más que permitirá a las autoridades tomar decisiones apropiadas en programas de vigilancia entomológica.

LITERATURA CITADA

- Almiron, W. R. (2002). *Culicidae* (Diptera) de la Provincia de Córdoba, en *Actualización en arthropodología sanitaria Argentina*. Publicación Monográfica No 2. Fundación Mundo Sano. Buenos Aires, Argentina.
- Anónimo. 2001a. *Cuaderno Estadístico Municipal. Juárez-Chihuahua*. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. México.
- Anónimo. (2001b). *XII población, migración y protección civil*. Programa de Desarrollo Regional Frontera Norte 2001-2006. Secretaría de Gobernación. México.
- Anónimo. (2004). *Avances en la identificación de especies de mosquitos*. CENAVECE-IndRE/DPETV/VON. Secretaría de Salud www.cenave.gob.mx/von/
- Leyva, Enrique. (2005). *El Paso City-County Health and Environmental District*. Vector Control Program.
- Bradford, C. M., W. Gellido y S. M. Presley. (2008). "Survey of mosquito fauna in Lubbock County, Texas". *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(3):453-456
- Carpenter, J. S. y W. J. LaCasse. (1955). *Mosquitoes of North America (North of Mexico)*. University of California Press.
- Darsie, R. F. Jr. y R. A. Ward. (2005). "Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, North of México". *Mosquito Systematic Supplement*, 1:1-313.
- Díaz, L. A., W. R. Almiron, F. Luedueña-Almeida, L. I. Spinsanti y M. S. Contigiani. (2003). "Vigilancia del virus de la Encefalitis de San Luis y mosquitos (*Diptera: Culicidae*) en la provincia de Córdoba, Argentina". *Entomological Vector*, 10 (4): 551-566
- DiMenna, M. A., R. Jr. Bueno, R. R. Prmenter, D. E. Norris, J. M. Sheyka, J. L. Molina, E. M. La-Beau, E. S. Hatton, G. E. Glass. 2006. "Emergence of West Nile Virus in mosquito (*Diptera: Culicidae*) communities of the New Mexico Rio Grande Valley". *Journal of Medical Entomology*, 43(3):594-9.
- Gleiser, R. M., G. Schelotto y E. Gorla. (2002). "Spatial pattern of abundance of the mosquito, *Ochleratus albifasciatus*, in relation to habitat characteristics". *Medical and Veterinary Entomology*, 16:264-371.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen y T. W. Scott. (2002). "Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus". *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 8, No. 12
- Hutchinson, M. L., R. F. Darsie Jr., S. Spichiger, G. E. Jones y E. A. Naguski. (2008). "Annotated checklist of the mosquitoes of Pennsylvania including new state records". *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(1):1-5
- Ibáñez-Bernal, S., D. Strickman y C. Martínez-Campos. (1996). *Culicidae (Diptera)* Cap. 38:591-602. En Llorente Bousquets, J., A. N. García Aldrete, y E. González Soriano (Eds.). *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México*.
- Martini, E. (1935). *Entomología médica y parasitología. Los mosquitos de México*. Boletines técnicos. Departamento de Salubridad Pública. México.
- Mesa-Ridel, G., L. Iraidá-Rodríguez y J. Teja. (2004). "Las enfermedades emergentes y re-emergentes: un problema de salud en las Américas". *Revista Panamericana de Salud Pública*, 15(4).
- Muñoz-Cabrera, L. O., S. Ibáñez-Bernal y M. C. Corona-Vargas. (2006). "Los mosquitos (*Diptera: Culicidae*) de Tlaxcala, México. I:Lista comentada de especies". *Folia Entomológica Mexicana*, 45(3):223-271.
- Pérez-Martínez, T. T., L. Íñiguez, L. Sánchez, y

- R. Remond. (2003). "Vulnerabilidad espacial al dengue: una aplicación de los sistemas de información geográfica en el municipio Playa de Ciudad de La Habana. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri". *Rev. Cubana Salud Pública*, 29(4): 353-65.
- Rozendaal, J. (1997). *Vector control: methods for use by individuals and communities*. World Health Organization. Geneva.
- Sames W. J., A. Duffy, F. A. Maloney, J. S. Townzen, J. M. Brauner, C. P. Mchugh y J. Lilja (2007). "Distribution of mosquitoes in Washington state". *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(4):442-448
- Schatzmayr, H. G. (2001). *Viroses emergentes e reemergentes*. *Cuadernos de Salud Pública*. Río de Janeiro, 17(Suplemento):209-213.
- Slaff, M. y C. Apperson (1989). A key of mosquitoes of North Carolina and the *Mid-Atlantic states*. *Publication AG-412*. Agricultural Extension Service. North Carolina State University.
- Turell, M. J., D. J. Dohm, M. R. Sardelis, M. L. O'guinn, T. G. Andreadis y J. A. Blow (2005). "Vector-borne diseases, surveillance, prevention. An update on the potential of North American Mosquitoes (*Diptera: Culicidae*) to Transmit West Nile Virus". *Journal of Medical Entomology*, Vol. (42)1
- Vilchis, H. L. (2001). *Border Health Bulletin. Boletín Fronterizo de Salud*. Vol 2, Núm. 2.
- Wolf, J. L. (2003). "Los desafíos inconclusos de la salud y las reflexiones para el futuro en un mundo globalizado". *Revista Cubana de Salud Pública*, 29(3):236-45
- Zinser, M., F. Ramberg y E. Willot (2004). "Scientific Note: *Culex quinquefasciatus* (*Diptera: Culicidae*) as a potential West Nile Virus vector in Tucson, Arizona: Blood meal analysis indicates feeding on both humans and birds". *Journal of Insect Science*, 4:20.

Normas de publicación para los autores

*El comité editorial de la revista **Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ**, acoge con gusto, propuestas de artículos para su publicación, bajo dos modalidades: artículos de investigación y artículos síntesis de investigación o Revisiones sobre tópicos de Ciencia en General. Los manuscritos pueden estar derivados de tesis de pregrado o posgrado. Las normas establecidas para la publicación son las siguientes:*

1. Los trabajos deberán ser de calidad científica e inéditos avalados por un investigador de carrera.
2. Una vez publicado el artículo, los derechos de autor pasan a la UACJ.
3. Los artículos pueden ser artículos de investigación original, revisiones invitadas (actualizaciones en temas de investigación) o comunicaciones breves (avances de investigación), los cuales deberán referirse a las áreas de ciencias naturales y exactas, ajustándose al dictamen del comité editorial, el que evalúa su contenido científico de calidad y decide sobre la pertinencia de su publicación.
4. Los trabajos pueden ser enviados para su publicación en el idioma inglés o el español. Si se envía una traducción al español, hay que adjuntar el texto también en forma original. Los artículos deberán incluir resumen en español seguido de uno en inglés (y viceversa).
5. No se devuelven los originales.
6. En caso de que el autor no responda después de haberse presentado las correcciones o dudas de su trabajo, la Revista Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, se reserva el derecho de hacer los cambios de edición sin modificar el contenido original de la obra.
7. Los trabajos deben ajustarse a los siguientes requisitos (de no cumplirse con ellos, no se considerarán para su publicación):
 - Título del trabajo, breve y conciso en inglés y español
 - Un resumen del contenido de una extensión aproximada de 40 palabras como mínimo y 150 palabras como máximo que deberá estar en inglés y español.
 - Nombre de los autores. De la manera tal y como los autores desean que aparezca en la versión impresa.
 - Adscripción de todos los autores, incluyendo el máximo grado de estudios y área de especialización.
 - La institución de adscripción de los autores participantes deberá incluirse como un pie de página, comenzando con el número 1.
 - Ejem. Ramírez, J. L.¹ y Martínez, R.²
¹ Universidad de Puebla, México.
² Universidad de Santiago Compostela, España
 - Naturaleza del trabajo: artículo de investigación, avance de investigación, etc.
 - Dirección para correspondencia que incluya: teléfono, fax y correo electrónico. El nombre del autor al cual se dirigirá la correspondencia debe indicarse con un asterisco (*) y la leyenda "Autor para correspondencia".
 - La extensión del trabajo deberá ser de un mínimo de 10 cuartillas de texto más las figuras, y de un máximo de 30 cuartillas más las figuras para un artículo de investigación. La extensión de los avances de investigación deberá ser de un máximo de 10 cuartillas de texto más las figuras.
 - Las ilustraciones, cuadros y fotografías, deberán referirse dentro del texto, enumerándose en el orden que se cita en el mismo, e indicar el programa de cómputo en el que están elaborados.

- Los pies de figura deberán ser explícitos sin necesidad de leer el texto principal. Deberán incluirse en un listado después de la bibliografía.
- Las referencias bibliográficas deben asentarse de la forma convencionalmente establecida en español, indicando éstas en el cuerpo del texto con los apellidos del primer autor y año de publicación entre paréntesis, y los datos bibliográficos al final del escrito. La bibliografía se presenta al final del artículo por orden alfabético.
- Al citar los títulos de libro, se deben utilizar mayúsculas solo al inicio y en nombres propios.
- Al menos la primera vez, deben proporcionarse la equivalencia de las siglas empleadas en el texto, en la bibliografía y en los cuadros y las figuras.
- Distribuir los datos de las referencias bibliográficas de la siguiente manera:

Referencia de libro:

Apellidos, nombre del autor (año). "Título del libro".
Lugar: Editorial. Número de páginas totales.

Ejemplo:

Foucault, Michael (1984). "Las palabras y las cosas". México: Siglo XXI. Pp. 30-45.

Referencia de capítulo de libro:

Apellidos, nombre del autor (año). "Título del capítulo". En: Nombre y apellido del editor (ed.). *Título del libro*. Lugar: Editorial. Páginas.

Ejemplo:

Levine, Frances (1991). "Economic perspectives on the Comanchero trade". En: Catherine A Spielmann (ed.). *Farmers, hunters and colonists*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press. 155-169.

Referencia de revista:

Apellido(s) del autor, inicial(es); otros autores. (año). "Título del artículo". *Nombre de la revista*, abreviado según el Index Medicus journal abbreviations: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>, volumen, páginas.

Ejemplos:

Sagara, Y., Fernandez-Belda, F., de Meis, L. e Inesi, G. (1992). "Characterization of the inhibition of intracellular Ca²⁺ transport ATPases by thapsigargin". *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

Rivas-Cáceres, R. (1999). Médanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente. *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.

SOBRE LA REMISIÓN DE ARTÍCULO Y EL PROCESO EDITORIAL

Remitir el original por correo electrónico a:

ciencia.frontera@uacj.mx

con atención al Comité Editorial

Indicar los nombres y datos de contacto de 2 revisores que se sugieran para dictaminar el artículo. Los datos de contacto son:

Nombre Completo del Revisor

Adscripción: Institución, Dependencia, Departamento, Grupo de Trabajo.

Correo electrónico

Números de Teléfono, y FAX

Dirección con Código Postal.

- El Comité Editorial acusará recibo del trabajo mediante correo electrónico. No se extienden oficios por la recepción del manuscrito. La recepción del manuscrito no garantiza su publicación.
- Posteriormente a un tiempo de dictamen de un mes máximo, el Comité Editorial remite, vía correo electrónico, el trabajo a sus autores para que realicen las modificaciones que hubiera, con base en las acotaciones de los dictaminadores.
- Los autores remitirán la segunda versión del ma-

nuscrito en un plazo máximo de 2 semanas y el Comité Editorial acusa recibo mediante correo electrónico. En caso de no recibir la versión corregida en este plazo, el comité se reserva el derecho de descartar la publicación y su posterior remisión se considerará como un nuevo proceso.

- No se emitirán oficios por la recepción de los trabajos corregidos.
- Posteriormente a la recepción del artículo en su versión definitiva, el Comité Editorial emite una acuse de recibo por correo electrónico y anunciará el proceso de revisión de galeras y publicación. Durante éste, el Comité Editorial trabaja en conjunto con la Subdirección de Publicaciones de la UACJ.
- No se emiten oficios por cada artículo aceptado para publicación.
- Cada fascículo se incluye en la página de publicaciones periódicas de la UACJ, bajo la dirección:

<http://www2.uacj.mx/Publicaciones/cienciaenlafrontera/default.htm>

- La versión impresa de cada fascículo se procesa por la Subdirección General de Publicaciones. Se obsequia un ejemplar por artículo como regalías.

