



INTRODUCCIÓN

La investigación científica de serpientes opistoglifas no ha sido de mucha trascendencia por no considerarse de un alto nivel tóxico, lo que generó el interés por evaluar la actividad neurotóxica que puede llegar a presentar este grupo de reptiles en el individuo experimental, el *Bufo marinus*, evaluando los resultados al medir potenciales de acción compuestos.

Los actos de agresividad de las serpientes pueden presentarse al momento de cazar o de defenderse de un depredador o agresor potencial, aunque por lo general estos animales huyen ante el peligro.

Gran parte de la atención prestada sobre estos organismos se focaliza en las mordeduras, especialmente en las que tienen impacto clínico sobre los humanos.

Para el caso de los encuentros fortuitos con humanos (o los de manipulación), se puede presentar el accidente ofídico que no es más que la agresión física de la serpiente mediante una mordedura; esta, es clasificada como *seria* para el caso de las serpientes que tienen la capacidad de inocular veneno con actividad que puede poner en riesgo la vida o dejar secuelas permanentes en una persona o en un organismo de uso pecuario (perros, gatos, caballos, entre otros).

Los accidentes ofídicos de importancia médica en nuestro medio son atribuibles a dos familias: la Elapidae y la Viperidae, siendo esta última la responsable de más de tres cuartos de los accidentes en el país. Dejando a un lado la mayoría de especies restantes que se conocen como no venenosas, las llamadas colúbridos, resultan igual de temibles a las demás e incluso provocan pánico en las personas que no distinguen patrones morfológicos que diferencian unas de otras.

Sin embargo existen ciertos mitos y reportes no confirmados de patologías causadas por algunos colúbridos, especialmente las opistoglifas de las que se dice tienen la capacidad



de inocular veneno, y esto ha hecho que sean perseguidas y sacrificadas por el temor a un accidente y sin tener en cuenta el papel tan importante que juegan en los ecosistemas que están al borde de las poblaciones antropogénicas (esto es general en todas las serpientes, independientemente de que sean venenosas o no). Cuando los seres humanos que ignoran la biología de las serpientes tienen un encuentro cercano con algún ofidio, por lo general lo sacrifican sin tener en cuenta que puede ser inofensivo. Lo anterior, evidentemente, causa un impacto negativo sobre las poblaciones de estos animales.

A pesar de que se sabe que especies de la familia colubridae presentan glándulas productoras de toxinas y colmillos inoculadores de veneno, solo se han citado algunos casos de accidentes que han puesto en riesgo la vida de personas y una que otra muerte desde hace más de 25 años, como es el caso de colúbridos de los géneros *Philodryas* y *Thamnodynastes* que son de distribución amazónica. Debido a este impacto epidemiológico general no se clasifican como peligrosas o venenosas (Campbell & Lamar 2004).

Dentro de las pocas investigaciones encontradas sobre el tema; Asencio (2002), efecto del veneno de *Dendrobates histrioniucus* (Anura: Dendrobatidae), sobre el potencial de acción compuesto del nervio ciático de *Bufo marinus* (Anura: Bufonia); Lemoine & Acosta (2003), desarrollaron un trabajo sobre actividades hemorrágicas, proteolíticas y neurotóxicas producidas por la secreción de la glándula Dubernoy de la falsa serpiente coral, por medio de electroforesis de poliacrilamida; Acosta O. et al (2004), hicieron un estudio sobre las lesiones que causan la mordedura de serpientes colúbridos del género *Xenodon* y se caracterizó el veneno de *Philodryas*; Galvis Rizo C. A. "Evaluación de la respuesta funcional de placa motora de rata, a la exposición de veneno crudo de *Micrurus mipartitus* y el antiveneno específico (probiol)".

Los colúbridos viven en zonas habitadas por seres humanos ocasionando eventualmente accidentes ofídicos que generan envenenamientos sistémicos locales de fácil manejo, pero en otros se puede complicar la vida del paciente dependiendo de la toxicidad de la secreción salival o de las reacciones inmunológicas que puede generar el mismo paciente.



Debido a la poca importancia clínica que se le presta a este grupo de animales, por no ser considerados letales para el hombre, existe una carencia de investigación sobre la secreción salival de los colúbridos colombianos. Tampoco se tiene un buen conocimiento de las estrategias moleculares de las secreciones salivales y de los efectos causados en las presas que utiliza como fuente de alimento. Por tal razón es importante realizar investigaciones de toxicología con este grupo de ofidios; de encontrarse evidencia de que las secreciones de estas serpientes puede presentar características de veneno activo por lo menos a nivel neurotóxico, el conocimiento relacionado con este hallazgo permitirá crear conciencia y prevención cuando una persona tenga un encuentro con estos organismos. Por otro lado, de no encontrarse actividad significativa, igualmente por medio de una campaña de educación sobre conservación, para que la gente logre identificar y diferenciar las serpientes venenosas, se logrará evitar el sacrificio de esta especie y además se eliminará la creencia popular de que estos organismos son letales.

Es un hecho que la gran mayoría de las serpientes desempeñan un papel fundamental dentro de los ecosistemas, ya que ayudan a mantener el equilibrio de las poblaciones de roedores que son una parte importante de su dieta; es por ello que la destrucción indiscriminada de estas especies puede ocasionar desequilibrios importantes en los ecosistemas. Otra causa importante de la posible disminución de las poblaciones, además de la destrucción de su hábitat, es el sacrificio sin sentido de que son objeto en muchas ocasiones por parte de las personas que llegan a encontrarse con un ofidio; y en menor medida pero no con menor importancia, tenemos el uso de pesticidas para la agricultura y el comercio ilegal de especies.

En consecuencia, es vital emprender en nuestro país más estudios relacionados con la toxicología relacionada a los colúbridos, determinar si realmente existe capacidad de generar daños en los tejidos, (en este caso en el tejido nervioso de las personas mordidas). Para resolver estos interrogantes, en el presente trabajo se propuso emplear la técnica electrofisiológica de potencial de acción compuesto en nervio aislado (*Bufo marinus*), para determinar si en algún grado existe actividad neurotóxica en las secreciones salivales de 2 especies de serpientes opistoglifas (*Erythrolamprus bizona* y *Leptophis ahaetulla*) de las cuales se sospecha algún tipo de actividad.



1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar si las secreciones salivales de las serpientes opistoglifas *Erythrolamprus bizona* y *Leptophis ahaetulla*, presentan algún tipo de actividad que modifique la función excitatoria del nervio ciático de *Bufo marinus*.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Establecer cómo son las curvas (función excitatoria) en que se relaciona el potencial de acción compuesto en el tiempo para varios nervios ciáticos aislados de *Bufo marinus*.

Determinar si la secreción salival de *Erythrolamprus bizona* o de *Leptophis ahaetulla*, altera la función excitatoria de los nervios de *Bufo marinus*.

Comparar el potencial de acción que presenta el nervio ciático bajo el efecto de las secreciones salivales de *Erythrolamprus bizona* o de *Leptophis ahaetulla*.



2. MARCO TEÓRICO

La concepción popular de que la Era de los Reptiles fue un fenómeno confinado al Mesozoico y que se detuvo con la extinción de los dinosaurios no considera el gran éxito evolutivo alcanzado por las serpientes. Este suborden está presente en el registro fósil desde el Cretácico, los cuales parecen ser un tipo de boas extinto, apareciendo los colúbridos en el Oligoceno y los elápidos y vipéridos en el Mioceno (POUGH, F.H. et al. 1996). Actualmente se considera que este grupo es de origen monofilético, originado ya sea a partir de algún grupo de lagartos o de un grupo anterior a los lagartos (Kochva, E. 1987). Desde su aparición, las serpientes han realizado una radiación especialmente rápida, perteneciendo actualmente aproximadamente 3000 especies a este grupo, el cual está presente en hábitats que varían desde el mar hasta el desierto, y que está representado en todos los continentes excepto la Antártica. ¿Qué es lo que les ha permitido este éxito?

La forma corporal elongada y carente de extremidades es característica de este grupo y afecta todos los aspectos de su biología, por ejemplo, el pulmón izquierdo está reducido o falta completamente, la vesícula biliar es posterior al hígado, el riñón derecho es anterior al izquierdo, y las gónadas pueden presentar desplazamientos similares. Esta forma corporal, a su vez, permite perseguir rápidamente a sus presas hasta el interior de sus madrigueras o hasta la punta de los árboles, y, de esta forma, explotar tipos de presas y métodos de caza con un éxito que no es posible para otros tipos de animales. (Pough 1983; Pough, et al. 1996).

Un problema que las serpientes tienen que resolver y que está estrechamente ligado a su estructura corporal es cómo suministrar energía suficiente a un cuerpo grande a través de una boca pequeña con relación al cuerpo. La solución se halla al observar que ellas consumen animales relativamente grandes con poca frecuencia, a diferencia de los lagartos, que hacen todo lo contrario. Sin embargo, esto presenta una nueva dificultad: las serpientes engullen su alimento entero, lo cual implica que la presa puede defenderse y debatirse mientras está siendo consumida, lo que expone a la serpiente al riesgo de ser herida, por lo tanto, el tamaño de la presa estará determinado por la posibilidad de ser



atacada, dominada y engullida por parte de la serpiente sin ser herida en el proceso (Pough, 1983; Pough, et al. 1996).

El aparato venenoso aparece en este contexto como un arma especialmente útil : permite a la serpiente atacar, dominar y engullir presas relativamente grandes sin correr ningún peligro, ya que todo se limita a morder, seguir el rastro de la presa herida y luego consumir un animal que, si no está ya muerto, al menos está completamente incapacitado para defenderse. De esta forma, además de evitar riesgos, la serpiente gasta un mínimo de energía al alimentarse, ya que no tiene que luchar para sujetar a su presa, al mismo tiempo que desaparece el gasto energético representado por las ocasiones en las cuales la presa escapa, con lo cual la serpiente tiene que volver a empezar de cero su cacería. Una vez inyectado el veneno en la cantidad adecuada no hay escape (Pough, 1983; Pough, et al. 1996).

Las serpientes que presentan aparato venenoso pertenecen a las familias Atractaspidae (60 especies, en África y Asia), Elapidae (250 especies, en todos los continentes excepto en la Antártica), Viperidae (200 especies, ausentes solo en Australia y la Antártica, en América están representadas por víboras con fosetas termo receptoras) y Colubridae (1,600 especies, en todos los continentes excepto Antártica), superfamilia Colubroidea, infraorden Alethiniophidia. Las relaciones filogenéticas entre estas familias en la actualidad son completamente desconocidas.

La aparición del aparato venenoso en serpientes puede ser entendido si se tiene en cuenta que en varios grupos actuales de lagartos se hallan glándulas dentales en mandíbula y maxila, en ocasiones capaces de segregare veneno, como en el caso de Anguimorpha. En los colúbridos este complejo es llamado glándula de Duvernoy, mientras que en Anguimorpha es llamada glándula de Gabe. Si se acepta que las serpientes hayan evolucionado a partir de un ancestro reptiloide, este debería haber tenido glándulas dentales en mandíbula y maxila. Posteriormente, se habrían desarrollado únicamente aquéllas de la maxila para conformar glándulas que, en una primera instancia, habrían secretado enzimas, las cuales posteriormente se convirtieron en sustancias tóxicas. Las serpientes que carecen de glándulas dentales las habrían perdido en el curso de la

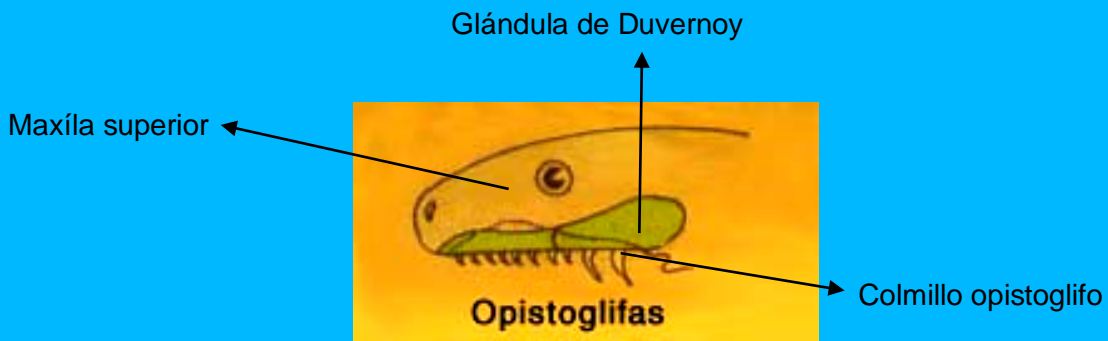


evolución. Esto es perfectamente posible, como lo demuestra el caso de la serpiente real (*Lampropeltis* sp). (Pough, 1983; Pough; et al. 1996).

Tradicionalmente se han utilizado los términos opistoglifo, proteroglifo y solenoglifo para caracterizar a las serpientes venenosas, sin embargo, estos términos son tan solo descriptivos y no tienen ningún tipo de valor taxonómico. A pesar de todo, es importante entender qué significa cada uno, debido al extensivo uso que se les dio en un tiempo (Pough; et al. 1996; Kochva, 1987).

Opistoglifos: Serpientes que tienen uno o más colmillos en la parte posterior de la maxíla con dientes más pequeños en frente. Los colmillos pueden ser lisos o con un surco en la superficie que permite dirigir secreciones hacia la herida producida (Figura 1).

Figura 1. Dentición Opistoglifa tomado de serpientes venenosas, reconocimiento y tratamiento general de su mordedura. www.revistaunam.mx/vol1/num3.



En Colubridae el aparato venenoso presenta gran variabilidad, estando ausente en algunas especies. En general, en las especies venenosas, las glándulas de Duvernoy tienen forma tubular con células serosas secretoras recubriendo los túbulos y con células mucosas recubriendo el conducto que lleva al colmillo. La glándula no posee lumen central generalmente, y la secreción es almacenada en el interior de las células en forma de gránulos que son liberados al interior de la glándula mediante exocitosis durante el ataque (figuras 2 y 3). No existen músculos especializados asociados a la glándula. Los colmillos están localizados en la parte posterior de la maxíla y presentan un surco a lo largo de su superficie lateral. No existe ningún tipo de unión directa entre el ducto que transporta la secreción salival y el colmillo, siendo la secreción salival recolectada en un



bolsillo que e halla en la cubierta carnosa del colmillo, escurriendo posteriormente hasta la herida. La salida de secreción salival es muy lenta y carece totalmente de presión. A lo anterior y a la posición poco propicia de los colmillos, se debe que, en general, las mordeduras de la gran mayoría de colúbridos venenosos no sean suficientes para causar la muerte en el hombre ni para matar rápidamente a las presas mordidas, con excepción de algunas especies como *Dispholidus typus* y *Thelotornis kirtlandi*, las cuales han dado muerte a dos herpetólogos: Karl Patterson-Schmidt y R. Mertens, respectivamente. La secreción salival expulsada proviene directamente de las células secretoras, las cuales lo liberan mediante excitosis. (Pough; et al. 1996; Kardong Lavin –Murcio, 1993.).

Figura 2. Glándulas de Duvernoy de *Erythrolamprus bizona* (vista dorsal), tomado por Carlos Galvis.

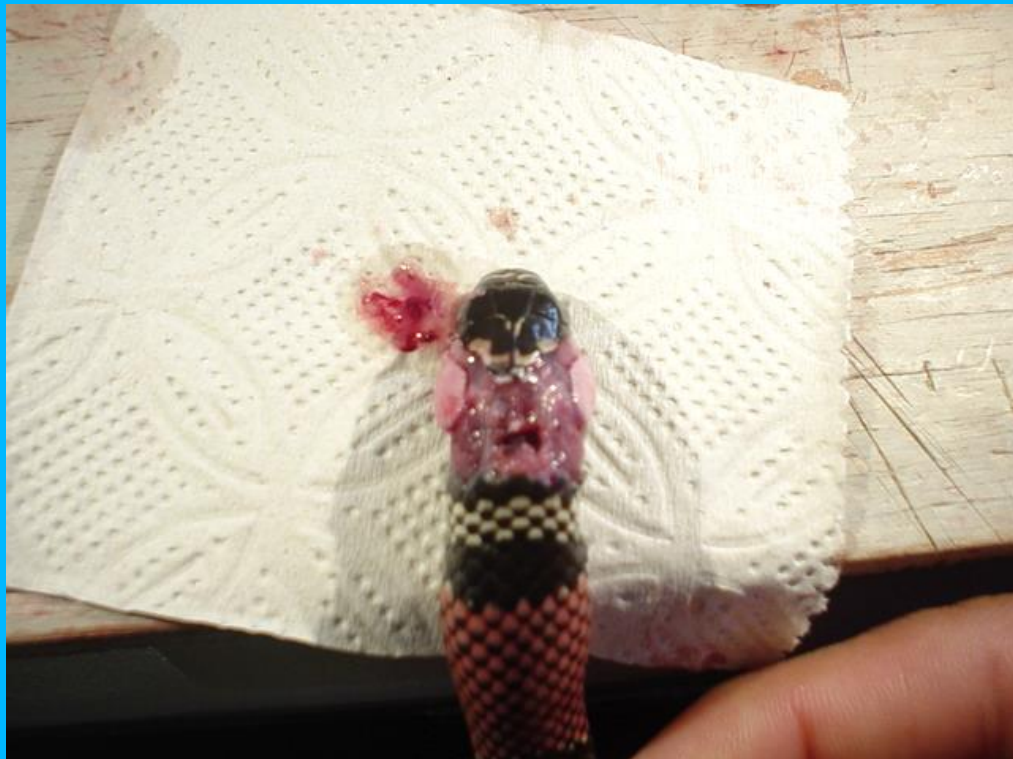




Figura 3. Glándulas de Duvernoy de *Erythrolamprus bizona* (vista lateral), tomado por Calrlos Galvis



La composición de secreción salival varía bastante entre las familias y las especies, es más, aún a nivel individual se presentan variaciones en las secuencias de una sola toxina (Aird, Kruggel; Kaiser. 1991). Sin embargo, en todos los venenos se halla ya sea fosfolipasa A o alguna toxina poliproteica, siendo una de las subunidades fosfolipasa. La fosfolipasa A es una enzima hidrolítica común al páncreas, las glándulas salivales de los mamíferos y las glándulas de secreción salival de las serpientes. Si se tiene en cuenta que el suero sanguíneo de las serpientes neutraliza las toxinas de dos componentes, las hemorraginas y la actividad enzimática del veneno de serpiente, se puede desarrollar la hipótesis de que el veneno evolucionó a partir de enzimas digestivas, similares, si no iguales a las segregadas por el páncreas, las cuales eran segregadas por las glándulas de veneno en desarrollo, y contra las cuales existían inhibidores en la sangre de las serpientes, por si se daba el caso de que las enzimas entraran al torrente sanguíneo del animal al escaparse de las glándulas de veneno. Según este esquema, las cardiotoxinas y neurotóxicas postsinápticas fueron las últimas en evolucionar, ya que contra ellas ninguna



serpiente presenta inhibidores en el suero sanguíneo, lo que sugiere un desfase en la coevolución toxina-inhibidor al interior de las serpientes. (Kardong; Lavin - Murcio. 1993 ; Kochva; Nakar; Ovadia. 1983).

Se debe hacer énfasis en el hecho de que los venenos son fluidos de composición compleja, son como una especie de cóctel de proteínas, ya sean enzimas o toxinas. Muchas de ellas presentan un efecto sinérgico que aumenta la letalidad del veneno. En los colúbridos, la estructura de cráneo es primitiva, las glándulas de Duvernoy son un carácter primitivo, así como la composición del veneno.

Las muertes reportadas siguen el mismo patrón sintomatológico presente en envenenamiento causado por vipéridos. En general los ataques por parte de colúbridos venenosos presentan una baja tasa de letalidad. (Cabrera T. 1998).

Los individuos de estudio son especies que pertenecen a la clase: Reptilia, Orden: Serpentes, Familia: Colubridae, Nombre científico: *Erythrolamprus bizona*, Nombre común: Falsa Coral y *Leptophis ahaetulla*, Nombre común: cazadora y el individuo experimental utilizado en el proyecto es el siguiente: pertenece a la Clase: AMPHIBIA, Orden: ANURA, Familia: BUFFONIDAE, Nombre científico: *Bufo marinus* descrito por Linnaeus, 1758. Nombre común: Sapo común.



2.1 Descripción de especies

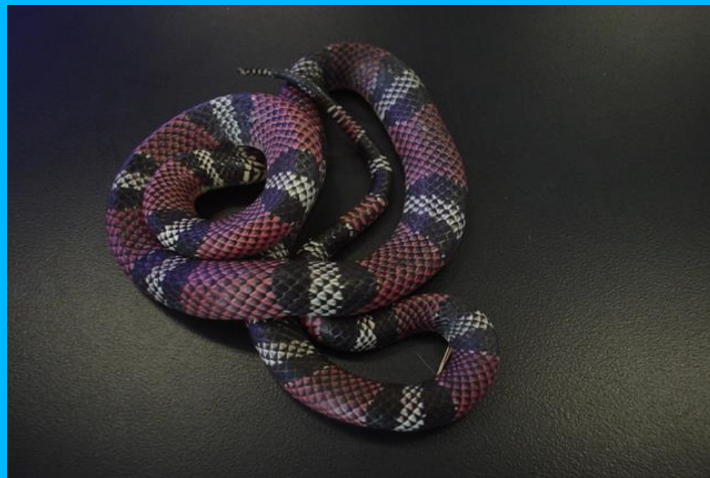
2.1.1 *Erythrolamprus bizona* (Falsa Coral)

Comprende serpientes de tamaño mediano, con una longitud total máxima de 100 cm. El cuerpo es cilíndrico y la cola es mediana a larga, la cabeza es ovalada y poco diferenciada del cuello, los ojos son de tamaño mediano con pupila redonda y poseen colmillos posteriores acanalados. Su coloración es de anillos rojos, blancos y negros, los últimos en pares, incluso el primer anillo nual. Los anillos rojos, tienen los ápices de las escamas dorsales negros y, aproximadamente del mismo ancho tanto arriba como abajo. La cabeza clara arriba, pero el hocico y la región parietal manchadas de negro y una banda ocular negra (figura 4).

Se encuentra en casi todo el país, desde el nivel del mar hasta los 2630 m. en Bogota y desde clima de desierto casi sin vegetación en Nazaret (Guajira) hasta zonas con precipitación media anual superior a los 7000 mm.

Son serpientes de costumbres terrestres y que desarrollan su actividad durante el día. Son cazadoras activas y su espectro alimenticio incluye pequeños roedores, lagartijas, ranas y otras serpientes. Su reproducción es ovípara. Son muy rápidas y al ser molestadas pueden atacar por medio de mordedura, como método de defensa. (Tomado de: Ofidios de Colombia 1988).

Figura 4. *Erythrolamprus bizona*, tomada por Carlos Galvis.





2.1.2 *Leptophis ahaetulla* (cazadora)

Comprende serpientes de tamaño mediano y grande llegando a más de dos metros de longitud, tiene cuerpo esbelto, a veces ligeramente comprimido lateralmente y con la cola muy larga, la cabeza es alargada y se destaca bastante del cuello; posee ojos grandes y pupilas redondas.

Es un género muy difuso pero prefiere las tierras bajas, se encuentra desde el nivel del mar hasta los 2.750 m, presente en todas las vertientes y en todos los tipos de climas, en todas las regiones naturales, y en todos los sistemas de montaña.

Son serpientes arborícolas aunque se les puede encontrar desplazándose por el suelo. Son activas durante el día y se desplazan con gran rapidez entre las ramas de los árboles con las que se confunden al permanecer inmóviles. Se alimentan principalmente de ranas y lagartijas pero es posible que incluyan en su dieta otro tipo de presas, como los pájaros y roedores pequeños; son serpientes muy ágiles y rápidas que huyen del hombre al ser descubiertas pero, si se les acorrala levantan la parte anterior del cuerpo y abren mucho la boca intentando intimidar, a la vez que mueven la cabeza rítmicamente hacia los lados (figuras 5 y 6).

Prefieren las vecindades del agua y su hábitat preferido se encuentra en bosques húmedos o muy húmedos tropicales y su reproducción es ovípara. (Tomado de: Ofidios de Colombia 1988).

Figura 5. *Leptophis ahaetulla*, tomado de www.bio.davidson.edu/leptophis.htm.

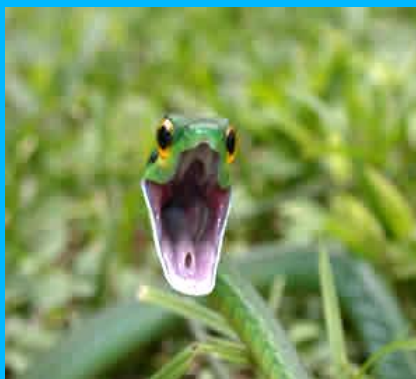




Figura 6. *Leptophis ahaetulla*, tomada por Carlos Galvis.



2.1.3 *Bufo marinus*

Su aspecto general es el de un animal robusto, con una cabeza no muy grande con relación al tamaño del cuerpo, algo aplastada, ancha y con un marcado desarrollo arco superciliar, en los tuberos frontales de tipo hipertelóricos. El hocico es corto y redondeado. Las glándulas parótidas son alargadas, muy desarrolladas, y los tímpanos, de la mitad de tamaño que las pupilas, son poco visibles (figura 7). La pupila es horizontal y el iris de un color rojizo.

Su piel es rugosa con abundantes verrugas distribuidas por todo el cuerpo. El diseño de la piel es muy variable, aunque dominan los tonos de fondo marrón o rojizo, salpicados de manchas irregulares más claras de color crema o amarillento. Dependiendo de las regiones pueden ser desde casi completamente negros a otros diseños pálidos, incluso verdosos. El vientre es blanquecino salpicado de manchas oscuras.



Se trata de una especie muy versátil, poco exigente a la hora de seleccionar el hábitat, por lo que podemos encontrarla en bosques, terrenos de labor, alta montaña y todos aquellos lugares que dispongan de aguas con corrientes lentas o aguas calmadas de una profundidad por encima de los 50 cm, que necesita para reproducirse. Incluso está presente en lugares en principio aparentemente poco aptos por su aridez y elevadas temperaturas. Su distribución no parece estar influida por la altitud, ya que se encuentra desde el nivel del mar hasta las zonas más altas de montaña. Son animales predominantemente crepusculares y nocturnos, si bien en tiempo lluvioso y con temperatura suave se les puede encontrar a plena luz del día. (Tomado de www.sierradebaza.org/fichasfauna.)

Figura 7. *Bufo marinus*, tomada por Calos Galvis.





2.2 Estructura del nervio ciático

El nervio ciático es un cuerpo nervioso, es el de mayor grosor de todo el organismo, tiene un diámetro de $2 \mu m$ en su punto de origen que va desde el plexo lumbosacro, sale por debajo del músculo piriforme (músculo pelvitrocantérico), y desciende entre el trocánter mayor del fémur y la tuberosidad isquiática a lo largo de la parte posterior del muslo hasta aproximadamente su tercio inferior, este consiste en un paquete de fibras nerviosas. Cada una es la fibra de una neurona cuyo cuerpo celular se encuentra dentro del cordón espinal o cerca de él. Las fibras son cilíndricas y largas y conducen mensajes neurales llamados potenciales de acción. Algunas fibras conducen potenciales de acción hacia el cerebro: ellas son llamadas fibras aferentes. Otras llamadas fibras eferentes o motoras, las cuales, conducen potenciales de acción fuera del cerebro. El nervio ciático contiene ambas fibras, eferente y aferente. Las fibras que se encuentran dentro del nervio ciático difieren considerablemente en la parte estructural y funcional: algunas fibras pueden estar rodeadas de mielina mientras que otras pueden carecer de esta. La duración de los potenciales de acción, el umbral y el período de refracción difiere a través del axón. La interpretación del potencial de acción compuesto puede ser una expresión heterogénea dependiendo de la población de fibras nerviosas. (Patton, 1960; Ochs, 1965; Ruch et al, 1965)

2.3 Potencial de acción compuesto (PAC)

Un potencial de acción se propaga a lo largo de un axón fibra nerviosa; ellos producen potenciales eléctricos que pueden ser registrados desde la superficie del nervio. Cuando un paquete de fibras es estimulado, muchos axones producen potenciales de acción sincrónicamente. El resultado eléctrico es la respuesta registrada en la superficie del nervio, a esto le llamamos potencial de acción compuesto. La forma del potencial de acción compuesto depende de la población de fibras excitadas dentro del nervio. Si todas las fibras dentro del nervio son de diámetro similar, las velocidades de propagación del PAC pueden ser similares. La propagación puede ser bloqueada por un diferente número de métodos incluidos métodos mecánicos (aplicando presión al nervio o presionando el nervio con forses), eléctricos (bloqueando el nivel de corriente a través del nervio), o



químicos (aplicando cloridio de potasio, anestesia local, cocaína o tetrodotoxina al nervio). Si el PAC es bloqueado entre los electrodos de registro no hay una acción en los electrodos (negativo), lo que es registrado es el PAC monofásico.

El resultado monofásico del PAC puede ser corto si el nervio contiene una mezcla de fibras heterogéneas con diferente diámetro (como las del nervio ciático de *Bufo marinus*); entonces el PAC monofásico puede ser de amplia propagación. Si la distancia entre los electrodos de estimulación es suficientemente larga el potencial de acción monofásico puede contener diferentes picos; cada pico corresponde a una subpoblación diferente de fibras que conducirían potenciales de acción con diferente velocidad. (Patton, 1960; Ochs, 1965; Ruch et al, 1965)



3. METODOLOGÍA

Como el propósito del presente trabajo consiste en determinar si en las secreciones salivales de dos especies de serpientes opistoglifas, en las que se cree puede existir algún tipo de actividad que pueda calificarse como neurotóxica, trabajamos bajo la siguiente metodología.

3.1 Fase de Campo

Se realizaron diez salidas de campo en los sitios donde hay distribución de estas especies (*E. bizona*, *L. ahaetulla* y *Bufo marinus*) en los departamentos del Valle del Cauca y del Quindío en los municipios de Zarzal, Cartago, Barcelona, El caimo, Circasia, Cali y Buenaventura (Pianguita). Los muestreos tuvieron una duración de cuatro días haciendo recorridos diurnos y nocturnos con búsquedas exhaustivas en las que además contamos con algunos encuentros casuales. También se utilizaron algunas de las serpientes colectadas o rescatadas dentro del programa de conservación de serpientes coordinado por el Zoológico de Cali hasta coleccionar ocho individuos, cuatro de cada especie, *E. bizona* y *L. ahaetulla*.

Las capturas se hicieron manualmente y/o con ayuda de ganchos de manipulación y fueron transportadas en bolsas herpetológicas. Los individuos se mantuvieron en cautiverio con una alimentación adecuada, simulación de hábitat, control de heces, humedad y temperatura.

3.2 Fase de laboratorio

3.2.1 Ordeño

Las serpientes fueron ordeñadas mensualmente para obtener muestras de secreción salival (empleando capilares de plástico debidamente esterilizados). Esta muestra fue pesada, secada con nitrógeno y almacenada en viales debidamente refrigerados. Este



proceso de ordeño se repitió durante cuatro meses para obtener una muestra de secreción salival considerable acumulando los ordeños para cada especie (teniendo en cuenta que por ensayos previos realizados por nosotros, y observamos que las secreciones salivales obtenidas de colúbridos, son muy pequeñas). El décimo día posterior a cada ordeño se alimentaron las serpientes con ratones y/o ranas, para realizar el procedimiento al siguiente mes.

3.2.2. Aislamiento del nervio ciático

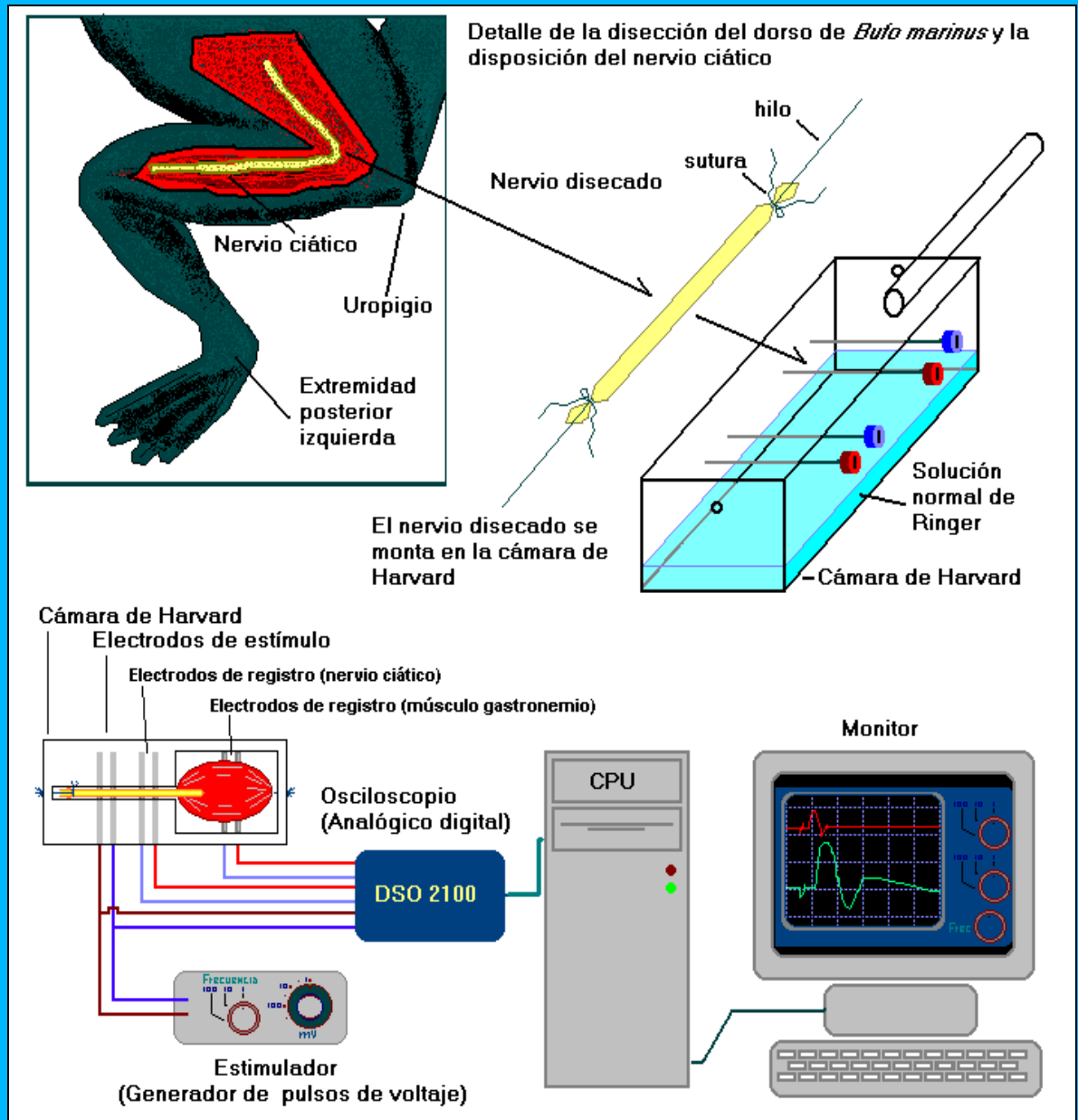
Para obtener el nervio ciático de sapo para cada experimento, se dio un punzón en la zona medular; luego se practicó una cervicraneotomía con la cual se dio muerte a los individuos; inmediatamente se hizo la disección para extraer el nervio, que se encuentra desde las raíces medulares hasta el músculo gastrocnemio; este se pinzó con hilo de seda para evitar el vaciado del contenido del nervio por cada uno de los extremos por donde se disecciona. Simultáneamente al proceso de disección, el nervio se mantuvo bañado con solución Ringer tris; inmediatamente disecado el nervio se montó en la cámara de Harvard. Se estimuló el nervio con un pulso de 0.4 voltios de intensidad a una frecuencia de 0.2 Hz y se registró cada minuto el potencial de acción en el tiempo desde el inicio del experimento hasta que el nervio no mostró más PAC (nervio disfuncional o “muerto”).

Se utilizó el nervio de Bufo porque se obtienen excelentes resultados y ha mostrado ser sensible a muchas toxinas, incluyendo las de los dendrobatidos que también son ranas. Se emplea este modelo porque este nervio puede durar vivo hasta 4 o 5 horas, mientras que si se extrae el nervio de una rata o ratón, este dura para experimentar máximo 45 minutos y hay que contar el tiempo que demora la extracción que son mínimo 12 minutos. Esta metodología es clásica y estándar, pero el modelo con bufo fue estandarizado en el laboratorio de fisiología celular de la Universidad del Valle.

Se ha estado utilizando esta metodología por que es la forma más económica para explorar principios activos (bloqueadores, activadores entre otros), que presenten actividad sobre canales dependientes de voltaje, como son los de sodio y de potasio. Muchas de las toxinas, están dirigidas a estos canales o a los nicotínicos, especialmente de ranas, de artrópodos y algunas serpientes, (para los venenos neurotóxicos).



Grafico 1. Equipos utilizados en el desarrollo de esta investigación: Esquema de la cámara de Harvard y los equipos utilizados para medir el PAC del nervio ciático de *Bufo marinus*. Tomado de Galvis 2005.





3.2.3 Fabricación de la solución Ringer

La siguiente solución se empleó para bañar el nervio y mantener así las condiciones vitales de estos simulando las condiciones del medio natural.

La solución Ringer tris que utilizamos para bañar el nervio de *Bufo marinus*. Contiene la siguiente concentración: NaCl 1150 mM/l, KCl 25 mM/l, CaCl₂ · 2H₂O 50 mM/l, Glucosa 10 g /l trizma base 0.134 g / l y trizma H⁺ 0.404 g/l. D – tubocurarina 0.3 mg/l y el pH ajustado a 7.2. A partir de solución madre Ringer tris NaCl 67.218 g/l, CaCl₂ 7.352 g/l, KCl 1.864 g/l (NaCl - KCl secar a 120°C por una hora).

3.2.4 Fabricación de la solución de secreción salival de cada serpiente

Parte de la solución de la secreción salival (1.3 mg), se diluyó en la solución Ringer tris hasta lograr una concentración de 10 μ l de secreción salival a una concentración de 6 μ l /ml.

Culminadas las mediciones de cada experimento se analizó la variación de los potenciales de acción compuestos (PAC) del nervio de *bufo marinus* en el tiempo.

3.2.5 Equipo para medición de PAC

- ❖ Se utilizó una cámara de Harvard donde se alojó el órgano aislado, la cual consta de una cama de electrodos. Se utilizaron dos (electrodos) de estimulación y dos de medición, y en su interior 40 μ l de solución Ringer tris.
- ❖ El estimulador que se empleó es un Narcobio - systems SI-10 con el cual se generó un pulso cuadrado de voltaje, con una intensidad de 0.4 Voltios, una duración de 0.1 ms. que se repitió cada 0.2 Hz
- ❖ El equipo que amplificó la medida del potencial de acción es un amplificador marca Type – FM122.



- ❖ La señal amplificada se registró en un PC-digital Storage Oscilloscope PC based DSO-2100 con la cual se fotografiaron los PAC, y se almacenaron en un ordenador personal.



3.3 Análisis de datos

Para el registro y análisis de los datos se realizó un diseño experimental de bloques al azar con medidas repetidas en el tiempo (Daniel 1999). Como durante el proceso de extracción de los nervios pueden causarse lesiones que generen diferencias en el PAC entre éstos, los nervios se consideraron como bloques o repeticiones, lo cual permite aislar la variabilidad debida a este factor no controlado. Los tratamientos aplicados fueron las secreciones salivales de las dos especies de serpientes y el control consistente en la aplicación de la solución salina. El diseño contempla medidas repetidas en el tiempo pues las mediciones del PAC se hacen sobre el mismo nervio, en diferentes momentos, lo cual genera efectos que deben aislarse.

Los datos tomados según el diseño descrito antes se sometieron a un análisis de varianza en el que se comparan tres tratamientos a saber: un control consistente en una solución salina Ringer tris (T1), secreción salival de *Erythrolamprus bizona* (T2) y secreción salival de *Leptophis ahaetulla* (T3). En cada tratamiento se utilizaron cuatro nervios (bloques). Las mediciones se hicieron durante 70 minutos (una cada minuto).

Las hipótesis a contrastar fueron:

H_0 : No hay efecto de las secreciones salivales sobre el PAC.

H_a : Al menos una secreción salival influye sobre el PAC.

H_0 : No hay interacción Secreción salival-Tiempo que afecte el PAC.

H_a : Hay efecto de la interacción Secreción salival-Tiempo sobre el PAC.

Para el análisis de los datos se utilizó el software GraphPad Prism 4.0.



3.4 Medidas de bioseguridad y manejo de desechos sólidos con riesgo biológico.

Las prácticas de laboratorio se llevaron a cabo bajo las normas de bioseguridad del laboratorio, como por ejemplo el uso de guantes, bata de laboratorio, entre otras. Los residuos sólidos (piel) fueron almacenados e incinerados, junto con los cuerpos de los organismos. Se trasladaron vía hospitalaria, en la cual es importante tener en cuenta el buen manejo de estos residuos, como separar los diferentes desechos en contenedores sellados para evitar que los lixiviados caigan al suelo y el transporte de estos se realice en un corto tiempo y finalmente se prescindan de estos en el lugar adecuado.

Las muestras de secreción salival fueron debidamente almacenadas en un refrigerador a una temperatura de -20°C en el Laboratorio de Fisiología Celular de la Universidad del Valle.



4. RESULTADOS

Se registraron los PAC en el tiempo durante 70 minutos, de 12 nervios aislados, de los cuales 4 se emplearon como controles; estos se mantuvieron bañados con solución Ringer tris, y los restantes nervios aislados fueron tratados con 10 µl de secreción salival de *Erythrolamprus bizona* y *Leptophis ahaetulla* y aireados con solución Ringer tris.

Cuadro 1. Análisis de varianza bajo un diseño de bloques al azar con medidas repetidas en el tiempo (minutos) para comparar el efecto de las secreciones salivales de *E. bizona*, *L. ahaetulla* y un control sobre el potencial de acción compuesto (mV) de nervio ciático de *Bufo marinus*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	R.V.	F _{tabulado}		P
					1%	5%	
Tiempo	69	102200	1481	12.41 ^{**}	1.46	1.31	<0.0001
Tratamientos (Secreciones salivales y control)	2	86560	43280	1.97 ^{ns}	4.64	3.01	= 0.1956
Interacción (Tiempo * Secreciones salivales)	138	28920	209.6	1.76 ^{ns}	1.40	1.25	<0.0001
Sujetos (Nervios)	9	198100	22010	184.35			
Error residual	621	74140	119.4				
Total	839	489900					

^{**}: Indica diferencias altamente significativas.

^{ns} : Indica diferencias no significativas.

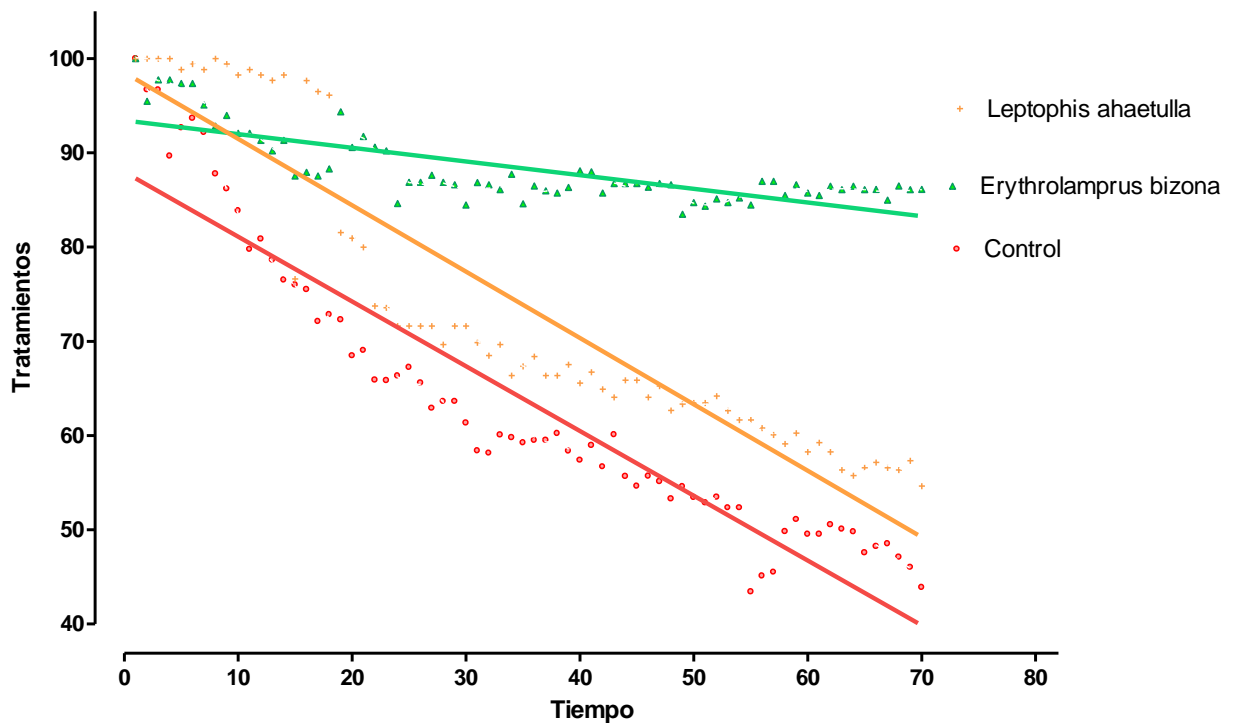
En el cuadro 1 se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, es decir, no hay diferencias entre el control y las secreciones salivales de las dos especies. También se observa que no hay interacción Tiempo-Tratamiento que afecte el PAC. **En otras palabras se puede afirmar que no hay efecto neurotóxico de**



las secreciones salivales de *E. bizona* y *L. ahaetulla* sobre el PAC del nervio ciático de *Bufo marinus*.

Es de notar que existen diferencias altamente significativas en el tiempo, en cuanto al potencial de acción, lo cual es explicable por que a medida que transcurre el tiempo, el nervio va perdiendo su función excitatoria, lo que trae como consecuencia una disminución en la amplitud del potencial de acción

Grafico 2. Comportamiento del PAC en nervio ciatico de Bufo marinus sometido a los tres tratamientos utilizados (Control - Secreciones Salivales)



En el gráfico 2 se observa que la disminución de la amplitud del PAC en el tiempo es más rápida cuando no se aplican las secreciones salivales (Control) que cuando se aplican. Esto se explica por el hecho de que en la saliva de *Erythrolamprus bizona* y *Leptophis ahaetulla* (como en casi todas las serpientes) hay presencia de ATP, lo cual puede estar causando una activación en el nervio.



5. DISCUSIÓN

Este grupo de serpientes tradicionalmente no han sido estudiadas por ser tomados como colúbridos poco peligrosos, pero que en la realidad pueden ser especies que tengan una relación más estrecha con especies vipéridas y elápidas “verdadera y peligrosamente venenosas”, que con otros “colúbridos”. Así se puede estar dejando de estudiar especies con toxinas interesantes, solo por el hecho de estar erróneamente clasificadas como “colúbridos no venenosas”. Lo anterior desde un punto de vista médico, porque de cualquier forma, este sesgo investigativo es inaceptable desde el punto de vista biológico, principalmente cuando los “colúbridos” forman la gran mayoría de serpientes y sus “venenos” han sido poco estudiados (Fry et al., 2003; Fry & Wüster, 2004; Gutiérrez & Sasa, 2002; Vidal, 2002).

Según las investigaciones anteriores, de las que se tiene noticia, la mayoría de serpientes opistoglifas tienen un aparato venenoso y una glándula de Duvernoy. Las que no poseen esta glándula son especies especializadas en el método de constricción para la captura de las presas u otra especialización alimenticia.

El aparato venenoso dentro de serpientes opistoglifas puede ser una escala de evolución para el desarrollo de un aparato inoculador de veneno más especializado, y para mayor tiempo de supervivencia; cualquiera que sea la situación ya es muy claro que la evolución del aparato venenoso de las serpientes tiene una historia compleja con la evolución y la pérdida repetida de diferentes tipos de aparato inoculador (Greene, 1997).

Pocas especies de Colúbridos son peligrosas para el hombre y solo del 30 al 40% de ellos posee glándula de Duvernoy, localizada en la región maxilo - temporal y especializada en la producción de veneno (Kardong, 2002). Sin embargo, de todas estas características comunes y teniendo en cuenta su descomunal diversidad comparada con otras familias de serpientes, (Mattison et al 1995) concluyeron que las investigaciones futuras seguramente dividirán a “Colubridae” en familias más pequeñas.



Kardong (1996) llama la atención sobre la ligereza con que se escribe sobre venenos de serpientes y su evolución. Hace un llamado a diferenciar entre roles biológicos (observables en la naturaleza) y propiedades (observables en el laboratorio) de las secreciones para no llegar a denotar una sustancia erróneamente como veneno, solo por sus efectos clínicos. Por ejemplo, si se inyecta saliva humana a una persona, esta sufrirá localmente de edema, dolor, eritema y alteraciones funcionales, signos clínicos típicos de un envenenamiento; no obstante, la saliva humana no es propiamente un veneno. Es de notar y tener clara la definición que se tiene para venenos: “Es una sustancia tóxica producida por una planta o animal en un altamente especializado órgano o grupo de células, y la cual es desplegada durante el acto de morder o picar” (Russell, 1980 citado por Kardong, 1996). Kardong (1996) no está de acuerdo con la homología entre la glándula de Duvernoy de colúbridos por un lado, y vipéridos y elápidos por otro, pues la de estos dos últimos grupos, son accionadas por músculos estriados especializados de las maxilas, derivados de aductores mandibulares; tienen reservorio grande con veneno listo para ser usado, y tienen conductos conectados a colmillos huecos (proteroglia y solenoglia) que inyectan los venenos profundamente en la víctima. El rol biológico del veneno de los colúbridos es controlar a la presa, mientras que el del veneno de elápidos y vipéridos es matar rápidamente (Kardong 1996, 2002)

Los argumentos para no calificar a los colúbridos como serpientes verdaderamente venenosas es que su aparato venenoso no está tan especializado para inyectar el veneno rápida y profundamente, sus secreciones salivales carecen de algunas propiedades enzimáticas de los verdaderos venenos. La mayoría de secreciones de glándula de Duvernoy no tienen Fosfolipasas A₂ (PLA₂, uno de los más importantes componentes del veneno de vipéridos y un poco menos en los elápidos), y además no tienen el rol biológico de matar rápidamente al adversario. Sin embargo existen excepciones a esto, pues los géneros colúbridos *Dispholidus*, *Rhabdophis*, *Philodryas* y *Thelotornis* quienes poseen glándula de Duvernoy, producen venenos que matan rápidamente a la presa, y que incluso han producido muertes humanas cuando serpientes de estos géneros muerden para defenderse. (Kardong 2002).

Según los resultados obtenidos en esta investigación la secreción salival de serpientes opistoglias tales como *Leptophis ahaetulla* y *Erythrolamprus bizona*, no presentaron



efecto alguno sobre la excitabilidad presináptica ya que estas secreciones no modificaron significativamente los PAC (mediante la técnica “Electrofisiología de potencial de acción compuesto en nervio aislado”), al medir los PAC en nervio aislado con toxinas de otras serpientes como las de los elápidos y vipéridos han demostrado alteraciones en la función excitatoria del nervio (verificado por Santiago Castaño). Esto no quiere decir que no puedan existir sustancias que pudieren estar actuando en sinapsis neuromuscular, para lo cual existen otros diseños de experimentos (pero que no hacían parte de los objetivos de este trabajo).

Podría pensarse que la cantidad de secreción salival colectada no fue suficiente para ejercer un efecto significativo sobre el nervio. No obstante, al observar el volumen de saliva colectado se consideró que era un volumen significativamente parecido a los que se han colectado en *Micrurus mipartitus* en otros momentos.

Hay que recordar que estas especies de opistoglifas no presentan un sistema inoculador desarrollado y por tanto no es eficiente la inoculación de veneno, pero lo que se observa en la naturaleza al comparar el sistema inoculador de los vipéridos (equis, cascabel, verrugoso, entre otros.) y la de los elápidos (corales verdaderas y serpiente marina), es que a pesar de que el sistema de los elápidos, siendo más ineficiente en la inoculación, presenta un veneno más potente en tiempo de actividad paralizante comparado con los primeros. La evolución en este caso cambió las ventajas adaptativas ya que en los elápidos dejó un veneno potente y un sistema de inoculación ineficiente mientras que en los vipéridos se mejoró el sistema inoculador, hasta ser “perfecto”. Para el caso de los colúbridos se puede decir por ahora (y por la evidencia encontrada) que las adaptaciones deben estar basadas en estrategias evolutivas guiadas a la caza sin veneno de presas pequeñas.

Los efectos causados por la mordedura no pasan de producir sólo manifestaciones clínicas locales como inflamación, ardor, una ligera hemorragia (caso observado durante la investigación, Carlos A. Galvis 2005) y en ocasiones puede presentarse infección debido a que en la saliva de la especie se encuentran bacterias y/o sustancias que pueden ser las causantes de estos síntomas.



Las características clínicas de envenenamiento de serpientes son explicadas por las respuestas fisiológicas, debido a la acción directa de los diferentes componentes del veneno sobre el tejido o por efectos indirectos como la activación y la liberación de sustancias vaso activas endógenas; estos efectos clínicos se pueden dividir en locales y sistémicos. En los primeros encontramos la hemorragia, el edema, y la necrosis; y en los sistémicos se encuentran la hipotensión, el shock, las alteraciones de la hemostasia: como la falla renal, la hemorragia en órganos y la neurotoxicidad (Rangel, 1998). Además estos síntomas dependen de la respuesta inmunológica que presenta la persona que haya sido mordida, puesto que algunas personas resultan alérgicas a diferentes sustancias o toxinas.



6. CONCLUSIONES

- ❖ Las secreciones salivales de *E. bizona* y *L. ahaetulla* no presentan efecto neurotóxico sobre el PAC del nervio ciático de *Bufo marinus*.
- ❖ Cuando se compararon las curvas del PAC ninguna mostró comportamientos diferentes, observándose que la función excitatoria no se altera en los tres tratamientos, por lo que no se encontraron diferencias de las secreciones salivales de las dos especies, como tampoco difieren del nervio control.
- ❖ *Erythrolamprus bizona* y *Leptophis ahaetulla* no presentan ningún riesgo de importancia clínica para el hombre, solo se presentan manifestaciones locales.
- ❖ Las secreciones salivales de este grupo de serpientes no son neurotóxicas, esto no quiere decir que puedan causar algún efecto en otro sistema, lo que se podría afirmar o negar con futuras investigaciones.



7. RECOMENDACIONES

- ❖ Promover en nuestro país, más estudios relacionados con la toxínología relacionada a los colúbridos, y no aislarlo como un grupo menos importante.
- ❖ Apoyar este tipo de investigaciones, con el fin de obtener conocimiento y así proporcionar futuras soluciones biomédicas o farmacológicas.
- ❖ Proporcionar elementos de juicio que permita a la comunidad proteger este grupo de animales, los cuales no son perjudiciales para el hombre, por el contrario desempeñan un papel importante en el ecosistema.



BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA O, LEIVA LC, PEICHOTO ME, MARUNAK S, TEIBLER P, REY L. 2004. Hemorrhagic activity of the Duvernoy's gland secretion of the *xenodontine* colubrid *Philodryas patagoniensis* from the north - east region of Argentina. *Toxicon*. Jun;41(8):1007-12.

AIRD, S.D., W.G. Kruggel e I. I. Kaiser. 1991. "Multiple myotoxin sequences from the venom of a single prairie Rattlesnake (*Crotalus viridis viridis*)" *Toxicon*. 29 (2) : 265-268.

ASENCIO SANTOFIMIO Helberg. 2002. Efecto del veneno de *Dendrobates hitrioniucs* (Anura: Dendrobatide), sobre el potencial de acción compuesto del nervio ciático de *Bufo marinus* (Anura: Bufonia). Facultad de Ciencias. Universidad del Valle. Cali – Valle.

CAMPBELL & LAMAR. 2004. The Venoms Reptiles of the Western Hemisphere. Vol. 1. Comstock Public. Assoc.

CABRERA, T 1998. Evolución del aparato venenoso de las serpientes. Fieras, Alimañas y Sabandijas. Revista de Divulgación Zoológica. www.galeon.com/fierasysabandijas.

DANIEL W. Wayne. 1999. BIOESTADISTICA. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa S.A. de C.V. Grupo Noriega editores, Balderas 95, México, D.F. 393, 832, 833 pp.

FRY B.G, et al. 2003. Analysis of Colubroidea snake venoms by liquid chromatography with mass spectrometry: evolutionary and toxinological implications. *RCM, Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 17 (18): 2047 – 2062.

FRY B.G. & W. WÜSTER. 2004. Assembling an Arsenal: Origin and Evolution of the Snake Venom Proteome Inferred from Phylogenetic Analysis of Toxin Sequences. *Molecular Biology and Evolution* 21(5): 870-883.



GALVIS RIZO C. A. 2005. Evaluación de la respuesta funcional de placa motora de rata, a la exposición de veneno crudo de *Micrurus mipartitus* y el antiveneno específico (probiol). Facultad de Ciencias. Universidad del Valle. Cali – Valle.

GREENE H.W. 1997. Snakes the evolution of mystery in nature. University of California press. Berkeley. U.S.A. pp 75 – 95.

GREENE H.W. & D. CUNDALL. 2000. Limbless Tetrapods and Snakes with Legs. Science 287:1939-1941. Gutierrez J.M. & M. Sasa. 2002. Bites and Envenomations by Colubrid Snakes in Mexico and Central America. J. Toxicol.—Toxin Reviews 21(1&2):105–115.

GUTIERREZ J.M. & M. Sasa. 2002. Bites and Envenomations by Colubrid Snakes in Mexico and Central America. J. Toxicol.—Toxin Reviews 21(1&2):105–115.

INST. SEBASTIÁN VILAS. MORDEDURAS DE SERPIENTE. Parte 1: Tratamiento Pre - Hospitalario. http://www.cse.com.ar/articulos_serpientes1.asp.

KARDONG, K.V. Y P.A. Lavin-Murcio. 1993. "Venom delivery systems as high-pressure and low-pressure systems" *Copeia*, 3: 644-650.

KARDONG K. V. 1996. Snake Toxins and Venoms: An Evolutionary Perspective. Herpetological 52(1): 36-46.

KARDONG K.V. 2002. Colubrid Snakes and Duvernoy's "Venom" Glands J. Toxicon.—Toxin Reviews 21(1&2): 1–19.

KOCHVA, E., NAKAR, O., OVADIA, M; 1983 Venom toxins: plausible evolution from digestive enzymes. Amer. Zool 23: 427- 430

KOCHVA, E. 1987. "The origin of snakes and the evolution of the venom apparatus" *Toxicon*. 25 (1) : 65-106.



LEMOINE K. AND RODRÍGUEZ-ACOSTA A. 2003. Actividades hemorrágicas, proteolíticas y neurotóxicas producidas por la secreción de la glándula de Duvernoy de la falsa serpiente coral (*Erythrolamprus bizona* Jan 1863) (Serpentes: Colubridae). Universidad Central de Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIII, Nº 5, 371-377,

MATTISON C. 1995. The Encyclopedia of Snakes. Facts on Life, Inc. New York. 256 pp.

MOTULSKY H. M.D. 1995. Intuitive biostatistics. Department of pharmacology. University of California, San Diego and president. Graphpad software, inc New York. Oxford. Oxford University Press. (Cap. 10 (93 – 101), 13 (118 & 261)).

OCHS, S. 1965. Elements of Neurphysiology. John Wiley & Sons, inc. New York, NY.

PATTON, H.D. 1960. Special Properties of Nerve Trunks and Tracts. In Ruch, T. and Fulton, J.F. Ediitors, Medical Physiology and Biophysics, pages 66 – 95. W.B. Saunders Company Philadelphia, P.A.

PEICHOTO ME, ACOSTA O, LEIVA L, TEIBLER P, MARUNAK S, RUIZ R. 2004. Muscle and skin necrotizing and edema-forming activities of Duvernoy's gland secretion of the *xenodontine* colubrid snake *Philodryas patagoniensis* from the north-east of Argentina. Toxicon. Nov;44(6):589-96.

PEREZ, SANTOS C. & MORENO A. G. 1988. Ofidios de Colombia. Museo Regionale di Scienze Naturali. Monografía VI. Torino.

POUGH, F.H. 1983 "Feeding mechanisms, body size, and the ecology and evolution of snakes" *Amer. Zool.* 23 : 339-342.

POUGH, F.H. et al. 1996. "Vertebrate life" Prentice Hall. New Jersey. 798 pp.



RANGEL N. V. 1998. Patogénesis de los efectos sistémicos de los venenos de serpientes. Investigadora programa de ofidismo. Universidad de Antioquia - Medellín.

RUCH, T.C. PATTON, H.D., WOODBURY, J.W., and TOWE, A.L. 1965. Neurophysiology. W.B. Saunders Company Philadelphia, P.A.

VIDAL N. 2002. Colubroid Systematics: Evidence for an Early Appearance of the Venom Apparatus Followed by Extensive Evolutionary Tinkering. J Toxicon Toxin Rev 21:21–41.

www.revistaunam.mx/vol1/num3. Dentición opistiglifa (Figura 1).

www.bio.davidson.edu/leptophis.htm. *Leptophis ahaetulla* . (Figura 5).

www.sierradebaza.org/fichasfaunas. *Bufo marinus*.



ANEXOS

Anexo A. Datos originales normalizados, de la medición de los PAC de cada nervio con cada uno de los tratamiento.

Tiempo	Control				<i>Erythrolamprus bizona</i>				<i>Leptophis ahaetulla</i>			
1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	86,66667	100	100	100	81,81818	100	100	100	100	100	100	100
3	86,66667	100	100	100	90,90909	100	100	100	100	100	100	100
4	86,66667	100	72	100	90,90909	100	100	100	100	100	100	100
5	86,66667	100	84	100	90,90909	100	98,50746	100	95,34884	100	100	100
6	86,66667	100	88	100	90,90909	100	98,50746	100	97,67442	100	100	100
7	86,66667	100	82	100	81,81818	100	98,50746	100	95,34884	100	100	100
8	86,66667	84,44444	80	100	72,72727	100	98,50746	100	100	100	100	100
9	86,66667	80	78	100	81,81818	100	94,02985	100	97,67442	100	100	100
10	86,66667	73,33333	80	95,45455	72,72727	100	95,52239	100	93,02326	100	100	100
11	86,66667	68,88889	68	95,45455	72,72727	100	95,52239	100	95,34884	100	100	100
12	93,33333	66,66667	68	95,45455	72,72727	100	92,53731	100	93,02326	100	100	100
13	86,66667	64,44444	68	95,45455	72,72727	100	88,0597	100	90,69767	100	100	100
14	93,33333	57,77778	64	90,90909	72,72727	100	92,53731	100	95,34884	97,65625	100	100
15	93,33333	57,77778	62	90,90909	72,72727	100	86,56716	90,90909	8,837209	97,65625	100	100
16	93,33333	57,77778	60	90,90909	72,72727	100	88,0597	90,90909	93,02326	97,65625	100	100
17	93,33333	52,22222	52	90,90909	68,18182	100	91,04478	90,90909	88,37209	97,65625	100	100
18	93,33333	51,11111	56	90,90909	72,72727	100	89,55224	90,90909	90,69767	93,75	100	100
19	93,33333	48,88889	56	90,90909	95,45455	100	91,04478	90,90909	55,81395	70,3125	100	100
20	93,33333	46,66667	52	81,81818	86,36364	100	89,55224	86,36364	53,48837	70,3125	100	100
21	93,33333	44,44444	52	86,36364	95,45455	100	85,07463	86,36364	53,48837	66,40625	100	100
22	93,33333	44,44444	44	81,81818	95,45455	100	85,07463	81,81818	51,16279	66,40625	100	77,41935



23	93,33333	42,22222	46	81,81818	95,45455	100	83,58209	81,81818	46,51163	70,3125	100	77,41935
24	93,33333	42,22222	48	81,81818	90,90909	100	61,19403	86,36364	46,51163	62,5	100	77,41935
25	100	41,11111	46	81,81818	95,45455	100	70,14925	81,81818	46,51163	62,5	100	77,41935
26	100	41,11111	44	77,27273	90,90909	100	70,14925	86,36364	46,51163	62,5	100	77,41935
27	100	38,88889	40	72,72727	90,90909	100	68,65672	90,90909	46,51163	62,5	100	77,41935
28	100	36,66667	36	81,81818	95,45455	100	70,14925	81,81818	46,51163	54,6875	100	77,41935
29	100	36,66667	36	81,81818	95,45455	97,5	71,64179	81,81818	46,51163	62,5	100	77,41935
30	100	36,66667	36	72,72727	90,90909	95	70,14925	81,81818	46,51163	62,5	100	77,41935
31	93,33333	35,55556	32	72,72727	90,90909	100	74,62687	81,81818	46,51163	55,46875	100	77,41935
32	93,33333	34,44444	32	72,72727	95,45455	97,5	71,64179	81,81818	41,86047	54,6875	100	77,41935
33	100	35,55556	32	72,72727	95,45455	92,5	74,62687	81,81818	46,51163	54,6875	100	77,41935
34	100	34,44444	32	72,72727	95,45455	97,5	76,1194	81,81818	41,86047	54,6875	91,52542	77,41935
35	100	32,22222	32	72,72727	90,90909	92,5	73,13433	81,81818	41,86047	58,59375	91,52542	77,41935
36	100	33,33333	32	72,72727	95,45455	92,5	76,1194	81,81818	46,51163	54,6875	94,91525	77,41935
37	100	33,33333	32	72,72727	90,90909	95	76,1194	81,81818	41,86047	54,6875	91,52542	77,41935
38	100	32,22222	36	72,72727	95,45455	92,5	73,13433	81,81818	41,86047	54,6875	91,52542	77,41935
39	100	33,33333	32	68,18182	90,90909	95	77,61194	81,81818	46,51163	54,6875	91,52542	77,41935
40	100	33,33333	28	68,18182	95,45455	97,5	77,61194	81,81818	41,86047	54,6875	91,52542	74,19355
41	100	31,11111	32	72,72727	100	92,5	77,61194	81,81818	46,51163	54,6875	91,52542	74,19355
42	100	31,11111	32	63,63636	95,45455	92,5	73,13433	81,81818	46,51163	50,78125	88,13559	74,19355
43	100	31,11111	32	77,27273	95,45455	95	74,62687	81,81818	46,51163	50,78125	84,74576	74,19355
44	100	31,11111	28	63,63636	95,45455	95	74,62687	81,81818	46,51163	54,6875	88,13559	74,19355
45	100	28,88889	26	63,63636	95,45456	95	74,62687	81,81818	46,51163	54,6875	88,13559	74,19355
46	100	26,66667	28	68,18182	95,45455	95	73,13433	81,81818	44,18605	54,6875	84,74576	72,58065
47	100	28,88889	28	63,63636	95,45455	95	74,62687	81,81818	44,18605	54,6875	84,74576	77,41935
48	100	25,55556	24	63,63636	95,45455	97,5	71,64179	81,81818	44,18605	50,78125	84,74576	70,96774
49	100	26,66667	28	63,63636	95,45455	92,5	68,65672	77,27273	44,18605	50,78125	84,13559	74,19355



50	100	26,66667	28	59,09091	95,45455	97,5	68,65672	77,27273	44,18605	50,78125	84,74576	74,19355
51	100	24,44444	28	59,0909	95,45455	97,5	71,64179	72,72727	44,18605	50,78125	84,74576	74,19355
52	100	22,22222	28	63,63636	100	97,5	70,14925	72,72727	46,51163	54,6875	81,35593	74,19355
53	100	22,22222	28	59,09091	100	97,5	68,65672	72,72727	44,18605	50,78125	81,35593	74,19355
54	100	22,22222	28	59,09091	100	95	73,13433	72,72727	44,18605	46,875	81,35593	74,19355
55	66,6667	20	28	59,09091	95,45455	95	70,14925	77,27273	44,18605	46,875	81,35593	74,19355
56	73,3333	20	28	59,09091	100	97,5	73,13433	77,27273	44,18605	46,875	77,9661	74,19355
57	80	18,88889	24	59,09091	100	97,5	73,13433	77,27273	44,18605	50,78125	71,18644	74,19355
58	93,33333	18,88889	28	59,09091	95,45455	97,5	71,64179	77,27273	44,18605	46,875	71,18644	74,19355
59	100	17,77778	32	54,54545	100	97,5	71,64179	77,27273	46,51163	50,78125	71,18644	72,58065
60	93,33333	17,77778	28	59,09091	100	100	70,14925	72,72727	44,18605	46,875	67,79661	74,19355
61	93,33333	17,77778	28	59,09091	100	97,5	71,64179	72,72727	46,51163	46,875	67,79661	75,80645
62	93,33333	17,77778	32	59,09091	100	100	73,13433	72,72727	44,18605	46,875	67,79661	74,19355
63	100	17,77778	28	54,54545	100	100	71,64179	72,72727	46,51163	46,875	61,01695	70,96774
64	100	16,66667	28	54,54545	100	100	73,13433	72,72727	44,18605	46,875	61,01695	70,96774
65	93,33333	14,44444	28	54,54545	100	100	71,64179	72,72727	44,18606	46,875	61,01695	74,19355
66	100	14,44444	24	54,54545	100	100	67,16418	77,27273	46,51163	46,875	61,01695	74,19355
67	100	15,55556	24	54,54545	100	100	67,16418	72,72727	44,18605	46,875	61,01695	74,19355
68	100	14,44444	24	50	100	100	68,65672	77,27273	46,51163	46,875	61,01695	70,96774
69	93,33333	12,22222	24	54,54545	100	100	71,64179	72,72727	46,51163	50,78125	61,01695	70,96774
70	93,33333	12,22222	20	50	100	100	67,16418	77,27273	46,51163	46,875	54,23729	70,96774



Anexo B. Interacción Tratamiento – Tratamiento (secreciones salivales - control) y Tiempo-
Tratamiento.

Control vs. *Erythrolamprus bizona*

Tiempo / Tratamientos	Control	<i>Erythrolamprus bizona</i>	Difference	95% CI of diff.
1	100	100	0	-615.6 to 615.6
2	96,67	95,45	-1,212	-616.9 to 614.4
3	96,67	97,73	1,061	-614.6 to 616.7
4	89,67	97,73	8,061	-607.6 to 623.7
5	92,67	97,35	4,687	-611.0 to 620.3
6	93,67	97,35	3,687	-612.0 to 619.3
7	92,17	95,08	2,915	-612.7 to 618.6
8	87,78	92,81	5,031	-610.6 to 620.7
9	86,17	93,96	7,795	-607.8 to 623.4
10	83,86	92,06	8,199	-607.4 to 623.8
11	79,75	92,06	12,31	-603.3 to 628.0
12	80,86	91,32	10,45	-605.2 to 626.1
13	78,64	90,2	11,56	-604.1 to 627.2
14	76,51	91,32	14,81	-600.8 to 630.5
15	76,01	87,55	11,55	-604.1 to 627.2
16	75,51	87,92	12,42	-603.2 to 628.1
17	72,12	87,53	15,42	-600.2 to 631.1
18	72,84	88,3	15,46	-600.2 to 631.1
19	72,28	94,35	22,07	-593.6 to 637.7
20	68,45	90,57	22,12	-593.5 to 637.8
21	69,04	91,72	22,69	-593.0 to 638.3
22	65,9	90,59	24,69	-591.0 to 640.3
23	65,84	90,21	24,37	-591.3 to 640.0
24	66,34	84,62	18,27	-597.4 to 633.9
25	67,23	86,86	19,62	-596.0 to 635.3
26	65,6	86,86	21,26	-594.4 to 636.9
27	62,9	87,62	24,71	-590.9 to 640.4
28	63,62	86,86	23,23	-592.4 to 638.9
29	63,62	86,6	22,98	-592.7 to 638.6
30	61,35	84,47	23,12	-592.5 to 638.8
31	58,4	86,84	28,43	-587.2 to 644.1
32	58,13	86,6	28,48	-587.2 to 644.1
33	60,07	86,1	26,03	-589.6 to 641.7
34	59,79	87,72	27,93	-587.7 to 643.6
35	59,24	84,59	25,35	-590.3 to 641.0
36	59,52	86,47	26,96	-588.7 to 642.6
37	59,52	85,96	26,45	-589.2 to 642.1



38	60,24	85,73	25,49	-590.2 to 641.1
39	58,38	86,33	27,96	-587.7 to 643.6
40	57,38	88,1	30,72	-584.9 to 646.4
41	58,96	87,98	29,02	-586.6 to 644.7
42	56,69	85,73	29,04	-586.6 to 644.7
43	60,1	86,72	26,63	-589.0 to 642.3
44	55,69	86,72	31,04	-584.6 to 646.7
45	54,63	86,72	32,09	-583.5 to 647.7
46	55,71	86,35	30,64	-585.0 to 646.3
47	55,13	86,72	31,59	-584.0 to 647.2
48	53,3	86,6	33,31	-582.3 to 648.9
49	54,58	83,47	28,9	-586.7 to 644.5
50	53,44	84,72	31,28	-584.4 to 646.9
51	52,88	84,33	31,45	-584.2 to 647.1
52	53,46	85,09	31,63	-584.0 to 647.3
53	52,33	84,72	32,39	-583.2 to 648.0
54	52,33	85,22	32,89	-582.8 to 648.5
55	43,44	84,47	41,03	-574.6 to 656.7
56	45,11	86,98	41,87	-573.8 to 657.5
57	45,49	86,98	41,48	-574.2 to 657.1
58	49,83	85,47	35,64	-580.0 to 651.3
59	51,08	86,6	35,52	-580.1 to 651.2
60	49,55	85,72	36,17	-579.5 to 651.8
61	49,55	85,47	35,92	-579.7 to 651.6
62	50,55	86,47	35,91	-579.7 to 651.6
63	50,08	86,09	36,01	-579.6 to 651.7
64	49,8	86,47	36,66	-579.0 to 652.3
65	47,58	86,09	38,51	-577.1 to 654.2
66	48,25	86,11	37,86	-577.8 to 653.5
67	48,53	84,97	36,45	-579.2 to 652.1
68	47,11	86,48	39,37	-576.3 to 655.0
69	46,03	86,09	40,07	-575.6 to 655.7
70	43,89	86,11	42,22	-573.4 to 657.9
Tiempo				
Tratamientos	Diferencia	t	Valor de P	Resumen
1	0	0	P > 0.05	ns
2	-1,212	0,01156	P > 0.05	ns
3	1,061	0,01011	P > 0.05	ns
4	8,061	0,07684	P > 0.05	ns
5	4,687	0,04469	P > 0.05	ns
6	3,687	0,03515	P > 0.05	ns
7	2,915	0,02779	P > 0.05	ns
8	5,031	0,04796	P > 0.05	ns
9	7,795	0,07431	P > 0.05	ns
10	8,199	0,07816	P > 0.05	ns



11	12,31	0,1173	P > 0.05	ns
12	10,45	0,09964	P > 0.05	ns
13	11,56	0,1102	P > 0.05	ns
14	14,81	0,1412	P > 0.05	ns
15	11,55	0,1101	P > 0.05	ns
16	12,42	0,1184	P > 0.05	ns
17	15,42	0,147	P > 0.05	ns
18	15,46	0,1474	P > 0.05	ns
19	22,07	0,2104	P > 0.05	ns
20	22,12	0,2108	P > 0.05	ns
21	22,69	0,2163	P > 0.05	ns
22	24,69	0,2353	P > 0.05	ns
23	24,37	0,2323	P > 0.05	ns
24	18,27	0,1742	P > 0.05	ns
25	19,62	0,1871	P > 0.05	ns
26	21,26	0,2027	P > 0.05	ns
27	24,71	0,2356	P > 0.05	ns
28	23,23	0,2215	P > 0.05	ns
29	22,98	0,2191	P > 0.05	ns
30	23,12	0,2204	P > 0.05	ns
31	28,43	0,2711	P > 0.05	ns
32	28,48	0,2715	P > 0.05	ns
33	26,03	0,2481	P > 0.05	ns
34	27,93	0,2663	P > 0.05	ns
35	25,35	0,2417	P > 0.05	ns
36	26,96	0,257	P > 0.05	ns
37	26,45	0,2521	P > 0.05	ns
38	25,49	0,243	P > 0.05	ns
39	27,96	0,2665	P > 0.05	ns
40	30,72	0,2928	P > 0.05	ns
41	29,02	0,2767	P > 0.05	ns
42	29,04	0,2768	P > 0.05	ns
43	26,63	0,2539	P > 0.05	ns
44	31,04	0,2959	P > 0.05	ns
45	32,09	0,3059	P > 0.05	ns
46	30,64	0,2921	P > 0.05	ns
47	31,59	0,3012	P > 0.05	ns
48	33,31	0,3175	P > 0.05	ns
49	28,9	0,2755	P > 0.05	ns
50	31,28	0,2982	P > 0.05	ns
51	31,45	0,2998	P > 0.05	ns
52	31,63	0,3015	P > 0.05	ns
53	32,39	0,3088	P > 0.05	ns
54	32,89	0,3135	P > 0.05	ns
55	41,03	0,3911	P > 0.05	ns
56	41,87	0,3992	P > 0.05	ns
57	41,48	0,3954	P > 0.05	ns



58	35,64	0,3397	P > 0.05	ns
59	35,52	0,3386	P > 0.05	ns
60	36,17	0,3448	P > 0.05	ns
61	35,92	0,3424	P > 0.05	ns
62	35,91	0,3424	P > 0.05	ns
63	36,01	0,3433	P > 0.05	ns
64	36,66	0,3495	P > 0.05	ns
65	38,51	0,3671	P > 0.05	ns
66	37,86	0,3609	P > 0.05	ns
67	36,45	0,3475	P > 0.05	ns
68	39,37	0,3753	P > 0.05	ns
69	40,07	0,382	P > 0.05	ns
70	42,22	0,4025	P > 0.05	ns

Control vs *Leptophis ahaetulla*

Tiempo	Control	<i>Leptophis ahaetulla</i>	Difference	95% CI of diff.
Tratamientos				
1	100	100	0	-615.6 to 615.6
2	96,67	100	3,333	-612.3 to 619.0
3	96,67	100	3,333	-612.3 to 619.0
4	89,67	100	10,33	-605.3 to 626.0
5	92,67	98,84	6,171	-609.5 to 621.8
6	93,67	99,42	5,752	-609.9 to 621.4
7	92,17	98,84	6,671	-609.0 to 622.3
8	87,78	100	12,22	-603.4 to 627.9
9	86,17	99,42	13,25	-602.4 to 628.9
10	83,86	98,26	14,39	-601.3 to 630.0
11	79,75	98,84	19,08	-596.6 to 634.7
12	80,86	98,26	17,39	-598.3 to 633.0
13	78,64	97,67	19,03	-596.6 to 634.7
14	76,51	98,25	21,75	-593.9 to 637.4
15	76,01	76,62	0,6183	-615.0 to 616.3
16	75,51	97,67	22,16	-593.5 to 637.8
17	72,12	96,51	24,39	-591.3 to 640.0
18	72,84	96,11	23,27	-592.4 to 638.9
19	72,28	81,53	9,249	-606.4 to 624.9
20	68,45	80,95	12,5	-603.1 to 628.1
21	69,04	79,97	10,94	-604.7 to 626.6
22	65,9	73,75	7,848	-607.8 to 623.5
23	65,84	73,56	7,717	-607.9 to 623.4
24	66,34	71,61	5,264	-610.4 to 620.9
25	67,23	71,61	4,375	-611.3 to 620.0
26	65,6	71,61	6,012	-609.6 to 621.7
27	62,9	71,61	8,704	-606.9 to 624.3
28	63,62	69,65	6,033	-609.6 to 621.7
29	63,62	71,61	7,987	-607.7 to 623.6



30	61,35	71,61	10,26	-605.4 to 625.9
31	58,4	69,85	11,45	-604.2 to 627.1
32	58,13	68,49	10,37	-605.3 to 626.0
33	60,07	69,65	9,584	-606.1 to 625.2
34	59,79	66,37	6,58	-609.1 to 622.2
35	59,24	67,35	8,112	-607.5 to 623.8
36	59,52	68,38	8,868	-606.8 to 624.5
37	59,52	66,37	6,858	-608.8 to 622.5
38	60,24	66,37	6,136	-609.5 to 621.8
39	58,38	67,54	9,157	-606.5 to 624.8
40	57,38	65,57	8,188	-607.5 to 623.8
41	58,96	66,73	7,77	-607.9 to 623.4
42	56,69	64,91	8,219	-607.4 to 623.9
43	60,1	64,06	3,962	-611.7 to 619.6
44	55,69	65,88	10,2	-605.4 to 625.8
45	54,63	65,88	11,25	-604.4 to 626.9
46	55,71	64,05	8,338	-607.3 to 624.0
47	55,13	65,26	10,13	-605.5 to 625.8
48	53,3	62,67	9,372	-606.3 to 625.0
49	54,58	63,32	8,748	-606.9 to 624.4
50	53,44	63,48	10,04	-605.6 to 625.7
51	52,88	63,48	10,59	-605.0 to 626.2
52	53,46	64,19	10,72	-604.9 to 626.4
53	52,33	62,63	10,3	-605.3 to 625.9
54	52,33	61,65	9,324	-606.3 to 625.0
55	43,44	61,65	18,21	-597.4 to 633.9
56	45,11	60,81	15,7	-599.9 to 631.3
57	45,49	60,09	14,59	-601.1 to 630.2
58	49,83	59,11	9,282	-606.4 to 624.9
59	51,08	60,26	9,184	-606.5 to 624.8
60	49,55	58,26	8,712	-606.9 to 624.4
61	49,55	59,25	9,697	-605.9 to 625.3
62	50,55	58,26	7,712	-607.9 to 623.4
63	50,08	56,34	6,262	-609.4 to 621.9
64	49,8	55,76	5,958	-609.7 to 621.6
65	47,58	56,57	8,987	-606.7 to 624.6
66	48,25	57,15	8,902	-606.7 to 624.5
67	48,53	56,57	8,043	-607.6 to 623.7
68	47,11	56,34	9,232	-606.4 to 624.9
69	46,03	57,32	11,29	-604.3 to 626.9
70	43,89	54,65	10,76	-604.9 to 626.4
Tiempo				
	Diferencia	t	Valor de P	Resumen
Tratamientos				
1	0	0	P > 0.05	ns
2	3,333	0,03178	P > 0.05	ns



3	3,333	0,03178	P > 0.05	ns
4	10,33	0,09851	P > 0.05	ns
5	6,171	0,05882	P > 0.05	ns
6	5,752	0,05483	P > 0.05	ns
7	6,671	0,06359	P > 0.05	ns
8	12,22	0,1165	P > 0.05	ns
9	13,25	0,1263	P > 0.05	ns
10	14,39	0,1372	P > 0.05	ns
11	19,08	0,1819	P > 0.05	ns
12	17,39	0,1658	P > 0.05	ns
13	19,03	0,1814	P > 0.05	ns
14	21,75	0,2073	P > 0.05	ns
15	0,6183	0,005894	P > 0.05	ns
16	22,16	0,2113	P > 0.05	ns
17	24,39	0,2325	P > 0.05	ns
18	23,27	0,2219	P > 0.05	ns
19	9,249	0,08817	P > 0.05	ns
20	12,5	0,1191	P > 0.05	ns
21	10,94	0,1043	P > 0.05	ns
22	7,848	0,07482	P > 0.05	ns
23	7,717	0,07357	P > 0.05	ns
24	5,264	0,05018	P > 0.05	ns
25	4,375	0,04171	P > 0.05	ns
26	6,012	0,05731	P > 0.05	ns
27	8,704	0,08297	P > 0.05	ns
28	6,033	0,05752	P > 0.05	ns
29	7,987	0,07614	P > 0.05	ns
30	10,26	0,0978	P > 0.05	ns
31	11,45	0,1091	P > 0.05	ns
32	10,37	0,09881	P > 0.05	ns
33	9,584	0,09136	P > 0.05	ns
34	6,58	0,06273	P > 0.05	ns
35	8,112	0,07733	P > 0.05	ns
36	8,868	0,08454	P > 0.05	ns
37	6,858	0,06538	P > 0.05	ns
38	6,136	0,05849	P > 0.05	ns
39	9,157	0,08729	P > 0.05	ns
40	8,188	0,07806	P > 0.05	ns
41	7,77	0,07407	P > 0.05	ns
42	8,219	0,07835	P > 0.05	ns
43	3,962	0,03777	P > 0.05	ns
44	10,2	0,09719	P > 0.05	ns
45	11,25	0,1073	P > 0.05	ns
46	8,338	0,07948	P > 0.05	ns
47	10,13	0,09655	P > 0.05	ns
48	9,372	0,08934	P > 0.05	ns
49	8,748	0,0834	P > 0.05	ns



50	10,04	0,09568	P > 0.05	ns
51	10,59	0,101	P > 0.05	ns
52	10,72	0,1022	P > 0.05	ns
53	10,3	0,0982	P > 0.05	ns
54	9,324	0,08889	P > 0.05	ns
55	18,21	0,1736	P > 0.05	ns
56	15,7	0,1497	P > 0.05	ns
57	14,59	0,1391	P > 0.05	ns
58	9,282	0,08848	P > 0.05	ns
59	9,184	0,08755	P > 0.05	ns
60	8,712	0,08305	P > 0.05	ns
61	9,697	0,09244	P > 0.05	ns
62	7,712	0,07352	P > 0.05	ns
63	6,262	0,0597	P > 0.05	ns
64	5,958	0,0568	P > 0.05	ns
65	8,987	0,08567	P > 0.05	ns
66	8,902	0,08486	P > 0.05	ns
67	8,043	0,07667	P > 0.05	ns
68	9,232	0,08801	P > 0.05	ns
69	11,29	0,1077	P > 0.05	ns
70	10,76	0,1026	P > 0.05	ns

Erythrolamprus bizona vs. *Leptophis ahaetulla*

Tiempo	<i>Erythrolamprus bizona</i>	<i>Leptophis ahaetulla</i>	Difference	95% CI of diff.
Tratamientos				
1	100	100	0	-615.6 to 615.6
2	95,45	100	4,545	-611.1 to 620.2
3	97,73	100	2,273	-613.4 to 617.9
4	97,73	100	2,273	-613.4 to 617.9
5	97,35	98,84	1,483	-614.2 to 617.1
6	97,35	99,42	2,064	-613.6 to 617.7
7	95,08	98,84	3,756	-611.9 to 619.4
8	92,81	100	7,191	-608.5 to 622.8
9	93,96	99,42	5,457	-610.2 to 621.1
10	92,06	98,26	6,193	-609.4 to 621.8
11	92,06	98,84	6,775	-608.9 to 622.4
12	91,32	98,26	6,94	-608.7 to 622.6
13	90,2	97,67	7,478	-608.2 to 623.1
14	91,32	98,25	6,935	-608.7 to 622.6
15	87,55	76,62	-10,93	-626.6 to 604.7
16	87,92	97,67	9,746	-605.9 to 625.4
17	87,53	96,51	8,973	-606.7 to 624.6
18	88,3	96,11	7,815	-607.8 to 623.5
19	94,35	81,53	-12,82	-628.5 to 602.8
20	90,57	80,95	-9,62	-625.3 to 606.0
21	91,72	79,97	-11,75	-627.4 to 603.9



22	90,59	73,75	-16,84	-632.5 to 598.8
23	90,21	73,56	-16,65	-632.3 to 599.0
24	84,62	71,61	-13,01	-628.7 to 602.6
25	86,86	71,61	-15,25	-630.9 to 600.4
26	86,86	71,61	-15,25	-630.9 to 600.4
27	87,62	71,61	-16,01	-631.7 to 599.6
28	86,86	69,65	-17,2	-632.8 to 598.4
29	86,6	71,61	-15	-630.6 to 600.6
30	84,47	71,61	-12,86	-628.5 to 602.8
31	86,84	69,85	-16,99	-632.6 to 598.7
32	86,6	68,49	-18,11	-633.8 to 597.5
33	86,1	69,65	-16,45	-632.1 to 599.2
34	87,72	66,37	-21,35	-637.0 to 594.3
35	84,59	67,35	-17,24	-632.9 to 598.4
36	86,47	68,38	-18,09	-633.7 to 597.6
37	85,96	66,37	-19,59	-635.2 to 596.1
38	85,73	66,37	-19,35	-635.0 to 596.3
39	86,33	67,54	-18,8	-634.4 to 596.8
40	88,1	65,57	-22,53	-638.2 to 593.1
41	87,98	66,73	-21,25	-636.9 to 594.4
42	85,73	64,91	-20,82	-636.5 to 594.8
43	86,72	64,06	-22,67	-638.3 to 593.0
44	86,72	65,88	-20,84	-636.5 to 594.8
45	86,72	65,88	-20,84	-636.5 to 594.8
46	86,35	64,05	-22,3	-637.9 to 593.3
47	86,72	65,26	-21,47	-637.1 to 594.2
48	86,6	62,67	-23,93	-639.6 to 591.7
49	83,47	63,32	-20,15	-635.8 to 595.5
50	84,72	63,48	-21,24	-636.9 to 594.4
51	84,33	63,48	-20,85	-636.5 to 594.8
52	85,09	64,19	-20,91	-636.5 to 594.7
53	84,72	62,63	-22,09	-637.7 to 593.6
54	85,22	61,65	-23,56	-639.2 to 592.1
55	84,47	61,65	-22,82	-638.5 to 592.8
56	86,98	60,81	-26,17	-641.8 to 589.5
57	86,98	60,09	-26,89	-642.5 to 588.8
58	85,47	59,11	-26,36	-642.0 to 589.3
59	86,6	60,26	-26,34	-642.0 to 589.3
60	85,72	58,26	-27,46	-643.1 to 588.2
61	85,47	59,25	-26,22	-641.9 to 589.4
62	86,47	58,26	-28,2	-643.8 to 587.4
63	86,09	56,34	-29,75	-645.4 to 585.9
64	86,47	55,76	-30,7	-646.3 to 584.9
65	86,09	56,57	-29,52	-645.2 to 586.1
66	86,11	57,15	-28,96	-644.6 to 586.7
67	84,97	56,57	-28,4	-644.0 to 587.2
68	86,48	56,34	-30,14	-645.8 to 585.5



69	86,09	57,32	-28,77	-644.4 to 586.9
70	86,11	54,65	-31,46	-647.1 to 584.2
Tiempo				
Tratamientos	Diferencia	t	Valor de P	Resumen
1	0	0	P > 0.05	ns
2	4,545	0,04333	P > 0.05	ns
3	2,273	0,02167	P > 0.05	ns
4	2,273	0,02167	P > 0.05	ns
5	1,483	0,01414	P > 0.05	ns
6	2,064	0,01968	P > 0.05	ns
7	3,756	0,0358	P > 0.05	ns
8	7,191	0,06855	P > 0.05	ns
9	5,457	0,05202	P > 0.05	ns
10	6,193	0,05904	P > 0.05	ns
11	6,775	0,06458	P > 0.05	ns
12	6,94	0,06616	P > 0.05	ns
13	7,478	0,07128	P > 0.05	ns
14	6,935	0,06611	P > 0.05	ns
15	-10,93	0,1042	P > 0.05	ns
16	9,746	0,09291	P > 0.05	ns
17	8,973	0,08554	P > 0.05	ns
18	7,815	0,0745	P > 0.05	ns
19	-12,82	0,1222	P > 0.05	ns
20	-9,62	0,0917	P > 0.05	ns
21	-11,75	0,112	P > 0.05	ns
22	-16,84	0,1605	P > 0.05	ns
23	-16,65	0,1588	P > 0.05	ns
24	-13,01	0,124	P > 0.05	ns
25	-15,25	0,1454	P > 0.05	ns
26	-15,25	0,1454	P > 0.05	ns
27	-16,01	0,1526	P > 0.05	ns
28	-17,2	0,164	P > 0.05	ns
29	-15	0,143	P > 0.05	ns
30	-12,86	0,1226	P > 0.05	ns
31	-16,99	0,162	P > 0.05	ns
32	-18,11	0,1727	P > 0.05	ns
33	-16,45	0,1568	P > 0.05	ns
34	-21,35	0,2035	P > 0.05	ns
35	-17,24	0,1644	P > 0.05	ns
36	-18,09	0,1724	P > 0.05	ns
37	-19,59	0,1867	P > 0.05	ns
38	-19,35	0,1845	P > 0.05	ns
39	-18,8	0,1792	P > 0.05	ns
40	-22,53	0,2148	P > 0.05	ns
41	-21,25	0,2026	P > 0.05	ns
42	-20,82	0,1985	P > 0.05	ns



43	-22,67	0,2161	P > 0.05	ns
44	-20,84	0,1987	P > 0.05	ns
45	-20,84	0,1987	P > 0.05	ns
46	-22,3	0,2126	P > 0.05	ns
47	-21,47	0,2046	P > 0.05	ns
48	-23,93	0,2282	P > 0.05	ns
49	-20,15	0,1921	P > 0.05	ns
50	-21,24	0,2025	P > 0.05	ns
51	-20,85	0,1988	P > 0.05	ns
52	-20,91	0,1993	P > 0.05	ns
53	-22,09	0,2106	P > 0.05	ns
54	-23,56	0,2246	P > 0.05	ns
55	-22,82	0,2175	P > 0.05	ns
56	-26,17	0,2495	P > 0.05	ns
57	-26,89	0,2563	P > 0.05	ns
58	-26,36	0,2513	P > 0.05	ns
59	-26,34	0,2511	P > 0.05	ns
60	-27,46	0,2617	P > 0.05	ns
61	-26,22	0,25	P > 0.05	ns
62	-28,2	0,2689	P > 0.05	ns
63	-29,75	0,2836	P > 0.05	ns
64	-30,7	0,2927	P > 0.05	ns
65	-29,52	0,2815	P > 0.05	ns
66	-28,96	0,2761	P > 0.05	ns
67	-28,4	0,2708	P > 0.05	ns
68	-30,14	0,2873	P > 0.05	ns
69	-28,77	0,2743	P > 0.05	ns
70	-31,46	0,2999	P > 0.05	ns