



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS VERACRUZ

POSTGRADO EN AGROECOSISTEMAS TROPICALES

**HISTORIA DE VIDA Y GENÉTICA CUANTITATIVA DE CUATRO
POBLACIONES DEL COCODRILO DE PANTANO (*CROCODYLUS
MORELETII*) BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO EN EL
TRÓPICO MEXICANO**

RICARDO SERNA LAGUNES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

TEPETATES, MANLIO FABIO ALTAMIRANO, VERACRUZ
2010

La presente tesis, titulada: **Historia de vida y genética cuantitativa de cuatro poblaciones del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) bajo condiciones de cautiverio en el trópico mexicano**, realizada por el alumno: **Ricardo Serna Lagunes**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

AGROECOSISTEMAS TROPICALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: _____
DR. PABLO DIÁZ RIVERA

ASESOR : _____
DR. ARTURO PÉREZ VÁZQUEZ

ASESOR : _____
DR. FERNANDO CLEMENTE SÁNCHEZ

ASESOR : _____
DR. JUAN LORENZO RETA MENDIOLA

Tepetates, Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, 17 de Febrero de 2010.

HISTORIA DE VIDA Y GENÉTICA CUANTITATIVA DE CUATRO POBLACIONES DEL COCODRILO DE PANTANO (*Crocodylus moreletii*) BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO EN EL TRÓPICO MEXICANO.

Ricardo Serna-Lagunes, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2010

Se evaluó la variación morfológica, crecimiento corporal, estructura, variación genética y tamaño efectivo de población (N_e) de cuatro poblaciones de *Crocodylus moreletii*, manejadas en la UMA Cacahuatal, situada en Veracruz, México. La variación morfológica y el crecimiento corporal se evaluaron aplicando un análisis multivariado de covarianza (MANCOVA) y un análisis de varianza (ANOVA), respectivamente. La descripción de la estructura genética se realizó acorde a los principios de Hardy-Weinberg y se evaluó la variación genética con un análisis de varianza molecular (AMOVA), que se corroboró con los estadísticos F . El N_e se determinó a partir del total de cocodrilos reproductivos y se obtuvo la tasa de incremento de endogamia. La población de Villa Juárez fue morfológicamente diferente a las otras poblaciones ($P < 0.05$). Los cocodrilos crecieron de manera diferente entre poblaciones ($P < 0.05$). El polimorfismo fue de 100 %, encontrándose la mayor variación genética dentro de poblaciones (101,1 %; $F_{ST} = - 0.006$). Las poblaciones de Puente Chilapa y Puerto Vallarta están en riesgo de endogamia. Se concluye que la variación morfológica y del crecimiento corporal se debe a factores de manejo, la variación genética a mutaciones, deleciones/inserciones en el ADN y el riesgo de endogamia a la relación desigual de sexos.

Palabras clave: morfología, crecimiento corporal, estructura genética poblacional, variación genética, tamaño efectivo de población.

LIFE HISTORY AND QUANTITATIVE GENETICS OF FOUR POPULATIONS OF MORELET'S COCODRILE (*Crocodylus moreletii*) LOW CONDITIONS OF CAPTIVITY IN THE MEXICAN TROPICS

Ricardo Serna-Lagunes, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2010

The morphological variation, such as body growth, structure, genetic variation and effective population size (N_e) were evaluated from four populations of *Crocodylus moreletii*, managed in the UMA Cacahuatal, located in Veracruz, Mexico. Morphological variation and the body growth were assessed using a multivariate analysis of covariance (MANCOVA) and analysis of variance (ANOVA), respectively. The description of the genetic structure was performed according to the principles of Hardy-Weinberg and genetic variation was assessed with an analysis of molecular variance (AMOVA), which was confirmed with F statistics. The N_e was determined from the total of reproductive crocodiles and obtained the rate of increase of inbreeding. The population of Villa Juarez was morphologically different to the other populations ($P < 0.05$). The crocodiles grew differently among populations ($P < 0.05$). The polymorphism was 100%, found the most variation within populations (101.1%; $F_{ST} = -0.006$). The populations of Puente Chilapa and Puerto Vallarta are at risk of inbreeding. It can be concluded that the morphological variation and body growth is due to management factors, genetic variation to mutations, deletions/insertions in the DNA and the risk of inbreeding to a ratio of sexes inequality.

Key words: morphology, body growth, genetic structure, genetic variation, effective population size.

Dedico ésta tesis:

A Dios Padre, que siempre está cuidándome en todo momento.

A mi amada madre, la Sra. Silvia, quien ha sabido guiarme por el buen camino, y que con todo su amor, siempre me ha apoyado lo suficiente para tener lo indispensable.

Te quiero mucho.

Al Sr. Florentino, por que en su papel de padre siempre me ha brindado consejos que me han servido para la toma de decisiones. Gracias por los sabios consejos.

Con respeto y admiración.

A mis tíos, ejemplo de matrimonio: María Elena y José Rafael,

y a mis primos: María Irene (y su esposo Fernando),

María Paulina, Luis Joaquín y José Rafael.

Por el simple hecho de esperar mi regreso.

A toda mi familia, en especial a mi abuela Columba Lagunes.

Por el cariño y cobijo que siempre muestran.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados por formarme académicamente, al Campus Veracruz por forjarme como profesionista en Agroecosistemas Tropicales, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por facilitar la beca para realizar los estudios de posgrado (becario 211442) y al Sistema Estatal de Becas del Gobierno del Estado de Veracruz, por becarme para culminar el posgrado; a la Línea Prioritaria de Investigación 11 (Sistemas de Producción Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola y Pesquera), al Campus Veracruz y al Laboratorio de Sistemática Molecular del Instituto de Ecología, A. C. por financiar y proporcionar lo necesario para realizar este trabajo de investigación.

Al T. A. Jesús M. Cota, responsable técnico de la UMA Cacahuatal, por depositar su confianza en el Campus Veracruz, y en particular en un servidor para desarrollar esta investigación; además, por su amistad, convivencia durante el muestreo y por compartir los conocimientos del manejo del cocodrilo de pantano; también por el apoyo que me brindó el Biól. Manuel García, Don Manuel, Fidel, Hugo y Aldo (UV) para el manipuleo de los cocodrilos durante el trabajo de campo.

A mi Profesor Consejero, el Dr. Pablo Díaz Rivera, por estar pendiente del avance de esta investigación; por sus conocimientos transmitidos, espacio brindado, motivación inicial y durante la Maestría, confianza e invaluable amistad. Un agradecimiento especial a mi Consejo Particular, que en todo momento dirigió y guió mi programa académico y el trabajo de investigación; por la amistad y comentarios que coadyuvaron a mejorar esta tesis.

En particular agradezco a los doctores: Dr. J. Jaime Zúñiga Vega de la UNAM, porque influyó en mi formación profesional y brindó su tiempo para el desarrollo del Capítulo I, y a la Dra. Dolores González del Instituto de Ecología, A. C., por su confianza, permitir trabajar en su laboratorio y facilitar lo necesario para el desarrollo y análisis del Capítulo II. Les agradezco por toda su paciencia y conocimientos vertidos en mí y por iniciarme en el campo de la investigación genético-poblacional.

A los profesores del Programa de Agroecosistemas Tropicales: simplemente por el hecho de aprender de ellos; así como a los doctores: Eusebio Ortega, Gustavo López, Catarino Ávila, Ponciano Pérez, Cesareo Landeros, Felipe Gallardo, Octavio Ruíz, Mónica Vargas, Pernilla Fajerson, Alejandra Soto, Eliseo García, Alejandro Alonso, José y Jorge L. Collado con quienes conviví y por la imparcialidad de sus comentarios.

A mis amigos y compañeros: Carlos Llarena, por recomendarme y motivar a estudiar esta Maestría, a Diego Gómez, por estar en todo momento y por su compañía y a Leticia Bernal, que con sus consejos, me ha recomendado a nunca dejar los planes a medio camino. Gracias a los tres. Al Dr. Julio Vilaboa Arroniz, por su confianza, amistad, convivencia y atención mostrada, y por las pláticas acerca de los agroecosistemas, y al Dr. Pedro Zetina Córdoba, por su transmisión de experiencias de los agroecosistemas.

A mis compañeros de generación y posgrado: Blanca Flor, Hugo Rodríguez, Anabel Cruz, Manuel Mena, Gerardo Aguilar, Karla Román, Lupita Arcos, Carolina Flota y Bernardino Candelaria, por la dicha de conocerlos, convivencia, amistad y confianza, sobre todo, por el intercambio de saberes en el salón de clase. A Ismael Quiroz, Virginia Oros, Iván Zavala, Rafaela Mendoza, Gervasio Saucedo, Amparo Albalat, Noel y MariCruz, Sergio y Lluvia, Verónica Rosales, Magda Cruz y Ricardo Martínez por hacerme más amena la estancia en el Campus.

Finalmente agradezco a la administración del Campus Veracruz dirigida, a las secretarías (Fabiola, Laura y Rosario), y a los trabajadores del Campus por su amistad y apoyo brindado.

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Planteamiento del problema.....	6
1.1 Fragmentación y contaminación del hábitat.....	6
1.2 Captura, caza y comercio ilegal.....	7
1.3 Problemática en los sistemas de producción de cocodrilos.....	8
2. Objetivos.....	10
3. Hipótesis.....	11
4. Revisión de literatura.....	12
4.1 Manejo de la fauna silvestre.....	12
4.2 Teoría de sistemas y enfoque de agroecosistemas.....	13
4.3 <i>Crocodylus moreletii</i>	15
4.3.1 Aspectos reproductivos.....	16
4.3.2 Alimentación y depredadores de la especie en vida libre.....	18
4.3.3 Descripción morfológica.....	19
4.3.4 Distribución geográfica.....	20
4.3.5 Distribución geográfica en el estado de Veracruz.....	21
4.3.6 Estatus de conservación.....	22
4.4 Variación morfológica.....	23
4.5 Crecimiento corporal.....	25
4.6 Estructura y variación genética.....	26
4.7 Tamaño efectivo de población (N_e).....	27
5. Literatura citada.....	28
CAPÍTULO I. VARIABILIDAD MORFOLÓGICA Y CRECIMIENTO CORPORAL DE CUATRO POBLACIONES DE <i>Crocodylus moreletii</i> BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO	41
1.1 Introducción.....	43
1.2 Materiales y métodos.....	45
1.3 Resultados.....	49
1.4 Discusión.....	54
1.5 Conclusiones.....	59
1.6 Literatura citada.....	60
CAPÍTULO II. ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL, VARIACIÓN GENÉTICA Y TAMAÑO EFECTIVO DE POBLACIÓN DE CUATRO POBLACIONES DE <i>Crocodylus moreletii</i> MEDIANTE MICROSATÉLITES	64
2.1 Introducción.....	66
2.2 Materiales y métodos.....	69
2.3 Resultados.....	78
2.4 Discusión.....	83
2.5 Conclusiones.....	88
2.6 Literatura citada.....	89

6. Discusión general.....	95
6.1 Análisis de la variación morfológica.....	95
6.2 Variación en el crecimiento corporal.....	96
6.3 Estructura genética poblacional.....	97
6.4 Variación genética poblacional.....	98
6.5 Tamaño efectivo de población.....	98
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES.....	99
Conclusiones.....	99
Recomendaciones.....	100
Apéndice 1.....	103
Apéndice 2.....	109
Apéndice 3.....	110

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Valores promedio por sexo (\pm desviación estándar) de las medidas morfométricas de cuatro poblaciones en cautiverio de <i>C. moreletii</i> . Las unidades de medición de todas las variables son centímetros. Entre paréntesis se indican los valores mínimos y máximos observados.....	49
Cuadro 2. Tasa de crecimiento corporal promedio (TC \pm desviación estándar) para hembras y machos de tres poblaciones en cautiverio de <i>C. moreletii</i> . Las TC se reportan en tres unidades diferentes (mm/día, cm/día y cm/mes) para efectos comparativos con el crecimiento de otras especies.....	52
Cuadro 3. Tamaño (en pares de bases) mínimo y máximo de los alelos obtenidos por loci en cada población. Se presenta la diversidad genética y su desviación estándar (\pm), entre paréntesis la suma de cuadrados de la frecuencia haplotípica y la diversidad haplotípica.....	78
Cuadro 4. Número de alelos por loci por población (A), media y desviación estándar (\pm) y total de alelos de las cuatro poblaciones en estudio.....	79
Cuadro 5. Heterocigosidad observada (H_o), esperada (H_e) y esperada de la población total (H_t); D_{st} = diferenciación genética absoluta entre las subpoblaciones de la población total; G_{st} = índice de diferenciación genética relativa entre las subpoblaciones respecto a la diversidad genética encontrada en la población total; G_{IS} = estadístico análogo al estadístico F_{IS} de Wright.....	80
Cuadro 6. Resultados del Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) entre dos grupos. Se presentan los grados de libertad, la suma de cuadrados, los componentes de varianza y el porcentaje de variación entre grupos, entre las poblaciones dentro de grupos y dentro de poblaciones.....	81
Cuadro 7. Resultados de las estimaciones de los estadísticos F y sus relaciones de variación.....	81
Cuadro 8. Estructura de sexos por población, Número total de cocodrilos reproductivos, Tamaño efectivo de población y Tasa de cambio en el coeficiente de endogamia.....	82

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Crocodylus moreletii</i> en el agroecosistema UMA Cacahuatal. Los ejemplares expuestos están categorizados como sub-adultos y adultos.....	16
Figura 2. Efecto de la interacción entre poblaciones y sexo sobre la longitud total (LT) de <i>C. moreletii</i> . Se muestran las medias ajustadas por la covariable longitud hocico-cloaca que se derivaron del MANCOVA. Las barras denotan intervalos de confianza (95%) que indican que no existen diferencias significativas entre las poblaciones; solo se detectó diferencias significativas ($P < 0.033$) entre sexos de la población de Villa Juárez.....	51
Figura 3. Tasas de crecimiento promedio (en cm/día) de machos y hembras por población.....	52
Figura 4. Tasas promedio de crecimiento corporal (cm/día) ajustadas por el efecto de la talla a partir del ANCOVA. Se muestran datos por población y por sexo. Las barras denotan intervalos de confianza (95 %) que indican que existen diferencias significativas respecto a su patrón de crecimiento corporal entre poblaciones.....	53
Figura 5. Imagen de los gels que contienen los alelos que estuvieron presentes por población.....	74
Figura 6. Imagen del cálculo del tamaño (en pares de bases) de los alelos presentes por población.....	74

INTRODUCCIÓN GENERAL

Recientemente se ha hecho hincapié sobre la importancia de los estudios genético-poblacionales, principalmente como una premisa esencial para el manejo eficiente de cualquier población de fauna silvestre (Lemos-Espinal *et al.*, 2005). Según Stearns (1992), para realizar un análisis integral sobre alguna especie de interés, debe abordarse a partir de cuatro elementos fundamentales: 1) la demografía, 2) la genética cuantitativa, 3) los caracteres de historia de vida y 4) los aspectos históricos y filogenéticos. El primero se refiere a la dinámica de las poblaciones, el segundo se basa en responder las preguntas: ¿Cuánta variación se debe al efecto ambiental?, ¿Cuánta al componente genético? y ¿Cuánta a la interacción entre genotipo-ambiente?; la tercera engloba los aspectos reproductivos, de sobrevivencia y de crecimiento corporal entre poblaciones y especies, en relación a su distribución geográfica, y el último se refiere a la sistematización de las especies a escala evolutiva y filogenética. En este contexto, algunos elementos propuestos por Stearns (1992) se han aplicado a *Crocodylus*, sin embargo no se ha realizado alguna evaluación que integre dos o más de éstos elementos fundamentales.

García-Grajales *et al.* (2007), proponen que un análisis demográfico para *Crocodylus* debe incluir información sobre su densidad y abundancia a través de los años, respecto a la estructura de clases de edades y su proporción de sexos; información necesaria para proponer planes de conservación y manejo (Meraz *et al.*, 2008). Por otro lado, los análisis de genética cuantitativa en *Crocodylus*, están enfocados a conocer los índices de estructura genética poblacional, pero específicamente se basan en determinar los factores causales de variación inter e intrapoblacional. Por ejemplo, en las investigaciones realizadas en especies como *C.*

niloticus (Flint *et al.*, 2000), *C. rhombifer*, *C. siamensis* y *C. porosus* (FitzSimmons *et al.*, 2002), *C. moreletii* (Dever y Densmore, 2001; Dever *et al.*, 2002), *C. acutus* (Porras *et al.*, 2008). En referencia al crecimiento corporal de *Crocodylus*, este ha sido uno de los caracteres de historia de vida más estudiados (Ramírez-Perilla, 1991; Pérez y Rodríguez, 2005; Pérez y Escobedo-Galván, 2007, Meraz *et al.*, 2008); relacionado con sus estructuras morfológicas (Montague, 1984; Hall y Portier, 1994) y con la etapa de desarrollo (ontogenia) (Verdade, 1997; 2000); información que ha permitido conocer los factores que afectan su desarrollo corporal, principalmente bajo condiciones de cautiverio (Meraz *et al.*, 2008). Finalmente, el análisis histórico y filogenético ha sido enfocado a conocer las relaciones entre las especies vivientes de los Crocodylia. En este sentido, los aspectos históricos describen las causas de su distribución en la región intertropical. Por otro lado, las relaciones filogenéticas se enfocan a definir el número de especies actuales de cocodrilos (Densmore, 1983) y su relación con las especies ancestrales, las del suborden Mesosuchia, que derivaron de los protosuchios del Triásico superior (hace aproximadamente 195 millones de años). Actualmente existen discrepancias en las relaciones filogenéticas (Poe, 1996) y en el número de especies que constituyen el orden Crocodylia (Rodríguez, 2000), aún cuando el análisis de agrupación se realice con caracteres morfológicos (Brochu, 2000), con información molecular (Densmore y White, 1991) o con la combinación de ambos (Densmore y White, 1996). Algunos trabajos describen 27 especies ó subespecies (Taplin, 1984; Bellairs, 1987), pero la hipótesis más convincente al respecto es la propuesta por King y Burke (1989), quienes indican que el orden Crocodylia está compuesto por 23 especies agrupadas en tres sub-familias, siendo estas: Alligatoridae, Gavialidae y Crocodylidae. Ésta última agrupa a los géneros *Tomistoma* y *Crocodylus*.

El género *Crocodylus* incluye a *Crocodylus moreletii*, una de las tres especies de cocodrilo que se distribuye en México; especie que fue sometida a una gran presión de caza furtiva a mediados del siglo XX, conduciendo sus poblaciones a drásticos descensos demográficos (Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo, 1970) hecho por el cual se decreto su veda (Álvarez del Toro y Sigler, 2001); además de que *C. moreletii* es una especie emblemática de los ecosistemas tropicales donde se distribuye geográficamente (Casas-Andreu, 1995), actualmente se ha convertido en una especie de interés comercial por su piel, carne y aceite (Instituto Nacional de Ecología, 1999; Casas-Andreu, 2000; Domínguez-Lazo, 2006), por lo que una de las estrategias para su aprovechamiento y conservación son las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre, mejor conocidas como UMA's (Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, 1997; Instituto Nacional de Ecología, 2000).

Tomando en cuenta los elementos fundamentales planteados por Stearns (1992), -a excepción de la demografía y los aspectos históricos y filogenéticos- en esta investigación realizamos una evaluación integral de los caracteres de historia de vida, como es el crecimiento corporal y su relación con la morfología, y sobre los principales aspectos genético-cuantitativos de cuatro poblaciones de *Crocodylus moreletii* que se encuentran bajo condiciones de cautiverio en una UMA ubicada en el trópico mexicano.

La presente investigación se concibe en el enfoque de sistemas, definido como la aplicación del método científico a problemas relacionados con sistemas complejos, cuya finalidad es analizar las partes que integran el sistema como unidad. En este contexto, la concepción del enfoque de sistemas aplicado al manejo de la fauna silvestre (Grant *et al.*, 2001), surge a partir

de observar a la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) como un sistema que presenta un conjunto de elementos relacionados dinámicamente para lograr un objetivo (principalmente antropocéntrico). Particularmente, este trabajo se ha basado en el enfoque de agroecosistemas (Martínez-Dávila y Pérez-Vázquez, 1999), como un sistema ecológico modificado por el hombre para el aprovechamiento de *C. moreletii*, además de perseguir fines de conservación. Dicho agroecosistema es dinámico, las actividades están determinadas por un consejo administrativo (representado por un técnico o controlador) y está limitado a nivel de granja. En este contexto, y como parte de un enfoque sistémico, los objetivos de esta investigación son: 1) Evaluar las posibles variaciones en los caracteres morfológicos y el crecimiento corporal entre sexos, dentro y entre poblaciones. 2) Evaluar la estructura genética poblacional, sus componentes de variación y el tamaño efectivo de población; éste último como componente para promover la conservación genética de cuatro poblaciones de *C. moreletii* mantenidas en la UMA Cacahuatal, con la finalidad de generar recomendaciones para su manejo y conservación.

Este documento de tesis está estructurado inicialmente por la introducción general, el planteamiento del problema por el que surge esta investigación, los objetivos e hipótesis planteadas. En el apartado de revisión de literatura se expone el marco teórico de referencia que se utilizó para el desarrollo teórico-conceptual de la presente tesis. En el Capítulo I se aborda la evaluación de la variabilidad morfológica y el crecimiento corporal de ejemplares de la especie en estudio. Dicho capítulo está dirigido principalmente a responder la pregunta: ¿De qué manera las condiciones del manejo en cautiverio están contribuyendo a provocar variación en los caracteres morfológicos y en el crecimiento corporal en cuatro poblaciones de

C. moreletii de diferentes procedencias y nacimiento y que se mantienen bajo las mismas condiciones de cautiverio?; en este mismo capítulo se argumenta sobre los factores genéticos que posiblemente estén moldeando los caracteres morfológicos y se exponen los factores de manejo en cautiverio que probablemente están diferenciando el crecimiento corporal de las poblaciones. En el Capítulo II se analiza la estructura genética poblacional, la variación genética a diferentes escalas jerárquicas de variación y se determina el tamaño efectivo de población de las cuatro poblaciones de *C. moreletii* mantenidas en cautiverio en la UMA Cacahuatal; este capítulo se desarrolla a partir de la descripción de la estructura genética poblacional, además de la estimación de variabilidad genética dentro y entre las poblaciones analizadas; como una propuesta de conservación genética para la especie, se determina el tamaño efectivo de población y se desarrolla con fines de su aplicación como un elemento necesario para la cría de cocodrilos. Posteriormente, se retoman los resultados obtenidos de los dos capítulos y se genera la discusión general de esta tesis; discusión que está formulada en un sentido integral sobre las posibles relaciones existentes entre los resultados encontrados. Finalmente, se exponen las conclusiones y recomendaciones que se desprendieron del presente estudio.

1. Planteamiento del problema

De las 23 especies de cocodrilos que se distribuyen alrededor del mundo, 13 se encuentran dentro de alguna categoría de riesgo en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUNC por sus siglas en inglés, 2006). Aún a pesar de las medidas y estrategias de conservación de *C. moreletii* en México, la problemática histórica reportada y recurrente, pone constantemente en riesgo a la especie, tales como la fragmentación y contaminación de su hábitat, su captura, caza y comercio ilegal.

1.1 Fragmentación y contaminación del hábitat

De manera general, tanto para *C. moreletii*, así como para otras especies, la fragmentación y contaminación del hábitat causa desequilibrios ecológicos, enfermedades y por consiguiente, la muerte de individuos, manifestándose en la disminución de sus poblaciones.

La fragmentación del hábitat es la principal causa de la disminución poblacional de los cocodrilianos (Instituto Nacional de Ecología, 1999). Anualmente, grandes extensiones de áreas como humedales y manglares, pantanos, ciénegas, ríos, estuarios y vegetación ribereña son transformadas para actividades antropocéntricas. Este cambio de uso de suelo para vivienda, actividades agrícolas y ganaderas, modifican, alteran y eliminan lugares de reproducción de *C. moreletii*. Además el hábitat de la especie sufre alteraciones como resultado del desarrollo urbano ó de la creación de infraestructura industrial y de servicios (Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, 1997; Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2009). Con este escenario, modificar la estructura del paisaje conlleva efectos sobre

eventos reproductivos, incremento en la mortalidad, eliminación de corredores biológicos y dinámica de dispersión y flujo genético entre poblaciones (Forman, 1995; Bohonak y Jekins, 2003; Cedeño-Vázquez, 2008).

Gran parte de los desechos agrícolas, industriales y domésticos se vierten y sedimentan en los cuerpos de agua permaneciendo allí durante años, y en ocasiones interfieren de manera letal con los ciclos biológicos de especies acuáticas. Por ejemplo, en los alrededores del hábitat de *C. moreletii* donde se realizan actividades como la agricultura, se ha ocasionado la contaminación de acuíferos y aguas superficiales, cuya problemática se ve reflejada por el aumento de las concentraciones y residuos de metales pesados y pesticidas agrícolas, que han sido detectados en huevos y tejido de especímenes de *C. moreletii* (Pepper *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2006; Loa-Loza, 2007; Rainwater *et al.*, 2007 a, b; González, 2008).

1.2 Captura, caza y comercio ilegal

La captura, caza y el comercio ilegal de *C. moreletii* está relacionado principalmente con la falta de opciones de desarrollo económico en las zonas donde éste habita, desconocimiento del marco legal vigente, escasa vigilancia y al incremento en la demanda de pieles de cocodrilos (Instituto Nacional de Ecología, 1999). Por ejemplo, la demanda de la piel de *C. moreletii* ha aumentado debido a su reciente introducción en el mercado nacional e internacional, ya que éste la considera de excelente calidad.

En ciertos casos, donde los hábitat de *C. moreletii* se encuentran circundados de comunidades rurales indígenas, en donde viven un gran número de cazadores furtivos, existe una mayor

incidencia de prácticas ilegales, y por consiguiente, una gran cantidad de ejemplares adultos que están siendo eliminados debido al valor de su piel en el mercado (Zamudio *et al.*, 2005). El cazar ilegalmente individuos adultos (mayores de 1.5 metros de longitud) surte un efecto devastador en las poblaciones, ya que su distribución de edades se asemeja a una pirámide; es decir, una mayor proporción de juveniles garantiza la estabilidad de la población, pero no se garantiza el desarrollo de la población si solo se aprovechan los adultos, ya que éstos se presentan en menor proporción y son los que contribuyen a la formación de las nuevas generaciones.

1.3 Problemática en los sistemas de producción de cocodrilos

La crianza de cocodrilos con fines comerciales es una práctica relativamente nueva en México. Dicha industria se basa en la cría de cocodrilos, cuya finalidad principal es el comercio de su piel y carne y recientemente la comercialización de cráneos y aceite. Generalmente, el principal problema en los sistemas de producción es el tiempo que se lleva para la obtención del producto (Hutton y Webb, 2007).

El alimento es uno de los componentes básicos para el desarrollo de los cocodrilos, ya que este contribuye en un 70 % al desarrollo corporal (Hutton y Webb, 2007). El problema radica en que no se han establecido los requerimientos nutricionales para cocodrilos, en específico para *C. moreletii*, ya que no se han conducido estudios con ese fin. También se menciona que mantener un grupo de ejemplares reproductivos puede resultar oneroso, ya que se necesitan extensiones significativas de terreno y costos de construcción elevados, además de la alimentación, agua y manejo continuo. Por otro lado, el apareamiento en cautiverio puede

tardar varios años en llevarse a cabo, debido a los comportamientos etológicos de la especie. Sin embargo, una solución para esto es el establecimiento de grupos compatibles de reproductores.

Normalmente, el crecimiento en cocodrilos tiene un comportamiento exponencial y esto está relacionado con la temperatura del agua, aire y del sistema de producción, calidad y frecuencia del alimento, densidad, entre otros factores. Si la curva de crecimiento no se presenta de manera exponencial, puede ser un indicio de que algo no está funcionando de manera adecuada. Las bajas tasas de crecimiento, es el factor principal que ha provocado pérdidas en los sistemas de manejo de cocodrilos (Hutton y Webb, 1992).

En lo que respecta a la UMA Cacahuatal, se ha observado que existen problemas en el desarrollo corporal de *C. moreletii*, desde el nacimiento hasta su finalización. Dicha problemática se refleja en diferencias en caracteres morfológicos, lo que conlleva a obtener pieles de baja calidad debido a su distorsión en el patrón de escamas; además, algunos ejemplares presentan tallas reducidas, por lo que su mantenimiento es más largo en tiempo, representando un gasto mayor para la explotación. Lo anterior puede ser reflejo de factores ambientales, de manejo o genéticos. Por estas razones, la presente investigación tiene la finalidad de generar información sobre la variabilidad morfológica, el crecimiento corporal y la variabilidad genética para un manejo adecuado y la conservación de la especie.

2. Objetivos

2.1 General

Evaluar la variación morfológica, el crecimiento corporal, la estructura, la variación genética y el tamaño efectivo de población de cuatro poblaciones del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) de diferente procedencia y criados bajo cautiverio en la UMA Cacahuatal, Veracruz.

2.2 Específicos

- Estimar la variación morfológica entre sexos, dentro y entre poblaciones.
- Comparar las tasas de crecimiento corporal entre sexos y entre poblaciones.
- Describir la estructura genética poblacional de las poblaciones.
- Estimar la variación genética entre las poblaciones.
- Determinar el tamaño efectivo de población de las cuatro poblaciones.

3. Hipótesis

3.1 General

Las poblaciones de *Crocodylus moreletii* nacidas en estado silvestre presentan diferencias respecto a las poblaciones nacidas en cautiverio, en relación a su morfología, crecimiento corporal y estructura genética, además que el tamaño efectivo de población (N_e) es diferente al tamaño censal (N) de cada población.

3.2 Particulares

- H1: Los caracteres morfológicos estimados en cada población variaran entre sexos y entre las poblaciones de *C. moreletii*.
- H2: Existe una tasa de crecimiento corporal diferencial entre poblaciones, pero la tasa de crecimiento entre sexos es similar.
- H3: La estructura genética poblacional para cada población presenta variabilidad a nivel intrapoblacional.
- H4: El tamaño efectivo de población de cada población es diferente su tamaño censal.

4. Revisión de literatura

4.1 Manejo de la fauna silvestre

Según la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, define a la fauna silvestre como “*los animales terrestres que subsisten sujetos a los procesos de selección natural, cuyas poblaciones habitan temporal o permanentemente en el territorio nacional y que se desarrollan libremente, incluyendo sus poblaciones menores que se encuentran bajo control del hombre, así como los animales domésticos que por abandono se tornen salvajes y por ello sean susceptibles de captura y apropiación*” (Diario Oficial de la Federación, 1988).

Por otro lado, *The Wildlife Society* define el concepto de manejo de fauna silvestre como: “la ciencia y el arte de hacer que la tierra produzca una cosecha sostenida de animales silvestres que subsisten en vida libre para lograr objetivos de beneficio social sin deteriorar el hábitat en que se desarrollan”.

En algunas regiones neotropicales, la fauna silvestre se ha utilizado para obtener beneficios económicos por la venta de animales vivos, pieles, conchas, carne, grasa, entre otros (Robinson y Redford, 1991). En México, el uso principal de la fauna silvestre ha sido fundamentalmente de subsistencia como complemento de la dieta de la población rural. Actualmente, el gobierno federal a través de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, plantea y promueve con fundamento en la Ley General de Vida Silvestre la conservación y el manejo sustentable de la vida silvestre, donde el manejo de la fauna silvestre ocupa un sitio determinante en el uso y aprovechamiento de las especies (Granados, 1985; Alvarado *et al.*, 1993; Viveros *et al.*, 1993).

Una manera de regular los recursos silvestres nacionales es a través de la estrategia nacional para la vida silvestre: el Sistema de Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (SUMA) cuyo propósito es contribuir a compatibilizar y a reforzar mutuamente la conservación de la biodiversidad con las necesidades de producción y desarrollo socioeconómico de México en el sector rural. El SUMA integra bajo un concepto común los sitios como: criaderos extensivos e intensivos de fauna silvestre, zoológicos, viveros y jardines botánicos; actualmente son denominados Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) cuyo objetivo es promover esquemas alternativos de producción compatibles con el cuidado del ambiente, a través del uso racional, ordenado y planificado de los recursos naturales renovables en ellas contenidos, frenando o revirtiendo los procesos de deterioro ambiental e intentan crear oportunidades de aprovechamiento que sean complementarias de otras actividades productivas convencionales (Instituto Nacional de Ecología, 2000).

4.2 Teoría de sistemas y enfoque de agroecosistemas

La Teoría General de Sistemas conceptualiza a los organismos cómo sistemas abiertos, por que mantienen un flujo constante y permanente de materia y energía. En este orden de ideas, el concepto imprime un pensamiento integral para su análisis cómo una totalidad. El sistema organismo está relacionado con otros sistemas inferiores y superiores que se encuentran organizados de manera jerárquica (Von Bertalanffy, 1981; 1991). En este sentido, el analizar sistemas biológicos ha resultado complejo. Sin embargo, el enfoque de sistemas ha permitido solucionar la complejidad de su análisis, ya que dicho enfoque permite la unión de diferentes campos del conocimiento (Checkland, 1981; Kast y Rosenzwaig, 1981); es decir, el enfoque

de sistemas abarca una amplia visión, a fin de analizar todos los aspectos, relaciones e interacciones del sistema en cuestión (Checkland, 1993). En este contexto, los problemas agrícolas han requerido ser analizados de manera integral, como un sistema complejo, razón por la cual, el enfoque de sistemas ha sido una herramienta, la cual involucra los aspectos económicos, biológicos y de manejo que interactúan en el sistema agrícola, conceptualizado como agroecosistema. Actualmente, el enfoque de sistemas ha sido fortalecido con diferentes enfoques disciplinarios, aplicando las ciencias básicas y aplicadas a fenómenos actuales desde una perspectiva de sistemas, a fin de interpretar y resolver el comportamiento de los sistemas (Ruíz-Rosado, 2006).

El desarrollo del enfoque de agroecosistemas surgió a partir de investigaciones que integran múltiples factores que confluyen en un sistema agrícola (Gliessman, 1990). El término agroecosistema está compuesto por las palabras agro y ecosistema, definidos como tierra fuente de producción y complejo natural constituido por materia y energía física y química, respectivamente. El enfoque de agroecosistemas ha utilizado para su análisis el enfoque reduccionista y holístico; éste último ha sido mayormente utilizado para analizar lo complejo de las interrelaciones dentro y entre agroecosistemas (Ruíz-Rosado, 2006).

El enfoque de agroecosistemas está sustentado en la concepción de sistemas aplicado a la agricultura, siendo la forma de observar a la realidad como un arreglo de componentes relacionados dinámicamente. Los agroecosistemas son definidos como sistemas ecológicos modificados por el hombre, que abarcan plantas y animales domesticados para la obtención de alimentos y otros satisfactores (Martínez-Dávila y Pérez-Vázquez, 1999). Dentro de esta

definición, cabe hacer mención que el manejo de la vida silvestre forma parte de los agroecosistemas, de la cual se mantiene cierto nivel de sostenibilidad del recurso (Campbell *et al.*, 1995).

En base a los conceptos arriba expuestos en este apartado, y para fines de aplicación teórico-conceptual de esta tesis, se relaciona el concepto de manejo de fauna silvestre con el concepto de agroecosistemas. Es decir, consideramos que la UMA y los agroecosistemas parten de los mismos principios, particularmente en la producción sostenida de animales manejadas por un controlador para la obtención de satisfactores. Una diferencia es que las UMA tienen un fin primordial de conservación de los recursos naturales y en este caso de la fauna silvestre, en específico de *C. moreletii*.

4.3 *Crocodylus moreletii*

La especie objeto de estudio en la que se centra la presente investigación es *Crocodylus moreletii* (Dumèril y Dumèril, 1851; Figura 1). El nombre común de esta especie varía acorde al lugar de su distribución geográfica, por lo que para México es reconocido con mayor frecuencia como *cocodrilo de pantano*, en las comunidades de origen náhuatl es conocido como *acuetzpalin* y en las mayas como *itzam can ain*; en Belice se le conoce como *cocodrilo de centro América y Belize crocodile*; en Guatemala como *Peten crocodile*; aunque la especie no se distribuye geográficamente en Estados Unidos de América, se le denomina *Morelet's crocodile* (Casas-Andreu y Guzmán-Arrollo, 1970). Así como muchos otros organismos son considerados especies representativas en sus respectivos ecosistemas (Kohn, 1989), *C.*

moreletii es una especie emblemática para los ecosistemas tropicales de México (Álvarez del Toro, 1974; Casas-Andreu, 1995).



Figura 1. *Crocodylus moreletii* en la UMA Cacahuatal. Los ejemplares expuestos están categorizados como sub-adultos y adultos.

4.3.1 Aspectos reproductivos

Los aspectos relacionados con la reproducción que a continuación se mencionan consisten en la talla a la madurez sexual, reproducción-ovoposición-anidación y los parámetros de incubación-eclosión de las crías del nido.

Tanto machos como hembras son semejantes externamente. Es decir, no existe dimorfismo sexual y maduran sexualmente después de los cinco años de edad (Instituto Nacional de Ecología, 1999; Álvarez del Toro y Sigler, 2001). Las hembras de *C. moreletii* pueden alcanzar la madurez sexual al tener una longitud total de 1.5 m (Platt *et al.*, 2008). Sin

embargo, hay ejemplares cautivos que se han reproducido con tallas de 1.35 m, lo que equivaldría a una edad de 18 años, según el modelo de Merediz (1999).

El Instituto Nacional de Ecología (1999), reportó que la reproducción inicia en febrero y concluye en mayo; en esta época se manifiestan los instintos de territorialidad entre machos y el incremento de la actividad glandular, necesarios para el apareamiento, asegurando así su selección de reproducción por las hembras y evitando con sus enfrentamientos, la reproducción de organismos enfermos o débiles. La temporada de anidación varía de acuerdo a la región donde se distribuye geográficamente, pero generalmente inicia en abril y concluye en junio, antes de la temporada de lluvias. Dependiendo del tamaño de la hembra, ésta puede ovipositar entre 20 a 40 huevos con una puesta por año, y son depositados en un nido que construye la hembra con vegetación seca como hojarasca y ramas. Las dimensiones del nido generalmente son de 1.5 m de diámetro por 0.9 m de profundo y éste puede localizarse desde el borde mismo del agua hasta 20 m tierra adentro, bajo los árboles y demás vegetación (Pérez-Higareda, 1980).

Durante el periodo de incubación es posible que la hembra cuide el nido celosamente permaneciendo cerca de éste hasta el nacimiento de las crías (Hunt, 1975; 1977). El tiempo de incubación depende de la temperatura y humedad. La temperatura de incubación oscila entre 28 a 32 °C y el nido puede presentar una humedad relativa promedio del 90 %. La temperatura interna del nido no permanece constante, y puede influir en el desarrollo embrionario y la determinación del sexo (Instituto Nacional de Ecología, 1999). En este sentido, la determinación del sexo de los neonatos está en función de la temperatura de incubación del

huevo (Lang y Andrews, 1994). Según Álvarez del Toro y Sigler (2001), mencionan que la incubación de los huevos puede durar de 75 a 80 días y los neonatos pueden presentar una longitud total media de 230 mm.

4.3.2 Alimentación y depredadores de la especie en vida libre

Se considera que los cocodrilos pueden consumir, dependiendo de su talla corporal, entre el 5 y 20 % de su peso vivo como alimento por semana (Instituto Nacional de Ecología, 1999). Para la especie se han reportado diversos depredadores, los cuales están relacionados con su clase de edad (Britton, 2002). El tipo y tamaño de las presas con que se alimenta en vida libre está en función de la talla del ejemplar (Pérez-Higareda *et al.*, 1989; Platt *et al.*, 2002). Por ejemplo, ejemplares neonatos se alimentan de insectos acuáticos, terrestres y voladores, pequeños crustáceos, caracoles, babosas y moluscos, principalmente (Álvarez del Toro y Sigler, 2001). Los ejemplares juveniles y sub-adultos se alimentan de peces, crustáceos, ranas y otros anfibios, así como de aves y pequeños mamíferos. Se ha encontrado que animales adultos se alimentan de serpientes, tortugas y mamíferos mayores como el tapir (*Tapirus bairdii*), vacas domésticas (*Bos taurus*) y borregos (Platt *et al.*, 2007). Navarro (2004), menciona que eventualmente cualquier tipo de organismo que se acerque al agua puede ser depredado; incluso seres humanos (Marlin *et al.*, 1995).

Britton (2002), menciona que los depredadores dominantes de huevos de *C. moreletii* son mamíferos como el mapache (*Procyon lotor*) y el coatí (*Nasua narica*); aves como la cigüeña americana (*Mycteria americana*), el jabirú (*Jabiru mycteria*) y la garza azul (*Ardea herodias*). Por otro lado, aves de presa como el gavilán caminero (*Buteo magnirostris*) y el halcón guaco

(*Herpetoteres cachinnans*) se alimentan de ejemplares neonatos (Álvarez del Toro y Sigler, 2001). La tortuga mordedora (*Chelydra serpentina*) y la serpiente arroyera (*Drymarchon corais*) cazan a juveniles de *C. moreletii*. La tayra (*Eira barbara*) y el jaguar (*Panthera onca*) depredan ejemplares mayores, y a nivel inter-específico *C. acutus* desplaza y/o mata ejemplares más pequeños de *C. moreletii* (Navarro, 2004).

4.3.3 Descripción morfológica

Crocodylus moreletii tiene la punta del hocico redondeado y relativamente corto; presenta entre 13 a 14 y 15 dientes maxilares y mandibulares, respectivamente. La sutura interpremaxilar es más corta que el ancho sumado de los premaxilares; la sutura entre el premaxilar y el maxilar se encuentra de manera transversal. Presentan una hilera de escamas (entre 4 a 6) post-occipitales, dos pares de escamas nucales en tándem, la primera hilera con cuatro y la segunda con dos, las escamas del tronco separadas de las nucales; las primeras poseen osteodermos más o menos regulares, arreglados en 16 o 17 hileras transversales y de 4 a 6 longitudinales; las hileras laterales de las extremidades son lisas y aplanadas; poseen un fleco escamoso distintivo sobre los márgenes de ambos pares de extremidades. Los adultos presentan su dorso generalmente de color amarillo-verdoso pudiendo ser negro. Los juveniles presentan pequeños flecos amarillentos formando bandas cruzadas y la superficie ventral es blanca amarillenta sin marcas (Instituto Nacional de Ecología, 1999; Navarro, 2004).

Actualmente, los adultos pocas veces alcanzan una talla de 3 m de longitud total (LT) y su promedio varia entre 2 y 2.5 m. Sin embargo, existen reportes de cráneos de cocodrilos que corresponden a tallas de 3.5 m de LT (Álvarez del Toro y Sigler, 2001); la máxima talla

reportada ha sido de 4.16 m (Pérez-Higareda *et al.*, 1991), mientras que Merediz (1999) sugiere una talla teórica para la especie de 4.8 m. El tamaño al nacer es de 22 a 29 cm de longitud total. La longevidad aun no se ha determinado con exactitud, pero existen registros en el zoológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas de una hembra capturada en estado adulto, la cual ha vivido por más de 25 años en ese zoológico (Instituto Nacional de Ecología, 1999). Por otro lado, Stafford y Meyer (2000), reportan que en cautiverio pueden presentar una longevidad de 80 años y en vida silvestre entre 50 a 65 años. Esto se adjudica a la competencia sexual que existe en vida silvestre, cuyos individuos más jóvenes y fuertes pueden matar a individuos adultos y débiles.

4.3.4. Distribución geográfica

En Centroamérica, *C. moreletii* se distribuye en gran parte del territorio de Belice y al norte de Guatemala (Lee, 2000; Platt y Thorbjarnarson, 2000). En México, la especie se distribuye a lo largo de la costa del Golfo de México, desde el centro y posiblemente al norte de Tamaulipas, hasta los estados colindantes con el mar Caribe. Es decir, en los estados que conforman la península de Yucatán; su presencia ha sido reportada para los estados de Campeche, Chiapas, Oaxaca, Tabasco, Tamaulipas, San Luis Potosí, Veracruz, Quintana Roo y Yucatán (Ross, 1998). Los ecosistemas en los que habita la especie son arroyos, ciénegas, lagunas que están dentro de bosques y selvas, en ríos de corriente lenta, manglares y muy raras veces en ríos caudalosos; no existen reportes de su presencia en aguas salobres. Es común encontrarlo tanto en aguas claras como turbias, en zonas con abundante vegetación (Álvarez del Toro, 1974; Remolina, 1990).

En los hábitats como la selva baja caducifolia en la península de Yucatán, se pueden encontrar ejemplares aislados en pequeños cuerpos de agua, como lagunas o cenotes, a los cuales acceden gracias a la capacidad que tienen para realizar desplazamientos moderados por tierra. En dichos hábitats, los cocodrilos excavan cuevas de varios metros de longitud, que contienen una cámara ligeramente ancha que funge como respiradero; dichas cuevas son excavadas de manera paralela a la superficie del terreno, y sirven de refugio en las horas de mayor radiación solar durante el día (Navarro, 2004).

4.3.5 Distribución geográfica en el estado de Veracruz

Según Domínguez-Lazo (2006), para el estado de Veracruz se tiene un reporte histórico de 26 localidades donde se distribuye *C. moreletti*. Contrariamente, Powell (1971), informa que las poblaciones de *C. moreletti* en Veracruz habrían sido exterminadas. Una encuesta realizada por Lazcano (1982), a pescadores y cazadores de la zona centro del estado, reporta que avistan poblaciones silvestres aisladas de la especie. Delgado (1987), observó a diez ejemplares de *C. moreletii*, además de un macho y una hembra jóvenes en la laguna de Puente Chilapa, municipio de Tezonapa, Veracruz. Posteriormente, León y Domínguez (2003), confirman la presencia de la especie en el mismo sitio localizando un nido que contuvo 35 huevos y un conteo de 23 cocodrilos de distintas tallas. En la estación de biología tropical de Los Tuxtlas, la Universidad Nacional Autónoma de México en 1992 decreta la laguna Nixtamalapan, ubicada en el municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, como área de protección, la cría y el estudio de *C. moreletti*. Por su parte, Casas-Andreu (1995), reporta organismos de la especie en las cercanías de la laguna La Mancha y en los pantanales de la desembocadura del río Acula y Papaloapan.

Viveros y Rivera (2006), realizan un estudio ecológico de *C. moreletii* en las cuencas de los ríos Actopan y La Antigua. Reportan como sitios importantes para la conservación de la especie, las áreas como la laguneta y la laguna de la Mancha, el caño Gallegos, drenes y charcas de la cuenca del río Actopan, el río Paso San Juan y la laguneta del Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, que pertenecen a la cuenca del río La Antigua; también indican que los hábitats donde existe la presencia de la especie se encuentran severamente alterados.

4.3.6 Estatus de conservación

Desde el año de 1934, el gobierno mexicano declaró la veda para la captura de cocodrilos en varios estados del país, pero a partir de 1970, se decretó la veda total y permanente para las tres especies de cocodrilos que se distribuyen en México. Fue en ese mismo periodo cuando se iniciaron los programas de conservación y reproducción, y en el transcurso de los años ochentas, se estimuló el establecimiento de criaderos intensivos con fines comerciales con la finalidad de regular la explotación del recurso (Instituto Nacional de Ecología, 1999).

En 1968, la *World Wildlife Fund* brindó un donativo al Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables y al Instituto de Ciencias Naturales de Chiapas para que en conjunto realizaran investigaciones en poblaciones de *C. moreletii* e inicialmente se llevó a cabo una investigación sobre la restauración a escala comercial de las poblaciones de cocodrilos, se realizaron experimentos sobre su reproducción en cautiverio y se originaron los primeros estudios sistemáticos (Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo, 1970).

Actualmente, *C. moreletii* se considera como especie rara y sujeta a protección especial según la Norma Oficial Mexicana NOM-ECOL-059-SEMARNAT-2001 (Diario Oficial de la Federación, 1994, 2001). En un contexto internacional, desde el año 2000, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés), la cataloga en la lista roja, como una especie de bajo riesgo y dependiente de conservación (IUCN, 2006). También se encuentra en el Apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (CITES), que incluye especies que se encuentran en riesgo, cuyo comercio está sometido a una reglamentación estricta y se autorizan solamente bajo circunstancias excepcionales; actualmente, la autoridad en México ha enviado a la Conferencia de las Partes una propuesta para transferir la población mexicana de *C. moreletii* al Apéndice II de la CITES (CITES, 2008). En Guatemala, el estatus de la especie en el departamento del Peten en Guatemala, se ve amenazada por la pérdida de su hábitat, la caza ilegal y por la utilización de redes de pesca (Castañeda, 1997). En Belice, la especie presenta una recuperación sustancial, después de su protección legal desde 1981 (Platt y Thorbjarnarson, 2000).

4.4 Variación morfológica

La variación se define como la varianza en los caracteres medibles entre diferentes individuos o grupo de individuos; la variación morfológica se refiere a las diferencias fenotípicas, es decir, a las diferencias en las mediciones sobre los rasgos de la conformación corporal, dentro y entre poblaciones de individuos de la misma especie. En cocodrilos, la variación morfológica está relacionada con factores genéticos, área de origen, nutricionales, edad y estado de salud (Hall, 1989; Verdade, 1997; Milnes *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2006). En este

sentido, se desprenden varias preguntas: ¿Qué proporción de la variación morfológica se debe al factor genético?, ¿Cómo varían las diferentes características morfológicas y se correlacionan en función del ambiente? y ¿Cómo la variación morfológica se encuentra distribuida por razones geográficas?

Para el estudio de la variación morfológica se requiere de la especificación de ciertas propiedades o características biológicas y estadísticas. Si se requiere saber cuánta variación existe, se debe considerar una medida de variación que cuantifique cuán diferentes son los individuos entre sí, dentro y entre poblaciones de la misma especie. En cocodrilos se han evaluado caracteres craneales y su relación con otros caracteres corporales y se han utilizado técnicas estadísticas como análisis multivariados que han permitido dilucidar las diferencias morfológicas (Monteiro *et al.*, 1997; Monteiro y Soares, 1997; Piña *et al.*, 2007).

Diversas investigaciones en reptiles han demostrado que la variación morfológica está asociada con la temperatura, la humedad, la distribución latitudinal, longitudinal y altitudinal; de este modo, diferencias morfológicas entre poblaciones pueden indicar diferenciación genética; mientras que diferencias morfológicas dentro de poblaciones indican niveles locales de variabilidad genética (Zobel y Van Buijtenen, 1989; Begon *et al.*, 1990; Villegas, 2005). A pesar de que existen varios trabajos que relacionan la variación morfológica en cocodrilos (Verdade, 2000, 2003; Piña *et al.*, 2007), a la fecha no existen estudios formales que exploren la diferenciación morfológica de *C. moreletii* provenientes de distintas áreas de origen; información que puede ser utilizada para entender la respuesta adaptativa de la especie a las diferentes condiciones ambientales y al manejo en cautiverio.

4.5 Crecimiento corporal

El crecimiento corporal es un importante atributo fisiológico que se relaciona directamente con la condición física, edad, madurez sexual y área de origen (Stearns, 1992; Stearns *et al.*, 1991; Adolph y Porter, 1996). La tasa de crecimiento corporal de organismos ectotermos como los reptiles, puede verse afectada por diversos factores ambientales tales como: el alimento, la temperatura, la humedad y la competencia (Andrews, 1982, Zúñiga-Vega *et al.*, 2005). El crecimiento corporal en reptiles es exponencial y la tasa de crecimiento corporal representa generalmente una medida de la velocidad de cambio en la longitud corporal (Schoener y Schoener, 1978).

En el caso particular de cocodrilos bajo condiciones de manejo, su patrón de crecimiento corporal puede verse afectado particularmente por la dieta, la temperatura y la densidad poblacional (Joanen y McNease, 1981; Garnett y Murray, 1986; Pinheiro *et al.*, 1992; Pérez y Rodríguez, 2005; Poletta *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2009). En este sentido, Blohm (1973), menciona que los cocodrilos y caimanes pueden alcanzar una tasa de crecimiento corporal de 0.89 mm/día (2.67 cm/mes) y Bolton (1994), generaliza que los cocodrilos presentan tasas de crecimiento corporal de 4.6 cm/mes durante los dos primeros años de vida. La evaluación del crecimiento corporal de cocodrilos es importante desde la perspectiva económica del comercio de pieles, y también como una estrategia de manejo y conservación para estas especies (Pérez y Escobedo-Galván, 2007; Meraz *et al.*, 2008).

Existe información sobre el crecimiento corporal de *C. moreletii* en vida silvestre (Instituto Nacional de Ecología, 1999) y en cautiverio (Cremieux *et al.*, 2005), pero aún no existe una

evaluación sobre las condiciones del cautiverio que posiblemente estén afectando el crecimiento corporal de la especie, por lo que resulta importante conocer el efecto de esta condición y en su caso determinar las condiciones óptimas para su desarrollo.

4.6 Estructura y variación genética

La estructura genética se refiere a la composición del ADN, incluyendo el ADN nuclear, ribosomal y mitocondrial, además de los genomas de otros orgánulos de una especie o población; mientras que la variabilidad genética se refiere esencialmente a la diversidad polimórfica de los caracteres determinados genéticamente de una especie, población o entre poblaciones; dicha variación puede ser causada por mutación, recombinación y/o alteraciones en el cariotipo (Tamarin, 1996).

Tanto la estructura, como la variación genética en *Crocodylus* se han podido identificar a través de herramientas de biología molecular, mejor conocidas como marcadores moleculares, por ejemplo, los minisatélites (repeticiones en tandem de número variable; VNTR por sus siglas en inglés) en *C. palustris*, *C. porosus* y *Caiman crocodilus* (Lang *et al.*, 1993), RAPD (Randomly amplified polymorphic DNA) en *Crocodylus acutus* (Porrás *et al.*, 2008), y microsatélites (secuencias cortas repetidas, SSR por sus siglas en inglés) en *C. moreletii* (Dever y Densmore, 2001; Dever *et al.*, 2002). En particular, la técnica molecular de microsatélites ha sido utilizada con mayor frecuencia para realizar estudios genéticos en especies como *Alligator mississippiensis* (Glenn *et al.*, 1998), en *Crocodylus* (FitzSimmons *et al.*, 2001) y en especies de *Caiman* y *Paleosuchus palpebrosus* (Zucoloto *et al.*, 2006). Estos microsatélites consisten en repeticiones de nucleótidos de ADN distribuidos por todo el

genoma, presentando altas tasas de mutación y son selectivamente neutrales, por lo que pueden ser utilizadas para estimar la variabilidad genética de las poblaciones (Litt y Luty, 1989; Tautz, 1989; Tautz y Schlotterer, 1994). Estas regiones al ser identificadas, se procede a secuenciar las regiones proximales inicial y terminal, para el diseño de los primers respectivos, uno de avance y otro de reversa, estos elementos permiten que las regiones microsatélites puedan ser amplificadas por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés); (Tautz y Renz, 1984; Amos *et al.*, 1993; Strassmann *et al.*, 1996).

Generalmente la variación genética en poblaciones de *C. moreletii* distribuidas en Belice, está siendo influida por sub-división poblacional (Dever y Densmore, 2001), por la distancia geográfica relacionada con la deriva genética (Dever *et al.*, 2002) y por el tamaño efectivo de la población (McVay *et al.*, 2008). En este contexto, explorar la estructura y variación genética de poblaciones de *C. moreletii* distribuidas en México, resulta importante para generar planes de conservación genéticos *in situ* y *ex situ*.

4.7 Tamaño efectivo de población (N_e)

El tamaño efectivo de población es definido como un factor que determina la tasa de disminución de la heterocigosis: el número de heterocigotos en una población disminuirá a una tasa de $(1/2N)$, donde N es el tamaño poblacional (Wright, 1930).

Una consecuencia significativa de la explotación excesiva de los recursos naturales es la disminución de las poblaciones, que trae consigo, la pérdida de la diversidad genética. Por ejemplo, se ha observado que la recuperación demográfica de una población, en este caso de

C. niloticus, presentó una reducción en la variación genética como resultado de un aparente cuello de botella demográfico (Bishop *et al.*, 2009). Algo similar puede estar sucediendo con poblaciones de *C. moreletii*, cuyos descensos poblacionales sucedieron entre los años 1930 a 1970, afortunadamente, en la actualidad hay indicios de su recuperación (Domínguez-Lazo, 2006). Sin embargo, no se ha realizado un análisis exploratorio del N_e en *C. moreletii*. La mayoría de estudios genéticos realizados en la especie, intuyen que el N_e , es el principal factor histórico que surte efectos en la pérdida de la diversidad genética de la especie (Dever y Densmore, 2001; Dever *et al.*, 2002; Ray *et al.*, 2004; McVay *et al.*, 2008). En este sentido, se ha demostrado que cuando el tamaño efectivo de población se mantiene, la diversidad genética y la heterosigocidad se reduce con el paso de las generaciones (Bishop *et al.*, 2009).

Como se ha mencionado que el N_e es uno de los factores causales de deriva genética, la determinación de éste parámetro en el presente estudio es aplicado con la finalidad de conocer las tasas incremento de endogamia por generación, debido a los resultados que permiten intuir sobre los futuros problemas que trae consigo la endogamia, así como la importancia del mismo en la conservación genética de la especie bajo condiciones de cautiverio.

5. Literatura citada

- Adolph, S. C. y W. P. Porter. 1996. Growth, seasonality and lizard life histories: age and size at maturity. *Oikos* 77:267-278.
- Alvarado, J., I. Suazo, L. Ibarra, R. Zamora y G. Rodríguez. 1993. La iguana verde: conservación y utilización sostenible en la costa de Michoacán. *Ciencia y Desarrollo* 29:42-48.
- Álvarez del Toro, M. 1974. Los Crocodylia de México (Estudio Comparativo). Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. México. 70 p.

- Álvarez del Toro, M. y L. Sigler. 2001. Los Crocodylia de México. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables, Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. México. 134 p.
- Andrews, R. M. 1982. Patterns of growth in reptiles. *En: Biology of the reptilia. Physiology* D., C. Gans y F. H. Pough (eds.). Academic Press, Nueva York. Vol. 13. pp. 272-320.
- Amos, B., C. Schlotterer y D. Tautz. 1993. Social structure of pilot whales revealed by analytical DNA profiling. *Science* 260:670-672.
- Begon, H., Harper, J. L. y L. R. Townsed. 1990. *Ecología: Individuos, poblaciones y comunidades*. 2^{da} edición. Blackwell Scientific Publications, Oxford, United Kingdom. 381 p.
- Bellairs, A. A. 1987. The Crocodilia. *En: Wildlife Management. Crocodiles and Alligators*, Grahme J. W. Webb, S. C. Manolis, P. Whitehead (eds.). Surrey Beatty and Sons in Association with the Conservation Commission of the Northern Territory. Australia.
- Bishop, M. J., A. J. Leslie, S. L. Bourquin y C. O’Ryan. 2009. Reduced effective population size in an overexploited population of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *Biological Conservation* 142:2335-2341.
- Bohonak, A. J. y D. G. Jenkins. 2003. Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology Letters* 6:783-796.
- Bolton, M. 1994. La explotación del cocodrilo en cautividad. Italia: Guía FAO Conservación 22. 156 p.
- Blohm, T. 1973. Conveniencia de criar crocodrílidos en Venezuela con fines económicos y para prevenir su extinción. *Memorias del 1er Simposio internacional sobre fauna silvestre y lacustre amazónica*. Manaus, Brasil. 126 p.
- Britton, A. 2002. Crocodilian Species-Morelet’s Crocodile (*Crocodylus moreletii*) (Online). Crocodilian Species List. Accesado el 09/09/07 en: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/local/redirect.php/http://www.flmnh.ufl.edu/natsci/herpetology/brittoncrocs/csl.html>.
- Brochu, A. C. 2000. Phylogenetics relationships and divergence timing of *Crocodylus* based on morphology and the fossil record. *Copeia* 2000:657-673.
- Campbell C. L., Heck W. H., Neher D. A., Munster M. J. y Hoag D. L. 1995. Biophysical measurement of the sustainability of temperate agriculture. *En: The World Bank. Defining and measuring sustainability: The Biogeophysical Foundations*. The World Bank. pp. 252-273.

- Casas-Andreu, G. y M. Guzmán-Arroyo. 1970. Estado actual de las investigaciones sobre cocodrilos mexicanos. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico-Pesqueras, Serie Divulgación Biológica 3:1-50.
- Casas-Andreu, G. 1995. Los cocodrilos de México como recurso natural. Presente, pasado y futuro. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 46:153-162.
- Casas-Andreu, G. 2000. Hacia la conservación y manejo sustentable del lagarto o cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) en México. *En: La conservación y el manejo de caimanes y cocodrilos de América Latina*, L. M. Verdade y A. Larriera (eds.). Piracicaba, São Paulo, Brasil. pp. 27-45.
- Castañeda, M. F. J. 1997. Estatus de *Crocodylus moreletii* en el departamento de Peten, Guatemala. Reporte interno. Guatemala. 7 p.
- Cedeño-Vázquez, J. R. 2008. Genética de poblaciones, flujo genético e hibridación de *Crocodylus acutus* y *C. moreletii* en la península de Yucatán, México. Tesis Doctoral. El Colegio de la Frontera Sur. 101 p.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2009. Cuarto Informe Nacional de México al Convenio sobre Diversidad Biológica (CDB). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México D.F. 194 p.
- Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre. 2008. Propuesta para transferir la población mexicana *Crocodylus moreletii* del Apéndice I al Apéndice II. Acuerdo 23, Documento 18. Ginebra, Suiza. 28 p.
- Chabreck, R. H. y T. Joanen. 1979. Growth rates of American alligators in Louisiana. *Herpetologica* 35:51-57.
- Checkland, P. B. 1981. Science and the systems movement. *En: Open Systems Group. Systems behavior*. 3rd Edition. Open University Set Book. Chapman Publishing Limited. London. pp. 26-43.
- Checkland, P. B. 1993. *Systems thinking, systems practice*. John Wiley and Sons. Chichester, UK. 330 p.
- Cremieux, J., T. Vázquez, E. Alpizar y V. Melo. 2005. Management of *Crocodylus moreletii* in captivity conditions. *International Society for Animal Hygiene* 2:415-417.
- Deeming, D. C. y W. J. Ferguson. 1990. Morphometric analysis of embryonic development in *Alligator mississippiensis*, *Crocodylus johnstoni* and *Crocodylus porosus*. *Journal of Zoology* 221:419- 439.

- Densmore, L. D. 1983. Biochemical and immunological systematic of the order Crocodilia. *En: Evolutionary Biology*, M. K. Hecht, B. Wallace y G. H. Prance. Plenum New York. 465 p.
- Densmore, L. D. y P. S. White. 1991. The systematics and evolution of the Crocodilia as suggested by restriction endonuclease analysis of mitochondrial and nuclear ribosomal DNA. *Copeia* 1991:602-615.
- Densmore, L. D. y P. S. White. 1996. Relationships of extant Crocodylia inferred from mitochondrial sequence data. *Crocodylian DNA research: a report on the genetics of Crocodylians*. Occasional Paper in Environmental Policy. Center for Environmental Policy. Institute of Public Affairs, University of South Carolina. EUA. pp. 96-102.
- Dever, J. A. y D. Densmore. 2001. Microsatellites in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletii*) and their utility in addressing crocodylian population genetics questions. *Journal of Herpetology* 35:541-544.
- Dever, J., R. Strauss, T. Rainwater, S. McMurry y L. Densmore. 2002. Genetic diversity, population subdivision and gene flow in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletii*) from Belize, Central America. *Copeia* 2002:1078-1091.
- Diario Oficial de la Federación. 1988. Ley general del equilibrio ecológico y protección al ambiente. Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. Gobierno Federal. México. pp. 23-57.
- Diario Oficial de la Federación. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994, que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres, terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y las sujetas a protección especial, y que establece especificaciones para su protección. Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. Gobierno Federal. México. pp. 2-60.
- Diario Oficial de la Federación. 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección Ambiental -Especies nativas de México de Flora y Fauna silvestre, tres categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- Lista de Especies en riesgo. pp. 11-85.
- Delgado, M. 1987. Evaluación y diagnóstico de la laguna La Lagartera en el ejido Puente Chilapa para desarrollar un sistema de crianza de cocodrilos (*Crocodylus moreletii*); Tezonapa, Veracruz, México. Reporte para el departamento de desarrollo agropecuario del Municipio de Tezonapa, Veracruz: plan para el manejo de la especie. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 57 p.
- Domínguez-Laso, J. 2006. Determinación del estado actual de las poblaciones silvestres del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) en México y evaluación de su estatus en la CITES. Instituto de Historia Natural y Ecología. Informe final Sistema Nacional de

Información sobre Biodiversidad-Comisión Nacional de Biodiversidad, proyecto No. CS009. México. D. F. 83 p.

- Dumèril, A. M. C. y A. H. A. Dumèril. 1851. Catalogue méthodique de la collection des reptiles du Muséum d'Histoire Naturelle. Gide & Boudry, Paris. 224 p.
- FitzSimmons, N., S. Tanksley, M. R. Forstner, E. E. Louis, R. Daglish, J. Gratten y S. Davis. 2001. Microsatellite markers for *Crocodylus*: new genetic tools for population genetics, mating system studies and forensics. *En: Crocodylian biology and evolution*, G. Grigg y F. Seebacher (eds.). Surry Beatty and Sons. Chipping Norton. New South Wales. Australia. pp. 51-57.
- FitzSimmons, N. , J. C. Buchan, P. V. Lam, G. Polet, T. T. Hung, N. Q. Thang y J. Gratten. 2002. Identification of purebred *Crocodylus siamensis* for reintroduction in Vietnam. *Journal Experimental Zoology* 294:373-381.
- Forman, R. T. T. 1995. Land mosaics: the ecology of landscapes and regions. Cambridge University Press. Cambridge. 632 p.
- Flint, N. S., F. H. Van der Bank y J. P. Grobler. 2000. A lack of genetic variation in commercially bred Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*) in the North-West Province of South Africa. *Water SA* 26:105-110.
- García-Grajales, J., G. Aguirre-León y A. Contreras-Hernández. 2007. Tamaño y estructura poblacional de *Crocodylus acutus* (Cuvier 1807) (Reptilia: Crocodylidae) en el estero la Ventanilla, Oaxaca, México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)* 23:53-71.
- Garnett, S. T. y R. M. Murray. 1986. Parameters affecting the growth of the Estuarine Crocodile, *Crocodylus porosus*, in captivity. *Australian Journal of Zoology* 34:211-223.
- González, J. M. 2008. Relación de concentraciones residuales de una mezcla de plaguicidas organoclorados y policlorobifenilos con la concentración de hormonas sexuales de dos poblaciones de *Crocodylus moreletii*. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Ecología, A. C. 82 p.
- Glenn, T. C., H. C. Dessauer y M. J. Braun. 1998. Characterization of microsatellite DNA loci in American Alligators. *Copeia* 1998:591-601.
- Gliessman, S. R. 1990. Agroecology: Researching the ecological basis for sustainable agriculture. Springer-Verlag. New York. USA. 380 p.
- Granados, E. H. 1985. La cría de mamíferos salvajes como fuente de alimento. *Ciencia y Desarrollo* 11:13-28.

- Grant, W. E., S. L. Marín y E. K. Pedersen. 2001. Ecología y manejo de recursos naturales: análisis de sistemas y simulación. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José Costa rica. 340 p.
- Hall, M. P. 1989. Variation in geographic isolates of the New Guinea crocodile (*Crocodylus novaeguineae* Schmidt) compared with the similar, allopathic Philippine Crocodile (*C. mindorensis* Schmidt). *Copeia* 1989:71-80.
- Hall, M. P. y M. K. Portier. 1994. Cranial morphometry of New Guinea Crocodiles (*Crocodylus novaeguinae*): Ontogenetic variation in relative growth of the skull and an assessment of its utility as a predictor of the sex and size of individuals. *Herpetological monographs* 8:203-225.
- Hunt, H. 1975. Maternal behavior in the Morelet's crocodile, *Crocodylus moreletii*. *Copeia* 1975:763-764.
- Hunt, H 1977. Aggressive behavior by adult Morelet's crocodiles, *Crocodylus moreletii* towards young. *Herpetologica* 33:195-201.
- Hutton, J. M. y G. J. W. Webb. 1992. An introduction to the farming of Crocodilians. *En: Directory of Crocodilia farming operations*, Luxmoore, R. A. (ed.). Second Edition. IUCN. Gland, Switzerland and Cambridge. UK. 350 p.
- Hutton, J. M. y G. J. Webb. 2007. Introducción a la crianza de cocodrilianos. Grupo de Especialistas de Cocodrilos de la IUCN/CSS. Gainesville, Florida. Estados Unidos de América. 27 p.
- Instituto Nacional de Ecología. 1999. Proyecto para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de los Crocodylia de México (COMACROM). México. D. F. 107 p.
- Instituto Nacional de Ecología. 2000. Estrategia nacional para la vida silvestre. Logros y retos para el desarrollo sustentable 1995-2000. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales e Instituto Nacional de Ecología (eds.). México, D. F. 213 p.
- Joanen, T. y L. McNease. 1981. Incubation of alligator eggs. *Proceedings of the Alligator Production Conference*, Gainesville, Florida 1:117-128.
- Kast, F. E. y Rosenzweig, J. E. 1981. The modem view: a systems approach. *En: Open Systems Group. Systems behavior*. 3rd Edition. Open University Set Book. Chapman Publishing Limited. London. pp. 44-58.
- King, F. W. y R. L. Burke. 1989. Crocodilian, tuatara and turtle species of the World. A taxonomic and geographic reference. *Association Systematic Collections*. Washington. D. C. 216 p.

- Kohn, A. J. 1989. Natural history and the necessity of the organism. *American Zoology* 29:1095-1103.
- Lang, J. W., R. K. Aggarwal, K. C. Majumdar y L. Singh. 1993. Individualization and estimation of relatedness in crocodylians by DNA fingerprinting with a Bkm-derived probe. *Molecular and General Genetics* 238:49-58.
- Lang, W. J. y H. V. Andrews. 1994. Temperature-sex determination in crocodylians. *Journal of Experimental Zoology* 270:24-48.
- Lee, J. C. 2000. A field guide to the amphibians and reptiles of the Maya world. Cornell University Press. Ithaca, New York. 402 p.
- Lemos-Espinal, J. A., R. I. Rojas-González y J. J. Zúñiga-Vega. 2005. Técnicas para el estudio de poblaciones de fauna silvestre. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 157 p.
- Litt, M. y J. A. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44:397-401.
- Loa-Loza, E. 2007. Concentración de diclorodifeniltricloroetano (DDT) en poblaciones silvestres de cocodrilo (*Crocodylus acutus* y *C. moreletii*) en la Zona Costera de México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. 71 p.
- Navarro, S. C. J. 2004. El regreso de *Crocodylus moreletii*. *Reptilia* 36:54-60.
- Marlin, J., K. Marlin y S. G. Platt. 1995. A documented case of an attack by Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) on man. *Bulletin Chicago Herpetological Society* 30: 165-167.
- Martínez-Dávila, J. P. y A. Pérez-Vázquez. 1999. El concepto de agroecosistema: Un enfoque cibernético. Documento presentado dentro del ciclo de Seminarios Otoño 1999. Colegio de Postgraduados. Campus Veracruz. Documento para discusión en la especialidad en Agroecosistemas Tropicales. Mimeografiado. Tepetates, Veracruz. pp. 1-16.
- Meraz, J., J. A. M. Montoya, E. N. Ávila y L. S. Reyes. 2008. Monitoreo del crecimiento del Cocodrilo Americano *Crocodylus acutus* durante su primer año de vida en condiciones de cautiverio. *Hidrobiológica* 18:125-136.
- Merediz, A. G. 1999. Ecology, sustainable use by local people and conservation of the Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) in Sian Ka'an Biosphere Reserve, Quintana Roo, Mexico. Tesis PhD. State University of New York. Syracuse, New York. 58 p.
- Mezhzherin, S. V. 2002. Correlation between genetic variability and body size in vertebrates. *Russian Journal of Genetics* 38:1060-1065. Translate for *Genetika* 38:1252-1258.

- Milnes, M. R., R. A. Woodward, y L. J. Guillette Jr. 2001. Morphological variation in hatchling American Alligators (*Alligator mississippiensis*) from three Florida Lakes. *Journal of Herpetology* 35:264-271.
- Montague, J. J. 1984. Morphometric analysis of *Crocodylus novaeguineae* from the Fly River drainage, Papua New Guinea. *Australian Wildlife Research* 11:395-414.
- Monteiro, L. R., M. J. Cavalcanti y H. J. S. Sommer. 1997. Comparative ontogenic shape changes in the skull of *Caiman* species (Crocodylia, Alligatoridae). *Journal of Morphology* 231:53-62.
- Monteiro, R. L. y M. Soares. 1997. Allometric analysis of the ontogenetic variation and evolution of the skull in *Caiman* Spix, 1825 (Crocodylia: Alligatoridae). *Herpetologica* 53:62-69.
- McVay, J. D., D. Rodriguez, T. R. Rainwater, J. A. Dever, S. G. Platt, S. T. McMurry, M. R. J. Forstner y L. D. Densmore. 2008. Evidence of multiple paternity in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletii*) in Belize, CA, inferred from microsatellite markers. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 10:643-648.
- Pepper, C. B., T. R. Rainwater, S. G. Platt, J. A. Dever, T. A. Anderson y S. T. McMurry. 2004. Organochlorine pesticides in chorioallantoic membranes of Morelet's Crocodile eggs from Belize. *Journal of Wildlife Diseases* 40:493-500.
- Pérez, A. y J. Rodríguez. 2005. Influencia de la temperatura del aire y del agua en el crecimiento de *Crocodylus intermedius* en dos condiciones de cautiverio. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 39:15-26.
- Pérez-Higareda, G. 1980. Notes on nesting of *Crocodylus moreletii* in Southern Veracruz, Mexico. *Bulletin Maryland Herpetological Society* 16:52-53.
- Pérez-Higareda, G., A. Rangel-Rangel, H. A. Smith y D. Chizar. 1989. Comments on food and feeding habits of Morelet's Crocodile. *Copeia* 1989:1039-1041.
- Pérez-Higareda, G., A. R. Rangel, A. R. y H. M. Smith. 1991. Maximum sizes of Morelet's and American Crocodiles. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 27:34-37.
- Pérez, T. A. T. 2000. Crecimiento del *Caiman crocodilus crocodilus* en cautiverio. *Interciencia* 25:442-446.
- Pérez, T. A. T. 2008. Crecimiento del caimán del Orinoco (*Crocodylus intermedius*, Crocodylia: Crocodylidae) en dos condiciones de cautiverio. *Revista de Biología Tropical* 56:349-354.

- Pérez, O. y A. H. Escobedo-Galván. 2007. Crecimiento en cautiverio de *Crocodylus acutus* (Cuvier, 1807) en Tumbes, Perú. *Revista Peruana de Biología* 14:221-224.
- Pérez, G. M., L. C. Naranjo, T. B. Reyes e I. R. Vega. 2009. Influencia de dos tipos de dietas sobre la talla y el peso corporal en neonatos de *Crocodylus acutus* Cuvier, 1807 (Crocodylidae: Crocodylia) del zocriadero de Manzanillo, Cuba. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)* 25:151-160.
- Piedra, L., J. Bolaños y J. Sánchez. 1997. Evaluación del crecimiento de neonatos de *Crocodylus acutus* (Crocodylia: Crocodylidae) en cautiverio. *Revista de Biología Tropical* 44/45:289-293.
- Piña, C., A. Larriera, P. Siroski y L. M. Verdade. 2007. Cranial sexual discrimination in hatchling broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). *Iheringia, Serie Zoologia* 97:17-20.
- Pinheiro, M. S., S. A. Santos y R. A. Silva. 1992. Efeito da temperatura da água sobre o crescimento inicial de *Caiman crocodilus yacare*. *Revista Brasileira de Biologia* 52:161-168.
- Poe, S. 1996. Data set incongruence and the phylogeny of crocodylians. *Systematics Biology* 45:393-414.
- Poletta, G. L., A. Larriera y P. A. Siroski. 2008. Broad snouted caiman (*Caiman latirostris*) growth under different rearing densities. *Aquaculture* 280:264-266.
- Porras, M. L. P., J. R. M. Bolaños y B. R. Brarr. 2008. Variación genética y flujo de genes entre poblaciones de *Crocodylus acutus* (Crocodylia: Crocodylidae) en tres ríos del pacífico central, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 56:1471-1480.
- Powell, J. H. 1971. The Status of Crocodylians in the United States, Mexico, Central America and the Indies. IUCN. 15 p.
- Platt, S. G. y J. B. Thorbjarnarson. 2000. Population status and conservation of Morelet's Crocodile, *Crocodylus moreletii*, in northern Belize. *Biological Conservation* 96:21-29.
- Platt, S. G., T. R. Rainwater y S. T. McMurry. 2002. Diet, gastrolith acquisition, and initiation of feeding among hatchling Morelet's crocodiles in Belize. *Herpetological Journal* 12:81-84.
- Platt, G. S., T. R. Rainwater, S. Snider, A. Garel, T. A. Anderson y S. T. McMurry. 2007. Consumption of large mammals by *Crocodylus moreletii*: field observations of necrophagy and interspecific kleptoparasitism. *The Southwestern Naturalist* 52:310-317.

- Platt, S. G., T. R. Rainwater, J. B. Thorbjarnarson y S. T. McMurry. 2008. Reproductive dynamics of a tropical freshwater crocodylian: Morelet's Crocodile in northern Belize. *Journal of Zoology* 275:177-189.
- Rainwater, T. R., T. H. Wu, A. G. Finger, J. E. Cañas, L. Yu, K. D. Reynolds, G. Coimbatore, B. Barr, S. G. Platt, G. P. Cobb, T. A. Anderson y S. T. McMurry. 2007 a. Metals and organochlorine pesticides in caudal scutes of crocodiles from Belize and Costa Rica. *Science of the Total Environment* 373:146-156.
- Rainwater, T. R., K. W. Selcer, L. M. Nespoli, A. G. Finger, D. A. Ray, S. G. Platt, P. N. Smith, L. D. Densmore, T. A. Anderson y S. T. McMurry. 2007 b. Plasma vitellogenin in Morelet's Crocodiles from contaminated habitats in northern Belize. *Environmental Pollution* 153:101-109.
- Ramírez-Perilla J. A. 1991. Efecto de la cantidad y frecuencia alimentaria de una dieta experimental sobre la tasa de crecimiento de un ejemplar juvenil de *Crocodylus intermedius*, *Crocodylia: Crocodylidae*. *Caldasia* 16:531-538.
- Ray, D. A., J. A. Dever, S. G. Platt, T. R. Rainwater, A. G. Finger, S. T. McMurry, M. A. Batzer, B. Barr, P. J. Stafford, J. McKnight y L. D. Densmore. 2004. Low levels of nucleotide diversity in *Crocodylus moreletii* and evidence of hybridization with *C. acutus*. *Conservation Genetics* 5:449-462.
- Remolina, S. F. 1990. Evaluación de las poblaciones de lagarto, Cocodrilo de pantano *Crocodylus moreletii* en la Zona del Delta del Grijalba-Usumacinta. *Cocodrilos de Sinaloa S. A. de C. V. México. Informe técnico*. 89 p.
- Robinson, J. G. y K. H. Redford. 1991. Sustainable harvest of neotropical forest mammal. *En: Neotropical wildlife use and conservation*, Robinson, J. G. y K. H. Redford (eds.). The University of Chicago Press. U.S.A. pp. 415-429.
- Rodríguez, M. A. 2000. Cocodrilos (Archosauria: Crocodylia) de la región Neotropical. *Biota Colombiana* 1:135-140.
- Ross, J. P. 1998. Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan. 2nd Edition. IUCN/SSC Crocodile Specialist Group. IUCN. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 96 p.
- Ruíz-Rosado, O. 2006. Enfoque de sistemas y agroecosistemas. *En: Agroecología y agricultura orgánica en el trópico*, López-Báez, O., S. I. Ramírez-González, M. Ramírez-González, G. Moreno-Basurto y A. E. Alvarado-Gaona (eds.). Universidad Autónoma de Chiapas y Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. México. pp. 27-35.
- Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. 1997. Programa de Conservación de la Vida Silvestre y Diversificación Productiva en el Sector Rural 1997-2000. Instituto

- Nacional de Ecología y Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México 207 p.
- Schoener, T. W. y A. Schoener. 1978. Estimating and interpreting body-size growth in some *Anolis* lizards. *Copeia* 1978:390-405.
- Stearns, S. C. 1992. The evolution of life histories. Oxford University Press, Oxford. 249 p.
- Stearns, S. C., G. de Jong y R. Newman. 1991. The effects of phenotypic plasticity on genetic correlations. *Trends in Ecology and Evolution* 6:122-126.
- Stafford, P. J. y J. R. Meyer. 2000. A Guide to the Reptiles of Belize. London: Natural History Museum of London. 365 p.
- Strassmann, J. E., C. R. Solis, J. M. Peters y D. C. Queller. 1996. Strategies for finding and using highly polymorphic DNA microsatellite loci for studies of genetic relatedness and pedigrees. *En: Molecular Zoology*, J. Ferraris y S. Palumbi (eds.). Wiley-liss Inc., New York. pp. 163-180.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphism markers. *Nucleic Acids Research* 12:4127-4138.
- Tautz, D. y M. Renz. 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res* 12:4127-4138.
- Tautz, D. y C. Schlotterer. 1994. Simple sequences. *Current Opinion in Genetics and Development* 4: 832-837.
- Tamarin, H. R. 1996. Principios de genética. Editorial Reverte. S. A. México. Capítulo 20. 565-582 pp.
- Taplin L. 1984. Evolution and zoogeography of crocodylians: a new look at an ancient order. *En: Vertebrate Evolution and Zoogeography in Australia*, M. Archer, G. Clayton (eds.). Hesperian Press. Perth.
- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. 2006. IUCN Red List of Threatened Species. Disponible en: www.iucnredlist.org.
- Verdade, L. M. 1997. Morphometric analysis of the broad-snouted Caiman (*Caiman latirostris*): an assessment of individual's clutch, body size, sex, age, and area of origin. Tesis Ph.D. Dissertation, University of Florida, Gainesville, Florida, USA. 174 p.
- Verdade, L. M. 2000. Regression equations between body and head measurements in the broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). *Revista Brasileira de Biologia* 60:469-482.

- Verdade, L. M. 2003. Cranial sexual dimorphism in captive adult broad snouted caiman (*Caiman latirostris*). *Amphibia-Reptilia* 24:92-99.
- Verdade, L. M., R. B. Zucoloto y L. L. Coutinho. 2002. Microgeographic variation in *Caiman latirostris*. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 294:387-396.
- Villegas, A. 2005. Phenotypic characteristics of *Crocodylus acutus* and *C. moreletii* in south Quintana Roo. *Crocodile Specialist Group Newsletter* 24:8-9.
- Villela, S. P. M., L. H. Coutinho, C. I. Piña y L. M. Verdade. 2008. Macrogeographic Genetic Variation in Broad-Snouted Caiman (*Caiman latirostris*). *Journal of Experimental Zoology* 309A:628-636.
- Viveros C., F. L. García y H. Viveros. 1993. Crianza de fauna silvestre como alternativa de conservación y producción agropecuaria: una experiencia en Veracruz. *Memorias del XI Simposio Nacional y I Simposio Internacional de Fauna Silvestre*. Tabasco. pp. 71-76.
- Viveros, C. C. y Rivera, G. R. A. 2006. El cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*): Estudio preliminar en la región costera de Veracruz. *En: Avances en la Investigación Agrícola, Pecuaria, Forestal y Acuícola en el Trópico Mexicano*. Veracruz, México.
- Von Bertalanffy, L. 1951. Metabolic types and growth types. *American Naturalist* 85:111-117.
- Von Bertalanffy, L. 1957. Quantitative laws in metabolism and growth. *Quarterly Review of Biology* 32:217-231.
- Von Bertalanffy, L. 1981. General systems theory a critical review. *En: Open Systems Group. Systems behavior*. 3rd. Edition. Open University Set Book. Chapman Publishing Limited. London. pp. 60-79.
- Von Bertalanffy, L. 1991. *Teoría General de Sistemas*. Fondo de Cultura Económica. México. 311 p.
- Wu T. H., J. E. Cañas, T. R. Rainwater, S. G. Platt, S. T. McMurry y T. A. Anderson. 2006. Organochlorine contaminants in complete clutches of Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) eggs from Belize. *Environmental Pollution* 144:151-157.
- Wu, X. B., H. Xue, L. S. Wu, J. L. Zhu, y R. P. Wang. 2006. Regression analysis between body and head measurements of Chinese alligators (*Alligator sinensis*) in captive population. *Animal Biodiversity and Conservation* 29:65-71.
- Wright, S. 1930. Evolution in mendelian populations. *Genetics* 16:97-158.

- Zamudio, F., E. E. Bello y E. I. J. E. Lugo. 2005. Cacería y conocimiento ecológico maya del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii* Bribon & Dumeril, 1951) en Quintana Roo, México. *En: Memorias de Manejo de Fauna Silvestre en Amazonia y Latinoamérica*. pp. 344-353.
- Zobel, B. J. y J. P. Van Buijtenen. 1989. Wood variation; its causes and control. Springer-Verlang. New York. 363 p.
- Zucoloto, R. B., P. M. V. Schmidt, L. M. Verdade y L. L. Coutinho. 2006. Cross-species microsatellite amplification in South American Caimans (*Caiman* spp. and *Paleosuchus palpebrosus*). *Genetics and Molecular Biology* 29:75-78.
- Zúñiga-Vega, J. J., R. I. Rojas-González, J. A. Lemos-Espinal y M. E. Pérez-Trejo. 2005. Growth ecology of the lizard *Xenosaurus grandis* in Veracruz, México. *Journal of Herpetology* 39:433-443.

CAPÍTULO I. VARIABILIDAD MORFOLÓGICA Y CRECIMIENTO CORPORAL DE CUATRO POBLACIONES DE *Crocodylus moreletii* BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la variabilidad morfológica y el crecimiento corporal de cuatro poblaciones del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) que se encuentran en la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre Cacahuatal ubicada en La Antigua, Veracruz, México. Dos poblaciones cuyos individuos nacieron en estado silvestre y dos más que nacieron en cautiverio. El tamaño muestral total fue 125 cocodrilos, a los que se les midieron cinco caracteres morfológicos y se determinaron las tasas de crecimiento corporal (TC) en tres poblaciones estudiadas. Se utilizó un análisis multivariado de covarianza para evaluar la variación morfológica. Las TC se compararon entre sexos y poblaciones mediante análisis de covarianza. Las poblaciones presentaron similitud en sus cinco rasgos morfológicos evaluados, al igual que entre sexos. Las TC fueron significativamente diferentes ($p < 0.01$) entre poblaciones. Los individuos que nacieron en vida libre crecieron (0.205 ± 0.12 y 0.611 ± 0.08 mm/día) más rápido que los nacidos en cautiverio (0.075 ± 0.05 mm/día). Se concluye que el cautiverio no parece afectar la expresión morfológica, pero sí la tasa de crecimiento corporal. Diferentes poblaciones de *C. moreletii* pueden presentar un crecimiento diferencial determinado por su procedencia de nacimiento (estado silvestre o cautiverio).

Palabras clave: morfología, tasas de crecimiento corporal, Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre, cocodrilo de pantano.

Abstract

The main goal of this study was to determine the effect of captivity upon morphological characteristics and body growth rates of the Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*). The study was carried out in Cacahuatal Management Unit for Wildlife Conservation, located in La Antigua, Veracruz, Mexico. Four populations were compared: two with organisms that were born under wild conditions and the other two with organisms that were born in captivity. Five morphological characteristics were measured and body growth rate was estimated for 125 individuals. Morphological variation was analyzed through multivariate analysis of covariance. Body growth was compared between sex and among populations through covariance analysis. Morphology was similar among populations on five variables assessed and between sex. Body growth was significantly different among populations ($p < 0.01$), however those individuals born under wild conditions grew (0.205 ± 0.12 y 0.611 ± 0.08 mm/day) faster than those born under captivity (0.075 ± 0.05 mm/day). The results showed that captivity does not seem to affect the morphological conformation of *C. moreletii*; whereas a significant effect on the body rate growth. It can be concluded that different populations of *C. moreletii* can exhibit differential body growth patterns depending on born conditions (wild or under captivity).

Key words: body growth rate, Management Unit for Wildlife Conservation, Morelet's crocodile, morphology.

1.1 Introducción

A partir del descenso y la posible extinción local de algunas poblaciones de especies de cocodrilos, diezmadas por la cacería excesiva, destrucción del hábitat, el comercio ilegal de pieles, entre otros factores (Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo, 1970; Medem, 1981; Álvarez del Toro y Sigler, 2001). Por ello, se han propuesto diversas estrategias para su manejo enfocadas a la mejora de las condiciones del cautiverio, al aprovechamiento sustentable de la especie y a diversas acciones como la conservación y recuperación de sus poblaciones (Messel, 1991; Pooley, 1991; Micucci y Waller, 1995; Thorbjarnarson *et al.*, 2006). En el caso particular del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*), sus poblaciones en la década de los 70's estuvieron en riesgo de desaparecer debido principalmente a la cacería furtiva, al comercio ilegal de pieles y carne y a la destrucción de su hábitat (Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo, 1970). Debido a la situación crítica que sufrió esta especie, varias Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) fueron establecidas en México, con el fin de unificar esfuerzos para el aprovechamiento sustentable de su piel *C. moreletii* (INE, 2000; SEMARNAT, 2000). Al parecer, los programas de manejo de *C. moreletii* han arrojado resultados satisfactorios (Domínguez-Lazo, 2006; CITES, 2008). Sin embargo, existe un vacío de información con respecto al impacto que tienen las condiciones del manejo en cautiverio y al efecto que tiene la procedencia (nacidos en cautiverio o en estado silvestre) sobre algunas características morfológicas, así como del comportamiento de su desarrollo.

En cocodrilos, la variación en la morfología y en la velocidad de crecimiento corporal dentro, entre poblaciones y entre los sexos puede deberse a diferencias genéticas, a los procesos que ocurren durante la ontogenia o como respuesta a las distintas presiones ambientales que sufren

en sus localidades de origen, conocida como plasticidad fenotípica (Hall, 1989; Hall y Portier, 1994; Milnes *et al.*, 2001; Verdade, 2003; Piña *et al.*, 2007). Diversos trabajos en cocodrilos han sugerido que la temperatura y el periodo de incubación, la condición corporal, la edad, el sexo y el área de origen son factores que determinan cambios morfológicos, sexuales y en el patrón de crecimiento corporal (Allsteadt *et al.*, 1995; Milnes *et al.*, 2001; Piña *et al.*, 2003; Piña *et al.*, 2007). Se ha reportado que el patrón de crecimiento corporal de cocodrilos sometidos a diferentes sistemas de producción puede ser afectado por las condiciones del cautiverio, particularmente por los componentes y la frecuencia de la alimentación, por la temperatura del agua, del aire y por la densidad poblacional (Coulson *et al.*, 1973; McNease y Joanen, 1981; Garnett y Murray, 1986; Staton *et al.*, 1988; Lang, 1989; Pinheiro *et al.*, 1992; Piedra *et al.*, 1997; Pérez y Rodríguez, 2005; Poletta *et al.*, 2008). La evaluación del crecimiento corporal y de los cambios morfológicos en cocodrilos en cautiverio tiene relevancia desde la perspectiva económica del comercio de su piel y carne, y también para obtener información clave que sirva como base para establecer estrategias de manejo (Pérez y Escobedo-Galván, 2007).

Por lo tanto, esta investigación surge de la siguiente pregunta: ¿de qué manera las condiciones del manejo en cautiverio influyen en los rasgos morfológicos y sobre el crecimiento corporal de las poblaciones de *C. moreletti*? La hipótesis propuesta es que las poblaciones conformadas por individuos que nacieron en cautiverio, son morfológicamente diferentes a aquellas que nacieron en condiciones silvestres. Además, se espera observar diferencias en el patrón de crecimiento corporal entre las poblaciones nacidas en condiciones de cautiverio y aquellas cuya nacerencia y desarrollo juvenil ocurrió en estado silvestre.

1.2 Materiales y métodos

La presente investigación se llevó a cabo en la UMA Cacahuatal, ubicada en la localidad José Ingenieros, perteneciente al Municipio de La Antigua, Veracruz, México. Para conocer el manejo de la especie en la UMA Cacahuatal, se aplicó una entrevista semi-estructurada a través de un cuestionario (Apéndice 1) además de conversaciones informales con el técnico responsable de la UMA, el encargado de las actividades de manejo y los desarrolladores (trabajadores) de las actividades de manejo (la información más relevante obtenida de las entrevistas, se utilizó para el desarrollo de los Capítulos I y II; al final del Apéndice 1 se expone de manera general el manejo de la especie).

En el presente estudio se evaluaron cuatro poblaciones de *C. moreletii*, dos de ellas originarias de las localidades de Puente Chilapa, Municipio de Tezonapa y de Gutiérrez Zamora, ambas del estado de Veracruz, cuyos ejemplares fueron capturados en poblaciones en estado silvestre distribuidas en esas localidades y posteriormente enviados a dicha UMA. Es decir, los individuos nacieron en vida silvestre, pero fueron criados bajo condiciones de cautiverio en la UMA Cacahuatal. Las restantes dos poblaciones, originarias de los Municipios de Villa Juárez, Sinaloa y Puerto Vallarta, Jalisco, cuyos ejemplares nacieron en cautiverio en otras UMA's ubicadas en esas regiones y fueron comprados y mantenidos bajo condiciones de cautiverio por la UMA Cacahuatal.

La crianza de los cocodrilos -de las cuatro poblaciones- en la UMA Cacahuatal se realizó durante un periodo de cinco años (2003-2008) dentro de casetas de 200 m² con temperatura promedio de 30 °C. Todos los individuos se alimentaron diariamente durante el primer año y

posteriormente cada tercer día. La dieta desde el inicio consistió de una mezcla de hígado licuado de res (40 %), harina de hueso (10 %), harina de pescado (10 %), harina de soya (10 %), cebo de res (5 %), harina de ave (10 %) y sal, vitaminas y minerales (5 %). Al alcanzar una talla mayor de 100 cm de longitud total (LT), desde la punta del hocico a la punta de la cola, se reubicaron en acuaterrios de 10 m x 8 m de superficie a cielo abierto con una densidad poblacional promedio de 0.8 cocodrilos por m².

De la población total de cocodrilos ($N = 800$), se tomaron 125 ejemplares aleatoriamente, identificados y registrados por medio de una placa interdental que incluía su número clave individual, localidad de origen y año de nacimiento. Del total de cocodrilos seleccionados, 67 (53.6%) fueron hembras y 58 (46.4%) machos, clasificados como sub-adultos (entre 101 y 150 cm de LT) y adultos (mayores a 151 cm de LT). La distribución de ejemplares por población fue de la manera siguiente: 30 (24%) de Puente Chilapa (PC), de los cuales fueron 20 hembras sub-adultas y 10 machos sub-adultos; 30 (24%) de Gutiérrez Zamora (GZ), de los cuales fueron 16 hembras sub-adultas, 1 hembra adulta, 9 machos sub-adultos y 4 machos adultos; 30 (24%) de Villa Juárez (VJ), de estos fueron 4 hembras sub-adultas, 1 hembra adulta y 25 machos sub-adultos; y 35 (28%) de Puerto Vallarta (PV), de estos fueron 24 hembras sub-adultas, 1 hembra adulta y 10 machos sub-adultos. De cada individuo se registró la fecha y LT al momento de su ingreso a la UMA, así como una medida de LT para cada uno de ellos durante el transcurso de esta investigación. Los cocodrilos fueron medidos por el dorso y, para evitar la irregularidad dorsal, se utilizó un bastón métrico (estilo vernier ± 0.1 cm). Registrándose las variables morfológicas en cm siguientes (ver detalles de mediciones en Apéndice 2): longitud total (LT), medida desde la punta del hocico al final de la cola; longitud

del fémur (LF), medida desde la hendidura de la pelvis al extremo del fémur; alto de la cabeza (ALC), tomada de la base de la cabeza a la base de la mandíbula anterior; y ancho de la cabeza (ANC), distancia tomada entre las superficies laterales de los cóndilos mandibulares. Además, ventralmente se midió la longitud hocico-cloaca (LHC), medida de la punta del hocico al final de la cloaca; y finalmente se determinó el sexo por tacto cloacal.

Para analizar la variación morfológica dentro y entre las poblaciones estudiadas, se llevó a cabo un análisis multivariado de covarianza (MANCOVA), en el cual, los factores explicativos fueron el sexo y la población de origen. Se utilizó la LHC como covariable y las variables de respuesta fueron las medidas morfológicas: LT, LF, ALC y ANC. El objetivo de este análisis fue conocer la existencia de diferencias entre poblaciones y entre sexos, respecto a las variables morfométricas de estos cocodrilos. Antes de llevar a cabo el análisis, todas las variables fueron transformadas a logaritmo natural y con ello se cumplió con los supuestos de normalidad con una prueba χ^2 de bondad de ajuste (LHC: $\chi^2_4 = 4.38$ (P = 0.36); LT: $\chi^2_4 = 1.66$ (P = 0.80); LF: $\chi^2_7 = 7.98$ (P = 0.33); ALC: $\chi^2_5 = 6.60$ (P = 0.25); ANC: $\chi^2_4 = 7.46$ (P = 0.11), y homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene (LHC: $F_{7,117} = 1.66$ (P = 0.13); LT: $F_{7,117} = 0.94$ (P = 0.48); LF: $F_{7,117} = 1.57$ (P = 0.15); ALC: $F_{7,117} = 0.97$ (P = 0.46); ANC: $F_{7,117} = 1.77$ (P = 0.10).

Las tasas individuales de crecimiento corporal por día se estimaron mediante la fórmula siguiente: $TC = (LT - LTI) / \text{Número de días}$; donde: TC = tasa de crecimiento corporal del organismo en centímetros por día (cm/día), LTI = longitud total inicial que representa la primera medida del animal cuando recién ingresó a la UMA, LT = longitud total medida en el

transcurso de esta investigación. Estas tasas de crecimiento corporal por individuo (TC) se calcularon para un total de 76 cocodrilos, en tres poblaciones con 28 individuos (18 hembras y 10 machos), 19 ejemplares (11 hembras y 8 machos) y 29 especímenes (21 hembras y 8 machos) de las poblaciones PC, GZ y PV, respectivamente. Para la población VJ, no se estimaron TC, debido a que no se contaba con registros previos de LTI. Para efectos comparativos con trabajos publicados sobre crecimiento corporal en otras especies de cocodrilos, las TC se reportan tanto en mm/día y en cm/mes.

Para analizar la variación en las TC se llevó a cabo un análisis de covarianza de dos vías (ANCOVA), en el que los factores explicativos fueron el sexo y la población de origen, la covariable utilizada fue la LT promedio entre las dos medidas involucradas y la variable respuesta fue la TC en cm/día. El objetivo de este análisis fue explorar las diferencias entre poblaciones y sexos respecto al crecimiento corporal diario. Debido a que las tasas de crecimiento corporal de cocodrilos usualmente están en función de su talla, la que es resultado del estadio ontogénico (Piedra *et al.*, 1997; Cremieux *et al.*, 2005; Pérez y Escobedo-Galván, 2007; Pérez *et al.*, 2009), se decidió incluir a la LT promedio como covariable. Cabe señalar que el uso de la LT en lugar de la LHC se debió a que para varios individuos no se tenía registro inicial de su LHC, sino solamente de su LT. Una vez obtenido el resultado del ANCOVA, se aplicó una prueba de medias de Tukey para identificar relaciones apareadas de poblaciones con TC diferentes.

1.3 Resultados

En el Cuadro 1 se resumen los promedios de las cinco variables morfológicas estimadas para cada población y sexo. En términos de LT, tanto machos como hembras de la población de Villa Juárez y Gutiérrez Zamora fueron los individuos más grandes en talla respecto a los ejemplares de las otras dos poblaciones (Cuadro 1).

Cuadro 1. Valores promedio por sexo (\pm desviación estándar) de las medidas morfométricas de cuatro poblaciones en cautiverio de *C. moreletii*. Las unidades de medición de todas las variables son centímetros. Entre paréntesis se indican los valores mínimos y máximos observados.

Población	Sexo	Caracteres morfológicos				
		**LHC	LT	ANC	ALC	LF
*PC	Hembras	54.6 \pm 8.01 (39.0-66.7)	110.3 \pm 15.63 (73.5-135)	6.6 \pm 1.17 (4.0-8.8)	4.2 \pm 0.79 (3.0-5.6)	7.4 \pm 1.39 (4.2-10.5)
	Machos	55.9 \pm 4.69 (46.0-61.0)	111.9 \pm 10.1 (89.5-122.5)	6.8 \pm 0.75 (5.5-7.7)	4.5 \pm 0.96 (3.2-6.1)	7.8 \pm 1.46 (5.0-9.9)
GZ	Hembras	64.0 \pm 7.44 (53.2-77.0)	126.9 \pm 11.53 (109.0-150.0)	7.9 \pm 1.62 (5.2-11.3)	4.9 \pm 0.96 (3.4-6.5)	7.8 \pm 0.78 (6.7-9.5)
	Machos	68.5 \pm 9.90 (53.0-81.0)	136.2 \pm 19.29 (107.0-161.0)	9.0 \pm 2.21 (6.3-12.7)	5.6 \pm 1.23 (4.1-8.0)	8.9 \pm 1.54 (7.0-11.0)
PV	Hembras	60.2 \pm 6.62 (50.0-74.0)	122.2 \pm 3.57 (102.0-150.5)	7.7 \pm 1.23 (4.5-10.0)	4.6 \pm 1.06 (2.0-7.0)	8.3 \pm 1.23 (6.5-11.0)
	Machos	60.1 \pm 4.80 (52.5-67.0)	122.3 \pm 11.24 (108.8-136.0)	7.7 \pm 1.84 (5.0-10.5)	5.0 \pm 1.29 (2.5-6.6)	7.6 \pm 1.53 (4.5-9.5)
VJ	Hembras	63.9 \pm 8.97 (53.5-73.0)	134.9 \pm 17.76 (105.5-152.0)	7.7 \pm 1.16 (6.1-9.0)	4.6 \pm 0.73 (3.5-5.3)	7.6 \pm 1.14 (6.5-9.0)
	Machos	68.8 \pm 6.26 (57.0-80.0)	133.2 \pm 12.99 (111.0-157.0)	8.9 \pm 1.34 (6.5-11.6)	5.4 \pm 0.85 (4.1-7.2)	8.6 \pm 0.95 (6.0-10.5)

*PC = Puente Chilapa, GZ = Gutiérrez Zamora, PV = Puerto Vallarta, VJ = Villa Juárez.

**LHC = longitud hocico-cloaca, LT = longitud total, ANC = ancho de cabeza, ALC = alto de cabeza y LF = longitud del fémur.

De acuerdo con los resultados del MANCOVA, la LHC tuvo un efecto significativo sobre todas las variables morfológicas de interés (Λ de Wilks = 0.154, $P < 0.001$), lo cual justifica la inclusión de esta medida morfológica como covariable. En otras palabras, los individuos que usualmente tuvieron una LT mayor, tuvieron cabezas más anchas y altas y fémures más largos. En contraste, no hubo un efecto significativo por población de origen o por el sexo: población: Λ de Wilks = 0.903 ($P = 0.465$); sexo: Λ de Wilks = 0.921 ($P = 0.061$), lo cual indica que no se encontraron diferencias morfológicas entre poblaciones ni entre sexos después de corregir por los posibles efectos de talla.

Por otro lado, el MANCOVA permitió detectar un efecto significativo de la interacción entre poblaciones y el sexo: Λ de Wilks = 0.823 ($P = 0.033$) sobre la morfología. Esta interacción se deriva exclusivamente del hecho de que las hembras de Villa Juárez, Sinaloa, tuvieron una LT mayor (ajustada por la LHC) en comparación con los individuos de las otras poblaciones y, particularmente, en comparación con los machos de la misma población (Figura 2). En ninguna de las otras tres medidas morfológicas (LF, ALC o ANC) se observó un patrón de este tipo.

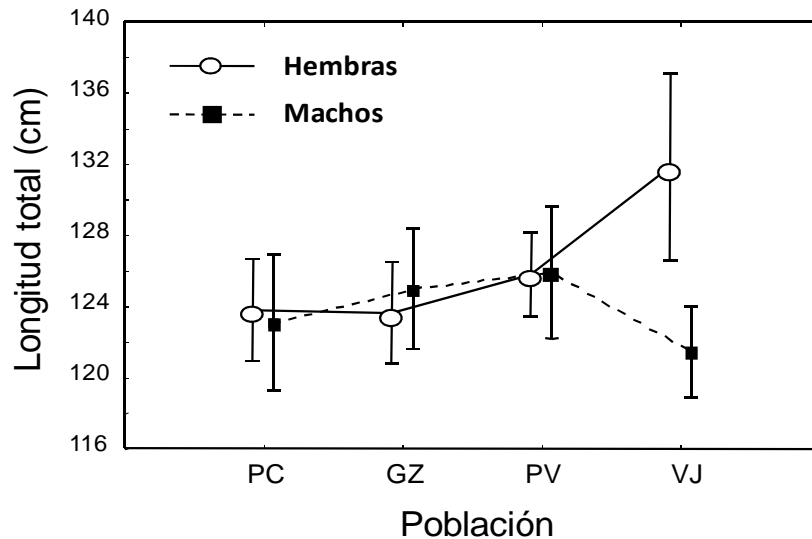


Figura 2. Efecto de la interacción entre poblaciones y sexo sobre la longitud total (LT) de *C. moreletii*. Se muestran las medias ajustadas por la covariable longitud hocico-cloaca que se derivaron del MANCOVA. Las barras denotan intervalos de confianza (95%) que indica que no existen diferencias significativas entre las poblaciones; solo se detectó diferencias significativas ($P < 0.033$) entre sexos de la población de Villa Juárez. PC = Puente Chilapa, GZ = Gutiérrez Zamora, PV = Puerto Vallarta, VJ = Villa Juárez.

Las poblaciones presentaron diferentes tasas de crecimiento corporal. Se observó una tendencia homogénea respecto al patrón del crecimiento corporal entre los sexos de la población de Puente Chilapa. En contraste, los machos crecieron relativamente más rápido que las hembras de la población de Puerto Vallarta y sucedió lo contrario con la población de Gutiérrez Zamora (Figura 3; Cuadro 2).

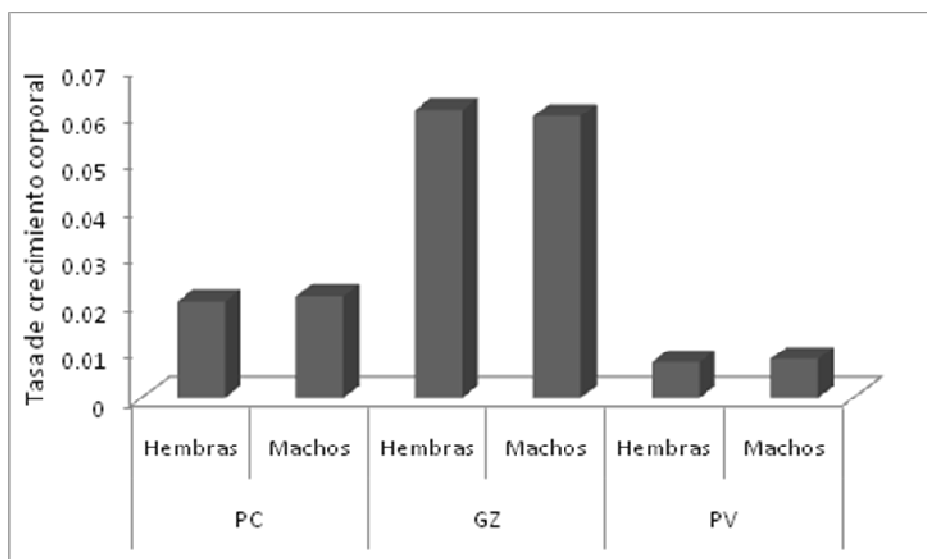


Figura 3. Tasas de crecimiento promedio (en cm/día) de machos y hembras por población. PC = Puente Chilapa; PV = Puerto Vallarta; GZ = Gutiérrez Zamora.

En el Cuadro 2 se muestran los valores promedio calculados de las TC para cada población y sexo en tres diferentes unidades de medida. La menor TC fue presentada tanto por los machos y las hembras de la población de Puerto Vallarta y las mayores por los machos y hembras de Gutiérrez Zamora (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tasa de crecimiento corporal promedio (TC \pm desviación estándar) para hembras y machos de tres poblaciones en cautiverio de *C. moreletii*. Las TC se reportan en tres unidades diferentes (mm/día, cm/día y cm/mes) para efectos comparativos con el crecimiento de otras especies.

Población	Sexo	TC (mm/día)	TC (cm/día)	TC (cm/mes)
PC	Hembras	0.205 \pm 0.12	0.0205 \pm 0.012	0.615 \pm 0.36
	Machos	0.216 \pm 0.11	0.0216 \pm 0.011	0.648 \pm 0.33
GZ	Hembras	0.611 \pm 0.08	0.0611 \pm 0.008	1.83 \pm 0.24
	Machos	0.598 \pm 0.08	0.0598 \pm 0.008	1.79 \pm 0.24
PV	Hembras	0.075 \pm 0.05	0.0075 \pm 0.005	0.225 \pm 0.15
	Machos	0.082 \pm 0.03	0.0082 \pm 0.003	0.246 \pm 0.09

PC = Puente Chilapa, GZ = Gutiérrez Zamora, PV = Puerto Vallarta.

El ANCOVA reveló que la LT de los organismos tiene un efecto significativo sobre las tasas de crecimiento corporal: $F_{1,70} = 215.42$ ($P < 0.001$). También se detectaron diferencias significativas entre poblaciones respecto a las TC: $F_{2,70} = 119.42$ ($P < 0.001$). De acuerdo con la prueba de medias de Tukey, aplicada a las tres poblaciones estudiadas, éstas fueron estadísticamente diferentes entre sí ($p < 0.01$). La población de GZ exhibió las tasas de crecimiento más altas, mientras que la población de PV las más bajas (Figura 4). No hubo diferencias significativas entre sexos: $F_{1,70} = 0.007$ ($P = 0.93$) ni efecto significativo entre sexos y poblaciones: $F_{2,70} = 0.1$ ($P = 0.91$), tal como se observa en la Figura 4. Lo que evidencia que ambos sexos crecen a la misma tasa de crecimiento dentro de las poblaciones y de manera distinta entre poblaciones. Se observó que los machos y hembras de la población GZ tuvieron las tasas de crecimiento más altas y menor tasa la población de PV (Figura 4).

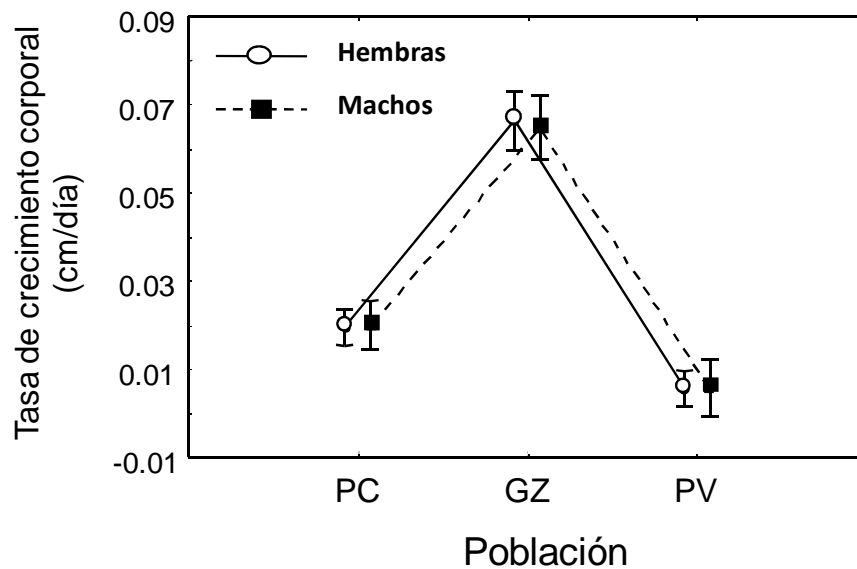


Figura 4. Tasas promedio de crecimiento corporal (cm/día) ajustadas por el efecto de la talla a partir del ANCOVA. Se muestran datos por población y por sexo. Las barras denotan intervalos de confianza (95%) que indican que existen diferencias significativas respecto a su patrón de crecimiento corporal entre poblaciones. PC = Puente Chilapa, GZ = Gutiérrez Zamora, PV = Puerto Vallarta.

1.4 Discusión

La primera hipótesis de trabajo establecía que existen diferencias morfológicas entre las poblaciones que nacieron en cautiverio respecto a las que nacieron en estado silvestre. Los resultados del análisis morfológico indican que existe un alto grado de similitud en las características morfológicas entre las poblaciones analizadas. Es posible que esta similitud sea reflejo de la baja diferenciación ontogénica que ocurre en los cocodrilos sub-adultos y adultos (todos los individuos estudiados fueron sub-adultos o adultos), ya que es durante estas etapas que se presenta el máximo desarrollo de sus caracteres morfológicos y por consiguiente es difícil detectar algún grado de diferenciación (Monteiro *et al.*, 1997; Verdade, 2000). Hall y Portier (1994) reportan una tendencia parecida en *Crocodylus novaeguineae*, durante la etapa de desarrollo de cría a juvenil, observándose un rápido cambio en la forma del cráneo, mientras que la variación de los caracteres morfológicos evaluados no se detecta durante la etapa de desarrollo de juvenil a adulto. Monteiro y Soares (1997) argumentan que la variación de ciertos caracteres craneales de *Caiman sclerops*, *C. lastirostris* y *C. yacare* están relacionados significativamente con los procesos ontogénicos y que dicha variación se observa a principios de la ontogenia, en contraste con la etapa adulta, en la que no es posible detectar variación alguna.

Por otra parte, la falta de diferenciación en los caracteres morfológicos evaluados entre las poblaciones puede deberse a la compensación que ofrece el cautiverio. Usualmente, las UMA's en las que se crían cocodrilos tienen las mismas, o al menos muy similares condiciones de manejo (temperatura del sistema de producción, temperatura ambiental, humedad y alimento). Esto muestra la plasticidad fenotípica de la especie a las diferentes

condiciones durante el cautiverio al que fueron sometidas (Milnes *et al.*, 2001; Piña *et al.*, 2003).

Los ejemplares evaluados de *C. moreletii*, todos ellos sub-adultos y adultos, no presentaron dimorfismo sexual. Este resultado concuerda con lo que reportan Álvarez del Toro y Sigler (2001), quienes sostienen que no existe dimorfismo sexual aparente en la etapa adulta de *C. moreletii*. La única diferencia morfológica detectada fue en la LT de las hembras de la población originaria de VJ, que fue mayor que la de los machos de esa misma localidad y también mayor en comparación con los dos sexos de las otras poblaciones estudiadas. Este mayor tamaño corporal puede reflejar el resultado de un buen cuidado en cautiverio durante la etapa juvenil en la UMA en la que nacieron.

Los resultados sugieren que las condiciones de cautiverio parecen no estar afectando las características morfológicas de *C. moreletii*, al menos durante las etapas tardías de desarrollo. Sin embargo, resulta necesaria la evaluación de más caracteres morfológicos en diferentes etapas de desarrollo, e inclusive incrementar el tamaño de la muestra.

En lo que respecta al patrón de crecimiento corporal, la comparación de las estimaciones de crecimiento de *C. moreletii* con otras TC reportadas en otros trabajos para otras especies de cocodrilos enfatizan interesantes patrones de variación. Las TC calculadas en este estudio variaron entre 0.075 y 0.611 mm/día (Cuadro 2) y fueron menores a las que reporta Blohm (1973) de 0.89 mm/día para cocodrilos y caimanes. Asimismo, las estimaciones son menores a las reportadas para *C. intermedius* en cautiverio por Ramírez-Perilla (1991) y por Pérez y

Rodríguez (2005), quienes documentan TC de 1.24 y 2.78 mm/día, respectivamente. Estas diferencias pueden deberse tanto a efectos filogenéticos como a diferentes condiciones del manejo en cautiverio al que están sometidos, tales como el tipo y frecuencia de alimento suministrado y la temperatura ambiental. Bajo este último escenario, es muy factible que las condiciones en las que se mantiene a *C. moreletii* en la UMA Cacahuatal no sean las óptimas y entonces sería necesaria una reestructuración de su plan de manejo.

Por otro lado, también existe la posibilidad de que las TC -relativamente bajas- que se obtuvieron en este estudio se deban a que solamente se midieron ejemplares en estado avanzado de desarrollo, mientras que los reportes de otros trabajos incluyen a individuos de diversas clases de talla o edades (Rodríguez, 1989; Piedra *et al.*, 1997; Pérez, 2000; Cupul-Magaña *et al.*, 2004; Pérez y Escobedo-Galván, 2007). En cocodrilos el crecimiento es mayor durante la etapa inicial de la ontogenia y disminuye conforme los individuos envejecen (Hall y Portier, 1994; Magnusson y Sanaiotti, 1995; Pérez y Escobedo-Galván, 2007). Según Bolton (1994), los cocodrilos de diversas especies exhiben en promedio TC de 4.6 cm/mes durante los dos primeros años de vida. Los resultados reportados aquí muestran ser mucho menores, donde la TC promedio más alta fue de 1.83 cm/mes (ver Cuadro 2). Estas diferencias pueden ser un simple efecto de la etapa de desarrollo en la cual se midió a los cocodrilos que correspondió a sub-adultos y adultos.

En un contexto intraespecífico de variación en el crecimiento corporal, se encontró que la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales de México (2000), reporta que *C. moreletii* en vida silvestre exhibe una TC promedio de entre 2.0 y 2.5 cm/mes. Cremieux *et*

al., (2005) reportan para *C. moreletii* en cautiverio TC de entre 1.4 y 2.4 cm/mes. Las estimaciones encontradas para esta misma especie son menores a las que se documentan en los trabajos citados, siendo de entre 0.225 y 1.83 cm/mes (ver Cuadro 2). Esto evidencia nuevamente que probablemente algún aspecto del manejo de estos cocodrilos en la UMA Cacahuatal esté afectando de manera negativa su capacidad de crecimiento. Con la finalidad de mejorar las condiciones del cautiverio de *C. moreletii* en instituciones como las UMA's, resulta importante identificar de qué manera la temperatura, la alimentación, la densidad poblacional, la humedad y otros factores a los que son sometidos impactan la velocidad de crecimiento de estos cocodrilos (Pérez-Higareda *et al.*, 1989; Piedra *et al.*, 1997; Huchzermeyer, 2003; Cremieux *et al.*, 2005; Platt *et al.*, 2006). Esto último se hace indispensable si el propósito es llevar a cabo la explotación comercial de la especie, para lo cual resulta muy importante obtener un crecimiento mayor para que los animales alcancen las tallas comerciales.

Entre las tres poblaciones se encontraron diferencias significativas respecto al patrón de crecimiento corporal. De acuerdo con la segunda hipótesis planteada se esperaba encontrar que las poblaciones cuyos individuos nacieron en condiciones naturales (PC y GZ) presentaran tasas de crecimiento mayores en comparación con la población que nació en cautiverio (PV). La hipótesis de que las condiciones de manejo no tienen un efecto significativo en los ejemplares que nacieron en vida silvestre no se rechaza parcialmente, ya que las TC de *C. moreletii* de PC y GZ resultaron ser más altas que las de PV. Sin embargo, entre PC y GZ se detectaron diferencias significativas ($P < 0.01$), indicando cierto efecto de las condiciones de manejo. Los individuos de GZ crecieron mucho más rápido, lo cual se

muestra en la Figura 4. Esto podría explicarse debido a diferencias genéticas entre estas últimas dos poblaciones o a que en etapas tempranas de desarrollo experimentaron distintas condiciones de alimentación, densidad y/o temperatura, entre otras (Pinheiro *et al.*, 1992; Piedra *et al.*, 1997; Pérez y Rodríguez, 2005; Poletta *et al.*, 2008). Sin embargo, en este estudio no se tiene información para aceptar o rechazar estas aseveraciones.

1.5 Conclusiones

Con base en los resultados encontrados en la presente evaluación se concluye: que las condiciones de cautiverio no parecen estar afectando significativamente los caracteres morfológicos evaluados en las poblaciones de *C. moreletii*. Sin embargo, existen algunos factores de manejo que están influyendo el crecimiento corporal de esta especie.

Trabajos futuros deben explorar el efecto que tiene la cantidad y calidad de alimento, la densidad poblacional, la temperatura, la edad y el estado reproductivo sobre este importante atributo de historia de vida, durante un tiempo más amplio. Esta información es fundamental desde el punto de vista de la producción, debido a que los factores que determinan el crecimiento de *C. moreletii* deben ser optimizados para aprovechar al máximo la especie en condiciones de cautiverio, lo que conllevaría a la obtención de organismos más grandes, y a su vez más productivos en términos de su piel, carne y grasa. En resumen, lograr cocodrilos más grandes en menor tiempo repercutiría en un mayor beneficio económico a la UMA a través de la disminución de los gastos y tiempos de producción.

Consideramos que *C. moreletii* se adapta a las condiciones del cautiverio; esto último es un efecto positivo para la recuperación poblacional de la especie en los hábitats de su distribución, principalmente en aquellas áreas donde se extinguieron las poblaciones, a través un programa de reintroducción de los individuos del núcleo de la UMA Cacahuatal.

1.6 Literatura citada

- Allsteadt, J. y J. W. Lang. 1995. Sexual dimorphism in the genital morphology of young American alligators, *Alligator mississippiensis*. *Herpetologica* 51:314-325.
- Álvarez del Toro, M. y L. Sigler. 2001. Los Crocodylia de México. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. México. 134 p.
- Bolton, M. 1994. La explotación del cocodrilo en cautividad. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Conservación 22. Roma, Italia. 156 p.
- Blohm, T. 1973. Conveniencia de criar crocodrílidos en Venezuela con fines económicos y para prevenir su extinción. *En: Memorias del 1^{er} Simposio Internacional sobre Fauna Silvestre y Lacustre Amazónica*. Manaus, Brasil. 126 p.
- Casas-Andréu, G. y M. Guzmán-Arroyo. 1970. Estado actual de las investigaciones sobre cocodrilos mexicanos. *Boletín del Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras, Serie Divulgación* 3:1-52.
- CITES. 2008. Convención Internacional del Comercio y Tráfico de Especies Amenazadas de Flora y Fauna. Propuesta para transferir la población mexicana *Crocodylus moreletii* del Apéndice I al Apéndice II. Acuerdo 23, Documento 18. Ginebra, Suiza. 28p.
- Coulson, T. D., R. A. Coulson y T. Hernández. 1973. Some observations on the growth of captive alligators. *Zoologica* 58:47-52.
- Cupul-Magaña, F. G., A. Rubio-Delgado y A. Reyes-Juárez. 2004. Crecimiento en talla y peso del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) durante su primer año de vida. *Revista Española de Herpetología* 18:55-61.
- Cremieux, J., T. Vázquez, E. Alpizar y V. Melo. 2005. Management of *Crocodylus moreletii* in captivity conditions. *International Society for Animal Hygiene* 2:415-417.
- Domínguez-Laso, J. 2006. Determinación del estado actual de las poblaciones silvestres del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) en México y evaluación de su estatus en la CITES. Instituto de Historia Natural y Ecología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. CS009. México, D. F. 83 p.
- Garnett, S. T. y R. M. Murray. 1986. Parameters affecting the growth of the Estuarine Crocodile, *Crocodylus porosus*, in captivity. *Australian Journal of Zoology* 34:211-223.
- Hall, M. P. 1989. Variation in geographic isolates of the New Guinea crocodile (*Crocodylus novaeguineae* Schmidt) compared with the similar, allopatric Philippine crocodile (*C. mindorensis* Schmidt). *Copeia* 1989:71-80.

- Hall, M. P. y K. M. Portier. 1994. Cranial morphometry of New Guinea Crocodiles (*Crocodylus novaeguineae*): ontogenetic variation in relative growth of the skull and an assessment of its utility as a predictor of the sex and size of individuals. *Herpetological Monographs* 8:203-225.
- Huchzermeyer, F. W. 2003. *Crocodiles: Biology, Husbandry and Diseases*. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK. 356 p.
- Instituto Nacional de Ecología. 2000. Estrategia nacional para la vida silvestre. Logros y retos para el desarrollo sustentable 1995-2000. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales e Instituto Nacional de Ecología. México, D. F. 213 p.
- Lang, J. W. 1989. Social Behavior. *En: Behavior and environment: crocodiles and alligators*, C. A. Ross (ed.). Facts on File, Nueva York, p. 102-105.
- Magnusson, W. E. y T. M. Sanaiotii. M. 1995. Growth of *Caiman crocodilus crocodilus* in Central Amazonia, Brazil. *Copeia* 1995:498-501.
- Medem, F. 1981. Los Crocodylia de Suramérica. Los Crocodylia de Colombia. Carrera 7ª edición. Ltda., Bogotá, Colombia. 344 p.
- Messel, H. 1991. Sustainable utilization: a program that conserves many crocodilians. *Species* 16:30-32.
- Micucci P. A. y T. Waller. 1995. Los yacarés en Argentina: hacia un aprovechamiento sustentable. Fundación Banco Bica. Santa Fe, Argentina. p. 81-112.
- Milnes, M. R., R. A. Woodward, y L. J. Guillette Jr. 2001. Morphological variation in hatchling American alligators (*Alligator mississippiensis*) from three Florida Lakes. *Journal of Herpetology* 35:264-271.
- Monteiro, L. R., M. J. Cavalcanti y H. J. S. Sommer. 1997. Comparative ontogenic shape changes in the skull of *Caiman* species (Crocodylia, Alligatoridae). *Journal of Morphology* 231:53-62.
- Monteiro, R. L. y M. Soares. 1997. Allometric analysis of the ontogenetic variation and evolution of the skull in *Caiman Spix*, 1825 (Crocodylia: Alligatoridae). *Herpetologica* 53:62-69.
- McNease, L. y T. Joanen. 1981. Nutrition of alligators. *Proceedings of the Alligator Production Conference*, Gainesville, Florida 1:15-28.
- Pérez, G. M., L. C. Naranjo, T. B. Reyes e I. R. Vega. 2009. Influencia de dos tipos de dietas sobre la talla y el peso corporal en neonatos de *Crocodylus acutus* Cuvier, 1807 (Crocodylidae: Crocodylia) del zocriadero de Manzanillo, Cuba. *Acta Zoológica Mexicana* 25:151-160.

- Pérez-Higareda, G., A. Rangel-Rangel, H. M. Smith y D. Chiszar. 1989. Comments on the food and feeding habits of Morelet's Crocodile. *Copeia* 1989:1039-1041.
- Pérez, T. A. T. 2000. Crecimiento del *Caiman crocodilus crocodilus* en cautiverio. *Interciencia* 25:442-446.
- Pérez, O. y A. H. Escobedo-Galván. 2007. Crecimiento en cautiverio de *Crocodylus acutus* (Cuvier, 1807) en Tumbes, Perú. *Revista Peruana de Biología* 14:221-223.
- Pérez, A. y J. Rodríguez. 2005. Influencia de la temperatura del aire y del agua en el crecimiento de *Crocodylus intermedius* en dos condiciones de cautiverio. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 39:15-26.
- Piedra, L., J. Bolaños y J. Sánchez. 1997. Evaluación del crecimiento de neonatos de *Crocodylus acutus* (Crocodylia: Crocodylidae) en cautiverio. *Revista de Biología Tropical* 44/45:289-293.
- Pinheiro, M. S., S. A. Santos y R. A. Silva. 1992. Efeito da temperatura da água sobre o crescimento inicial de *Caiman crocodilus yacare*. *Revista Brasileira de Biologia* 52:161-168.
- Piña, C. I., A. Larriera y M. Cabrera. 2003. Effect of incubation temperature on incubation period, sex ratio, hatching success, and survivorship in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). *Journal of Herpetology* 37:199-202.
- Piña, C., A. Larriera, P. Siroski y L. M. Verdade. 2007. Cranial sexual discrimination in hatchling broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). *Iheringia, Série Zoología* 97:17-20.
- Poletta, G. L., A. Larriera y P. A. Siroski. 2008. Broad snouted caiman (*Caiman latirostris*) growth under different rearing densities. *Aquaculture* 280:264-266.
- Pooley, T. 1991. Bases para la crianza de cocodrilos en zonas remotas. *En: Crianza de cocodrilos: información de literatura científica*, K. F. Wayne (ed.). Crocodile Specialists Group. I. U. C. N. The Word Conservation Union, Gland, Switzerland. pp. 81-109.
- Platt, S. G., T. R. Rainwater, A. G. Finger, J. B. Thorbjarnarson, T. A. Anderson y S. T. McMurry. 2006. Food habits, ontogenetic dietary partitioning and observations of foraging behaviour of Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) in northern Belize. *Herpetological Journal* 16:281-290.
- Ramírez-Perilla J. A. 1991. Efecto de la cantidad y frecuencia alimentaria de una dieta experimental sobre la tasa de crecimiento de un ejemplar juvenil de *Crocodylus intermedius*, Crocodylia: Crocodylidae. *Caldasia* 16:531-538.

- Rodríguez, M. A. 1989. Tres modelos de crecimiento en longitud de neonatos y juveniles de *Caiman crocodilus fuscus* (Cope, 1968), (Crocodylia: Alligatoridae) en cautiverio. *Trianea* 3:61-66.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2000. Proyecto para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de los Crocodylia de México (CROMACOM). Instituto Nacional de Ecología, México. 107 p.
- Staton, M. A., I. L. Jr Brisbin y G.M. Pesti. 1988. Feed formulation for alligator: An overview and initial studies. Proceedings of 8th Working Meeting, IUCN, Crocodile Specialists Group. Quito, Ecuador. pp. 84-104.
- Thorbjarnarson, J. B., F. Mazzotti, E. Sanderson, F. Buitrago, M. Lazcano, K. Minkowski, M. Muñiz, P. Ponce, L. Sigler, R. Soberon, A. M. Trelancia y A. Velasco. 2006. Regional habitat conservation priorities for the American crocodile. *Biological Conservation* 128:25-36.
- Verdade, L. M. 2000. Regression equations between body and head measurements in the broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). *Revista Brasileira de Biologia* 60:469-482.
- Verdade, L. M. 2003. Cranial sexual dimorphism in captive adult broad snouted caiman (*Caiman latirostris*). *Amphibia-Reptilia* 24:92-99.

CAPÍTULO II. ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL, VARIACIÓN GENÉTICA Y TAMAÑO EFECTIVO DE POBLACIÓN DE CUATRO POBLACIONES DE *Crocodylus moreletii* DEL TRÓPICO MEXICANO MEDIANTE MICROSATÉLITES

Resumen

Se evaluó la estructura poblacional, variación genética y tamaño efectivo de población (N_e) de cuatro poblaciones de *Crocodylus moreletii* en cautiverio. A partir de una muestra hemática de 40 cocodrilos, se aisló y purificó el ADN para amplificar nueve regiones de microsatélites con la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los productos de la amplificación de la PCR se visualizaron en geles de acrilamida teñidos con nitrato de plata. A partir del análisis del tamaño de alelos presentes por población, se estimaron los índices de estructura genética poblacional, la variación genética mediante análisis de varianza molecular (AMOVA), y el N_e a partir del total de ejemplares reproductivos. El tamaño de alelos varió entre y dentro de poblaciones, presentando polimorfismo en las regiones microsatélites. El total de haplotipos fue de 147 y la media del total de alelos de 17.5 (± 2.91); la heterocigosidad total de las poblaciones varió entre 0.986 y 1.000 presentando diferenciación genética por loci. El AMOVA detectó mayor variación dentro que entre poblaciones. Dos poblaciones presentan un limitado N_e y como consecuencia, presentan riesgo de endogamia. Se concluye que *C. moreletii* debe ser conservada a nivel de su estructura genética *in situ* y *ex situ*.

Palabras clave: Variabilidad genética, Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre, Cocodrilo de pantano, PCR, AMOVA, Endogamia.

Abstract

The genetic population structure, genetic variation and effective population size (N_e) were analyzed of four populations of *Crocodylus moreletii* raised captivity. By obtaining hematic sample of 40 crocodiles, the DNA was isolated and purified to amplify nine microsatellite regions with the Polymerase Chain Reaction. The amplification products of the PCR were visualized in acrylamide gels dyed with silver nitrate. From the analysis of the alleles for each population, it was estimated the population genetic structure indexes, the genetic variation with an analysis of molecular variance (AMOVA), and the N_e from all reproductive individuals. The size of alleles varied within and between populations presenting polymorphism in the microsatellites regions. The total of haplotypes was 147 and the average of alleles was 17.5 (± 2.91). Total heterozygosity varied between 0.986 and 1.000, presenting genetic differentiation for loci; the AMOVA detected more variation within than between populations. Two populations presented a limited N_e and as consequence, they present risk of inbreeding. It can be concluded that the genetic structure of *C. moreletii* must be preserved *in situ* and *ex-situ*.

Key word: Genetic variability, Unit of Management of the Wild Life, Morelet's crocodile, PCR, AMOVA, Inbreeding.

2.1 Introducción

Entre los años de 1940 a 1970, algunas poblaciones silvestres del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) distribuidas en Belice, Guatemala y México (Ross, 1998), fueron sometidas a diversas prácticas ilegales como la cacería de ejemplares adultos para la comercialización de su piel y captura de crías para su venta como mascotas. Aunado a esto, la destrucción de su hábitat ha conllevado al decremento demográfico de esta especie (Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo, 1970; Abercrombie *et al.*, 1980; Casas-Andreu, 1995; Sigler, 1995; Ross, 1998; Álvarez del Toro y Sigler, 2001). Ante tal situación, autoridades del gobierno federal mexicano e instancias dedicadas a la conservación de especies, declararon veda total permanente de *C. moreletii*. Además fue clasificada y categorizada como especie rara; con datos insuficientes para establecer su estatus de conservación; con bajo riesgo de extinción; bajo protección especial y sujeta a conservación (Diario Oficial de la Federación, 1994, 2001; Instituto Nacional de Ecología, 1999; Casas-Andreu, 2000; Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, 1994, 2006); lo que logró, al parecer, los objetivos de la veda y de su conservación. En el territorio mexicano existen más de 10 000 individuos maduros en estado silvestre (Domínguez-Laso, 2006). Esto ha permitido sugerir el cambio de *C. moreletii* del Apéndice I al Apéndice II por parte de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES, 2008).

Las poblaciones silvestres de *C. moreletii* habitan zonas pantanosas, lagunas, manglares y riberas de ríos (Abercrombie *et al.*, 1980; Casas-Andreu, 1995; Sigler, 1995; Álvarez del Toro y Sigler, 2001). Actualmente en el trópico mexicano, dichos hábitats naturales han sido transformados para vivienda, ganadería, agricultura, desarrollo urbano y turístico,

infraestructura industrial y de servicios (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2009). Este cambio en el uso del suelo puede generar efectos negativos directos sobre la dinámica poblacional y la diversidad genética de la especie (Dever y Densmore, 2001; Dever *et al.*, 2002; Ray *et al.*, 2004; McVay *et al.*, 2008).

Recientemente ha resultado necesario explorar la estructura genética de poblaciones de cocodrilos para su conservación a nivel genético (Glenn, 2002; Forstner y Forstner, 2002). En este contexto, se han explorado diversos parámetros genéticos utilizando diferentes marcadores moleculares como microsatélites en *Alligator mississippiensis* (Davis *et al.*, 2000); genes codificantes de proteínas en *C. niloticus* (Flint *et al.*, 2000); AFLP en *A. sinensis* (Yang *et al.*, 2006); RAPD en *A. sinensis* (Wu *et al.*, 2002), en *Caiman latirostris* (Amavet *et al.*, 2007) y en *C. acutus* (Porrás *et al.*, 2008); así como la amplificación de secuencias de la región mitocondrial (*cyt-b*) en *Osteolaemus tetraspis tetraspis* (Ray *et al.*, 2000) y en *C. rhombifer* (Weaver *et al.*, 2008). En el caso de los marcadores moleculares como los microsatélites, que son secuencias cortas repetidas de ADN (Tautz, 1989) a lo largo del genoma de organismos eucariontes (Litt y Luty, 1989; Strassmann *et al.*, 1996), se han usado para detectar variación en el genoma de anfibios y reptiles mediante el diseño de *primers* que permiten la amplificación de las regiones microsatélites (Avise, 1994; 2004). Para los Crocodylia ya se han identificado algunas regiones microsatélites y se han diseñado *primers* que han permitido determinar diversos parámetros de estructura genética y variabilidad genética de especies como *Alligators mississippiensis* (Glenn *et al.*, 1998), *Caiman lastrirostris*

(Zucoloto *et al.*, 2002), *Paleosuchus palpebrosus*, *Caiman yacare* y *C. cocodriles* (Zucoloto *et al.*, 2006) y en algunas especies de *Crocodylus* (FitzSimmons *et al.*, 2001).

La aplicación del análisis de microsatélites en especies de *Crocodylus*, ha revelado que algunas poblaciones cautivas de *C. rhombifer*, *C. siamensis* y *C. porosus* presentan hibridación entre sí (FitzSimmons *et al.*, 2002). En *C. moreletii* y *C. acutus* se ha reportado hibridación de ambas especies en su hábitat silvestre (Rodríguez *et al.*, 2008); además, las regiones de microsatélites de *C. moreletii* presentan bajos niveles de diversidad de nucleótidos comparado con otras especies del mismo género (Ray *et al.*, 2004). Dever y Densmore (2001) y Dever *et al.* (2002), reportan que algunas poblaciones de *C. moreletii* distribuidas en Belice presentan variabilidad genética a nivel intrapoblacional. Por otro lado, McVay *et al.*, (2008), evidenciaron paternidad múltiple en *C. moreletii*; las citadas investigaciones en *C. moreletii* han inferido que la diversidad genética en esas poblaciones puede estar siendo influida por subdivisión poblacional, por los procesos de migración de éstos cocodrilos y se intuye que por un bajo tamaño efectivo de población (N_e) en las poblaciones, éste como consecuencia de su alta presión de explotación. El N_e está relacionado de manera inversa con el incremento de endogamia y con la pérdida de diversidad genética. Además, mantiene una relación directa con la posibilidad de adaptación al ambiente (Sugg y Chesser, 1994; Falconer y MacKay, 1996; Ducheve *et al.*, 2006).

No obstante, las investigaciones sobre estructura y variación genética de algunas poblaciones de *C. moreletii*, existe todavía falta de información sobre las poblaciones distribuidas en México que permita generar programas para su manejo y conservación *in situ* y *ex situ*. En

base a lo anterior, la presente investigación planteó los siguientes objetivos: a) estimar los índices de la estructura genética de las cuatro poblaciones de *C. moreletii* mantenidas en cautiverio en la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) Cacahuatal, b) evaluar su variación genética entre poblaciones y, c) determinar el N_e y la tasa de incremento de endogamia de cada población.

2.2 Materiales y métodos

Material biológico. En el presente estudio se analizaron cuatro poblaciones de *C. moreletii*: dos poblaciones cuyos ejemplares fueron capturados en su hábitat silvestre en las localidades de Puente Chilapa, municipio de Tezonapa, Veracruz, México y Gutiérrez Zamora, Veracruz, México y las dos poblaciones restantes nacieron en cautiverio en otras UMA's establecidas en las localidades de Puerto Vallarta, Jalisco, y Villa Juárez, Sinaloa, México. Dichos ejemplares se encuentran en condiciones de cautiverio con fines de explotación y conservación en la UMA Cacahuatal, localizada en el poblado José Ingenieros, municipio de La Antigua, Veracruz, México (latitud 19° 22', longitud 96° 22' y altitud de 20 msnm).

Del total de la población ($N=125$), se capturaron aleatoriamente 10 individuos adultos (longitud total mayor a 150 cm) de cada población ($n=40$); se identificó el lugar de procedencia a través de una placa interdigital, ubicada en el pliegue interdigital de la pata derecha. Posteriormente, a cada ejemplar se le extrajo con equipo Vacutainer® conteniendo EDTA como anticoagulante de 1 a 3 ml de sangre de la vena caudal que se encuentra a la altura de la tercera vertebra cervical (ver detalles de extracción sanguínea en el Apéndice 2; Davis *et al.*, 2001; Davis *et al.*, 2002; McVay *et al.*, 2008). Cada muestra de sangre contenida

en el vial Vacutainer® se marcó con las iniciales del lugar de procedencia del ejemplar, la fecha y número de individuo y se mantuvieron a una temperatura de -20 °C hasta su posterior análisis.

Aislamiento y purificación de ADN. La fase de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Sistemática Molecular del Instituto de Ecología, A. C. (INECOL) ubicado en la ciudad de Xalapa, Veracruz, México. El aislamiento y purificación de ADN de 18 muestras de sangre se realizó mediante el kit Dneasy® (QIAGEN) de la manera siguiente: a 0.3 ml de sangre contenidos en un vial Eppendorf®, se le agregó 10 µL de proteinasa K. Posteriormente se prosiguió según las especificaciones del manual del fabricante (detalles del procedimiento de extracción en el Apéndice 3). El aislamiento y purificación del ADN de las restantes 22 muestras se realizó empleando el método propuesto por González y Vovides (2002), con ciertas modificaciones como sigue: se añadió 0.3 ml de sangre en un vial Eppendorf® y se agregó 750 µL de buffer de extracción al 2% [(p/v), CETAB, 100 mM Tris, pH 8.0, 20 mM Na₂-EDTA, 14 mM NaCl], se agitó (30 s) cada 10 min y se incubó a 65 °C durante 1.5 h. El mayor volumen posible del buffer de extracción fue transferido a un vial estéril de Eppendorf® al que se agregó 500 µL de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1; v/v). La emulsión se mantuvo en agitación durante 5 min. Seguidamente se centrifugó durante 10 min a 13000 rpm y la fase acuosa se transfirió a un nuevo vial Eppendorf®, al cual se añadió 50 µL de acetato de sodio (3 M, pH 6.0) y 1 ml de etanol absoluto manteniéndolo en agitación durante 5 min y se dejó precipitar a -20 °C durante 15 h. Posteriormente se colectó el precipitado mediante una centrifugación a 13000 rpm durante 10 min, el sobrenadante se decantó y el precipitado se lavó con 300 µL de etanol al 70 % frío (entre 10 y 12 °C);

nuevamente se centrifugó a 13000 rpm durante 5 min, el sobrenadante se decantó y el precipitado se secó en un evaporador rotatorio durante 5 min. El ADN se disolvió en 30 μ L de TE (10 mM Tris-HCl pH 7.5-8.0, 1 mM de EDTA). Se verificó el aislamiento y concentración del ADN (5 μ L) en geles de agarosa al 0.8 % [1.2 gr de agarosa disueltos en 150 ml de TBE 1X (0.089 M Tris-base, 0.089 M ácido bórico, 20 mM EDTA disueltos en 1 L de dH₂O)] más 7 μ L de bromuro de etidio (10mg/ml).

La purificación de éstas últimas muestras de ADN se llevó a cabo mediante columnas que contuvieron 500 μ L de sephadex (5.0 gr de sephadex disueltos en 200 ml de dH₂O estéril), centrifugadas por 1 min a 3000 rpm; posteriormente se agregó la muestra de ADN en el centro de la columna con sephadex y se centrifugó durante 1 y 4 min a 3000 y 5000 rpm, respectivamente. Se concentró el producto en un evaporador rotatorio durante 5 min y se verificó la concentración de ADN (5 μ L) en geles de agarosa al 0.8 % más 7 μ L de bromuro de etidio.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). En el presente estudio se utilizaron nueve pares de primers (sintetizados por Invitrogen Custom Primers) para la amplificación de las regiones microsatélites en el ADN de todos los ejemplares. Los primers fueron diseñados por FitzSimmons *et al.*, (2001) y han sido utilizados por Dever y Densmore (2001) y Dever *et al.*, (2002) en otras poblaciones de *C. moreletii*. La amplificación se llevó a cabo mediante la PCR por cada par de primers y cada una se realizó en un volumen final de 20 μ L que contuvo: 2.0 μ L de Buffer 10X, 1.6 μ L de 15 μ M MgCl₂, 0.8 μ L de 10 μ M dNTPs, 0.4 μ L de *Taq I* polimerasa (5 u/ μ L), 1.0 μ L 10mM de cada *primers*, entre 10 a 15 ng de ADN (3 ng/ μ L) y

dH₂O estéril requerida para aforar al volumen final. La PCR fue programada en un termociclador (Labnet International Inc.) con los siguientes parámetros: desnaturalización preliminar a 94 °C durante 3 min, desnaturalización a 94 °C por 30 ciclos de 15 s cada uno, se utilizó la temperatura de alineación específica (ver Dever y Densmore, 2001) del par de primers probado durante 30 s, seguida de una extensión final a 72 °C durante 7 min. Los productos de PCR (5 µL) fueron visualizados en geles de agarosa al 0.8 % para corroborar su amplificación antes de realizar la electroforesis en gel de acrilamida.

Electroforesis en gel de acrilamida. El proceso de electroforesis de los productos de PCR se llevó a cabo en geles de acrilamida al 6 % preparados de la manera siguiente: primeramente y sobre una charola de seguridad, se colocaron los moldes de 20 cm x 20 cm para los geles (un par de placas de vidrio limpias con etanol absoluto; a la cara interna de uno de los vidrios se le adhirió sigmacote® para evitar la adhesión del gel). Se usaron separadores de 1.5 mm entre las placas de vidrio para formar el gel fijándolos con clips metálicos. Después de vaciar el gel se colocó un peine que sirvió como molde de pozos. Cada gel de acrilamida se preparó como sigue: a 12 ml del stock de acrilamida al 40 %; se mezcló 38 gr de acrilamida, 2 gr de Bis-acrilamida y 1 gr de resina desionizante (amberlita) en 100 ml de dH₂O y posteriormente se filtró; se le añadió 27 ml de dH₂O, 40 g de urea y 1 g amberlita mantenido en agitación constante hasta disolver, seguidamente se filtró y desgasificó con bomba de vacío. Al filtrado se le agregó 8 ml de TBE 10X (0.89 M Tris-Base, 0.89 M ácido bórico, 20 mM EDTA disueltos en 1 L de dH₂O y se filtró) y se aforó con dH₂O a un volumen de 80 ml, los cuales fueron vertidos a una piceta y adicionalmente se le añadió 400 µL de Persulfato de Amonio al 10 % (APS; 0.1 g de APS en 1.0 ml de dH₂O) y 45 µL de TEMED para catalizar la

polimerización mezclándolo suavemente. La mezcla se vertió en el molde para los geles, se instaló el peine en la parte superior de las placas y se dejó polimerizar 30 min. Los geles se colocaron en una cámara vertical para electroforesis Thermo Scientific Owl P10DS Dual Gel System que contenía buffer TBE 1X y se corrieron 1 h a 1680 V, 60 mA y 80 W. Antes de cargar las muestras amplificadas se desnaturalizaron 2 min a 92 °C; inmediatamente se colocaron en hielo y a cada una se le agregó 8 µL de “*Stop solution*”. Las muestras se vertieron en los pozos del gel por población y primer; al término de las 10 muestras de cada población, se puso un ladder de 100 pb (Promega). Todos los geles con las muestras y el ladder se corrieron a 1680 V, 60 mA y 80 W durante 3 h. Una vez transcurrido el tiempo de electroforesis, se prosiguió a retirar y separar las placas de la cámara electroforética para teñir los geles.

Visualización y registro de alelos. El proceso de tinción de los geles adheridos a la cara interna de la placa de vidrio se llevó a cabo según lo propuesto por Benbouza *et al.*, (2006), como sigue: inmersión del gel en 300 ml de solución fijadora fría [10 % de alcohol absoluto, 0.5 % de ácido acético entre 10 y 12 °C (100 ml de alcohol absoluto más 0.5 ml de ácido acético diluidos en 1 L de dH₂O)] por 5 min. El gel se sumergió en un segundo recipiente con 300 ml de la solución 0.15 % AgNO₃ (1.5 gr AgNO₃ diluido en 1 L de dH₂O) más 1.5 ml y 600 µL adicionales de formaldehído al 37 % durante 7 min. El gel se transfirió a un tercer recipiente y se lavó con dH₂O entre 10 y 15 s; finalmente se reveló en un cuarto recipiente con 300 ml de solución de NaOH al 1.5 % (1.5 gr de NaOH diluido en 1 L de dH₂O), 2.0 ml y 600 µL adicionales de formaldehído al 37 % entre 3 a 5 min ó hasta visualizar los alelos, en ese momento se detuvo el proceso sumergiendo el gel en la misma solución fijadora fría del

primer recipiente por 2 min. De todos los geles se obtuvieron imágenes (Figura 5) con una cámara Kodak Digital Science® para su posterior análisis y los geles se deshidrataron para futuras consultas.

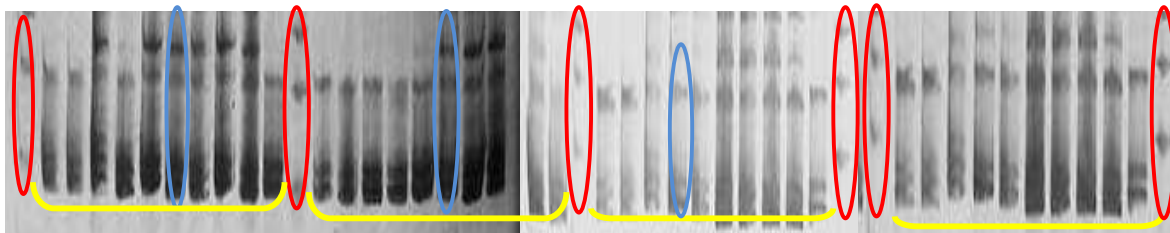


Figura 5. Imagen de los geles que contienen los alelos que estuvieron presentes por población. El círculo rojo indica el marcador de peso molecular; en azul se encierra los alelos y en amarillo agrupa los 10 ejemplares de una sola población. De izquierda a derecha, inician los ejemplares de Sinaloa, Puente Chilapa, Puerto Vallarta y Gutiérrez Zamora, respectivamente. El *primer* utilizado en esta imagen es Cj35.

A partir de las imágenes de los geles se hizo uso del software 1D Image Analysis Software (versión 3.0) para calcular el tamaño (en pares de bases; pb) de todos los alelos por loci presentes en los geles, tomando como referencia el tamaño de los fragmentos del ladder (Figura 6).

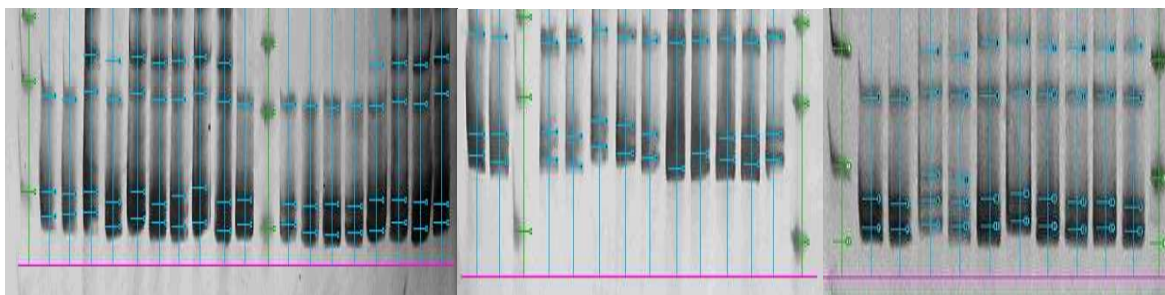


Figura 6. Imagen del cálculo del tamaño (en pares de bases) de los alelos presentes por población. El software detecta y marca en azul los alelos con mayor intensidad de oscuridad y en color verde se indica el marcador de peso molecular con el que se calcula el peso molecular de cada alelo. Los pesos moleculares son obtenidos en una matriz en el software Excel. La línea rosa indica el margen del gel. El *primer* utilizado en esta imagen es Cj35

Análisis de la estructura genética poblacional y variación genética. Con el software Excel (versión 2007 para Windows) se generó una matriz de datos de los tamaños de los alelos

presentes por población y se estimó el tamaño mínimo y máximo de los alelos presentes por loci por población. Posteriormente, mediante el complemento MICROSAT se transformó la matriz de datos para ser analizada con el software Fstat (versión 2.9.3.2 para Windows), con el cual se estimaron los índices de estructura genética poblacional de las cuatro poblaciones como: número de loci polimórficos (considerando como loci polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común no excede de 0.95) y porcentaje de loci polimórficos. Acorde con el equilibrio de Hardy-Weinberg, se determinó heterocigosidad observada (H_o), esperada (H_e) y esperada de la población total (H_t) por loci para todas las poblaciones (Nei, 1973; 1978). Adicionalmente, se obtuvieron los parámetros de diferenciación genética absoluta entre las sub-poblaciones de la población total (D_{st}), el índice de diferenciación genética por loci (G_{st}) y el estadístico análogo G_{IS} al estadístico F_{IS} de Wright (1965), que mide el grado de desviación promedio subpoblacional respecto a las frecuencias genotípicas en equilibrio de Hardy-Weinberg. Posteriormente se obtuvieron los estadísticos F para los nueve loci de las cuatro poblaciones (F -statistics; Weir y Cockerham, 1984), los cuales están relacionados con el parentesco (Queller y Goodnight, 1989) y la endogamia (corregidos por Pamilo, 1984, 1985): F_{IT} (coeficiente de endogamia de un individuo con respecto a la población total), F_{ST} (coeficiente de endogamia de una sub-población con respecto a la población total) y F_{IS} (coeficiente de endogamia de un individuo en relación a su sub-población), que fueron estimados a un intervalo de confianza del 95 % (Wright, 1965); para conocer la solidez de los resultados de los estadísticos F , se aplicaron las pruebas de Jackknife y Bootstrapping.

A la misma matriz de datos se le cambiaron los comandos con el complemento MICROSAT para ser analizada con en el software Arlequin (versión 3.0 para Windows; Excoffier *et al.*,

2005). Con este programa se estimaron los índices de estructura genética poblacional como: diversidad haplotípica por población, diversidad haplotípica total, número de alelos por loci y la diversidad genética de las cuatro poblaciones. Para estimar la distribución de la variación genética dentro y entre poblaciones y grupos se aplicó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA; Excoffier *et al.*, 1992; Weir, 1996), estimado con una significancia estadística de 1000 permutaciones aleatorias; el AMOVA se aplicó a dos grupos: grupo 1: Sinaloa y Puerto Vallarta agrupadas por haber nacido en cautiverio y grupo 2: Puente Chilapa y Gutiérrez Zamora agrupadas por haber nacido en estado silvestre y la variación genética se evaluó entre grupos, entre las poblaciones dentro de grupos y dentro de poblaciones.

Tamaño efectivo de la población y tasa de incremento de endogamia. Con información obtenida sobre el número total (tamaño censal; N) de hembras y machos reproductivos (N_r) de cada una de las cuatro poblaciones, se determinó el N_e para cada población utilizando la siguiente fórmula propuesta por Oldenbroek (1998):

$$\frac{1}{N_e} = \frac{1}{4} \left(\frac{1}{N_m} + \frac{1}{N_h} \right)$$

Donde: N_e es el tamaño efectivo de población, N_m y N_h es el número total de machos y hembras reproductivos [sexados previamente mediante tacto cloacal y se consideraron ejemplares sexualmente maduros a aquellos que tienen una longitud total (desde la punta del hocico al final de la cola) mayor a 150 cm; Platt *et al.*, 2008] en la población total. Para conocer si las poblaciones de cocodrilos analizadas en el presente estudio presentan riesgo de endogamia, se determinó la tasa de incremento del índice de endogamia por generación (ΔF)

propuesto por Eding y Laval (1998), el cual fue calculado en función del Número de ejemplares reproductivos (N_r) para poblaciones con igual número de machos y hembras, y en función del N_e , para una población con desigual número de machos y hembras, mediante la siguientes funciones:

$$\Delta F_{N_r} = 1/2N \quad \text{y} \quad \Delta F_{N_e} = 1/2N_e$$

2.3 Resultados

Estructura genética poblacional. Los nueve loci utilizados resultaron ser polimórficos ($P \leq 0.05$) y el porcentaje de polimorfismo fue del 100 % para las cuatro poblaciones. En el Cuadro 3 se muestra el tamaño mínimo y máximo de los alelos presentes por loci en cada población, la diversidad genética y el total de haplotipos por población; en dicho cuadro se observa que el valor mínimo y máximo de alelos es de 76 pb (loci Cj35) y 1045 pb (loci Cj109), respectivamente; la diversidad haplotípica total fue de 145 (± 1).

Cuadro 3. Tamaño (en pares de bases) mínimo y máximo de los alelos obtenidos por loci por población. Se presenta la diversidad genética (\pm) desviación estándar, frecuencia haplotípica y la diversidad haplotípica.

Loci	Población			
	VJ*	PC	GZ	PV
Cj16	140-261	141-245	142-328	142-238
Cj18	79-333	81-489	147-515	87-314
Cj20	158-406	137-520	113-470	281-702
Cj35	104-256	115-278	208-325	76-165
Cj109	565-668	143-786	142-767	261-1045
Cj119	106-246	180-376	106-226	124-224
Cj127	370-508	368-829	368-749	377-1002
Cj128	221-474	237-506	235-521	222-467
Cj131	97-429	173-469	209-481	194-442
Diversidad genética	1.0000 \pm 0.0065	1.0000 \pm 0.0056	1.0000 \pm 0.0065	1.0000 \pm 0.0075
Frecuencia haplotípica	0.0278	0.0250	0.0278	0.0303
Total de haplotipos	36	40	36	33

*VJ= Villa Juárez, Sinaloa; PC= Puente Chilapa, Veracruz; GZ=Gutiérrez Zamora, Veracruz; PV= Puerto Vallarta, Jalisco.

En el Cuadro 4 se presenta el número de alelos por loci y los estadísticos básicos descriptivos (media y desviación estándar) para cada loci de las cuatro poblaciones. Se encontró que existe variación en el número de alelos que presentó cada población en cada loci. La población de Gutiérrez Zamora presentó un mayor número promedio de alelos respecto a las otras tres poblaciones. Los loci Cj18 y Cj20 fueron los que presentaron un mayor número total de alelos respecto a los demás loci.

Cuadro 4. Número de alelos por loci por población (A), Media y desviación estándar (\pm) y total de alelos de las cuatro poblaciones en estudio.

Loci/población	VJ*	PC	GZ	PV	Media	\pm	Total de alelos
	A	A	A	A			
Cj16	5	5	7	6	5.7	0.95	18
Cj18	7	7	5	5	6.0	1.15	21
Cj20	6	6	7	5	6.0	0.81	20
Cj35	5	5	4	3	4.2	0.95	14
Cj109	3	6	6	5	5.0	1.41	17
Cj119	6	6	5	5	5.5	0.57	18
Cj127	4	4	4	3	3.7	0.50	11
Cj128	6	6	4	6	5.5	1.00	19
Cj131	5	5	5	5	5.0	0.00	17
Media	5.2	5.5	5.2	4.7	5.1	0.31	17.2
\pm	1.13	0.83	1.13	1.03	1.32	0.14	2.89

*VJ=Villa Juárez, Sinaloa; PC= Puente Chilapa, Veracruz; GZ= Gutiérrez Zamora, Veracruz; PV= Puerto Vallarta, Jalisco.

En el Cuadro 5 se exponen los resultados de la heterocigosidad observada (H_o), esperada (H_e), esperada de la población total (H_t), el parámetro de diferenciación genética absoluta entre las subpoblaciones de la población total (D_{st}), el índice de diferenciación genética por loci (G_{st}) y el estadístico análogo (G_{IS}). El grado de desviación promedio sub-poblacional (G_{IS}) indicó valores positivos en todos los loci significativamente diferentes de cero ($P > 0.001$; Cuadro 5).

Cuadro 5. Heterocigosidad observada (H_o), esperada (H_e) y esperada de la población total (H_t); D_{st} corresponde a la diferenciación genética absoluta entre las subpoblaciones de la población total; G_{st} corresponde al índice de diferenciación genética relativa entre las subpoblaciones respecto a la diversidad genética encontrada en la población total; G_{IS} es el estadístico análogo al estadístico F_{IS} de Wright.

Loci	H_o	H_e	H_t	D_{st}	G_{st}	G_{IS}
cj16	-0.000	1.000	0.988	-0.012	-0.012	1.000
cj18	0.000	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000
cj20	-0.000	1.000	0.996	-0.004	-0.004	1.000
cj35	0.000	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000
cj109	-0.000	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000
cj119	-0.000	1.000	0.995	-0.005	-0.005	1.000
cj127	0.000	1.000	0.986	-0.014	-0.014	1.000
cj128	0.000	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000
cj131	0.000	1.000	1.000	0.000	0.000	1.000
Media	-0.000	1.000	0.996	-0.004	-0.004	1.000

Variación genética de las poblaciones. Los resultados del AMOVA indican que no existe variación genética entre grupos ni entre las poblaciones dentro de los grupos; sin embargo, detectó mayor variación genética dentro de las poblaciones. Lo anterior se corrobora por el

mayor porcentaje de variación presentado (101.11 %) dentro de las subpoblaciones (Cuadro 6).

Cuadro 6. Resultados del Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) entre dos grupos. Se presentan los grados de libertad, la suma de cuadrados, los componentes de varianza y el porcentaje de variación entre grupos, entre las poblaciones dentro de grupos y dentro de poblaciones.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos	1	0.577	-0.00051	-0.05
Entre las sub-poblaciones dentro de grupos	2	1.229	-0.01039	-1.06
Dentro de sub-poblaciones	141	139.636	0.99032	101.11
Total	144	141.441	0.98497	

En el Cuadro 7 se presentan los estadísticos F y los valores de las pruebas de Jackknife y Bostraps; en ambas pruebas, solo los valores del estadístico F_{ST} fueron significativos, así como el valor de endogamia y del parentesco.

Cuadro 7. Resultados de las estimaciones de los estadísticos F y sus relaciones de variación.

	Componentes de variación							
	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}	Parentesco	Endogamia	A	b	C
	1.000	-0.006	1.000	-0.006	-9.990	-0.057	9.000	0.000
*Jackknifing	1.000	-0.006	1.000	-0.006	Media			
	0.000	0.003	0.000	0.003	Error estándar			
**Bootstrapping	1.000	-0.013	1.000	-0.013	Media			

*Prueba entre los loci; ** Prueba entre los loci, calculados a un intervalo de confianza del 95 %.
a = entre poblaciones; b = entre individuos dentro de las poblaciones; c = dentro de individuos.

Tamaño efectivo de población y tasa de incremento de endogamia. En el Cuadro 8 se indica la estructura de sexos en las poblaciones, el N_e de las cuatro poblaciones y la tasa de incremento de endogamia por generación. Se observa que el N_e es limitado en las poblaciones de Puente Chilapa y Puerto Vallarta, además que el N_e es diferente al tamaño censal (N_r), indicando que no presenta características de una población ideal según los principios del equilibrio de Hardy-Weinberg. Las tasas de incremento de endogamia (ΔF) en la población de Puente Chilapa determinada con ambas funciones indican una ΔF mayor al 1 % por generación. No obstante, para la población de Puerto Vallarta, solo la función determinada con el N_e indica una aproximación a una tasa de incremento de endogamia (0.90) al 1 % (Cuadro 8).

Cuadro 8. Estructura de sexos por población, Número total de cocodrilos reproductivos, Tamaño efectivo de población y Tasa de cambio en el coeficiente de endogamia.

Población	Nm	Nh	Nr	N_e	ΔF_{Nr}	ΔF_{N_e}
Gutiérrez Zamora, Ver.	167	333	500	444.9	0.10	0.11
Puente Chilapa, Ver.	17	24	41	39.8	1.22	1.26
Puerto Vallarta, Jal.	15	189	204	55.6	0.25	0.90
Villa Juárez, Sin.	134	266	400	356.44	0.13	0.14

Abreviaciones: Nm = Número de machos, Nh = Número de hembras, Nr = Número total de cocodrilos reproductores, N_e = Tamaño efectivo de población, ΔF_{Nr} = Cambio en coeficiente de endogamia por generación en función del Número de reproductores; ΔF_{N_e} = Cambio en coeficiente de endogamia por generación en función del tamaño efectivo de población.

2.4 Discusión

Estructura genética poblacional. Ya se ha discutido la utilidad de los microsatélites para el análisis de la estructura genética poblacional y variación genética en *C. moreletii* (Dever y Densmore, 2001; Dever *et al.*, 2002; Ray *et al.*, 2004; McVay *et al.*, 2008). En este sentido, en la presente evaluación se corrobora tal aseveración, aunque se enfatiza en generar *primers* específicos para esta especie, a fin de explorar sus componentes de variación a una escala filogenética y evolutiva.

La diversidad haplotípica por población fue variable entre las poblaciones siendo mayor en las poblaciones nacidas en estado silvestre (Puente Chilapa y Gutiérrez Zamora) respecto a las nacidas en cautiverio (Villa Juárez y Puerto Vallarta). El polimorfismo en las regiones microsatélites amplificadas en la presente investigación, surge de la variación de la posición de las regiones microsatélites (Schlötterer y Tautz, 1992). Los resultados sobre el tamaño mínimo-máximo de los alelos presentes por sub-población resultaron ser diferentes por loci y entre las sub-poblaciones analizadas. Dichas diferencias pueden estar siendo influidas por mutaciones, inserciones o deleciones en las secuencias de las regiones microsatélites en el genoma de estos ejemplares o a eventos de recombinación desigual durante la replicación del ADN como se ha propuesto anteriormente (Zane *et al.*, 2002). Nuestras estimaciones respecto al tamaño mínimo-máximo de los alelos así como el número de alelos, difieren de lo reportado por Dever y Densmore (2001) y Dever *et al.*, (2002), esto como resultado de la variación genética que presentan las poblaciones o probablemente por la técnica de visualización de alelos utilizada entre ambos estudios, que en este estudio se utilizó la más sensible para detectarlos (Benbouza *et al.*, 2006).

La similitud de la diversidad genética presentada entre las poblaciones sugiere un equilibrio genético en las poblaciones analizadas, debido posiblemente a un apareamiento aleatorio entre los ejemplares reproductivos en cada sub-población (Dever *et al.*, 2002). Respecto a los resultados obtenidos de diversidad genética, se encontró que son diferentes a los reportados por Dever *et al.*, (2002), que pueden estar siendo influidos por la variación genética o por el aislamiento geográfico entre tales poblaciones, ya que generalmente está relacionado con la diversidad genética como sucede en algunos cocodrilos (Verdade *et al.*, 2002; Villela *et al.*, 2008), aseveración que debe ser probada en esta especie en estudios posteriores.

El valor de la H_o media fue menor a la H_e media, indicando un déficit de heterocigotos. Esto puede ser resultado de las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg que posiblemente es causado por los efectos de deriva génica que experimentaron estas poblaciones, tales como los escasos procesos migratorios que disminuyen el flujo genético (Dever *et al.*, 2002) o posiblemente, a los cruzamientos entre organismos emparentados durante el mantenimiento en cautiverio, tal y como sucede en algunas poblaciones cautivas de *Crocodylus* (FitzSimmons *et al.*, 2002) y en poblaciones silvestres de *C. moreletii* en Belice (MacVay *et al.*, 2008). Lo anterior debe ser considerado para los planes de reintroducción de *C. moreletii* a su hábitat natural, además que sugiere futuros problemas para la explotación comercial de la especie. En el presente estudio la H_t media es de 0.99 y se encuentra muy por encima respecto a lo estimado por Dever y Densmore (2001) y Dever *et al.*, (2002) para *C. moreletii* ($H = 0.49$ en ambos estudios), quienes mencionan que es una heterocigosidad superior comparada con lo que reportó Lawson *et al.*, (1989) para *Crocodylus niloticus* ($H = 0.011$) a partir de un análisis de isoenzimas. En este sentido, las estimaciones presentadas aquí manifiestan un índice de

heterocigosidad superior comparadas a nivel inter-poblacional e inter-específico, esto debido a las diferentes mutaciones en las regiones microsátélites en el ADN que cada población y especie ha experimentado, respectivamente. Los índices de diferenciación genética (D_{st} y G_{st}), así como el estadístico G_{IS} demuestran que la diferenciación detectada en los loci es explicada por las variaciones entre individuos dentro de cada sub-población. La limitada proporción de variación detectada entre las sub-poblaciones respecto a su diversidad genética, puede ser resultado de las relaciones existentes entre los parámetros H_t, D_{st} y G_{st}, debido a que producen un aumento en la diversidad absoluta y relativa de las poblaciones analizadas.

Variación genética de las poblaciones. El AMOVA detectó que la mayor variación genética se encuentra dentro de las poblaciones (101.11 %), determinada por las diferencias entre los haplotipos presentes en los ejemplares analizados dentro de cada población. Por otro lado, hubo ausencia de variación genética entre grupos (- 0.05 %) y entre las sub-poblaciones dentro de grupos (- 1.06 %), justificada a partir de los datos de los componentes de varianza que resultaron ser negativos (ver Cuadro 4), lo que significa que la distribución del parámetro no se encuentra en el espacio muestral total, esto en base a los efectos aleatorios con que fueron calculados. La información anterior es similar a lo reportado por Dever y Densmore (2001), lo cual, tiene relación con la escasa estructuración genética de las poblaciones; también es similar la limitada variación entre grupos y entre las poblaciones dentro de los grupos, manifestando una reducida diferenciación de las poblaciones. A pesar de la limitada estructuración genética entre grupos, estudios futuros deben incluir ejemplares de otras poblaciones del trópico mexicano para explorar la posible variación a diferentes escalas jerárquicas de variación poblacional.

El estadístico F_{ST} presentó un valor muy reducido (- 0.006), el cual indica una reducida tasa de diferenciación entre las subpoblaciones, misma que corrobora los resultados del AMOVA, indicando que la mayor variabilidad genética se localiza al interno de las subpoblaciones. Lo anterior, sugiere un cruzamiento entre organismos emparentados que posiblemente se originó históricamente cuando los progenitores de las poblaciones analizadas aún habitaban en vida silvestre, como resultado de la fragmentación de su hábitat que generó escasos procesos migratorios entre poblaciones.

Tamaño efectivo de la población (N_e) y tasa de incremento de endogamia. Diversas investigaciones han intuido que el N_e es un componente que promueve la diferenciación genética en poblaciones de *C. moreletii* (Dever y Densmore, 2001; Dever et al., 2002; Ray et al., 2004, McVay et al., 2008). Sin embargo, es muy discutible y prácticamente escasa la determinación y sobre todo, la influencia de dicho parámetro sobre la estructura genética poblacional de ésta especie. En otras especies como en *Crocodylus niloticus*, ya se ha determinado la influencia del N_e a partir de información molecular y se ha determinado su relación con la disminución de la diversidad alélica y su heterocigosidad (Bishop et al., 2009).

Un reducido tamaño efectivo de población es indicador de una tasa de decaimiento de heterocigocis (Wright, 1930). En este contexto, las estimaciones determinadas del N_e indicaron que las poblaciones de Villa Juárez, Sinaloa y Gutiérrez Zamora, Veracruz, presentan un N_e suficiente que garantiza la estabilidad de la estructura genética de éstas poblaciones. Por otro lado, las poblaciones de Puente Chilapa, Veracruz y Puerto Vallarta, Jalisco, presentan un limitado N_e indicando un serio problema que generaría la pérdida de

heterocigocis en éstas últimas poblaciones (Futuyma, 1986). El N_e determinado de las poblaciones en el presente estudio es diferente al tamaño censal poblacional, lo que sugiere que no cumple con las condiciones de una población ideal, por ejemplo, el número de hembras debe ser igual al de machos; la proporción equitativa de sexos disminuye los riesgos de endogamia (Oldenbroek, 1998; Moreno, 2007).

En relación a la tasa de incremento de endogamia (ΔF), las poblaciones de Puente Chilapa y Puerto Vallarta, presentan serios problemas de ΔF por generación, mostrando tasas superiores al 1 % de incremento de endogamia por generación, esto derivado por su bajo N_e (Duchev *et al.*, 2006; Bishop *et al.*, 2009). Lo anterior, surge por efecto del limitado número de machos reproductivos, por lo que resulta necesario tomar medidas que permitan revertir este avance, como incrementar el número de machos reproductores, específicamente en estas dos poblaciones.

2.5 Conclusiones

En base a los resultados obtenidos en este capítulo se puede concluir que las poblaciones de *C. moreletii* evaluadas presentan un bajo grado de diferenciación genética, mostrado por el AMOVA y corroborado por el valor de F_{ST} , ya que prácticamente la totalidad de la variación genética se encuentra dentro de las sub-poblaciones. No se detectó variación entre las sub-poblaciones, por lo que se puede deducir que los ejemplares analizados provengan de una misma población que históricamente se distribuyó homogéneamente a lo largo del territorio mexicano y que se ha mantenido la misma estructura genética.

A nivel inter-específico, los parámetros de estructura genética obtenidos son muy diferentes a los reportados para otras especies, por lo que resulta importante generar programas específicos que conserven la estructura genética en las poblaciones evaluadas y las distribuidas en el territorio mexicano. Los programas de manejo *in situ* de *C. moreletii* deben estar enfocados a la reestructuración de su hábitat y sobre todo a conservar los corredores biológicos que permitan el flujo migratorio entre poblaciones de esta especie.

El N_e está relacionado con la proporción sexual, puede ser utilizado como una estrategia de conservación genética *ex situ* que debe incluirse en los planes reproductivos para el manejo en cautiverio de la especie.

2.6 Literatura citada

- Abercrombie, C. L., D. Davidson, C. A. Hope y D. E. Scott. 1980. Status of Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) in Belize. *Biological Conservation* 17:103-113.
- Álvarez del Toro, M. y L. Sigler. 2001. Los Crocodylia de México. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables y Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. México. 134 p.
- Amavet, P. S., L. E. Rosso, M. R. Markariani, y A. Larriera. 2007. Analysis of the population structure of Broad-Snouted Caiman (*Caiman latirostris*) in Santa Fe, Argentina, using the RAPD technique. *Journal of Herpetology* 41:294-300.
- Avise, J. C. 1994. Molecular markers: natural history and evolution. Chapman and Hall, New York. U. S. A. 511 p.
- Avise, J. C. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 684 p.
- Benbouza, H., J. Jean-Marie, B. Jean-Pierre y M. Guy. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide Gels. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 10:77-81.
- Bishop, M. J., A. J. Leslie, S. L. Bourquin y C. O'Ryan. 2009. Reduced effective population size in an overexploited population of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *Biological Conservation* 142:2335-2341.
- Casas-Andreu, G. y M. Guzmán-Arroyo. 1970. Estado actual de las investigaciones sobre cocodrilos mexicanos. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico-Pesqueras, Serie Divulgación Biológica 3:1-50.
- Casas-Andreu, G. 1995. Los cocodrilos de México como recurso natural. Presente, pasado y futuro. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 46:153-162.
- Casas-Andreu, G. 2000. Hacia la conservación y manejo sustentable del lagarto o cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) en México. *En: La conservación y el manejo de caimanes y cocodrilos de América Latina*, L. M. Verdade y A. Larriera (eds.). Piracicaba, São Paulo, Brasil. pp. 27-45.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2009. Cuarto Informe Nacional de México al Convenio sobre Diversidad Biológica (CDB). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México D.F. 194 p.

- Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre. 2008. Propuesta para transferir la población mexicana *Crocodylus moreletii* del Apéndice I al Apéndice II. Acuerdo 23, Documento 18. Ginebra, Suiza. 28 p.
- Davis, L. M., T. C. Glenn, R. M. Elsey, I. L. Jr. Brisbin, W. E. Rhodes, H. C. Dessauer y R.H. Sawyer. 2000. Genetic structure of six populations of American alligators: a microsatellite analysis. *In: Crocodylian Biology and Evolution*, G.C. Grigg, F. Seebacher y C. E. Franklin (eds.). Surrey Beatty y Sons, Chipping Norton, Australia. pp. 38-50.
- Davis, L. M., T. C. Glenn, R. M. Elsey, H. C. Dessauer y R. H. Sawyer. 2001. Multiple paternity and mating patterns in the American alligator, *Alligator mississippiensis*. *Molecular Ecology* 10:1011-1024.
- Davis, L. M., T. C. Glenn, D. C. Strickland, L. J. Guillette Jr., R. M. Elsey, W. E. Rhodes, H. C. Dessauer y R. H. Sawyer. 2002. Microsatellite DNA analyses support an east-west phylogeographic split of American Alligator populations. *Journal of Experimental Zoology* 294:352-372.
- Dever, J. A. y D. Densmore. 2001. Microsatellites in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletii*) and their utility in addressing crocodylian population genetics questions. *Journal of Herpetology* 35:541-544.
- Dever, J. A., R. E. Stratus, T. R. Rainwater, S. T. McMurry y L. D. Densmore III. 2002. Genetic diversity, population subdivision and gene flow in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletii*) from Belize, Central America. *Copeia* 4:1078-1091.
- Diario Oficial de la Federación. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994, que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres, terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y las sujetas a protección especial, y que establece especificaciones para su protección. Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. Gobierno Federal Mexicano. México. pp. 2-60.
- Diario Oficial de la Federación. 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección Ambiental -Especies nativas de México de Flora y Fauna silvestre, tres categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- Lista de Especies en riesgo. Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. Gobierno Federal Mexicano. México. pp. 11-85.
- Domínguez-Laso, J. 2006. Determinación del estado actual de las poblaciones silvestres del cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) en México y evaluación de su estatus en la CITES. Instituto de Historia Natural y Ecología. Informe final. Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad-Comisión Nacional de Biodiversidad, proyecto No. CS009. México, D.F. 83 p.
- Duchev, Z., O. Distl y E. Groeneveld. 2006. Early warning system for loss of diversity in European livestock breeds. *Archives of Animal Breeding* 49:521-531.

- Eding, J. H. y G. Laval. 1998. Measuring genetic uniqueness in livestock. *En: Genebanks and the conservation of farm animal genetics resources*, J. K. Oldenbroek (ed). DLO. Institute for Animal Science Health. A. B. Lelystad, The Netherlands. pp. 33-58.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Excoffier, L., P. Smouse y J. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- Falconer, D. S. y T. F. C. MacKay. 1996. Introduction to quantitative genetics. Longman, Harlow, Essex, United Kingdom. 365 p.
- FitzSimmons, N., S. Tanksley, M. R. Forstner, E. E. Louis, R. Daglish, J. Gratten y S. Davis. 2001. Microsatellite markers for *Crocodylus*: new genetic tools for population genetics, mating system studies and forensics. *En: Crocodylian biology and evolution*, G. Grigg y F. Seebacher (eds.). Surry Beatty and Sons, Chipping Norton, New South Wales, Australia. pp. 51-57.
- FitzSimmons, N., J. C. Buchan, P. V. Lam, G. Polet, T. T. Hung, N. Q. Thang y J. Gratten. 2002. Identification of purebred *Crocodylus siamensis* for reintroduction in Vietnam. *Journal Experimental Zoology* 294:373-381.
- Forstner, M. y J. M. Forstner. 2002. Aplicaciones del DNA en la conservación de los cocodrilianos. *In: La Conservación y el Manejo de Caimanes y Cocodrilos de América Latina*, Verdade, L. M. y A. Larriera (eds.). Piracicaba, São Paulo, Brasil. pp. 99-117.
- Futuyma, D. J. 1986. Evolutionary biology. 3^{ra} Edition. Sinauer Ass., Sunderland, Massachusetts. 828 p.
- Flint, N. S., F. H. Van Der Bank y J. P. Grobler. 2000. A lack of genetic variation in commercially bred Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in the north-west province of South Africa. *Water SA* 26:105-110.
- González, D. y A. P. Vovides. 2002. Low intralinear divergence in *Ceratozamia* (Zamiaceae) detected with nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA *trnL-F* non-coding region. *Systematic Botany* 27:654-661.
- Glenn, T., H. C. Dessauer y M. Braun. 1998. Characterization of microsatellite DNA loci in American alligators. *Copeia* 1998:591-602.
- Glenn, T. C. 2002. DNA tools and resources for Crocodylian research. *En: Crocodiles, Proceedings of the 16th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group and the World Conservation Union* (eds.). Gainesville, Florida. pp. 211.

- Instituto Nacional de Ecología. 1999. Proyecto para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de los Crocodylia de México (COMACROM). México. D. F. 107 p.
- Lawson, R., C. P. Kofron y H. C. Dessauer. 1989. Allozyme variation in a natural population of the Nile crocodile. *American Zoology* 29:863-871.
- Litt, M. y J. A. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle acting gene. *The American Journal of Human Genetics* 44:397-401.
- Moreno, L. A. 2007. Tamaño efectivo de la población. *In: Ecología Molecular*, L. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre (eds.). Instituto Nacional de Ecología. México. pp. 63-86.
- McVay, J. D., D. Rodriguez, T. R. Rainwater, J. A. Dever, S. G. Platt, S. T. McMurry, M. R. J. Forstner y L. D. Densmore. 2008. Evidence of multiple paternity in Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) in Belize, CA, inferred from microsatellite markers. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 10:643-648.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America* 70:3321-3323.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Oldenbroek, J. K. 1998. Genebanks and the management of farm animal genetic resources. ID-DLO Institute for Animal Science and Health. 128 p.
- Pamilo, P. 1984. Genotypic correlation and regression in social groups: multiple alleles, multiple loci and subdivided populations. *Genetics* 107: 307-320.
- Pamilo, P. 1985. Effect of inbreeding on genetic relatedness. *Hereditas* 103:195-200.
- Porras, M. L. P., J. R. M. Bolaños y B. R. Brarr. 2008. Variación genética y flujo de genes entre poblaciones de *Crocodylus acutus* (Crocodylia: Crocodylidae) en tres ríos del pacífico central, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 56:1471-1480.
- Platt, S. G., T. R. Rainwater, J. B. Thorbjarnarson y S. T. McMurray. 2008. Reproductive dynamics of a tropical freshwater crocodilian: Morelet's crocodile in northern Belize. *Journal of Zoology* 2008:1-13.
- Queller, D. C. y K. F. Goodnight. 1989. Estimating relatedness using molecular markers. *Evolution* 43:258-274.

- Ray, D. A., J. A. Dever, S. G. Platt, T. R. Rainwater, A. G. Finger, S. T. McMurry, M. A. Batzer, B. Barr, P. J. Stafford, J. McKnight y L. D. Densmore. 2004. Low levels of nucleotide diversity in *Crocodylus moreletii* and evidence of hybridization with *C. acutus*. *Conservation Genetics* 5:449-462.
- Ray, D. A., S. White, H. V. Duong, T. Cullen y L. Densmore. 2000. High levels of genetic variability in West African Dwarf Crocodiles *Osteolaemus tetraspis tetraspis*. *En: Crocodylian Biology and Evolution*, G. C. Grigg, F. Seebacher y C. E. Franklin (eds.). Surry Beatty y Sons. Chipping Norton, Australia. pp. 58-63.
- Rodríguez, D., J. R. Cedeño-Vázquez, M. R. J. Forstner y L. D. Densmore III. 2008. Hybridization between *Crocodylus acutus* and *Crocodylus moreletii* in the Yucatan Peninsula: II. Evidence from microsatellites. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 10:674-686.
- Ross, J. P. 1998. Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan. World Conservation United/Crocodile Specialist Group, Gland Switzerland and Cambridge, United King. 96 p.
- Sigler, L. 1995. The *Crocodylus moreletii* recovery in northwest of Chiapas state, Mexico. *Crocodile Specialist Group Newsletter* 14:17-18.
- Sugg, D. W. y R. K. Chesser. 1994. Effective population sizes with multiple paternity. *Genetics* 137:1147-1155.
- Schlötterer, C. y D. Tautz. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research* 20: 211-215.
- Strassmann, J. E., C. R. Solis, J. M. Peters y D. C. Queller. 1996. Strategies for finding and using highly polymorphic DNA microsatellite loci for studies of genetic relatedness and pedigrees. *En: Molecular Zoology*, J. Ferraris y S. Palumbi (eds.). Wiley-Liss Inc. New York. pp. 163-180.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 16:6463-6471.
- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. 1994. IUCN Red Categories. *En: IUCN Species Survival Commission, IUCN: The World Conservation Union* (ed.). Gland, Switzerland. 21 p.
- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. 2006. IUCN Red List of Threatened Species. Disponible en: www.iucnredlist.org
- Verdade, L. M., R. B. Zucoloto y L. L. Coutinho. 2002. Microgeographic variation in *Caiman latirostris*. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 294:387-396.

- Villela, S. P. M., L. H. Coutinho, C. I. Piña y L. M. Verdade. 2008. Macrogeographic Genetic Variation in Broad-Snouted Caiman (*Caiman latirostris*). Journal of Experimental Zoology 309A:628–636.
- Weir, B. y C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38:1358-1370.
- Weir, B. S. 1996. Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data. Sinauer Associates, INC. Publishers, Sunderland, Massachusetts. 283 p.
- Weaver, J. P., D. Rodríguez, M. Venegas-Anaya, J. R. Cedeño-Vázquez, M. R. J. Forstner, L. D. Densmore III. 2008. Genetic characterization of captive Cuban crocodiles (*Crocodylus rhombifer*) and evidence of hybridization with the American crocodile (*Crocodylus acutus*). Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology 10:649-660.
- Wu, X., Y. Wang, K. Zhou, W. Zhu, J. Nie, C. Wang y W. Xie. 2002. Genetic variation in captive population of Chinese alligator, *Alligator sinensis*, revealed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Biological Conservation 106:435-441.
- Wright, S. 1930. Evolution in mendelian populations. Genetics 16:97-158.
- Wright, S. 1965. Interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. Evolution 19: 395-420.
- Yang, P., X. Wu, Y. Wang, Z. Jiang, C. Gu y C. Wang. 2006. AFLP Analysis of genetic variation on captive-bred Chinese alligators: an application to select individuals for release. Zoo Biology 6:479-490.
- Zane, L., L. Barcelloni y T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellites isolation: a review. Molecular Ecology 11:1-16.
- Zucoloto, R. B., L. M. Verdade y L. L. Coutinho. 2002. Microsatellite DNA library for *Caiman latirostris*. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution 294:346-351.
- Zucoloto, R. B., P. M. V. Schmidt, L. M. Verdade y L. L. Coutinho. 2006. Cross-species microsatellite amplification in South American Caimans (*Caiman* spp. and *Paleosuchus palpebrosus*). Genetics and Molecular Biology 29:75-78.

6. Discusión general

6.1 *Análisis de la variación morfológica.*

Como se ha señalado, la variación morfológica está asociada con la temperatura, humedad, distribución latitudinal, longitudinal y altitudinal (Zobel y Van Buijtenen, 1989; Begon *et al.*, 1990). Varios estudios relacionan la variación morfológica de cocodrilos de diferentes clases de tamaño, edad y sexo con diferentes características morfológicas (del cuerpo y cráneo), tanto de poblaciones silvestres como cautivas y han sugerido que tal variación esta influida por diferencias genéticas dentro y entre poblaciones, esto debido a la plasticidad fenotípica y a la etapa de desarrollo (Hall, 1989; Milnes *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2006; Piña *et al.*, 2007; Verdade *et al.*, 2002; Villela *et al.*, 2008).

Los resultados obtenidos aquí muestran una covarianza del carácter morfológico LHC que alométricamente tuvo un efecto significativo sobre todas las medidas morfológicas evaluadas. En este sentido, ésta correlación es similar a la que reportó Villegas (2005), respecto a que la conformación zoométrica craneal está relacionada significativamente con la LHC para individuos en cautiverio y silvestres de *C. moreletii*. Dicha covarianza se presenta en la mayoría de especies de cocodrilos, cuyos caracteres morfológicos tienen relaciones significativas entre sí, así como también con la talla y el crecimiento corporal (Montague, 1984; Deeming y Ferguson, 1990; Hall y Portier, 1994; Monteiro y Soares, 1994; Wu *et al.*, 2006; Piña *et al.*, 2007; Pérez y Escobedo-Galván, 2007; Meraz *et al.*, 2008).

Aún a pesar de la correlación significativa en los cocodrilos evaluados, los resultados indican una limitada diferenciación morfológica entre las poblaciones analizadas. La población de

Villa Juárez, Sinaloa presentó una limitada variación morfológica, posiblemente dicha variación fenotípica esté siendo influida por la variación genética que presenta la población, tal y como se reporta en el Capítulo II; lo anterior tiene sustento con las relaciones entre variación genética y el tamaño corporal (que en cocodrilos está relacionado con la morfología) como sucede en vertebrados (Mezhzherin, 2002). Sin embargo, se sugiere realizar un análisis que integre la información morfológica con la información genética de esta población, con la finalidad de esclarecer algún efecto significativo que esté generando la variación fenotípica.

Por otro lado, todas las poblaciones no presentaron diferencias morfológicas entre sexos, resultado de la inexistencia de dimorfismo sexual en su etapa sub-adulta y adulta, debido a que esa etapa presentan su máximo grado de desarrollo corporal (Álvarez del Toro y Sigler, 2001, Villegas, 2005).

6.2 Variación en el crecimiento corporal.

Los resultados muestran un efecto significativo de la talla sobre la tasa de crecimiento de *C. moreletii*, la cual es una relación común en la mayoría de vertebrados (Von Bertalanffy, 1951, 1957; Stearns, 1992; Adolph y Porter, 1996) y en particular en especies de cocodrilos (Pérez, 2000; 2008; Pérez y Escobedo-Galván, 2007; Poletta *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2009).

La variación en las tasas de crecimiento corporal entre las poblaciones de cocodrilos analizadas en el presente estudio, están siendo determinadas por efecto de las condiciones del cautiverio. Por ejemplo, la densidad de cultivo de *C. moreletii* en la UMA Cacahuatal, puede estar limitando el crecimiento corporal de los ejemplares analizados. Es decir, durante el estudio, las poblaciones de PC y GZ presentaron menor densidad de cocodrilos por área (entre

0.5 a 0.6 cocodrilos por m²) respecto a la población de PV que presentó una mayor densidad de cultivo (entre 0.8 a 0.9 cocodrilos por m²). Se ha demostrado que la densidad de cultivo de *Caiman latirostris* y *Crocodylus acutus* en cautiverio, determina en cierta medida diferencias significativas respecto al patrón de crecimiento corporal de estas especies de cocodrilos (Piedra *et al.*, 1997; Poletta *et al.*, 2008).

El no encontrar diferencias significativas entre sexos dentro de poblaciones respecto al crecimiento, puede ser resultado de que el crecimiento de las hembras tiende a disminuir después de alcanzar su madurez sexual, mientras que el crecimiento de los machos tiende a ser constante durante más tiempo (Chabreck y Joanen, 1979; Pérez y Escobedo-Galván, 2007); en este sentido, los machos alcanzaron las mismas tasas de crecimiento que las hembras y por tanto no hubo diferencias significativas, lo que se ha confirmado en investigaciones anteriores en relación al limitado dimorfismo sexual.

6.3 Estructura genética poblacional.

Nuestros resultados indican un índice de heterocigosidad (Ht) muy superior respecto a otras poblaciones de la misma especie distribuidas en Belice reportadas por Dever y Densmore (2001) y Dever *et al.*, (2002). Estas diferencias pueden deberse a la variación genética presente en las poblaciones analizadas en el presente estudio (ver Capítulo II), en relación a la reportada en las investigaciones citadas. La H_o fue menor a la H_e, lo que indicó que existe un déficit de heterocigotos en la población total. Esto pudo deberse a los procesos ecológicos que sufrieron las poblaciones en estado silvestre, generando deriva génica.

6.4 *Variación genética poblacional.*

Los resultados indican que las sub-poblaciones analizadas fueron similares entre sí. Algo similar sucede en las poblaciones de la misma especie distribuidas en Belice (Dever y Densmore, 2001; Dever *et al.*, 2002). Los componentes de variación indican que existe mayor variación dentro de las poblaciones que entre grupos y entre las poblaciones dentro de grupos, debido al efecto de la variación de la posición de las regiones microsatélites en cada individuo. Esta diferenciación genética en cada población, puede estar surtiendo efectos tanto en la morfología y crecimiento corporal de la especie bajo estudio.

6.5 *Tamaño efectivo de población (N_e).*

Dos de las cuatro poblaciones presentan riesgo de endogamia debido a su bajo N_e (Puente Chilapa y Puerto Vallarta). Este factor está siendo influido por la relación desigual de sexos. Si estas poblaciones se mantienen con un bajo N_e , se disminuirá la estructura genética de esas poblaciones (Bishop *et al.*, 2009), por lo que sería necesario generar una estrategia que permita estabilizar la estructura genética de esas poblaciones.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

Conclusiones

En base a los resultados obtenidos de la evaluación integral sobre los caracteres de historia de vida como es la morfología y el crecimiento corporal y sobre genética cuantitativa como es la descripción de la estructura y variación genética y el tamaño efectivo de población (N_e) de cuatro poblaciones de *C. moreletii* en la UMA Cacahuatal, se desprenden las conclusiones siguientes:

- No se acepta la H1. Los resultados obtenidos indican que existe similitud en los caracteres morfológicos evaluados en los ejemplares de la especie. No identificándose diferencias morfológicas entre sexos ni entre poblaciones.
- Se acepta la H2. Las poblaciones presentaron diferencias respecto al patrón de crecimiento corporal entre poblaciones. Sin embargo, no se encontraron diferencias respecto a las tasas de crecimiento corporal entre sexos.
- Se acepta la H3. La estructura genética indica que las poblaciones presentan un alto grado de polimorfismo. Es decir, existe variación a nivel genético en cada población. Sin embargo, la variación genética existente se encuentra alojada al interno de las poblaciones y es limitada entre sub-poblaciones.
- Se acepta la H4. El tamaño censal (N_r) en cada población fue diferente al tamaño efectivo de población (N_e). La diferencia entre estos parámetros poblacionales está induciendo los

incrementos en las tasas de endogamia. Un serio problema de endogamia están teniendo las poblaciones de Puente Chilapa y Puerto Vallarta.

Recomendaciones

En base a la información obtenida, se recomienda a la UMA “Cacahuatal” realizar las siguientes acciones enfocadas al manejo y conservación de *Crocodylus moreletii*:

- Incluir en mayor proporción carne blanca (pescado o derivados de pescado) a la dieta con que se alimenta a los cocodrilos; lo anterior con la finalidad de contribuir a acelerar la tasa de crecimiento corporal de los cocodrilos, tal y como se reporta y recomienda en otros estudios.
- Resulta importante agrupar cocodrilos con la misma clase de talla y someterlos a diferentes frecuencias de alimentación, con el objetivo de identificar que frecuencia contribuye a un mayor crecimiento en talla o peso.
- Llevar a cabo estudios para determinar los requerimientos nutricionales del cocodrilo de pantano.
- Determinar el efecto de la densidad de cultivo del cocodrilo de pantano en el incremento de la talla o peso de los cocodrilos.
- Monitorear las variables: luz solar dentro del sistema de producción, temperatura del agua y del aire del sistema de producción y el crecimiento de los cocodrilos; correlacionar las

variables y determinar los parámetros óptimos de dichas variables que contribuyen a acelerar el crecimiento de los cocodrilos.

- Al nacer y durante el desarrollo de los cocodrilos, seleccionar los ejemplares con las características más sobresalientes (principalmente aquellas de interés comercial), esto con el fin de ser evaluados como reproductores.
- Para minimizar los riesgos de endogamia, es necesario generar un plan de introducción de nuevos reproductores; sobre todo llevar un registro-control con el fin de evitar los apareamientos entre animales emparentados. Además, resulta importante igualar el número de ejemplares del tamaño censal (N_t) respecto al número de ejemplares del tamaño efectivo de población (N_e) en las poblaciones de Puente Chilapa y Puerto Vallarta.
- Investigar las especies de parásitos y ectoparásitos que estén afectando la calidad de la piel de los cocodrilos y generar un plan de manejo integrado de dichos parásitos.
- Evaluar el agroecosistema UMA Cacahuatal con indicadores de sustentabilidad en diferentes escenarios y desde una perspectiva económica y social, para obtener información acerca de la sustentabilidad de este agroecosistema.
- Es aconsejable realizar intercambios de ejemplares reproductores con otras UMA's, con la finalidad de mejorar y conservar la diversidad genética en la especie.

- Si se desea poblar los hábitats donde históricamente se distribuía la especie, se debe generar un programa de repoblamiento con los ejemplares de la UMA Cacahuatal, que incluya la estructura demográfica poblacional y proporción sexual, tal y como se presenta en las poblaciones silvestres de esta especie y en relación proporcional al tamaño del área a repoblar. Posteriormente, dar seguimiento a las poblaciones para determinar la efectividad del programa de repoblación. Aunado a lo anterior, resulta necesario aplicar un programa de educación ambiental para concientizar a las comunidades rurales cercanas sobre la necesidad de conservar la especie.
- Si se desea invertir en el negocio de la cría de cocodrilo, se aconseja situarse en las zonas cálidas del trópico, con la finalidad de disminuir los costos de inversión necesarios para mantener la temperatura del sistema de producción. Adicionalmente, se deben hacer convenios con rastros avícolas, ganaderos y pescaderías para aprovechar los desechos de los mismos y disminuir los costos por la compra del alimento.
- Finalmente, es necesario generar un programa de difusión acerca de los productos y sub-productos del cocodrilo, de los beneficios del uso del aceite derivado del cocodrilo y de las propiedades nutrimentales de la carne. También, integrar la carne de cocodrilo a la cadena de restaurantes de comida exótica.

Apéndice 1



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

CAMPUS VERACRUZ

Fecha de aplicación: ___/___/___

Cuestionario

Introducción

El presente cuestionario tiene el propósito de conocer los factores (sociales, legales, políticos, económicos, ambientales, técnicos, culturales y de comercialización) del manejo en cautiverio de *Crocodylus moreletii* en la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre Cacahuatal. La información que usted proporcione tendrá un carácter eminentemente confidencial, y será únicamente con propósitos de la presente investigación. Mucho agradeceríamos de usted las respuestas que nos pueda brindar en relación al presente cuestionario.

Objetivo

Conocer los factores del manejo de *C. moreletii*.

1. Datos del entrevistado

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: (M) ó (F)

Máximo grado de escolaridad: _____.

Años de experiencia trabajando con *C. moreletii*: _____.

Cargo del entrevistado en la UMA: _____.

2. Datos de la UMA

2.1 Nombre de la UMA: _____.

2.2 Código y año de registro de la UMA: _____.

2.3 Tamaño de la UMA (ha): _____.

2.4 Número total de organismos: _____.

Adultos: (M) _____ (H) _____ Juveniles: (M) _____ (H) _____ Crías: (M) _____ (H) _____.

Tamaño total y proporción de sexos: _____.

2.5 Total de años que se han destinado al manejo de cocodrilo en la UMA: _____.

2.6 Otras especies que se manejan en la UMA: _____.

2.7 Ubicación de la UMA: Municipio _____ Comunidad _____ Altura _____.

2.8 Tipo y forma de aprovechamiento para *C. moreletii*: _____.

2.9 Tipo de tenencia de la tierra: _____.

2.10 ¿Denominación del tipo de sociedad que maneja la UMA? _____.

2.11 ¿Cómo y de donde obtuvo el pie de cría? _____.

3. FACTORES SOCIALES

3.1 ¿Cuál es la estructura organizativa de la UMA? _____.

3.2 ¿Cuál es su cargo dentro de la estructura organizacional? _____.

- 3.3 ¿Esta UMA participa en el Sistema de UMA del estado de Veracruz?
Si (pasar a la siguiente pregunta) No (pasar a la pregunta 4.1)
- 3.4 ¿Cual es su posición? _____.
- 3.5 ¿Cuáles son los beneficios que obtiene al ser miembro o socio de esta red?

4. FACTORES ECONÓMICOS

4.1 ¿A que tipo de mercado destina su producción?

Destino	Porcentaje	Nombre del lugar de destino
Local		
Nacional		
Extranjero		

4.2 ¿Cuál es el costo aproximado de los insumos que utiliza en la producción de *C. moreletii*?

Insumo	CANTIDAD	Costo aproximado
Alimento		
Mano de obra		
Medicamento		
Pagos por decreto de UMA		
Permisos (indique cuales)		
Plan de manejo		
Renta de la tierra		
Otros (cuales)		

4.3 ¿Cuál es el tiempo del ciclo de producción de acuerdo a la clase de edad?

Clase de edad	Tiempo en meses
Crías	
Juveniles	
Adultos	

4.4 Tipo de comercialización de los organismos

Clase de talla	Mascotas	Consumo de algunas de sus partes
Huevos		
Crías		
Juveniles		
Adultos		

*Favor de marcar con una "x" donde corresponda.

4.5 ¿Considera que el precio de la venta de la producción es aceptable?

Si () No ()

4.6 ¿Cuál es el precio promedio que recibe por animal?

Venta por talla: \$ _____.

Venta por kilogramo: \$ _____.

4.7 ¿Cuál es el precio de venta de cada organismo dependiendo la clase de talla?

Clase de talla	Precio de venta	Considera que es aceptable

Huevos
Crías
Juveniles
Adultos

4.8 ¿Existe diferencia en el precio de venta de acuerdo al sexo? **Si** () **No** ()

4.9 ¿Cuál es la producción total al año?

Clase de talla	Producción anual	Porcentaje de venta
Huevos		
Crías		
Juveniles		
Adultos		

4.10 ¿Cuál es el costo total aproximado por toda la tramitología para la obtención de los permisos para establecer una UMA? \$_____ **M. N.**

4.11 ¿Considera que la producción de cocodrilos es una actividad rentable?

Si () **No** () ¿**Por qué?**_____.

4.12 ¿Que factor principalmente afecta la comercialización o venta de animales?

() **Falta de mercado**

() **La sobre oferta**

() **Las cuestiones legales**

() **La falta de cultura de consumo del organismo**

() **Otro ¿especifique cuál?**_____.

5. FACTORES AMBIENTALES

5.1 Desde el punto de vista de la conservación de la especie ¿Esta UMA ha contribuido al repoblamiento de la especie en la región o estado?

Si () **No** () ¿**Por qué?**_____.

5.2 ¿Qué factores ambientales considera que están limitando la reproducción de la especie?

() **Temperatura**

() **Humedad**

() **Calidad del agua**

() **Otro (especifique cual)**_____.

5.3 ¿Cuál de los factores ambientales están limitando el desarrollo de la especie?

() **Temperatura**

() **Calidad de agua**

() **Alimentación**

() **Plagas y enfermedades**

() **Otro (especifique cual)**_____.

5.4 ¿Cuáles son algunos controles que realiza para mitigar la problemática en la reproducción y desarrollo?_____.

6. FACTORES TECNOLÓGICOS

6.1 ¿Cómo aprendió sobre el manejo de *C. moreletii*?

() **Referencia bibliográfica**

() **Experiencia propia**

- () **Cursos de capacitación**
 () **Transferencia de conocimiento familiar**
 () **Otro (especifique)**
- 6.2 ¿Ha recibido asistencia técnica sobre el manejo de *C. moreletii*? **Si** () **No** ()
- 6.3 ¿Cuál es el problema más frecuente en el manejo de la especie?
 1) **Enfermedades**
 2) **Asincronía en la reproducción**
 3) **Mal desarrollo de crías**
 4) **Alta mortalidad en los diferentes clases de edad (indique que estadio)**
 5) **Otro, especifique cuál**_____.
- 6.4 ¿Cuáles son los factores que limitan una mayor escala de producción de la especie?
 1) **Falta de terreno**
 2) **El tipo de aprovechamiento**
 3) **Falta de infraestructura**
 4) **Los aspectos legales del propio manejo**
 5) **Por cuestiones de mercado**
- 6.5 ¿Considera que el diseño de la UMA es adecuado para su propósito?
Si () **No** () ¿**Por qué?**_____.
- 6.6 ¿Qué tan frecuente actualiza sus conocimientos en el manejo de la especie?
Tiempo en meses_____.
- 6.7 ¿Qué tipo de capacitación o curso requeriría para un mejor manejo de la UMA?
 _____.

7. FACTORES POLÍTICOS Y LEGALES

- 7.1 ¿Qué tan complicado fue el registro de la UMA?
Poco_____ **Regular**_____ **Mucho**_____
- 7.2 ¿De quien recibió asesoría para el registro de la UMA?
 _____.
- 7.3 ¿Qué requisito es el más complicado para el registro de la UMA?
 _____.
- 7.4 ¿La legislación actual fomenta este tipo de actividades?
Si () **No** () ¿**Por qué?**_____.

8. FACTORES CULTURALES

- 8.1 ¿Considera que existe la cultura de consumo de la carne de cocodrilo en su comunidad, región y a nivel nacional?
Comunidad----- **Si** () **No** ()
Región----- **Si** () **No** ()
Nacional----- **Si** () **No** ()
- 8.2 ¿Cómo podría aumentarse la cultura para el consumo de la carne de cocodrilo?
 _____.
- 8.3 ¿Cómo afecta la cultura del tráfico ilegal de especies a la UMA?
- 8.4 ¿Considera que existe cultura y conocimiento en la sociedad para aceptar la especie como mascota en sus casas?

8.5 ¿Actualmente considera que la sociedad tenga la cultura y preocupación de la necesidad de conservar la especie en su comunidad, región y a nivel nacional?

Agradecemos sinceramente la información que nos ha proporcionado. Después del análisis de la información, le haremos llegar una copia del reporte que contendrá información general sobre los aspectos de manejo de *C. moreletii*, los cuales podrá tomar como referencia para mejorar algunos aspectos de su unidad de producción.

Atentamente

Ricardo Serna Lagunes

Estudiante del postgrado en Agroecosistemas Tropicales

Agrupación de resultados de las entrevistas:

Aspectos organizativos de la UMA Cacahuatal

El agroecosistema UMA Cacahuatal está constituida por un consejo consultivo cómo Sociedad Anónima; dicho agroecosistema está manejado por un técnico especializado (controlador), quien indica las actividades para el manejo de la especie a un biólogo que se encarga de organizar dichas actividades para que bajo su supervisión, sean ejecutadas por personal capacitado en las actividades de manejo. La tenencia de la tierra es particular y el tipo de aprovechamiento de la especie es extractivo-intensivo.

Manejo de la especie en la UMA Cacahuatal

De manera general, se describen los tres procesos de manejo en cautiverio que reciben los ejemplares en la UMA Cacahuatal:

1) Fase de rancheo (*ranching*) para la obtención de neonatos para su crianza. En la UMA existen dos lagunas semi-naturales delimitadas por malla galvanizada; cuentan con un área promedio de 2 ha⁻¹ cada una; en éstas se encuentran los ejemplares reproductores. Durante la época de anidación, los nidos son monitoreados y posteriormente se extraen los huevos para ser incubados artificialmente a temperaturas que varían entre los 28 y 32 °C. Al nacer, se bañan en solución salina (al 15%) y se les brinda tratamiento fármaco-terapéutico en el embrión para evitar infecciones (corte de excesos de embrión y aplicación de violeta de genciana).

2) Fase de crecimiento (crianza) de los ejemplares. Los neonatos son mantenidos en casetas de temperatura controlada que funcionan por medio de calderas que envían calor bajo la superficie del suelo a 30 °C promedio. Estos son alimentados a base de una mezcla con diferentes elementos nutricionales (ver detalles de la dieta en la parte de materiales y métodos del Capítulo I) diariamente durante el primer año y posteriormente cada tercer día; a partir de esta mezcla nutricional se realizan diferentes tamaños de “nugets” acorde a la talla de los ejemplares. Los neonatos se encuentran bajo este sistema de crianza hasta que obtienen la talla de 1 m de longitud total (juveniles y sub-adultos).

3) Reubicación de los juveniles-sub-adultos en acuaterarios (200 m²) a cielo abierto. Se mantienen en esas condiciones hasta su sacrificio.

Mercadeo de la producción

Tanto la producción de piel, carne, aceite, cráneos y venta de crías, está destinada al mercado local. Sin embargo, la piel también se vende a otra empresa mexicana dedicada a la comercialización de pieles de cocodrilos, la cual exporta el producto al extranjero, principalmente a Estados Unidos de América.

Insumos utilizados para el manejo de la especie en la UMA Cacahuatal

Los insumos mayormente utilizados son el agua, que es obtenido a través de un pozo profundo, y el alimento, que es obtenido a partir de un convenio con el rastro TIFF de Paso San Juan-Vargas, quien brinda desechos de hígado, piel y otros sub-productos que no son comercializados por dicho rastro. En cuanto al manejo sanitario, se utilizan desparasitantes internos y polivitamínicos. Después de cada alimentación, los estanques son lavados con sanitizantes clorados.

Consideraciones del sistema de producción de cocodrilos como negocio

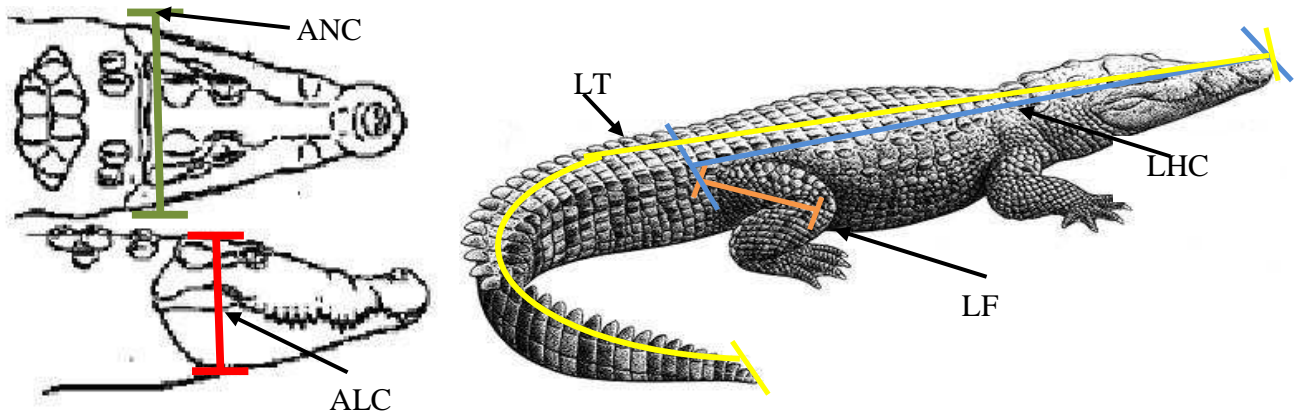
Los entrevistados mencionan que aunque es relativamente reciente el consumo de carne de cocodrilo, con el aprovechamiento total de la especie resulta un negocio rentable. Consideran que la falta de un programa turístico para la visita a las instalaciones de la UMA puede ser una estrategia que permita generar recursos económicos externos, aunado a un programa de difusión sobre las propiedades nutricionales de la carne y el aceite del cocodrilo.

Procedencia de las poblaciones de *Crocodylus moreletii* manejadas en la UMA

Todos los ejemplares cautivos están identificados con una placa interdigital (o microchip) que tiene gravado el número de ejemplar, localidad de origen y fecha de nacimiento o captura. Dichos ejemplares pertenecen a cuatro poblaciones cuya captura en vida silvestre fue en las localidades de Puente Chilapa y Gutiérrez Zamora del estado de Veracruz y ejemplares que nacieron en UMA's de Villa Juárez, Sinaloa y Puerto Vallarta, Jalisco. Algunos ejemplares fueron decomisados por el Ejecutivo Federal y otros fueron comprados a las UMA's donde nacieron y posteriormente se reclutados en la UMA Cacahuatal.

Apéndice 2

Detalles de las mediciones a los ejemplares de las cuatro poblaciones de *C. moreletii* en la UMA Cacahuatal.



ANC = Ancho de Cabeza (distancia entre las superficies laterales de los cóndilos mandibulares); línea color verde.

ALC = Alto de Cabeza (distancia de la base de la cabeza a la base de la mandíbula anterior); línea color rojo.

LT = Longitud total (distancia de la punta del hocico al final de la cola); línea color amarilla. Cabe mencionar que fueron medidos lo más estirados posible (sin curvas en la cola).

LHC = Longitud Hocico-Cloaca (medición por la parte ventral; distancia de la punta del hocico al final de la cloaca); línea color azul.

LF = Longitud del Fémur (distancia de la hendidura del pelvis al final del fémur); línea color naranja.

Imagen de la extracción de sangre en los ejemplares de *C. moreletii* en la UMA Cacahuatal.



Apéndice 3

Aislamiento y purificación de ADN y preparación de geles de agarosa.

Procedimiento de aislamiento y purificación de ADN con el kit Dneasy® (QUIAGEN).

1. A 0.3 ml de sangre se agregó 10 µL de proteinasa K.
2. Agregar 400 µL del buffer AP1 y 4 µL de la solución RNasa A (100 mg/ml).
3. Se incubó por 30 min a 65 °C y se mezcló tres veces durante su incubación.
4. Agregar 130 µL de buffer AP2, mezclar e incubar por 5 min en hielo (si se forma mucho precipitado, centrifugar la mezcla por 5 min a 13000 rpm).
5. Agregar la mezcla a la columna QIAshredder unida al tubo de colecta y centrifugarlo 2 min a 13,200 rpm.
6. Transfiera el sobrenadante a un tubo limpio Eppendorf® evitando el precipitado.
7. Agregar 1.5 volúmenes del buffer AP3/E a la solución.
8. Transfiera la mezcla a la columna DNeasy® unida al tubo de colecta y centrifugar por 1 min a 8,000 rpm y eliminar el líquido colectado.
9. Repetir el paso anterior con el resto de la mezcla y use el mismo tubo de colecta.
10. Coloque la columna DNeasy® en el tubo de colecta limpio, agregue 500 µL del buffer AW a la columna y centrifugue 1 min a 8,000 rpm y eliminar el líquido colectado.
11. Agregar otros 500 µL del buffer AW a la columna y centrifugue por 2 min más a 13200 rpm. Use el mismo tubo de colecta del paso anterior. Elimine el líquido colectado.
12. Transfiera la membrana a un tubo Eppendorf® limpio. Agregar 50 µL del buffer AE precalentado a 65 °C directamente a la membrana de la columna. Incube por 5 min a temperatura ambiente y centrifugue a 8,000 rpm.
13. Agregar otros 50 µL del buffer AE precalentado a 65 °C directamente a la columna de la membrana. Incube por 5 min a temperatura ambiente y centrifugue a 8,000 rpm.
14. La recuperación final son 100 µL. Verifique la extracción y concentración del ADN (10 µL) en geles de agarosa al 0.8 %.

Procedimiento de extracción y purificación de ADN (González y Vovides, 2002).

Reactivos:

Buffer de extracción: 2 % (p/v) CETAB, 100 mM Tris, pH 8.0, 20 mM Na₂-EDTA, 14 M NaCl.

Cloroformo-alcohol-isoamílico: 24:1 (v/v).

Etanol absoluto y al 70 % conservado a -20 °C.

3M de acetato de sodio (pH 6.0).

TE: 10 mM Tris, 1mM EDTA (pH 8.0).

Procedimiento de aislamiento de ADN:

1. 0.3 ml de sangre en un tubo Eppendorf®.
2. Agregar 750 µL de buffer de extracción.
3. Agitar durante 30 seg.
4. Incubar a 65 °C durante 1.5 h, agitándolo cada 10 min durante 30 seg.

5. Transferir el mayor volumen posible Del buffer de extracción a un tubo limpio de Eppendorf® (agregar 750 μ L del buffer de extracción al tejido sanguíneo y guárdelo a 4 °C para volver a extraer en caso de ser necesario).
6. Al tubo que contiene el buffer de extracción, añadir 500 μ L de la mezcla clorformo-alcohol-isoamílico y mantener en agitación 5 min suavemente.
7. Centrifugue a 13000 rpm por 10 min.
8. Transfiera la fase acuosa (fase superior) a un tubo limpio.
9. Añadir 50 μ L de acetato de sodio y 1 ml de etanol absoluto e invertir varias veces. Precipitar a -20 °C durante 15 hrs.
10. Colectar el precipitado centrifugando a 13,000 rpm durante 10 min.
11. Decante el sobrenadante.
12. Lave el precipitado con 300 μ L de etanol al 70 % frío.
13. Centrifugue 5 min a 13,000 rpm.
14. Decante el sobrenadante.
15. Seque el precipitado en el evaporador rotatorio durante 5 min.
16. Resuspenda el ADN 30 μ L de TE. Verifique la concentración de ADN (5 μ L) en un gel de agarosa al 0.8 %.

La purificación del ADN se realiza de la manera siguiente:

1. Hidrate 5.0 gr de sephadex en 200 ml de agua destilada estéril.
2. Mezcle en el agitador magnético, dejar que se precipite y eliminar el exceso de agua (repetir este procedimiento dos veces).
3. Para preparar la columna, perforar la base de un tubo de 500 μ L y compacte un pedazo de papel filtro.
4. Agregar 500 μ L de sephadex hidratado en la columna.
5. Centrifugar 1 min a 3,000 rpm.
6. Agregar la muestra de ADN.
7. Centrifugar 1 y 4 min a 3000 y 5000 rpm, respectivamente.
8. Concentrar el producto en el evaporador rotatorio durante 5 min.
9. Verifique la concentración de ADN (7 μ L) en un gel de agarosa al 0.8 %.

Preparación de geles de agarosa al 0.8 %.

- 1.2 gr de agarosa
- 150 ml de TBE a 1X.
- Frasco Erlenmeyer de 250 ml.
- Combinar la agarosa y el buffer en el frasco Erlenmeyer y disolver con agitación constante.
- Mantenga hirviéndolo sólo lo necesario para disolver completamente (entre 1 y 3 min). Enfríe a temperatura ambiente.
- Añada 7 μ L de bromuro de etidio y vacíe en el molde.