

Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Cayetano Heredia,
especialmente a la Sra. Edme Asto por su apoyo en al revisión de las muestras.

BIBLIOGRAFIA

- Azevedo, Jair. Crocodilianos: biologia, manejo e conservação. Aprozador : João Pessoa, 2003.
- Benjamin. Manual de patologia clinica veterinaria. Editorial limusa, Mexico, 1991.
- Boyd JW. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals. Vet Clin Pathol1984;13:7-14.
- Campbell TW. Clinical Pathology. In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. WB Saunders, Philadelphia, 1996:474-483.
- Canfield PJ. Characterization of the blood cells of Australian crocodiles (*Crocodylus porosus* [SCHNEIDER] and *C johnstoni* [KREFFT]). Zentralbl Vet Med C Anat Histol Embryol1985;14:269-288.
- Frye FL. Reptile clinician's handbook: A compact clinical and surgical reference, Krieger, Florida, 1994.
- Mateo MR, Roberts ED, Enright FM. Morphologic, cytochemical, and functional studies of peripheral blood cells of young healthy American alligators (*Alligator mississippiensis*). Am J Vet Res1984;45:1046-1053.
- Stein G. Hematologic and blood chemistry values in reptiles. In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. WB Saunders, Philadelphia, 1996:248-257.
- Webb GJW, Beal AM, Manolis SC, Dempsey KE. The effects of incubation temperature on sex determination and embryonic development rate in *Crocodylus johnstoni* and *C porosus*. In: Webb GJW, Manolis SC, Whitehead PJ, editors. Wildlife management: crocodiles and alligators. Surrey Beatty, Chipping Norton, NSW, 1987:507-531.

FLUJO DE GENES ENTRE TRES POBLACIONES DE CROCODYLUS ACUTUS EN COSTA RICA

Laura Patricia Porras Murillo¹ y Juan Rafael Bolaños Montero²

¹Programa Regional en Manejo de Vida Silvestre para Mesoamérica y el Caribe.
Apartado postal 1350-3000 Heredia, Costa Rica. Correo electrónico
lauporras@costarricense.cr

²Asociación de Especialistas en Cocodrilos-Costa Rica. Correo electrónico:
guajipal@costarricense.cr

INTRODUCCIÓN

En el Pacífico Central de Costa Rica se han reportado poblaciones pequeñas de cocodrilos en los ríos Jesús María y Tusubres (Piedra 2000; Porras 2004). Piedra

(2000) discute la posibilidad de que la población del río Jesús María sea una subpoblación incluida dentro de un complejo metapoblacional alimentado por los cocodrilos del río Tárcoles y señala que esta es la posible explicación para que la población del río Jesús María no desapareciera a corto o mediano plazo.

Es posible que algunos individuos de *C. acutus* no logren establecer territorio en su hábitat original durante la época de cortejo y apareamiento y esto los motive a moverse hacia otros hábitat. Ese movimiento de individuos es uno de los factores que produce flujo genético entre poblaciones (Blouin-Demers y Weatherhead 2002), y es altamente beneficioso sobre todo para poblaciones pequeñas porque disminuye el riesgo de la depresión por endogamia y deriva genética (Konuma et al. 2000).

Este trabajo tiene por objetivo estimar la variación genética entre y dentro de poblaciones así como el grado de diferenciación y el flujo de genes entre las poblaciones de *Crocodylus acutus* de los ríos Jesús María, Tárcoles y Tusubres en el Pacífico Central de Costa Rica.

METODOLOGÍA

Los ríos Jesús María, Tárcoles y Tusubres están ubicados en el Pacífico Central de Costa Rica, los tres desembocan en el mar y tienen manglar asociado. La distancia entre la desembocadura del río Jesús María y el río Tárcoles es de 12,10 Km, y entre el río Tárcoles y el río Tusubres de 43,40 Km (Figura 1).

En el río Jesús María la abundancia relativa de cocodrilos es de 1.51 ind/Km ($s=0.48$), en el río Tárcoles es de 9.22 ind/Km ($s=2.49$) y en el río Tusubres es de 5.58 ind/Km ($s=0.83$) (Porras 2004).

Los animales se capturaron durante recorridos nocturnos entre junio y diciembre del 2003 siguiendo el procedimiento usado por Bolaños et al. (1997). Cada animal capturado fue marcado, medido y sexado.

La muestra de sangre se obtuvo del seno sanguíneo ubicado detrás de la cabeza sobre la espina dorsal, se extrajo 1 ml de sangre en el caso de los neonatos y 3 ml en el caso de juveniles, subadultos y adultos. La sangre se colocó en tubos de ensayo con EDTA y se trasladó al laboratorio en una hielera a aproximadamente 5 °C.

El ADN de la sangre se extrajo utilizando el Wizard Genomic DNA Purification Kit de Promega. Para la amplificación del ADN se utilizó la técnica de RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA) utilizando siete marcadores de los kit A y B de Operon® (QIAGEN Operon IOmer Kit).

Para analizar los datos se utilizaron los programas POPGENE versión 1.32 (Yeh y Boyle 1997), IBD (Bohonak 2002) y NTSYSpc versión 2.11 (Rohlf 2003).

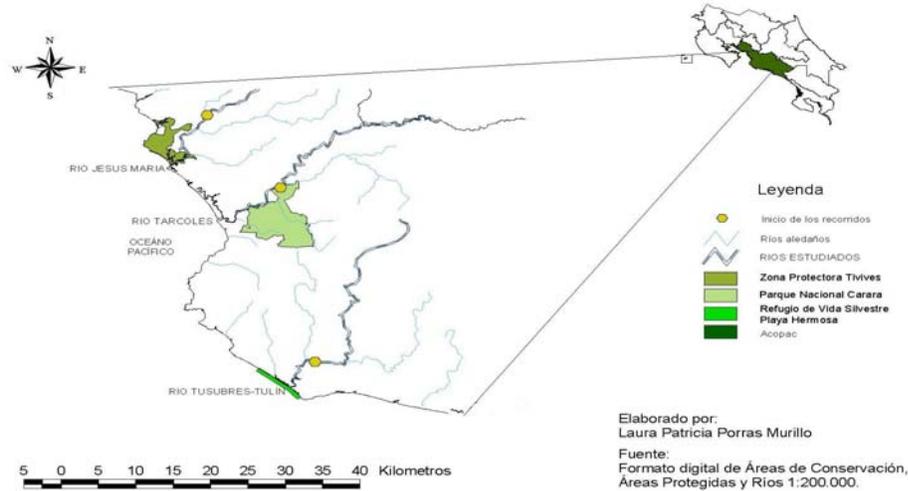


Figura 1. Mapa de ubicación del área de estudio.

RESULTADOS

Se utilizaron 70 muestras de ADN, 16 del río Jesús María, 38 del Tárcoles y 16 del Tusubres. Los valores de diversidad genética para cada población son bajos y no hubo diferencias entre ellos ($H = 1,95$; $P = 0,38$). La diversidad genética total también fue baja y similar a la reportada para cada río (Cuadro 1).

Cuadro 1. Diversidad genética (h de Nei) de tres poblaciones de *Crocodylus acutus* en el Pacífico Central de Costa Rica.

	Jesús María	Tárcoles	Tusubres	Total
h^*	0.2201	0.2358	0.2589	0.2452
Desviación estándar	0.1950	0.1870	0.2041	0.1882
Porcentaje de loci polimórficos	68.09	97.87	76.60	100

*El valor de h puede usarse como sinónimo de heterocigocidad según Nei (1973).

La variación genética dentro (H_S) y entre poblaciones (H_T) fue baja (Cuadro 2) y el porcentaje de diferenciación genética (G_{ST}) entre las poblaciones es apenas de 3.4%. El valor de flujo genético (Nm) muestra que aproximadamente 13 individuos migran por generación entre las tres poblaciones estudiadas.

Cuadro 2. Análisis de diversidad genética, grado de diferenciación genética y flujo de genes (Nei 1987) entre poblaciones de *Crocodylus acutus* en el Pacífico Central de Costa Rica.

	N	H_T	H_S	G_{ST}	Nm
Media	70	0.2473	0.2383	0.0367	13.1361
Desviación estándar		0.0363	0.0339		

La distancia genética entre las poblaciones es de 0.01 y tuvo relación directa ($z = 1.1449$, $r = 0.9731$, $p \leq 0.0010$, datos obtenidos de 1000 simulaciones) con la distancia geográfica que separa a las desembocaduras de los ríos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Distancia geográfica y genética entre poblaciones de *Crocodylus acutus* en el Pacífico Central de Costa Rica.

Población	Jesús María	Tárcoles	Tusubres
Jesús María	-----	12.1	55.5
Tárcoles	0.0080	-----	43.4
Tusubres	0.0113	0.0097	-----

Arriba de la diagonal aparece la distancia geográfica en Km y abajo la distancia genética.

El dendrograma de la Figura 2 muestra a los ríos Jesús María y Tárcoles agrupados y queda excluido el río Tusubres, por lo que el movimiento de individuos puede ser mayor entre los dos primeros ríos.

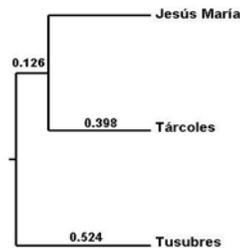


Figura 2. Dendrograma UPGMA basado en la distancia genética entre

DISCUSIÓN

Todas las especies de crocódilidos están estrechamente relacionadas (Norell 1989) y es normal encontrar bajos niveles de variación genética (Flint et al. 2000), sin embargo la diversidad genética de *C. acutus* debería aumentar en relación con otras especies debido a la variabilidad de hábitat en los cuales se encuentran (Menzies y Kushlan 1991) y a su amplio rango de distribución (Frankham 1996).

La diversidad genética encontrada en este estudio puede considerarse baja si se toma en cuenta que para *C. moreletii*, especie cercana genéticamente a *C. acutus* (Brochu y Densmore 2000) y con reducido rango de distribución, el valor de heterocigocidad reportado oscila entre 0.35 (± 0.027) y 0.74 (± 0.05) (Dever et al. 2002). La diversidad genética es necesaria para que las poblaciones (animales o vegetales) puedan adaptarse a los cambios ambientales (Frankham et al. 2002). Las tres poblaciones estudiadas mostraron poca heterocigocidad que puede producir en el futuro la expresión de genes deletéreos (Frankham et al. 2002).

Según Menzies y Kushlan (1991) las poblaciones de cocodrilo americano difieren en su genética cuantitativa posiblemente por razones de adaptación y la baja

heterocigocidad estaría indicando pérdida de individuos por la selección ocasionada como una respuesta a

factores ambientales (Gartside et al. 1977). En el Pacífico Central de Costa Rica, a la pérdida de cocodrilos por selección natural se suma la pérdida por selección artificial causada por la disminución de hábitat debido al aumento en el desarrollo humano (INEC 2001) y a la pérdida de individuos reproductores por la eliminación selectiva que hacen las personas que habitan cerca de los ríos en los que se encuentran los cocodrilos (Chaves 1993; Jiménez 1998).

El número estimado de individuos que migran por generación ($N_m = 13.14$) es superior al 5.15 reportado para *C. moreletii* en Belice (Dever et al. 2002). Tomando en cuenta esto y los valores de diversidad y diferenciación genética, puede pensarse que al haber un elevado movimiento de individuos la variabilidad genética de cada población es similar y esto causaría la poca variación entre las poblaciones. Esta situación podría causar constancia en el alto grado de homocigosis y a la vez ser el resultado de un periodo largo de estabilidad que ha mantenido a la población en equilibrio con su ambiente (Gartside et al. 1977), aunque este equilibrio sea de corto plazo (Chabreck 1967) debido a que esta condición evidencia una alta vulnerabilidad a cambios bruscos en el ambiente o en la dinámica de las poblaciones.

Si se toma en cuenta el valor de flujo genético y el tamaño poblacional reportado por Porras (2004), es probable que el movimiento de individuos se produzca principalmente desde el río Tárcoles hacia los ríos anexos, convirtiendo a esta población en la fuente de genes para este complejo metapoblacional, ya que cuenta con el tamaño mínimo viable y el tamaño efectivo (Primack 1993; Ross 1998; Piedra 2000; Frankham et al. 2002; Porras 2004) para garantizar la continuidad al menos a mediano plazo, por lo que la sostenibilidad a largo plazo de las tres poblaciones está determinada, entre otros factores, por la estabilidad de la población del río Tárcoles. No obstante, hay que recalcar que el flujo de genes en un sistema metapoblacional asume que cada población es igualmente accesible para las otras (Slatkin 1987) lo que significa que es muy posible que también haya movimiento de individuos desde los ríos Jesús María y Tusubres.

La relación directa entre distancia genética y geográfica podría estar indicando que la interacción de los individuos del río Tusubres con los otros dos es poca (Figura 2) y/o que estos cocodrilos tengan una relación más estrecha con individuos de otras poblaciones aledañas.

Se debe tomar en cuenta que este trabajo está hecho a pequeña escala si se toma en cuenta la distribución total de la especie, y también que los individuos de los hábitat aledaños a los ríos estudiados pueden mantener una dinámica estable entre las distintas subpoblaciones, por lo que se hace importante realizar estudios genéticos a lo largo de la distribución de la especie.

Para aumentar la variabilidad genética de estas poblaciones podría recurrirse a la translocación de hembras juveniles (Robert et al. 2004) entre poblaciones con una diversidad genética alta comprobada. También se puede recurrir a la cría en cautiverio y se puede considerar la opción de inseminar a las hembras de estas tres poblaciones y de aquellas que presenten una baja diversidad genética con semen de individuos que aporten material genético nuevo.

BIBLIOGRAFIA

- Blouin-Demers, G., Weatherhead P. J., 2002. Implications of movement patterns for gene flow in black rat snakes (*Elaphe obsoleta*). *Can. J. Zool.* 80, 1162–1172.
- Bohonak, A. J., 2002. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity* 93, 153-154.
- Bolaños, J. R., Sánchez J., Piedra L., 1997. Inventario y estructura poblacional de crocodílicos en tres zonas de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 44(3)/45(1), 283-287.
- Chabreck, R. H., 1967. The American alligator – Past, present and future. *Proc. Annu. Conf. Southeastern Ass. Game Fish Comm.* 21, 554-558.
- Chaves, G., 1993. Situación poblacional del cocodrilo amarillo (*Crocodylus acutus* Reptilia, Crocodilidae) en el Pacífico Central de Costa Rica. *Repertorio Científico* 2, 16-20.
- Dever, J., Strauss R., Rainwater T., McMurry S., Densmore L., 2002. Genetic Diversity, Population Subdivision and Gene Flow in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletti*) from Belize, Central America. *Copeia* (4), 1078-1091.
- Flint, N. S., van der Bank F. H., Grobler J. P., 2000. A lack of genetic variation in commercially bred Nile crocodilos (*Crocodylus niloticus*) in the North-West Province of South Africa. *Water SA* 26(1), 105-110.
- Frankham, R., 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology* 10(6), 1500-1508.
- Frankham, R., Ballou J. D., Briscoe D. A., 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press. United Kingdom.
- Gartside, D. F., Dessauer H. C., Joanen T., 1977. Genic homozygosity in an ancient reptile *Alligator mississippiensis*. *Biochem. Genet.* 15(7-8), 655-664.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), 2001. IX Censo Nacional de Población y V de Vivienda del 2000: Resultados Generales. INEC. San José, Costa Rica.
- Jiménez, Y. L., 1998. Crocodile attacks cause conservation crisis. *CSG Newsletter* 17(3), 8-9.
- Konuma, A., Tsumura Y., Lee C. T., Lee S. L., Okuda T., 2000. Estimation of gene flow in the tropical-rainforest tree *Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae), inferred from paternity analysis. *Mol. Ecol.* 9, 1843–1852.
- McDermott, J. M., McDonald, B. A., 1993. Gene flow in plant pathosystems. *Annual Review of Phytopathology* 31, 353-373.
- Menzies R. A., Kushlan J. A., 1991. Genetic Variation in Populations of the American Crocodile. *Journal of Herpetology* 25(3), 357-361.
- Nei, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70(12), 3321-3323.
- _____, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583-590.

- _____, 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- Norell, M. A., 1989. The higher level relationships of the extant crocodylia. *Journal of Herpetology* 23(4), 325-335.
- Piedra, L., 2000. Estado de las poblaciones de cocodrilos (*Crocodylus acutus*) (Reptilia: Crocodylidae) en tres ríos del Pacífico Central de Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.
- Porras, M. L. P., 2004. Situación actual del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) en los ríos Jesús María, Tárcoles y Tusubres: estructura poblacional e intercambio genético. Tesis de Maestría. Programa Regional en Manejo de Vida Silvestre para Mesoamérica y el Caribe, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- Primack, R., 1993. *Essentials of Conservation Biology*. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.
- Robert, A., Sarrazin F., Couvet D., Legendre S., 2004. Releasing Adults versus Young in Reintroductions: Interactions between Demography and Genetics. *Conservation Biology* 18(4), 1078-1087.
- Rohlf, F. J., 2003. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Exeter Software, Setauket, Nueva York.
- Ross, J. P. (Ed.), 1998. *Crocodiles: Status Survey and Conservation Action Plan*. 2ª edn. IUCN/SSC. Crocodile Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland.
- Slatkin M., 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236(4803), 787-792.
- Yeh, F., Boyle T., 1997. POPGENE 1.32. Molecular Biology and Biotechnology Center. University of Alberta, Center for International Forestry Research.

IDENTIFICACIÓN DE ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS EN HEMBRAS DE *CAIMAN CROCODILUS FUSCUS* MEDIANTE EL USO DE ULTRASONIDO

Iván D. Palacios R.¹, y Alberto Beltrán F.²

¹ Consultor manejo de fauna silvestre, Colombia, (crocofauna@hotmail.com.);

² Consultor especialista reproducción equina; Colombia
(cyberagro_equine@hotmail.com.)

RESUMEN

Entre Enero y febrero (2.005), se adelantó la identificación de estructuras reproductivas en hembras de *C.c.fuscus* que componen el pie de cría de la granja Colombian Croco Ltda. mediante el uso de ultrasonido. En esta época comienza el