

# ESTIMACIÓN DE RIESGOS APLICADA A UNA POBLACIÓN DE SERPIENTES DE CASCABEL (*CROTALUS AQUILUS*) EXPUESTA A METALES DE INTERÉS TOXICOLÓGICO EN LA COMARCA MINERA, HIDALGO, MÉXICO

RISK ESTIMATION APPLIED TO A POPULATION OF RATTLESNAKES (*CROTALUS AQUILUS*) EXPOSED TO METALS OF TOXICOLOGICAL INTEREST IN THE MINING REGION, HIDALGO, MEXICO

Arnold Ibarra-Bautista<sup>1</sup>, Juan Carlos Gaytán-Oyarzún<sup>\*</sup>, Leonardo Fernández-Badillo<sup>1</sup>, Griselda Pulido-Flores<sup>1</sup>, Maritza López-Herrera<sup>1</sup> & Gabriela Marisol Vázquez-Cuevas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Carboneras, 42184 Pachuca de Soto, Hidalgo, México.

\*Correspondencia: [jcgaytan@uaeh.edu.mx](mailto:jcgaytan@uaeh.edu.mx)

Received: 2023-08-25. Accepted: 2024-03-21. Published: 2024-05-22.

Editor: Itzcoatl Maldonado Reséndiz, México.

**Abstract.**— Snakes, in general, are organisms that are especially vulnerable to contamination by Metals of Toxicological Interest (MTI), since they have a series of their own characteristics that make them prone to bioaccumulation and biomagnification of contaminants. However, their inclusion in toxicological studies is still scarce. On the other hand, the soils of the Mining Region, Hidalgo, may present MTI contamination due to its long history of mineral extraction, a situation that may compromise the health of the area's ecosystems along with its biota. Given the previous knowledge of a population of *Crotalus aquilus* distributed within the Pachuca-Actopan mining region, the present evaluation characterized the area of interest and the presence of the species. The hazard was characterized by determining the presence of MTI associated with mining processes in the area (Cd, Pb and Hg). Subsequently, the magnitude of the ecological risk was determined using the environmental hazard quotient (CF), the ecological risk index (ER) and the cumulative ecological risk index (RI). Similarly, the risk of effective exposure of the *C. aquilus* population was estimated using the indirect dietary exposure index (IED), the chronic intake index (CDI) and the health risk index (HQ).

**Keywords.**— Ecotoxicology, heavy metals, snakes, Viperidae.

**Resumen.**— Las serpientes, son organismos especialmente vulnerables a la contaminación por Metales de Interés Toxicológico (MIT), ya que poseen una serie de características que las hacen propensas a la bioacumulación y biomagnificación de los contaminantes. Sin embargo, su inclusión en trabajos toxicológicos sigue siendo escasa, lo que dificulta el entendimiento sobre las afecciones que estos contaminantes puedan tener sobre las poblaciones de estos animales. Por otro lado, los suelos de la Comarca Minera, Hidalgo, pueden presentar contaminación por MIT debido a su largo historial de extracción mineral, situación que puede comprometer la salud de los ecosistemas de la zona. Debido al conocimiento previo de una población de *Crotalus aquilus* distribuida dentro de la región minera Pachuca-Actopan, se aplicó la presente evaluación. Donde se caracterizó la zona de interés y se identificó la presencia de la especie en la misma. Se caracterizó el peligro determinando la presencia de los MIT asociados a procesos mineros en la zona (Cd, Pb y Hg). Posteriormente, se determinó la magnitud del riesgo ecológico mediante el cociente de peligro ambiental (CF), el índice de riesgo ecológico (ER) y el índice de riesgo ecológico acumulativo (RI). De igual forma, se estimó el riesgo de exposición de

la población de *C. aquilus* mediante el índice de exposición indirecta por la dieta (IED), el índice de ingesta crónica (CDI) el índice de exposición crónica (HQ), el índice acumulativo de exposición crónica.

**Palabras clave.**– Ecotoxicología, metales pesados, serpientes, Viperidae.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, la salud de los ecosistemas es un tema de interés mundial, pues diversas actividades humanas promueven la liberación de contaminantes en el ambiente, comprometiendo no solo la salud del mismo, sino también la salud pública (Mendoza-Vázquez et al., 2022). Los metales de interés toxicológico, también conocidos como MIT, son contaminantes ambientales de gran importancia debido a su elevada toxicidad, persistencia ambiental, biodisponibilidad, capacidad de bioacumularse e incluso de biomagnificarse a través de redes tróficas.

Estos elementos, aunque existen de manera natural en el ambiente y aun cuando algunos de estos son incorporados en cantidades traza como micronutrientes de algunos organismos, pueden llegar a acumularse en altos niveles, ocasionando intoxicaciones. El riesgo de intoxicación está determinado por la concentración y la biodisponibilidad de los MIT, dos factores que se ven directamente influenciados por acciones antropogénicas de tipo industrial como la minería (Horne & Dunson, 1995). La Comarca Minera, es una de las 10 regiones geoculturales del estado de Hidalgo; comprende los municipios de Atotonilco el Grande, Huasca de Ocampo, Mineral del Chico, Pachuca de Soto, Mineral de la Reforma, Mineral del Monte, Epazoyucan y Omitlán de Juárez y debe su nombre al extenso historial minero, el cual data de más de 500 años de extracción mineral, caracterizándose por la extracción de plata (Ag), oro (Au) y plomo (Pb) principalmente (SGM, 2018). Esta misma situación ha propiciado la contaminación por MIT en los suelos de la zona, siendo cadmio (Cd), mercurio (Hg) y plomo (Pb) los residuos mineros de mayor interés toxicológico debido a su potencial tóxico (Hernández et al., 2009; Fonseca, 2018).

Por otro lado, México es el país con mayor diversidad de serpientes y el que alberga la mayor riqueza de serpientes de cascabel, con aproximadamente 46 especies (Fernández-Badillo et al., 2021; Uetz, 2021), de las cuales ocho están presentes en el estado de Hidalgo (Fernández-Badillo et al., 2017). *Crotalus aquilus* (Klauber, 1952) es una víbora de cascabel endémica al país que está distribuida ampliamente en Hidalgo, abarcando casi todas las zonas áridas y templadas del estado, siendo especialmente abundante en algunas regiones del centro, como es la Comarca Minera (Fernández-Badillo et al., 2011; 2017).

La presencia de contaminantes como los MIT en el ecosistema supone una situación de riesgo para las diferentes poblaciones de animales de la zona, dadas las características toxicológicas de estos contaminantes antes mencionadas. El término estimación de riesgos se refiere al uso de datos existentes para definir la probabilidad de que se presenten efectos potencialmente adversos a la salud de la población evaluada (Reyes & Almeida, 1992). Las metodologías de evaluación de riesgos son herramientas que permiten al evaluador, estimar el riesgo ante una situación de exposición a algún agente químico peligroso (AQP) como son los MIT, para después, tomar decisiones de manera pronta, con un sustento científico (Gaytán-Oyarzún & López-Herrera, 2019).

Las serpientes son un grupo de vertebrados especialmente vulnerables a la contaminación por MIT, debido a su comportamiento y hábitos alimenticios, los periodos de exposición que tienen hacia los contaminantes pueden llegar a ser sumamente prolongados, facilitando el ingreso de los MIT a los organismos y reteniéndolos en diferentes estructuras y tejidos en un fenómeno conocido como bioacumulación. De igual forma, al incorporar en sus dietas una gran diversidad de presas igualmente expuestas, puede generarse un fenómeno aditivo en las concentraciones de MIT que ingresan a las serpientes dando lugar a otro fenómeno conocido como biomagnificación, lo que puede comprometer la salud de los organismos (Hopkins, 2000; Egea-Serrano & Ortiz-Santaliestra, 2013; Quesada et al., 2014; Hazrat & Ezzat 2019). Pese a la importancia ecológica que poseen las serpientes y su vulnerabilidad ante la contaminación, la información que respecta al área de ecotoxicología en este grupo de reptiles es escasa; pues menos del 0.8% del total de trabajos ecotoxicológicos realizados en vertebrados a nivel mundial corresponde a serpientes (Egea-Serrano & Ortiz-Santaliestra, 2013). Teniendo en cuenta la importancia de estos vertebrados, la escasez de trabajos en ecotoxicología de serpientes y la contaminación causada por la actividad minera de dicha región, el objetivo del presente estudio fue llevar a cabo una estimación de riesgos aplicada a una población de *C. aquilus* presente en una zona de bosque de la Comarca Minera, con el fin de poder sustentar futuros criterios de investigación.



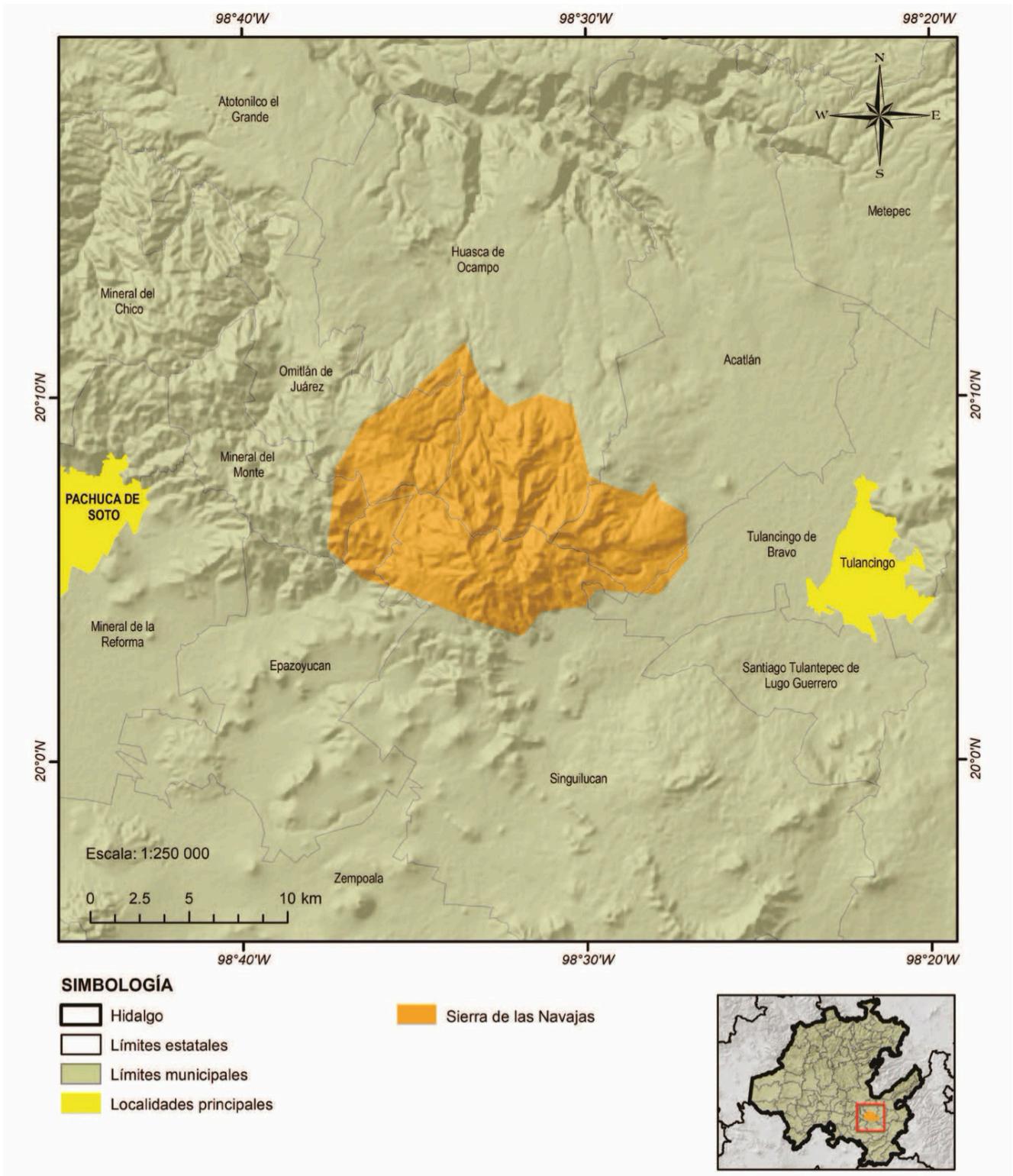


Figure 1. Sierra de Las Navajas in the state of Hidalgo, México. Taken from Olvera-Olvera et al. (2021).

Figura 1. Sierra de Las Navajas en el estado de Hidalgo, México. Tomado de Olvera-Olvera et al. (2021).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El presente estudio se realizó con una población de *C. aquilus* ubicada en el ejido El Guajolote, en la sierra de las Navajas; localizado entre las coordenadas 21.20972° N y 98.58452° W, que incluye a los municipios de Epazoyucan y Omitlán de Juárez, dentro de la Comarca Minera, Hidalgo (Fig. 1). La zona presenta un intervalo altitudinal de 2,600 a 3,200 m s.n.m. El clima de esta región es templado, con una vegetación compuesta principalmente por bosques de coníferas, bosques de encino, áreas de matorral xerófilo y pastizales (Fernández-Badillo et al., 2011; Olvera-Olvera et al., 2021).

### Descripción del taxón de estudio

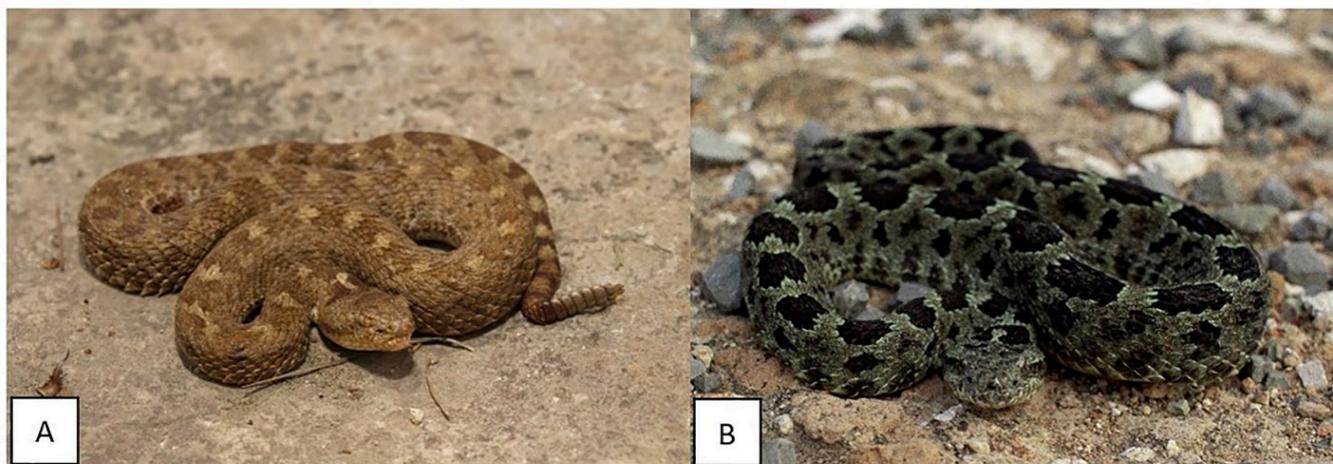
*Crotalus aquilus* (Klauber, 1952) es una víbora de cascabel de montaña, endémica de México (Fig. 2); de talla mediana, la cual no sobrepasa los 80 cm de longitud (Hiemes, 2016; Fernández-Badillo et al., 2017; Uetz, 2021). Presenta un patrón de coloración conformado por manchas dorsales con forma cuadrada y/o rectangular, generalmente más oscuras que el resto del cuerpo. La coloración corporal varía entre colores marrón, café y verde, siendo las hembras usualmente más oscuras que los machos (Campbell & Lamar, 2004; Fernández-Badillo et al., 2011; Heimes, 2016). En cuanto a la escutelación, distintos autores (Campbell & Lamar, 2004; Heimes, 2016) mencionan que presenta 12 escamas supralabiales en promedio, curvatura de la escama prenasal bajo la postnasal, con dos a tres escamas internasales, y un cascabel que presenta 10 escamas en su base. La escama rostral es generalmente más ancha que alta, la escama prenasal

se curva debajo de la postnasal, la escama subocular anterior está en contacto con la cuarta y quinta escamas supralabiales, las escamas preoculares son generalmente dos, y la superior esta frecuentemente dividida verticalmente. Posee de dos a tres escamas internasales grandes y en contacto. Generalmente con presencia de dos escamas cantales, una a cada lado; de 0 a 4 escamas intercantales; de 5 a 10 escamas en la región internasal-prefrontal y de 2 a 5 intersupraoculares. Posee escama loreal a cada lado; con 11 a 13 escamas supralabiales y 10 a 12 infralabiales; con 142 a 164 escamas ventrales; 17 a 30 escamas subcaudales y el cascabel delimitado por 10 escamas (Fig. 3).

En cuanto a sus hábitos alimenticios; *C. aquilus* posee una dieta sumamente diversa, alimentándose de pequeños invertebrados, ranas, salamandras y lagartijas generalmente del género *Sceloporus*; pequeños mamíferos de los géneros *Microtus*, *Peromyscus* y *Sylvilagus*; aves de la especie *Haemorhous mexicanus*, así como serpientes de los géneros *Pituophis*, *Thamnophis* y de ejemplares de su misma especie (Klauber, 1972; Mociño-Deloya et al., 2008; Rebón-Gallardo et al., 2015).

### Obtención de datos ecológicos de *Crotalus aquilus*

Se realizó una búsqueda bibliográfica estratificada y dirigida, sobre trabajos referentes a *C. aquilus*, con los cuales se pudieran obtener datos que permitieran estimar la tasa de ingesta, peso promedio de adultos y sub-adultos y el promedio de vida. Para la determinación de estos parámetros, se tomó en cuenta cualquier trabajo realizado con *C. aquilus*, en donde se describiera su tipo de dieta, longevidad, hábitos y medidas morfométricas. Se emplearon los motores de búsqueda: Springer Link, Scopus,



**Figure 2.** A male (A) and a Female (B) individual of *Crotalus aquilus*. Photos: Felipe Cerón Mejorada

**Figura 2.** Ejemplares de *Crotalus aquilus* (A) hembra (B) macho. Fotos: Felipe Cerón Mejorada

**Table 1.** Ecological parameters of *Crotalus aquilus* estimated based on the available literature: Average longevity expressed in years, weight in adults and subadults expressed in g and food consumption expressed in grams per day (g/day).

**Tabla 1.** Parámetros ecológicos de *Crotalus aquilus* estimados con base en la bibliografía disponible: Promedio de longevidad expresado en años, el peso en adultos y sub-adultos expresado en g y el consumo alimenticio expresado en gramos por día (g/día).

Parámetro	promedio	Intervalo basado en fuentes
Longevidad	25.16 ± 6.24	19-35
Peso en adultos y sub-adultos	72.77 ± 33.68	31-176
Consumo alimenticio	3.96	N/A

Scielo y Google académico; utilizando las palabras claves: *Crotalus aquilus*, *Crotalus*, Complejo Triseriatus, Dieta, Ecología, Historia de vida, Viperidae y Serpentes; sin restricción en los años y en idiomas inglés, español y portugués. También se recurrió a la consulta de fuentes bibliográficas descriptivas de la especie como Klauber (1972), Campbell & Lamar (2004) y Heimes (2016).

Debido a la escases de trabajos sobre la especie, los datos requeridos para el análisis de los indicadores son limitados, por lo que se consideró realizar estimaciones sobre la longevidad de las serpientes, peso promedio y promedio de consumo alimenticio con base en la metodología sugerida por Lema et al. (2010) para el análisis de riesgos, para la posterior realización de los cálculos de los indicadores de riesgos. Ya que no se encontraron datos precisos sobre la longevidad de *C. aquilus*, se estimó un promedio de longevidad con base en el trabajo de Martínez (2017), quien muestra los promedios de vida de diferentes especies de serpientes comercializadas en México; lo reportado en la National Wild Federation respecto a la esperanza de vida de las serpientes de cascabel y lo reportado por Klemens (1993), que menciona un promedio de vida general para las serpientes de cascabel de Connecticut. Si el promedio de longevidad es menor al tiempo de vida media de los MIT, se puede evaluar el índice de ingesta crónica o CDI por sus siglas en inglés de acuerdo con la ATSDR (2005).

El promedio de peso de adultos y sub-adultos se estimó según lo reportado por y Mociño-Deloya (2015) y Mociño-Deloya et al. (2014). Posteriormente este dato fue utilizado en el cálculo del CDI. Finalmente, el promedio de consumo alimenticio se estimó partiendo de los trabajos de Arnaud (2015), Campbell & Lamar (2004), SEMARNAT (2018), Fernández-Badillo et al. (2011), Fernández-Badillo et al. (2012), Fernández-Badillo et al. (2017),

Lazcano et al. (2009), Mociño-Deloya et al. (2008), Mociño-Deloya et al. (2014), Mociño-Deloya (2015), Ramírez-Bautista (2009) y Ramírez-Bautista (2014). Estos datos fueron empleados para estimar la exposición indirecta mediante la dieta o IED por sus siglas en inglés, así como para el cálculo de la tasa de ingesta dentro de la evaluación del CDI.

Particularmente, para el promedio de consumo alimenticio, fue necesario profundizar más en lo reportado por Mociño-Deloya (2015), pues su trabajo fue el más descriptivo respecto a la dieta de la especie. Posteriormente, se cotejó el listado generado, con los trabajos de Hernández-Flores & Rojas-Martínez (2010) y Olvera-Olvera et al. (2021) para cotejar la lista de presas potenciales de *C. aquilus* con la biodiversidad propia de la zona. Fue entonces que, a partir de esta investigación, se estimaron los pesos promedios de las presas reportadas de *C. aquilus* (Tabla 2).

Finalmente, ya que la tasa de ingesta debe estimarse como consumo alimenticio por día; al no contar con un reporte sobre la frecuencia alimenticia de serpientes en estado silvestre, se consideró la frecuencia de alimentación de serpientes en condiciones experimentales en cautiverio. De modo que, se realizó el cálculo del promedio de consumo por semana, basados en lo reportado por Lazcano et al. (2009) quien realizó un trabajo sobre el tiempo de deglución de *C. aquilus*, para finalmente convertir ese promedio semanal en un promedio de consumo por día.

### Determinación de los MIT en la zona de estudio

Para la realización de una estimación de riesgos, es necesario caracterizar el peligro de la zona, es decir, determinar la presencia del contaminante de interés en la zona de estudio. Para ellos se analizó una muestra de suelo de la zona de interés, de tipo compuesta, mediante espectroscopía de plasma acoplado

**Table 2.** Average weights (g) of prey consumed by *Crotalus aquilus* and the average food consumption per day estimated for the species (g).**Tabla 2.** Pesos promedio (g) de presas consumidas por *Crotalus aquilus* y el promedio de consumo alimenticio por día estimado para la especie (g).

Presa	Peso promedio	Fuente
	Reptiles	
<i>Barisia imbricata</i>	24	Brito, 2014
<i>Sceloporus spp.</i>	20.1	Álvarez et al., 2016
<i>Thamnophis spp.</i>	15.1	Luja et al., 2013
<i>Pituophis deppei</i>	54.80	Borrayo 1990
<i>Crotalus aquilus</i>	32.91	Lazcano et al., 2009
	Mamíferos	
<i>Sylvilagus spp</i>	50.175	Martínez, 2015
<i>Microtus mexicanus</i>	24.25	Hernández-Flores, 2010
<i>Baiomys taylori</i>	7.75	Garduño, 2005
<i>Peromyscus maniculatus</i>	24.55	Garduño, 2005
<i>Reithrodontomys spp</i>	24.61	Velásquez, 2019
	Aves	
<i>Tachycineta spp</i>	17.84	Liljestrom, 2011
<i>Empidonax fulvifrons</i>	13.03	William y Russell, 1953
<i>Cyrtonyx montezumae</i>	51.56	López, 2015
<b>Promedio total de consumo</b>	<b>27.74</b>	
<b>Promedio por día durante una semana</b>	<b>3.96</b>	

inductivamente (ICP) para confirmar la presencia de Cd, Pb y Hg y determinar su concentración (Fonseca, 2018).

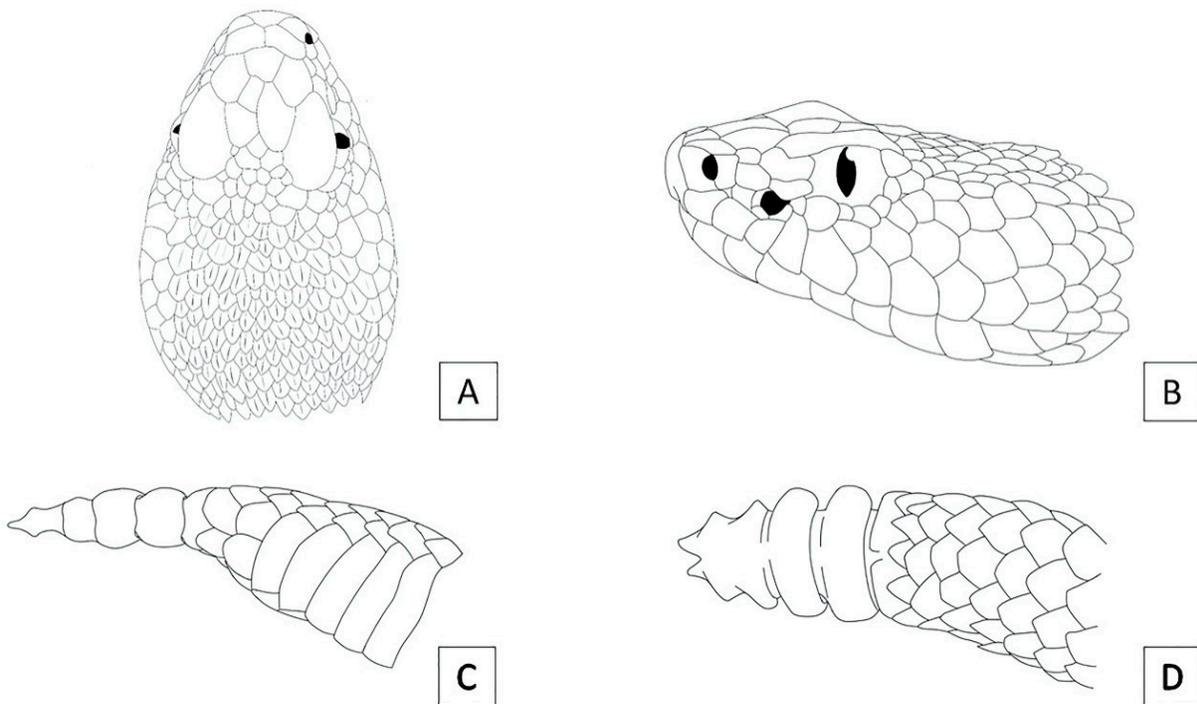
### Recolecta y análisis de la muestra de suelo

La toma de muestras de suelo se efectuó siguiendo el protocolo establecido en la Norma Mexicana NMX-AA-132-SCFI-2016, que establece los parámetros para el muestreo de suelos para la identificación y cuantificación de metales y metaloides, y el manejo de las muestras. Se realizó un muestreo de tipo exploratorio en el área de estudio. Este tipo de muestreo tiene como objetivo obtener muestras de suelo representativas para establecer la presencia de contaminación (NMX-AA-132-SCFI-2016).

Se recolectaron un total de 10 muestras simples, de 1 Kg cada una, para formar una sola muestra compuesta del área de estudio, de acuerdo con la norma NMX-AA-132-SCFI-2016

(Fig. 4). El número de muestras se estableció atendiendo a lo recomendado para el estudio de sistemas naturales, debido a que dicha cantidad se considera suficiente para observar patrones en el comportamiento de la variable, al mismo tiempo que posee el suficiente sustento estadístico que respalde dicho comportamiento (Gotelli & Edison, 2004).

Se aplicó el método de muestreo dirigido, el cual menciona que la selección de la localización de los puntos de muestreo se debe basar en el conocimiento de la causa de la contaminación, por lo que se requiere tener conocimientos físicos o históricos seguros del sitio en el que se pretende trabajar, lo cual es ideal para muestreos rápidos y de bajo presupuesto (NMX-AA-132-SCFI-2016). Atendiendo lo anterior, las muestras de suelo se tomaron de manera superficial, con una profundidad de muestreo de 0 a 5 cm a partir de la superficie (NMX-AA-132-SCFI-2016).



**Figure 3.** Scutellation of *Crotalus aquilus*. A) dorsal view of the head, B) lateral view of the head, C) ventral view of the rattle, and D) lateral view of the rattle. Drawings: Pablo Jesús Salvador Morales.

**Figura 3.** Escutelación de *Crotalus aquilus*. A) vista dorsal de la cabeza, B) vista lateral de la cabeza, C) vista ventral del cascabel, D) vista lateral del cascabel. Dibujos: Pablo Jesús Salvador Morales.

Para el traslado de las muestras de suelo al laboratorio, se continuó atendiendo a lo recomendado por la Norma Mexicana NMX-AA-132-SCFI-2016, apartado 6, página 18, que establece el manejo y control de muestras. La muestra compuesta fue digerida mediante el método 3051A de digestión ácida asistida por microondas (USEPA, 2007).

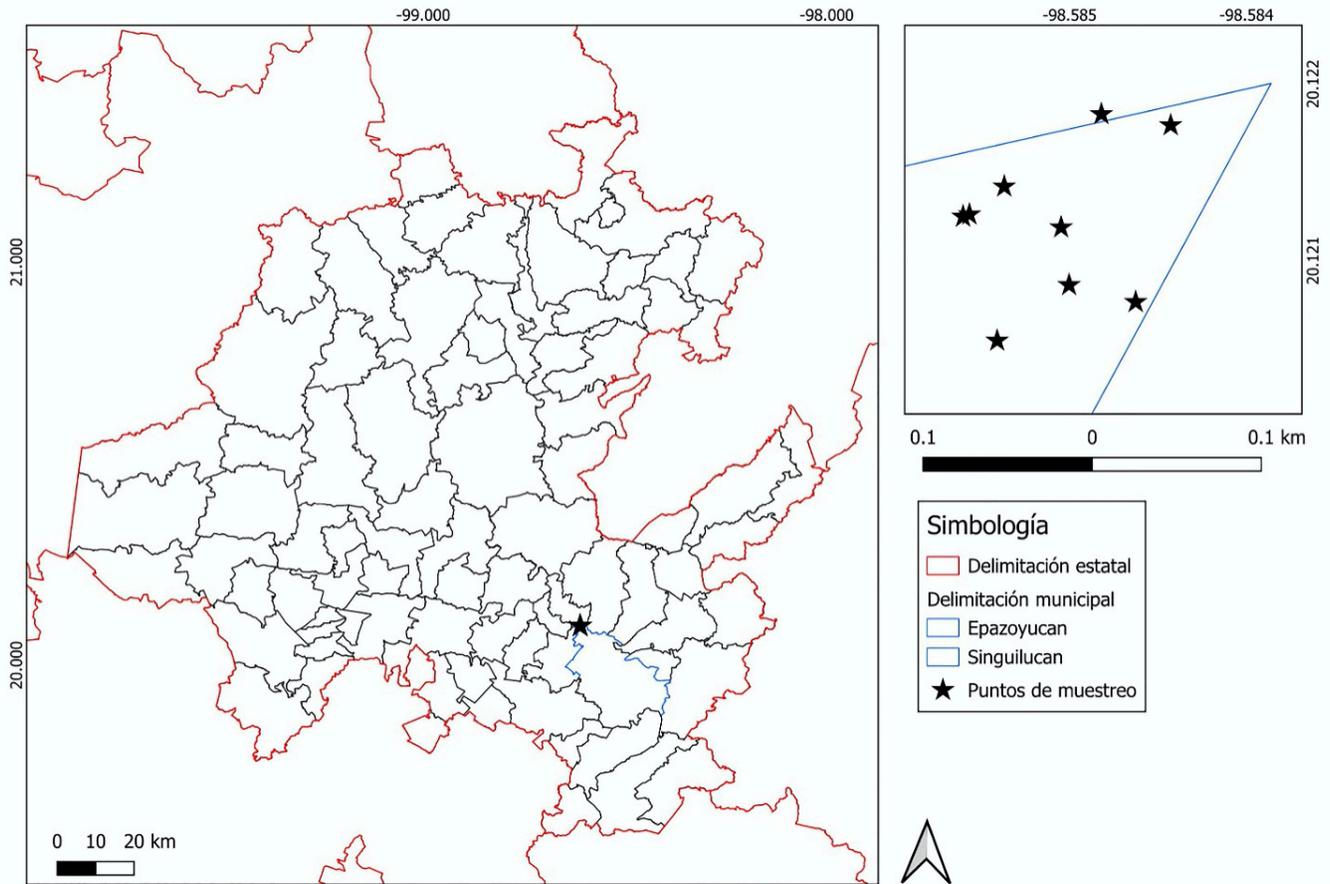
La digestión ácida de la muestra de suelo se realizó utilizando un horno de microondas MARSX. En una balanza analítica, se pesaron 0.2 g de suelo, posteriormente se depositaron en vasos de propileno para microondas a los cuales se les agregó 5 ml de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>). Posteriormente se realizó la digestión ácida bajo las condiciones establecidas en el método 3051A de la USEPA. Al término de la digestión, la muestra resultante fue aforada a 50 ml con agua desionizada para su posterior lectura (USEPA, 2007). Finalmente, las muestras de suelo se analizaron mediante la técnica de espectroscopía de plasma acoplado inductivamente (ICP) Utilizando un equipo Perkin Elmer, Mod. Optima 8300, USA (Fonseca, 2018).

### Riesgo ecológico

A partir de los resultados obtenidos mediante la química analítica del suelo, se estimó el riesgo ecológico de los MIT mediante el método recomendado por el CEPIS/OPS (2005) y Lu et al. (2015). Se inició por el cálculo del Cociente de peligro ambiental (CF) mediante la siguiente ecuación:  $CF = CEXP / CREF$

Donde CEXP corresponde a la concentración de exposición reportada en no más de un año, en este caso, a las concentraciones obtenidas mediante el análisis de suelo y CREF a la concentración de referencia establecida como límite máximo permitido, en este caso, obtenido de la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT-SSA1-2004, que establece los criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por Ag, As, Ba, Br, Cd, Cr (VI), Hg, Ni, Pb, Se, Tl y/o V (CEPIS/OPS, 2005; González-Mille et al., 2010; Latif & Yong, 2014; Lu et al., 2015). A partir del valor obtenido de CF, se determinó el Índice de riesgo ecológico potencial (ER) mediante la siguiente ecuación:

$$ER = TR \times CF$$



**Figure 4.** Sampling points to determine the presence of soil contaminants. / **Figura 4.** Puntos de muestreo para determinar la presencia de contaminantes de suelo.

Donde TR es el índice de respuesta a la toxicidad de un metal pesado, que, con base en los criterios establecidos por Hakanson (1980), Hamid & Payandeh (2022) y Nozari et al. (2023) los valores de TR para Cd, Pb y Hg son 30, 5 y 40 respectivamente. El valor de ER expresa el riesgo ecológico potencial de cada MIT en una clasificación de cinco niveles:  $ER \leq 40$ , riesgo bajo;  $ER > 40$  pero  $< 80$ , riesgo medio;  $ER > 80$ , pero  $< 160$ , riesgo significativo;  $ER > 160$  pero  $< 320$ , riesgo alto; y  $ER \geq 320$ , riesgo muy alto (Hakanson, 1980; Hamid & Payandeh, 2022; Nozari et al., 2023)

Finalmente, debido a la múltiple presencia de MIT en la zona de estudio, se calculó el índice de riesgo ecológico acumulativo (RI) que es la suma de los ER calculados para cada MIT. Para su interpretación, se consideran como riesgo ecológico bajo si  $RI \leq 150$ , moderado si  $RI \leq 300$ , alto si  $RI \leq 600$  y muy alto si  $RI \geq 600$  (García-Reynoso et al., 2007; Hamid & Payandeh, 2022).

### Riesgo de exposición

En toxicología, la evaluación de la exposición se refiere al cálculo de la probabilidad de que los contaminantes ingresen a los sistemas biológicos y que, dadas sus características toxicológicas, estos puedan causar algún efecto negativo en la salud. Para evaluar el riesgo de exposición, primero se estimó la probabilidad de exposición indirecta mediante la dieta (IED), la cual es determinada a través del número de especies que conforman la dieta de la población de estudio y que además están presentes en la matriz donde se ha identificado la presencia del contaminante.

El indicador, según Delgadillo-Ubaldo & Longar-Blanco (2008) no toma en cuenta las concentraciones de contaminantes acumulados en las especies o géneros asociados a la dieta de la población a evaluar, más bien, se basa en el supuesto de que los taxones se han encontrado constantemente expuestos a los xenobióticos, pudiendo ser considerados como posibles

medios de transferencia de dichos contaminantes. Por lo tanto, se considera que: a mayor número de especies asociadas a la dieta, mayor será la probabilidad de una exposición efectiva (Delgadillo-Ubaldo & Longar-Blanco, 2008). Se considera exposición indirecta alta, media alta, media y baja si existen > 4 especies, 3 especies, 2 especies y 1 especie, respectivamente (Delgadillo-Ubaldo & Longar-Blanco, 2008).

De igual forma, se estimó el índice de ingesta crónica (CDI) mediante la ecuación:

$$CDI = (CEXP \times IR) / (BW)$$

Donde: IR es la tasa de ingesta expresada en mg y BW es el peso corporal del individuo expresado también en mg. Este indicador permite al evaluador estimar la probabilidad de que se presenten efectos adversos mediante la ingesta crónica de alimentos probablemente contaminados. Se considera un riesgo alto, medio-alto, medio y bajo si el CDI calculado es  $\geq n \times 10^{-3}$ ,  $n \times 10^{-4}$ ,  $n \times 10^{-5}$  y  $\leq n \times 10^{-6}$  respectivamente (ATSDR, 2005; CEPIS/OPS, 2005; Kazemi et al., 2022).

También se realizó la estimación del índice de exposición crónica (HQ), el cual busca establecer el riesgo de una exposición prolongada, al comparar el índice de ingesta crónica contra una dosis de referencia, mediante la ecuación:

$$HQ = CDI / RfD$$

Donde: RfD se refiere a la dosis de referencia consultada. Para ello, fue necesario estimar RfD para esta especie de reptiles, puesto que las disponibles en las bases de datos de la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades (ATSDR) y del Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del ambiente/Organización Panamericana de la Salud CEPIS/OPS son RfD calculadas para salud humana y/o para animales de experimentación.

Para estimar estas nuevas RfD, se siguió lo recomendado por Lema et al. (2010) utilizando los factores de incertidumbre designados por la USEPA para diferentes cálculos en la estimación de riesgos, mismos que son aplicados en la determinación de las RfD. Dichos factores de incertidumbre son supuestos a los que se les agregan valores numéricos.

De estos factores de incertidumbre, los autores mencionan el factor UFh, que es utilizado en la extrapolación de datos de animales a humanos y al cual se le asigna un valor constante de 10; y el factor MF, que se considera cuando la evidencia no es

suficiente o resulta conflictiva. A este factor de incertidumbre se le pueden agregar valores de entre 1 y 10 con base en el juicio subjetivo del investigador sobre la evidencia disponible, siendo 1 el valor que refleja la menor incertidumbre y 10 el valor de mayor incertidumbre.

Dado que los datos sobre el promedio de vida, peso promedio y consumo alimenticio de las serpientes, fueron datos estimados a partir de trabajos existentes con la especie y otras especies de serpientes, se asignó un valor de cinco al factor MF, mismo que refleja la escasez de datos puntuales sobre la especie. Posteriormente, estos factores de incertidumbre fueron multiplicados a las RfD calculadas de la base de datos Integrated Risk Information System (IRIS) de la EPA, obteniendo las RfD aplicables para *C. aquilus*.

Para la interpretación de los resultados, la ATSDR y el CEPIS/OPS mencionan que: cuando se obtiene un valor de uno o menor en el cálculo de HQ, se está en o por debajo de las dosis establecidas por diferentes agencias como límites seguros. Sin embargo, si el valor crece progresivamente sobre uno, significa que la exposición local está incrementándose a niveles peligrosos, aumentando la probabilidad de una exposición efectiva (ATSDR, 2005; CEPIS/OPS, 2005).

Con la aplicación de los factores de incertidumbre UFh y MF; los valores obtenidos en el cálculo fueron ajustados para su interpretación de acuerdo con la ATSDR y el CEPIS/OPS. Sin la aplicación de los factores de incertidumbre, los valores resultantes son extremadamente elevados y no pueden ser interpretados de acuerdo con las ponderaciones dadas por las agencias sanitarias.

Finalmente, los valores de HQ fueron sumados para la obtención del índice de exposición crónica acumulado (HI), el cual debe considerarse cuando exista la múltiple presencia de MIT en la misma zona de interés. Este último indicador considera un riesgo de exposición alto, medio-alto, medio y bajo si los valores de la suma de HQ son  $\geq 4$ , 2-3, 1 y  $<1$  respectivamente (García-Reynoso et al., 2007).

## RESULTADOS

### Obtención de datos ecológicos y de la historia de *C. aquilus*

Se consultaron un total de 14 trabajos (siete libros, dos tesis, una nota científica y cuatro artículos) en un periodo de dos meses, con los cuales se estimaron los promedios que se muestran en la tabla 1.

### Estimación del riesgo ecológico

Se detectó y cuantificó la presencia de Cd, Hg y Pb en el suelo de la zona de estudio, lo que permitió calcular el CF de los 3 MIT (Tabla 3). Una vez obtenido el CF se realizó el cálculo para la determinación del ER, el cual mostró valores por debajo de 40 para los tres MIT evaluados (Tabla 3). Estos valores, según lo referido por los autores Hakanson (1980) y Hamid & Payandeh (2022), llevan a considerar que las concentraciones de MIT presentes en el suelo de la zona de interés no representan un riesgo ecológico significativo.

Finalmente, los valores obtenidos del ER de cada uno de los MIT, se sumaron para conocer el RI; obteniendo resultados por debajo de 150, lo cual, con base en los criterios establecidos, sugiere nuevamente un riesgo ecológico bajo, incluso, pese a la múltiple presencia de los contaminantes (Tabla 3).

### Estimación del riesgo de exposición

Los resultados obtenidos acerca de la dieta de *C. aquilus* incluyen 13 géneros diferentes, los cuales están presentes en su totalidad en el área de estudio, de acuerdo con lo revisado en Hernández-Flores & Rojas-Martínez (2010) y Olvera-Olvera et al. (2021). Según los autores Delgadillo-Ubaldo & Longar-Blanco (2008) este número de géneros asociados a la dieta de *C. aquilus* podrían suponer niveles de exposición indirecta peligrosamente altos para la población de estudio, aumentando la probabilidad de una exposición efectiva.

**Table 3.** Values obtained from: the concentration of MIT in soil expressed in mg/Kg (CEXP), the reference concentration obtained from NOM-147-SEMARNAT-SSA1-2004 expressed in mg/Kg (CREF), the environmental hazard quotient (CF), the ecological risk index (ER) and the cumulative ecological risk index (RI).

**Tabla 3.** Valores obtenidos de: la concentración de MIT en suelo expresada en mg/Kg (CEXP), la concentración de referencia obtenida de la NOM-147-SEMARNAT-SSA1-2004 expresada en mg/Kg (CREF), el cociente de peligro ambiental (CF), el índice de riesgo ecológico (ER) y el índice de riesgo ecológico acumulativo (RI).

MIT	Cexp	Cref	CF	ER
Cd	3.45 ± 2.44	37	0.093	2.79
Hg	0.05 ± 0.009	23	0.0021	0.084
Pb	54.34 ± 7.25	400	0.135	0.675
			RI	3.549

**Table 4.** Values obtained from the chronic intake index (CDI), the health risk index (HQ) and the cumulative health risk index (HI).

**Tabla 4.** Valores obtenidos del índice de ingesta crónica (CDI), el índice de riesgo a la salud (HQ) y el índice de riesgo a la salud acumulado (HI).

MIT	CDI	HQ
Cd	0.181	3.754
Hg	0.002	0.181
Pb	2.957	16.897
	HI	20.832

El cálculo de CDI mostró valores por arriba de  $n \times 10^{-3}$  para los tres MIT evaluados, lo cual podría sugerir también, que los niveles de exposición son peligrosamente elevados, debido a la ingesta crónica de alimentos potencialmente contaminados (Tabla 4).

A partir de las RfD estimadas para la especie en cuestión, se obtuvieron los valores de HQ, los cuales fueron todos por arriba de 1, que, de acuerdo con la ATSDR y el CEPIS/OPS estos valores suponen niveles de exposición peligrosamente elevados en la población de *C. aquilus*. Este riesgo puede verse incrementado por la múltiple presencia de los MIT en la zona de estudio, pues la suma de los valores de HQ mostró un resultado por arriba de 4, que, de acuerdo con las agencias antes mencionadas, podría suponer el incremento de la probabilidad de exposición efectiva (Tabla 4).

## DISCUSIÓN

### Obtención de datos ecológicos de *C. aquilus*

En la actualidad, continúan siendo escasos los trabajos en donde se describan, de manera detallada, diversos aspectos ecológicos de las serpientes mexicanas; esta situación complica en gran medida la aplicación de metodologías basadas en la recopilación de información bibliográfica, como es el caso de las estimaciones de riesgos. Particularmente para el caso de las serpientes del género *Crotalus*, pese a ser importantes miembros de la fauna de los ecosistemas mexicanos, la información respecto a la ecología de muchas de sus especies continúa siendo insuficiente y poco detallada (Mociño-Deloya et al., 2015).

De acuerdo con lo reportado por Mociño-Deloya et al. (2014), la mayoría de las publicaciones relacionadas particularmente a la dieta de muchas serpientes de cascabel mexicanas,

están limitadas por un pequeño conjunto de datos, basados únicamente en avistamientos breves o antecedentes aislados, así como conjeturas realizadas por los académicos y anécdotas reportadas, ya sea por los propios investigadores o incluso por los habitantes de las zonas donde se distribuyen estos animales, sin estar sustentados por estudios sistemáticos.

Para el caso particular de *C. aquilus* la información encontrada respecto a sus hábitos alimenticios y otras cuestiones ecológicas, no fue más completa que para otras serpientes, situación que concuerda con lo reportado anteriormente por Bryson et al. (2006); Mociño-Deloya et al. (2014) y Mociño-Deloya et al. (2015). Quienes mencionan que, para el caso particular de las serpientes de cascabel de montaña, como *C. aquilus*; la información ecológica es escasa.

Para solventar la escasez de datos ecológicos de la especie, las evaluaciones de riesgos ofrecen metodologías validadas que permiten realizar estimaciones a partir de datos existentes. En este trabajo, las estimaciones realizadas fueron determinadas con base en los criterios de Lema et al. (2010), tomando como homologos los datos reportados para otras especies de serpientes respecto a su longevidad y su tasa de ingesta. No obstante, esta investigación pone en evidencia la necesidad de ampliar el conocimiento respecto a diversas cuestiones ecológicas de las serpientes de cascabel mexicanas, que aun siguen sin ser estudiadas con profundidad.

### Estimación del riesgo ecológico

Hasta este momento no se contaba con ninguna evaluación sobre la calidad del ambiente y el impacto que las actividades antropocéntricas que propician la liberación de MIT pudieran tener sobre la herpetofauna de la zona de interés. Si bien se cuenta con un antecedente histórico sobre los procesos mineros del sitio de estudio, en general, hay muy pocas evaluaciones sistemáticas sobre la salud de los ecosistemas de la Comarca Minera y como ésta puede o no afectar a la fauna circundante.

Dentro de los estudios ecotoxicológicos aplicados en la fauna de la Comarca Minera del estado de Hidalgo, destacan algunos trabajos realizados principalmente en aves e insectos, sin embargo, existe una larga lista de organismos que aún siguen sin ser considerados en estas evaluaciones, dentro de los que destacan los reptiles y especialmente las serpientes. Particularmente para los miembros de este grupo, estos trabajos cobran un sentido mayor, no solo por la importancia ecológica de estos organismos, sino también, porque hasta ahora solo se ha especulado sobre como la contaminación pueda afectar a los miembros de este grupo taxonómico, sin contar, con estudios

detallados al respecto, por lo que las estimaciones del riesgo forman parte del primer acercamiento para la realización de investigaciones más detalladas al respecto.

Con base en los estudios ecotoxicológicos realizados en este grupo taxonómico, existe evidencia acerca del potencial bioacumulador de las serpientes (Burger et al., 2005; Quesada et al., 2014; Burger et al., 2017; Gavrić et al., 2019). Sin embargo, diversos investigadores coinciden en que son escasos los estudios que evalúen los efectos que las exposiciones crónicas a agentes químicos peligrosos como los MIT pueden ejercer sobre este tipo de herpetofauna (Campbell & Campbell, 2002; Gavrić et al., 2019).

La presencia de los MIT concuerda con lo reportado por Hernández et al. (2009) y Fonseca (2018), respecto a los contaminantes asociados a la extracción de oro y plata y a pesar de haber detectado concentraciones por debajo de la norma de referencia, las pautas de la estimación de riesgos indican que, la simple presencia de los contaminantes en la zona, representa un riesgo potencial (ATSDR, 2005; CEPIS/OPS 2005; Lema et al., 2010).

Con base en las concentraciones observadas, se esperaba obtener índices de riesgo ecológico bajos, lo cual se pudo observar mediante el cálculo del ER y el RI. Sin embargo, de acuerdo con Gaytán-Oyarzún & López-Herrera, (2019) la presencia de los MIT en conjunto con el escenario de exposición de las serpientes, generan una situación de riesgo que debe ser evaluada., pues estos son altamente persistentes en el ambiente, bioacumulables y biomagnificables, lo cual aumenta su peligrosidad para los seres vivos (Delgadillo-Ubaldo; 2008; Kazemi et al., 2022).

Es importante mencionar que la estimación de riesgo ecológico considera la concentración del contaminante y su potencial tóxico, sin tener en cuenta los periodos de exposición a estos, factor que puede incrementar la probabilidad de que se presenten exposiciones efectivas en la población evaluada y que está ligado a los hábitos y ecología de la población (Kazemi et al., 2022).

### Estimación del riesgo de exposición

En esta investigación, se evaluaron diferentes indicadores que estiman la probabilidad de que, dadas las condiciones del entorno, los hábitos de la población y las características de los contaminantes, se genere una exposición efectiva que pueda comprometer la salud de la población. No obstante es importante mencionar que existe muy poca información respecto a los efectos negativos de la contaminación química

del ambiente hacia las serpientes, tan solo Campbell y Campbell (2001) y Schneider et al. (2013) indicaron que no existen estudios sistemáticos con serpientes que determinen las concentraciones a las que estos organismos presentan efectos adversos en su salud, por lo que las estimaciones realizadas en este estudio, deben ser complementadas con estudios que contemplen la evaluación de daños.

La aplicación de la estimación de riesgos, sin embargo, permite la pronta toma de decisiones y sustenta el criterio para llevar a cabo una investigación de mayor profundidad con los ejemplares de la población de interés, misma que, al tratarse de una especie bajo protección, debe incluir la toma de muestras biológicas no letales o poco invasivas para la determinación de MIT en concentraciones internas, así como la aplicación de metodologías no letales de evaluación de daño genotóxico como puede ser la evaluación de micronúcleos en sangre periférica.

Particularmente en esta investigación, se determinaron diferentes factores que pueden incrementar la probabilidad de que estos efectos negativos se presenten en la población evaluada. Un punto importante a mencionar es que los contaminantes como los MIT tienden a bioacumularse en diferentes tejidos dentro y fuera de los organismos y en el caso particular de los depredadores, los contaminantes podrían ser biomagnificados debido al ingreso progresivo de los mismos mediante la dieta, ocasionando exposiciones crónicas durante toda su vida (Campbell & Campbell, 2001).

De acuerdo con la investigación respecto a los hábitos alimenticios de *C. aquilus*, esta especie presenta una dieta sumamente diversa, lo cual podría incrementar los niveles de exposición mediante la transferencia de contaminantes a través de las redes tróficas, provocando su biomagnificación y aumentando la probabilidad de expresar efectos negativos en la salud de los animales; sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, no hay estudios a la fecha de esta publicación que demuestren los efectos tóxicos de esta bioacumulación en las serpientes.

Al determinar la IED para la población de *C. aquilus* estudiada, esta sugiere que el nivel de exposición indirecta sea peligrosamente elevado, lo cual concuerda con lo reportado anteriormente por Chumchal et al. (2011), quienes compararon los niveles de bioacumulación de diferentes taxones expuestos en un cuerpo de agua, incluyendo a una serpiente venenosa de la especie *Agkistrodon piscivorus*; encontrando que la serpiente exhibía los niveles de acumulación más elevados respecto a los otros taxones, situación que se atribuyó a los hábitos alimenticios

de los animales, pues dentro de los taxones evaluados, las presas de *A. piscivorus* también presentaban un grado de contaminación interna pero en concentraciones menores en comparación a la de la serpiente.

Por otro lado, el cálculo de CDI, también apoya la hipótesis de la importancia de la dieta como un fuerte factor de exposición hacia los contaminantes en el caso de los depredadores, pues este mostró valores elevados al considerar el promedio de vida de los organismos y su tasa de ingesta crónica, concordando con lo mencionado por Campbell & Campbell (2001) Burger & Gochfeld (2016) y Schneider et al. (2013), quienes también hacen hincapié en la importancia de la dieta en la transferencia de contaminantes en las serpientes, mencionando que este es un factor que incrementa los niveles de exposición de los animales, propiciando la bioacumulación y la progresiva biomagnificación de los xenobióticos.

Por otro lado, en el cálculo de HQ podemos observar el mismo fenómeno, el índice de HQ se eleva al considerar el cálculo de CDI y al ser comparado contra una dosis de referencia. Es decir, los animales podrían estar sobrepasando los niveles seguros de exposición debido, principalmente a la ingesta crónica de presas potencialmente contaminadas. Estas estimaciones sugieren prestar especial atención a los depredadores de un ecosistema, al momento de realizar una evaluación ecotoxicológica. Sin embargo, se hace hincapié en la necesidad de realizar estudios de concentraciones internas de MIT que puedan corroborar las estimaciones realizadas mediante los cálculos de IED, CDI y HQ.

## CONCLUSIONES

La contaminación por MIT representa un fuerte impacto negativo para los diferentes ecosistemas del mundo, donde la herpetofauna figura como uno de los grupos de vertebrados con mayor vulnerabilidad ante estos contaminantes, debido a sus características biológicas y conductuales. México es el país número uno en cuanto a diversidad de serpientes, las cuales son importantes depredadores de sus respectivos ecosistemas. Dentro de este grupo, las serpientes de cascabel adquieren mayor relevancia debido a su gran importancia ecológica y cultural. Sin embargo, los estudios ecotoxicológicos donde se les considere son nulos.

Debido a que la información que respecta al área de ecotoxicología de serpientes es insuficiente, los efectos negativos que los MIT puedan ocasionar en las poblaciones de estos animales, siguen siendo meramente especulativos, por lo que la aplicación de una estimación de riesgos representa

el primer acercamiento en un área de la ecotoxicología que en México ha sido poco estudiada, y que busca brindar un soporte para futuros investigaciones.

En el presente estudio se determinó la presencia de tres MIT en el hábitat de una población de *C. aquilus* lo cual, debido a las características toxicológicas de los metales, sugiere un riesgo ecológico y a la salud potencial para la población de estudio. La estimación del riesgo ecológico mostró un riesgo bajo, debido principalmente a las concentraciones en que se detectaron los MIT. Sin embargo, este tipo de contaminantes presentan una elevada persistencia en el ambiente, así como la capacidad de atravesar membranas biológicas, propiciando su bioacumulación y biomagnificación, lo cual puede incrementar su peligrosidad para los sistemas biológicos.

Por otra parte, mediante la estimación del riesgo de exposición, podemos observar que las características propias de los MIT antes mencionadas, en conjunto con los hábitos alimenticios de las serpientes, así como su posición en las redes tróficas, crean una interacción que podría estar aumentando los niveles de exposición de estos contaminantes hacia la población de estudio, pues se obtuvieron valores que sugieren un riesgo peligrosamente elevado. Por lo tanto, con los resultados obtenidos será precisa la aplicación de una evaluación de daño en la población de *C. aquilus* estudiada, misma que incluya la determinación de concentraciones internas de MIT en las serpientes. Finalmente, esta investigación sugiere la aplicación de las estimaciones de riesgo en poblaciones animales como una herramienta valiosa que ayude a los investigadores a fundamentar criterios para futuros estudios ecotoxicológicos de fauna silvestre en México.

**Agradecimientos.**– Se agradece al CONACyT por la beca de posgrado otorgada, misma que hizo posible esta investigación. De igual forma, se agradece al Lic. Felipe Cerón Mejorada y al Biol. Pablo Jesús Salvador Morales por proporcionar las fotografías de los ejemplares y el diagrama de escutelación de la especie. Este trabajo se llevó a cabo utilizando únicamente información bibliográfica. No se recurrió a la captura de ejemplares ni al manejo de los mismos.

## LITERATURA CITADA

Álvarez, T.A., R.C. Vizcaya & M.S. Sarabia. 2016. Espectro Alimentario de la lagartija *Sceloporus internasalis* (Reptilia: Phrynosomatidae) del Bastonal, Sierra de Santa Martha, Los Tuxtlas, Veracruz. *Revista de Zoología* 27:17-37.

Arnaud, G. 2015. Conservación de la serpiente de cascabel sin Cascabel *Crotalus catalinensis*, de la isla Santa Catalina, Golfo de California. *Recursos Naturales y Sociedad* 1:51-56.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2005. <https://www.atsdr.cdc.gov>.

Borrayo, M.M. 1990. Estudio preliminar del efecto de la temperatura en la determinación sexual del cincuate o alicante (*Pituophis deppei deppei*). Tesis de licenciatura. Universidad de Guadalajara. México.

Burger, J. & M. Gochfeld. 2016. Habitat, population dynamics, and metal levels in colonial waterbirds: A Food Chain Approach. CRC Press.

Campbell, K.R., & T.S. Campbell. 2001. The accumulation and effects of environmental contaminants on snakes: a review. *Environmental Monitoring and Assessment* 70:253-301.

Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del ambiente/Organización Panamericana de la Salud (CEPIS/OPS). 2005. Curso de autoinstrucción. Obtenido de Evaluación de Riesgo asociado a Contaminantes de Aire.

Chumchal, M.M., T.R. Rainwater, S.C. Osborn, A.P. Roberts, M.T. Abel, G.P. Cobb, P. Smith & F.C. Bailey. 2011. Mercury speciation and biomagnification in the food web of Caddo Lake, Texas and Louisiana, USA, a subtropical freshwater ecosystem. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30:1153-1162.

Davis, W.B. & R.J. Russell. 1953. Aves y mamíferos del estado de Morelos. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 14:77-148.

Delgadillo-Ubaldo, E. 2008. Metodología para el análisis de riesgos ambientales. Impacto social en la población del municipio de Ecatepec, Estado de México. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México.

Egea-Serrano, A. & M.E. Ortiz-Santaliestra. 2013. Análisis del impacto de la contaminación química sobre la herpetofauna: nuevos desafíos y aplicaciones prácticas. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española* 24:2-34.

Fernández-Badillo, L., N. Morales-Capellán & I. Goyenechea Mayer-Goyenechea. 2011. Serpientes venenosas del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

- Fernández-Badillo, L., N. Morales-Capellan & I. Mayer-Goyenechea. 2012. *Crotalus aquilus* (Querétaro dusky rattlesnake) diet. *Herpetological Review* 43:658.
- Fernández-Badillo, L., N. Morales-Capellán, C.R. Olvera, G.M. Canales & I. Mayer-Goyenechea, 2017. Guía de las serpientes del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, México.
- Garduño, N.A. 2005. Los mamíferos silvestres de Michoacán. Diversidad biología e importancia. Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo, Morelia, México.
- García-Reynoso, J.A., M. Grutter & D. Cintora-Juárez. 2007. Evaluación del riesgo por contaminantes criterio y formaldehído en la ciudad de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 23:169-175.
- González-Mille, D.J., C.A. Ilizaliturri-Hernández, G. Espinosa-Reyes, R. Costilla-Salazar, F. Díaz-Barriga, I. Ize-Lema & J. Mejía-Saavedra. 2010. Exposure to persistent organic pollutants (POPs) and DNA damage as an indicator of environmental stress in fish of different feeding habits of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Ecotoxicology* 19:238-1248.
- Hakanson, L. 1980. An Ecological Risk Index for Aquatic Pollution control. A sedimentological approach. *Water Research* 14:975-1001.
- Hamid, E., K. Payandeh, M.T. Nezhad & N. Saadati. 2022. Potential ecological risk assessment of heavy metals (trace elements) in coastal soils of southwest Iran. *Frontiers in Public Health* 10:889130.
- Hernández-Acosta, E., E. Mondragón-Romero, D. Cristóbal-Acevedo, J.E. Rubiños-Panta & E. Robledo-Santoyo. 2009. Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos de un jal de Pachuca, Hidalgo, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 15:09-114.
- Hernández-Flores, S.D. & A.E. Rojas-Martínez. 2010. Lista actualizada y estado de conservación de los mamíferos del Parque Nacional El Chico, Hidalgo, México. *Acta zoológica Mexicana (nueva serie)* 26:563-583.
- Hernández, A.A. 2006. Taxonomía distribución del género *Crotalus* (Linneo, 1758), en el estado de Hidalgo. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo, México.
- Horne, M.T. & W.A. Dunson. 1995. Effects of low pH, metals, and water hardness on larval amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 29:500-505.
- Hopkins, W.A. 2000. Reptile toxicology: Challenges and opportunities on the last frontier in vertebrate ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19:2391-2393.
- Kazemi, A., M. Esmaeilbeigi, Z. Sahebi & A. Ansari. 2022. Health risk assessment of total chromium in the QANAT as historical drinking water supplying system. *Science of The Total Environment* 807:150795.
- Klauber, L.M. 1982. Rattlesnakes: Their Habits, Life Histories, and Influence on Mankind, Abridged Edition. Univ of California Press.
- Latif, M.T., S.M. Yong, A. Saad, N. Mohamad, N.H. Baharudin, M.B. Mokhtar & N.M. Tahir. 2014. Composition of heavy metals in indoor dust and their possible exposure: a case study of preschool children in Malaysia. *Air Quality, Atmosphere & Health* 7:181-193.
- Lazcano, D., S.M. García, R.M. Hernández, J.A. Cisneros & S.N. Torres. 2009. Tiempo de deglución en crías de *Crotalus aquilus* (Klauber, 1952) en condiciones de cautiverio. *Ciencia UANL* 12:288-294.
- Lema, I.I., M. Zuk & L. Rojas-Bracho. 2010. Introducción al análisis de riesgos ambientales (2da ed.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología.
- Liljestrom, M. 2011. Biología reproductiva de la golondrina patagónica *Tachycineta meyeri* en Ushuaia, Tierra del Fuego. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- López-Fernández. A. 2015. Hábitos alimenticios de la codorniz Moctezuma (*Cyrtonyx montezumae*) en la época invernal en Tlaxco, Tlaxcala, México. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Luja, V.H., R. Rodríguez-Estrella & B. Sinervo. 2013. Observaciones sobre la dieta de la culebra de agua *Thamnophis hammondi* en un oasis de Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84:697-700.
- Lu, S., Y. Wang, Y. Teng & X. Yu. 2015. Heavy metal pollution and ecological risk assessment of the paddy soils near a zinc-lead mining area in Hunan. *Environmental Monitoring and Assessment* 187:627(1-12).

- Martínez R.M. 2015. Descripción de la conducta materna y desarrollo de las crías del conejo montés *Sylvilagus cunicularius* en condiciones de semicautiverio. Tesis Doctoral, Universidad Veracruzana. México.
- Martínez, M.T. 2017. Propuesta de manual de manejo y traslado de reptiles: caso Uadyet Exotic's. Tesis de Ingeniería en Transporte, Instituto Politécnico Nacional.
- Mociño-Deloya, E. 2015 Ecología trófica de tres especies de cascabel en México: *Crotalus aquilus*, *Crotalus polystictus* y *Crotalus willardi*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada. España.
- Mociño-Deloya, E., K. Setser, S.C. Peurach & J.M. Meik. 2008. *Crotalus aquilus* in the Mexican state of México consumes a diverse summer diet. *The Herpetological Bulletin* 105:10-12.
- Mociño-Deloya, E., K. Setser & E. Pérez-Ramos. 2014. Observations on the diet of *Crotalus triseriatus* (Mexican dusky rattlesnake). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85:1289-1291.
- Muñoz-Brito, A. 2014. Termorregulación en *Barisia imbricata* (Sauria: Anguillidae). Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- NMX-AA-132-SCFI-2016. 2016. Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones técnicas para la obtención y manejo de muestras que permitan la caracterización de suelos del área de estudio, a través de la identificación y cuantificación de metales y metaloides. *Diario Oficial de la Federación*, Norma Oficial Mexicana 6/03/2017.
- NOM-147-SEMARNAT-SSA1-2004. 2007. Norma Oficial Mexicana que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por Ag, As, Ba, Br, Cd, Cr (VI), Hg, Ni, Pb, Se, Tl y/o V. *Diario Oficial de la Federación* Norma Oficial Mexicana 2/03/2007.
- Olvera-Olvera, C.R., L. Fernández-Badillo, F.J. Callejas-Jiménez, J.C. Iturbe-Morgado & I. Goyenechea. 2021. Herpetofauna de la sierra de las Navajas En: La biodiversidad en Hidalgo. Estudio de Estado. CONABIO, México, Pp. 276-283.
- Quesada, R.J., R.J. McCleary, D.J. Heard & H.B. Lillywhite. 2014. Non-lethal sampling of liver tissue for toxicologic evaluation of Florida cottonmouths snakes, *Agkistrodon piscivorus conanti*. *Ecotoxicology* 23:33-37.
- Rebón-Gallardo, F., O. Flores-Villela & D.R. Ortiz-Ramírez. 2015. Predation of nestling house finches (*Haemorhous mexicanus*) by a dusky rattlesnake, *Crotalus aquilus*, in Hidalgo, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86:550-552.
- Schneider, L., W.A. Maher, A. Green & R.C. Vogt. 2013. Mercury contamination in reptiles: an emerging problem with consequences for wild life and human health. Pp. 173-232. In K.-H. Kim & R.J.C. Brown (Eds.), In: Mercury: Sources, Applications and Health Impacts. Nova Science Publishers, Inc.
- SEMARNAT. 2018. Programa de Acción para la Conservación de las Especies: Serpientes de Cascabel (*Crotalus spp.*). SEMARNAT/CONANP, México.
- Servicio Geológico Mexicano (SGM). 2018. Panorama minero del estado de Hidalgo. Secretaría de Economía. Ciudad de México, México.
- Sutton, D. & N. Harmon. 1976. Fundamentos de Ecología. Editorial Limusa, Ciudad de México, México. 293 p.
- Uetz, P., & Hosek, J. 2015. The Reptile Database. <http://www.reptile-database.org>. [Consultado en mayo 2022].
- USEPA. 1982. Method 6010D (SW-846) Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Revision 2. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Cincinnati, Ohio, USA.
- USEPA. 2007. Method 7471B (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils, Revision 1. Washington, DC.
- Velásquez, R.E. 2019. Ecología poblacional de mamíferos pequeños de un policultivo tradicional cafetalero de la región de Pluma Hidalgo, Oaxaca, México. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México.

