
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Y AGROPECUARIAS**

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



**INFLUENCIA DEL AMBIENTE EN LAS HORMONAS
SEXUALES Y DE ESTRÉS DURANTE EL CICLO
REPRODUCTIVO DEL "CAIMÁN" *Crocodylus acutus*
Cuvier, 1807**

Por

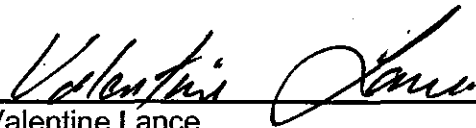
Paulino Ponce Campos

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(ORIENTACIÓN EN ECOLOGÍA)**

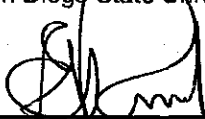
**LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO
NOVIEMBRE DEL 2005**

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
División de Ciencias Biológicas y Ambientales
Posgrado en Ciencias Biológicas
Orientación en Ecología



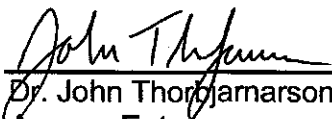
26 sept. 2005

Dr. Valentine Lance
Director de Tesis
Graduate School of Public Health
San Diego State University, California



26 octubre 2005

Dr. Eulogio Pimienta Barrios
Co-Director de Tesis
Departamento de Ecología
CUCBA

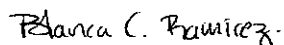


Dr. John Thorbjarnarson
Asesor Externo
Wildlife Conservation Society



26/oct/2005

Dr. Fco. Martín Huerta Martínez
Asesor
Departamento de Ecología
CUCBA



26 oct 2005

Dr. Dra. Blanca C. Ramírez Hernández
Asesor
Departamento de Ecología
CUCBA



**INFLUENCIA DE AMBIENTE EN LAS HORMONAS SEXUALES Y DE ESTRÉS
DURANTE EL CICLO REPRODUCTIVO DEL "CAIMÁN" *Crocodylus acutus* Cuvier,
1807**

Por

Paulino Ponce Campos

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(ORIENTACIÓN EN ECOLOGÍA)**

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
OCTUBRE DEL 2005**

Aprobada por:



**Dr. Fco. Martín Huerta Martínez
Asesor del Comité Particular**

26/10/05
Fecha



**Dra. Blanca C. Ramírez Hernández
Asesor del Comité Particular**

26 oct 2005
Fecha




**Dr. Eduardo Ríos Jara
Sinodal del Comité Particular**

Fecha



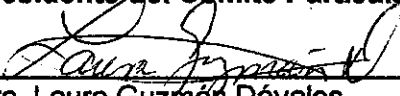
**Dr. Alejandro Muñoz Urias
Sinodal del Comité Particular**

26/10/05
Fecha



**Dr. Eulogio Pimienta Barrios
Presidente del Comité Particular**

Fecha



**Dra. Laura Guzmán Dávalos
Presidente de la Junta Académica del Posgrado**

Octubre 26, 05
Fecha

DEDICATORIA

A

Sara M. Huerta Ortega

Mi pareja de vida, por su amistad, comprensión,
apoyo incondicional y amor.

Con todo mi cariño y amor para mis padres, quienes
me han dedicado esos momentos tan gratos y me
han apoyado por siempre sin condiciones,
por más difícil o ilusorios que sean o hayan sido mis sueños despierto.

Felicitas Campos de Ponce

y

Paulino Ponce Villa

In memoriam

22 Junio 1934 – 30 Junio 2005

A mis hermanos, que siempre me han apoyado incondicionalmente:

Diana, Mónica, Angélica, Susana, Alicia, Sabina,
Javier, Ernesto y Carlos

Agradecimientos

Primero quiero agradecer a la Biól. Sara M. Huerta Ortega por el esfuerzo durante el trabajo de campo y el desarrollo de este estudio. Sin su apoyo, éste trabajo del que forma parte, no se hubiera llevado a cabo.

Agradezco de manera muy especial al Doctor Valentine Lance de la Universidad de San Diego y al Doctor Eulogio Pimienta Barrios del CUCBA, Universidad de Guadalajara, por su gran apoyo y dirección para la realización del presente trabajo.

Al Dr. John Thorbjarnarson de Wildlife Coservation Society, por su gran apoyo, asesoría y comentarios al manuscrito, al Dr. Martín Huerta del departamento de Ecología CUCBA, por el haberme instruido en la utilización de programa PC Ord., que fue una parte medular en el análisis de los datos y por su apoyo y comentarios al manuscrito. Al Dr. Perran Ross por su gran apoyo durante años de trabajo con cocodrilos y al Dr. Frank Mazzotti. Al M. en C. José Luis Zavala y Dr. Eduardo Sahún, Biól David Ortiz en la Universidad Autónoma de Guadalajara por su apoyo. A Rogelio Cedeño, por su amistad y apoyo. También quiero agradecer a la Dra. Blanca C. Ramírez Hernández, Dr. Eduardo Ríos Jara y Dr. Alejandro Muñoz Urias del departamento de Ecología del CUCBA, Universidad de Guadalajara por su valiosa colaboración.

En SEMARNAT Nayarit al MVZ. Jesús Romero Villarruel por su entusiasmo y apoyo incondicional, al igual que el MVZ Antonio Razo Pérez y MVZ Ivanisak Brown Martínez, M. en C. Carlos Villar. Al M. en C. Antonio Palacios Franquez del INIFAP "El Verdineño", Nayarit, MVZ. María Concepción Chávez Ortega en el Lab. de Sanidad Animal, Tepic, Nayarit, Alberto García Álamos (Beto), Gilberto Delgado García (Don Gil), Toribio Álamos Vázquez y Manuel García Muñoz en el Centro Reproductor de Cocodrilos "La Palma" San Blas, Nayarit y a todos los buenos amigos allá. En Tepic, Nayarit a la familia

Pantoja Casillas y a Juan Rafael y Mercedes. A los Biólogos Mario Andrade y Lupita. En Jalisco a Dr. Manuel García Ulloa del Laboratorio de Ciencias Marinas en Barra de Navidad, Universidad Autónoma de Guadalajara; Dr. Mario Valencia, MVZ Ernesto Ron y Luis Meléndez en la Unión Ganadera Regional de Jalisco. En La Manzanilla, Iván García por su gran apoyo en la captura de cocodrilos y a su Familia. A Don Francisco Pérez y su esposa Doña Irene. Mi especial reconocimiento a toda la comunidad de la Manzanilla por su apoyo durante diez años de trabajo en el sitio. Al Sr. Eugenio Chaurand y la M. en C. Carmen Gallo por su colaboración en la captura de cocodrilos silvestres, al Prof. Rubén Figueroa por su amistad y ayuda. También agradezco el apoyo brindado por tantos amigos turistas nacionales e internacionales durante el proceso de este proyecto en La Manzanilla. A mi familia Ponce-Campos, a la familia Huerta-Ortega, por su generoso apoyo y a la familia Lance por esos momentos gratos en San Diego, así como a todo el personal del Centro de Reproducción de Especies en Peligro (CRES) en San Diego, California y al personal en el departamento de la división de endocrinología, en el Zoológico de San Diego, California. Me disculpo de antemano por no poder mencionar tantos nombres de amigos y también por las posibles omisiones.

El proyecto fue financiado por:

CRES, San Diego, CA., Idea Wild, Conservation and Research Foundation, Huerta y Cía. y Bosque Tropical, A. C. Con la colaboración de la Universidad de Florida y Disney Foundation, grupos que en forma indirecta beneficiaron el presente estudio, gracias al apoyo a un proyecto alterno sobre dinámica y uso de hábitat con la misma especie. Por último agradezco al del departamento de Ecología del CUCBA, del cual recibí apoyo como alumno gracias al Dr. Eulogio Pimienta Barrios, lo que a su vez fue una gran ayuda de para el proyecto.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS PARTICULARES.....	4
ANTECEDENTES.....	5
MATERIALES Y MÉTODOS	
Permisos de captura, extracción de sangre, trabajo de campo y exportación.....	10
Áreas de estudio.....	10
Trabajo de campo.....	12
Trabajo de laboratorio.....	14
RESULTADOS	
Análisis del manejo de muestras en campo.....	18
Concentraciones de hormonas sexuales entre sitios.....	19
Concentraciones hormonales mensuales y su relación con el ciclo reproductivo.....	21
Relación del estrés y el ciclo reproductivo.....	27
Relación de la talla con las concentraciones hormonales y talla mínima reproductiva.....	34
Relación de las hormonas sexuales con la Corticosterona.....	37
Relación de la temperatura de la cloaca con el apareamiento.....	38
Relación de la temperatura de cloaca y longitud total.....	43
Relación de las concentraciones hormonales y la temperatura de la cloaca.....	44
Influencia de los parámetros físicos del ambiente en las concentraciones mensuales de las hormonas reproductivas y de estrés, durante el ciclo reproductivo.....	47

DISCUSIÓN

Diferencias en las condiciones entre el estado silvestre y el cautiverio, así como algunas consideraciones.....	66
Concentraciones hormonales de <i>Crocodylus acutus</i> durante el ciclo reproductivo.....	66
Concentraciones de esteroides sexuales y de estrés y su relación con el ciclo reproductivo.....	71
Estrés durante el ciclo reproductivo y comportamientos implicados.....	75
Testosterona, Estradiol y Corticosterona y su relación con el tiempo de captura.....	77
Relación de las hormonas sexuales y de estrés y la longitud total.....	78
Influencia de los parámetros físicos del ambiente en las concentraciones mensuales de las hormonas reproductivas y de estrés durante el ciclo reproductivo.....	82
Influencia de los factores físicos del ambiente en el ciclo reproductivo y el estrés en machos.....	85
Influencia de los factores físicos del ambiente en el ciclo reproductivo y el estrés en hembras.....	88
Comparación de los ciclos reproductivos y de estrés entre sexos sitios y la influencia de ambiente.....	93
Comparación entre sexos en estado silvestre.....	94
Comparación entre sexos en cautiverio.....	95
Análisis de las relaciones térmicas con el ciclo reproductivo de <i>C. acutus</i> y comportamientos implicados.....	98
Relación entre talla y temperatura la cloaca.....	103
Fotoperiodo y ciclo reproductivo.....	104
CONCLUSIONES.....	107
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	109
APÉNDICE.....	123

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro I.**- Comparación de las concentraciones mensuales en de Testosterona, Estradiol.-----25
- Cuadro II.** Promedios, desviaciones estándar, error estándar, máximos y mínimos de las concentraciones de Corticosterona de *Crocodylus acutus* en estado silvestre y cautiverio.-----26
- Cuadro III.** Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de los machos en estado silvestre (La Manzanilla, Jalisco), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.-----47
- Cuadro IV.** Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de los machos en cautiverio (San Blas, Nayarit), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.-----48
- Cuadro V.** Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de las hembras en estado silvestre (La Manzanilla, Jalisco), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.-----48
- Cuadro VI.** Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de las hembras en cautiverio (San Blas, Nayarit), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.-----48

- Cuadro VII.** Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de machos en estado silvestre.-----54
- Cuadro VIII.** Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de machos en cautiverio.-----55
- Cuadro IX.** Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de hembras en estado silvestre.-----56
- Cuadro X.** Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de hembras en cautiverio.-----57
- Cuadro XI.** Coeficientes de correlación de las hormonas Testosterona y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray-Curtis de machos en estado silvestre.-----58
- Cuadro XII.** Coeficientes de correlación de las hormonas Testosterona y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray-Curtis de machos en cautiverio.-----58
- Cuadro XIII.** Coeficientes de correlación de las hormonas Estradiól y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray Curtis de hembras en estado silvestre.-----59
- Cuadro XIV.** Coeficientes de correlación de las hormonas Estradiól y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray Curtis de hembras en cautiverio.-----59

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Comparación de los promedios del tiempo que permanecieron las muestras de sangre en hielo. Se muestran los promedios y el error estándar.-----18
- Figura 2.** Promedios de las concentraciones de Testosterona entre machos en estado silvestre y cautiverio (1 = Cautiverio; 2 = estado silvestre).-----20
- Figura 3.** Comparación de las concentraciones promedio de Estradiol entre hembras en estado silvestre y cautiverio. (1 = Cautiverio; 2 = estado silvestre).-----20
- Figura 4.** Concentraciones mensuales de Testosterona de machos en estado silvestre.-----21
- Figura 5.** Concentraciones mensuales de Testosterona de machos en cautiverio.-----22
- Figura 6.** Concentraciones mensuales de Estradiol de hembras en estado silvestre.-----22
- Figura 7.** Concentraciones mensuales de Estradiol de hembras en cautiverio.-----23
- Figura 8.** Tiempos de estrés (captura) en machos y hembras en estado silvestre y cautiverio.-----27
- Figura 9.** Concentraciones de Corticosterona en machos y hembras en estado silvestre y cautiverio.-----28

- Figura 10.** Concentraciones mensuales de Corticosterona de machos en cautiverio durante la temporada reproductiva. Medias y error estándar.-----29
- Figura 11.** Concentraciones mensuales de Corticosterona de machos en estado silvestre durante la temporada reproductiva.-----30
- Figura 12.** Concentraciones mensuales de Corticosterona de hembras en cautiverio durante la temporada reproductiva.-----30
- Figura 13.** Concentraciones mensuales de Corticosterona de hembras en estado silvestre durante la temporada reproductiva.-----31
- Figura 14.** Relación de la Testosterona de Machos en cautiverio con el Tiempo de Estrés.-----32
- Figura 15.** Relación de la Testosterona de Machos en estado silvestre con el Tiempo de Estrés (tiempo de captura).-----32
- Figura 16.** Relación de la Corticosterona de hembras en cautiverio con el Tiempo de Estrés.-----33
- Figura 17.** Relación de la Corticosterona de machos en estado silvestre con el Tiempo de Estrés.-----33
- Figura 18.** Relación de la Testosterona de machos en estado silvestre con la longitud total (LT).-----35
- Figura 19.** Relación de la Corticosterona de machos en cautiverio con la longitud total (LT).-----35

- Figura 20.** Relación de la Corticosterona de hembras en cautiverio con la longitud total (LT).-----36
- Figura 21.** Relación de la Corticosterona de hembras en estado silvestre con la longitud total (LT).-----36
- Figura 22.** Relación de la Corticosterona con el Estradiol de hembras en estado silvestre.-----37
- Figura 23.** Comparación de la temperatura corporal (cloaca) de machos y hembras en estado silvestre y cautiverio.-----39
- Figura 24.** Temperatura de la cloaca de machos en cautiverio durante la temporada reproductiva.-----40
- Figura 25.** Temperatura de la cloaca de machos en estado silvestre durante la temporada reproductiva.-----40
- Figura 26.** Temperatura de la cloaca de hembras en cautiverio durante la temporada reproductiva.-----41
- Figura 27.** Temperatura de la cloaca de hembras en estado silvestre durante la temporada reproductiva.-----41
- Figura 28a.** Medias mensuales de la temperatura de cloaca, ($^{\circ}\text{C}$) = (T cloca); aire (Tir Mean) y agua (Ta Mean) de machos de *C. acutus* en estado silvestre durante el ciclo reproductivo.-----42
- Figura 28b.** Medias mensuales de la temperatura de cloaca, ($^{\circ}\text{C}$) = (T cloca); aire (Tir Mean) y agua (Ta Mean) de hembras de *C. acutus* en estado silvestre durante el ciclo reproductivo.-----42

- Figura 28c.** Medias mensuales de la temperatura de cloaca ($^{\circ}\text{C}$) = (T Cloca) de machos (TM Cloaca) y hembras (TF Cloaca) de *C. acutus* en cautiverio durante el ciclo reproductivo.-----43
- Figura 29.** Relación de la temperatura corporal y la longitud total de machos en estado silvestre.-----44
- Figura 30.** Relación de la temperatura corporal y la concentración de Testosterona de machos en cautiverio.-----45
- Figura 31.** Relación de la temperatura corporal y la concentración de Testosterona de machos en estado silvestre.-----45
- Figura 32.** Relación de la temperatura corporal y la concentración de Estradiol hembras en estado silvestre.-----46
- Figura 33.** Relación de la temperatura corporal y la concentración de la Corticosterona en machos en cautiverio.-----46
- Figura 34.** Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en machos en estado silvestre. Ejes uno y dos.-----60
- Figura 35.** Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en machos en estado silvestre. Ejes dos y tres.-----61

- Figura 36.** Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en machos en cautiverio. Este análisis se corrió con datos de febrero a mayo, para obtener resultados sobre la temperatura de la cloaca. Ejes uno y dos.-----62
- Figura 37.** Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en machos en cautiverio. Este análisis se corrió con datos de febrero a mayo junio, excluyendo los datos de temperatura de la cloaca. Ejes uno y dos.--
-----63
- Figura 38.** Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en hembras en estado silvestre. Ejes uno dos.-----64
- Figura 39.** Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en hembras en cautiverio. Ejes uno dos.-----65
- Figura 40.** Comparación de dos líneas de regresión entre MVS y MC. Relación de la Testosterona y Corticosterona.-----74
- Figura 41.** Comparación de dos líneas de regresión entre HVS y HC. Relación del Estradiol y Corticosterona en hembra en estado silvestre y cautiverio.-----75

Figura 42. Relación de la Testosterona con la talla de machos del lagarto americano (*A. mississippiensis*) y la longitud total.-----81

Figura 43. Relación de la Corticosterona con la talla de machos del lagarto americano (*A. mississippiensis*) y la longitud total.-----81

Figura 44. Temperatura corporal óptima de *Crocodylus acutus* durante el ciclo reproductivo. Promedios combinados de la temperatura de la cloaca de machos y hembras en estado silvestre y cautiverio.-----97

RESUMEN

Existen pocos estudios de hormonas sexuales y de estrés en el orden Crocodylia. *Alligator mississippiensis* es la especie que cuenta con más estudios al respecto. No se conocen estudios que relacionen los efectos del ambiente en las hormonas reproductivas y de estrés durante la reproducción en los Crocodylia.

El objetivo del estudio es: Evaluar el efecto de los factores físicos del ambiente en la reproducción de *Crocodylus acutus* en estado silvestre y cautiverio, por medio del análisis de hormonas sexuales y de estrés durante la etapa reproductiva de la especie, y determinar algunos de los factores que influyen en la reproducción y estrés, además de determinar si existen diferencias entre estado silvestre y cautiverio, así como entre machos y hembras.

Se tomaron muestras de sangre de 123 cocodrilos de ambos sexos, con tallas entre 1.8 – 4.44 m, de enero a junio del 2002, en una población silvestre (Jalisco) y otra en cautiverio (Nayarit). Se tomaron parámetros ambientales con recolectores de datos electrónicos: humedad relativa, irradianza y temperatura del aire y agua en ambos sitios y la temperatura de la cloaca de cada ejemplar. Además se tomaron los niveles de agua y la salinidad para la población silvestre. Las hormonas sexuales, Testosterona en machos, Estradiol β 17 en hembras y la Corticosterona en ambos sexos, se analizaron en el Centro para la Reproducción de Especies en Peligro (CRES) en San Diego, California.

Los resultados de mayor relevancia muestran que, el ciclo reproductivo de la especie es asincrónico, que el estrés es mayor en cautiverio, la Corticosterona y el Estradiol de hembras en ambas condiciones tiene relación con el ciclo reproductivo a diferencia de los machos. La temperatura es el factor ambiental de mayor importancia durante el ciclo reproductivo y de estrés, existiendo factores sinérgicos secundarios; humedad e irradianza que tienen efecto en estado silvestre, pero no en cautiverio, debido a varias limitaciones del hacinamiento.

En estado silvestre se descubrió que el comportamiento termorregulatorio se ve comprometido por el comportamiento reproductivo, lo que produce una disminución de la temperatura corporal de machos y hembras en el mes de marzo (copula).

Palabras clave: Pacífico, México, *Crocodylus acutus*, ciclo reproductivo y su relación con el ambiente, hormonas sexuales y de estrés.

INTRODUCCIÓN

El orden Crocodylia en la actualidad cuenta con tres familias (Alligatoridae, Crocodylidae y Gavialidae) y 23 especies distribuidas en áreas tropicales y subtropicales del mundo (Ross, 1998). La mayoría de las especies de cocodrilianos han sido sobre explotadas en épocas pasadas, provocando la disminución de sus poblaciones a nivel mundial, lo cual se reflejó en la explotación irracional en nuestro país hasta 1970, cuando se decretó una ley que los protege (Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo, 1970). A pesar de esto, la cacería ilegal persiste a diferentes niveles. Por tal razón, en la actualidad, el interés por la investigación, conservación y aprovechamiento sostenible de los cocodrilianos, va en aumento a nivel internacional (Ross, 1998; Thorbjarnarson et al., 1992), nacional, (COMACROM, 2000), y estatal como son los estados de Jalisco y Nayarit (Ponce-Campos y Huerta-Ortega, 1997).

En México, cada día se incrementan las actividades de investigación con el interés de preservar y aprovechar racionalmente a los cocodrilianos que tienen distribución en el país, así como la protección del ambiente donde se desarrollan. En el país, tres especies son las que tienen distribución natural: el caimán común (*Caiman crocodilus fuscus*), el cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*) y el "caimán" o cocodrilo de Río (*Crocodylus acutus*). Ésta última especie es la única con distribución natural en Jalisco y Nayarit, donde es llamado "caimán", estados donde se llevó a cabo este estudio. Se ha reportado una cuarta especie para México (COMACROM, 2000), pero su presencia no ha sido confirmada.

Diversas investigaciones se realizan hoy en día para la conservación y uso sostenible de las tres especies previamente mencionadas. De la especie *C. crocodilus fuscus*, se han realizado menos estudios en estado silvestre (Martínez et al., 1997a,b) como en cautiverio y, hasta donde tenemos conocimiento, sólo se conoce una granja autorizada para su explotación en

Chiapas (López-Vázquez, 1997). Por otro lado *C. moreletii* es la especie más estudiada en cautiverio, pues existen varias granjas para cultivo, así como diversos estudios sobre aspectos reproductivos e incubación (Cabrera- Aldabe, 1997; León-Ojeda y Arredondo, 2000), En años recientes la especie contaba con poca información en estado silvestre, pero en la actualidad se realizan muestreos en las principales regiones en que se encuentra distribuida esta especie (Sigler et al, 2002, 2003). En estado silvestre *C. acutus* es la especie que cuenta con mayor número de estudios, de los cuales, la mayoría versa sobre muestreos para detectar nuevas poblaciones, o para conocer la abundancia y la dinámica poblacional de la especie a lo largo de su distribución (Ponce-Campos, 2001), además los estudios continúan, por lo que *C. acutus* es la especie mejor conocida en el medio silvestre en el país (Ponce-Campos, 2004).

En el estado de Jalisco se han realizado diversas investigaciones con el objetivo de conocer mejor la situación actual del manejo del "caimán", por lo que se cuenta con un amplio conocimiento sobre su distribución actual (Méndez y Casas-Andreu, 1992; Ponce-Campos y Huerta-Ortega, 1997, Ponce-Campos et al., 1996, Huerta-Ortega. 2002), así como la situación actual en que se encuentran las poblaciones silvestres (Huerta-Ortega, 2002). Se han realizado estudios de dinámica poblacional, muestreos para detectar nuevas poblaciones y para conocer su índice de abundancia, además de estudios de fisiología y genética de poblaciones silvestres (Huerta-Ortega et al., 2002, Ponce-Campos et al., 1996, 2004; Ponce-Campos y Huerta-Ortega, 1997; Ponce-Campos y Dubach, 2004) y problemática hombre cocodrilos (Huerta-Ortega y Ponce-Campos, 2002), entre otras actividades que son llevadas por medio de un Plan de Conservación (Ponce-Campos y Huerta-Ortega, 1997). En Nayarit, la especie es estudiada en estado silvestre y cautiverio (Romero-Villarruel et al., 2002; Jesús Romero-Villarruel, comunicación personal).

JUSTIFICACIÓN

El presente estudio es el resultado del análisis de la información existente para el estado de Jalisco, así como la información producida en México. Ante las necesidades de estudios básicos, se consideró realizar un estudio para comprender que factores del ambiente influyen en la reproducción en estado silvestre y en cautiverio del "caimán" *C. acutus* por medio del análisis de hormonas sexuales y la hormona de estrés (Corticosterona). Se revisó información sobre reproducción en diferentes especies del orden Crocodylia y se llegó a la conclusión de que el presente estudio es probablemente el primero en el que se estudian hormonas sexuales y de estrés en cocodrilos adultos durante el ciclo reproductivo en la especie *Crocodylus acutus* en toda su distribución (ver las siguientes citas). Por otra parte, el análisis de la relación del ambiente físico y el efecto de las hormonas en la reproducción es probablemente el primer estudio de este tipo en todo el orden Crocodylia a nivel mundial. Según la revisión varios estudios de hormonas realizados en diferentes especies del orden, no se conoce ninguna publicación donde se realice un estudio con significancia estadística relacionando hormonas (sexuales y de estrés) y factores físicos del hábitat durante el ciclo reproductivo (Coutinho et al., 2001; Elsey et al., 1990a, b; Elsey et al., 1991; Kofron y Steiner, 1994; Lance 1987, 1989; 1992; 1994; 2003; Lance y Elsey, 1986; 1999a,b; Lance y Lauren, 1984; Lance et al., 2001; Lance et al., 2003; Wilkinson, 1983), por lo que el presente estudio aporta nuevos elementos de utilidad para el manejo y conservación de la especie en estado silvestre y cautiverio.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de los factores físicos del ambiente en la reproducción de *Crocodylus acutus* en estado silvestre y cautiverio, por medio del análisis de hormonas sexuales y de estrés durante la etapa reproductiva de la especie, y determinar algunos de los factores que influyen en la reproducción y estrés, además de determinar si existen diferencias entre estado silvestre y cautiverio, así como entre machos y hembras.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar los efectos y factores físicos del ambiente que influyen en la expresión de las hormonas sexuales y de estrés durante la reproducción de *Crocodylus acutus* en estado silvestre y en cautiverio
- Evaluar la relación de las hormonas sexuales y de estrés con el ciclo reproductivo en estado silvestre y en cautiverio
- Determinar si existen diferencias de la influencia del ambiente en la reproducción y estrés entre los animales en estado silvestre y en cautiverio, así como entre sexos

ANTECEDENTES

Las 23 especies del orden Crocodylia, son de gran talla, ovíparas, de madurez retardada, larga vida y una sola postura al año (en estado silvestre) (Thorbjarnarson, 1996). Se sabe que los cocodrilianos son de hábitos poligínicos (Thorbjarnarson 1989), un macho se aparea con varias hembras, aunque recientes investigaciones a nivel molecular, al menos en *Alligator mississippiensis*, registraron paternidad múltiple en diferentes nidadas (Davis et al., 2001), por lo que futuras investigaciones moleculares y de comportamiento, revelarán el grado de poligamia o poliginia en las diferentes especies del orden.

El "caimán" *C. acutus* es una especie de hábitos semi-acuáticos y se desarrolla principalmente en regiones costeras, por lo que es una de las pocas especies que toleran altos grados de salinidad (Mazzotti y Dunson, 1989; Thorbjarnarson et al., 1992) y es la segunda especie con mayor tolerancia a la salinidad después del cocodrilo de agua salada (*C. porosus*) (Mazzotti y Dunson, 1989), ya que la familia crocodylidae se distingue por poseer glándulas linguales de la sal (Taplin y Grigg, 1989). Además es una especie que tiene importancia comercial, por lo que la explotación irracional a principios y mediados del siglo pasado causó la pérdida y disminución de las poblaciones a lo largo de su distribución en México (Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo, 1970). El ambiente, al igual que la especie, tienen potencial turístico, con lo que se pueden conseguir recursos para ayudar a solventar la investigación y minimizar la problemática hombre-cocodrilos mediante el manejo y aprovechamiento adecuados. Además de la importancia comercial, se debe considerar la importancia ecológica de los cocodrilianos, ya que son depredadores secundarios en la cadena alimenticia (Casas-Andreu, 1982) y son especies clave en su ambiente, debido a que mantienen la estructura y función del ecosistema por medio de la depredación selectiva de peces y el reciclado de nutrientes (Thorbjarnarson et al., 1992), atributos que se le pueden adjudicar a *C. acutus*.

En relación con los aspectos reproductivos de diferentes organismos, es común que se tomen datos sobre medidas morfométricas y algunos aspectos de las gónadas para lo cual se tienen que sacrificar organismos, tal es el caso con lagartijas (Ramírez y Vitt, 1998 a, b; Ramírez *et. al.*, 1998), en *Crocodylus siamensis* (Kitiyant *et. al.*, 1994) y algunos estudios en cocodrilianos en los que han aprovechado la técnica de ranqueo. En el caso de cocodrilianos se practica el sacrificio de ejemplares en edad o talla reproductiva de poblaciones silvestres y de animales muertos en carretera para describir la ecología reproductiva por medio de morfología de gónadas, como es en el *Caiman crocodilus* (Thorbjarnarson, 1994), o en estudios en donde han analizado aspectos morfológicos de las gónadas (Joanen y MacNease, 1989, Coutinho *et al.*, 2001), lo que no es posible realizar con *C. acutus* debido al estado actual de sus poblaciones según las normas internacionales y nacionales.

En la actualidad la especie se considera en la categoría de Protección especial (Pr) en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001 (Diario Oficial, 2002), en peligro (apéndice I) para CITES (1992) y vulnerable (VU) en la lista roja de la IUCN (Ross, 1998). Por los motivos que se presentaron anteriormente y por el estatus en las diferentes normas o listados internacionales sobre el riesgo que presenta la especie, se permite el sacrificio de ejemplares de la especie en edad reproductiva, por lo que se decidió realizar el estudio con hormonas para obtener información acerca de aspectos relacionados con el ciclo reproductivo y de la influencia del ambiente en la expresión hormonal de *C. acutus*. Un aspecto importante del estudio es que aporta información sobre la temporada crítica de la especie, durante la temporada reproductiva en este caso, en la cual la especie puede ser vulnerable y agresiva (Lazcano, 1996), además de generar información sobre aspectos reproductivos y su relación con factores físicos del hábitat, lo que es de importancia para la conservación y uso sostenible de la especie en estado silvestre y en cautiverio.

Se ha publicado poca información en donde se comprueba la talla mínima reproductiva en algunas especies de cocodrilianos: Lance (1989) menciona que la madurez sexual en los machos del lagarto americano (*A. mississippiensis*) se alcanza cuando tienen una talla mínima de 1.8 m, pero en organismos menores a 2.7 m es raro que se reproduzcan satisfactoriamente. Las hembras alcanzan la madurez a los 1.8 m, pero las condiciones reproductivas óptimas son a mayor talla. En las hembras del cocodrilo de Morelet o cocodrilo de pantano (*C. moreletii*), la talla mínima es de 2.0 m (Casas-Andreu y Rogel-Bohena, 1986), en el cocodrilo enano de África (*Osteolaemus tetraspis*) es de 1.02 m y en los machos hasta 1.22 m (Kofron y Steiner, 1994). Para el cocodrilo del Orinoco (*C. intermedius*), la talla mínima en hembras es de 2.66 m (Thorbjarnarson y Hernández, 1993a) y en el caimán común o de anteojos (*C. crocodilus*), las tallas mínimas reproductivas son de 60 cm en hembras y 90.0 cm en machos (en longitud hocico cloaca) (Thorbjarnarson, 1994). Para el "Caimán" o cocodrilo de río (*C. acutus*), Thorbjarnarson (1989) ha estimado tallas mínimas reproductivas en machos no menores de 2.8 m. En hembras, el mismo autor indica que la talla mínima es de 2.2 m, lo cual es verificado por los resultados de Fonseca y Berovides (1999) quienes reportan un promedio de longitud de 2.25 m. Casas-Andreu y Guzmán-Arroyo (1970) mencionan que la madurez sexual en *C. acutus* "aparentemente" es de 1.5 m. En *C. niloticus* las hembras maduran en promedio a 2.25 m y los machos a 3.3 m (Seymour *et. al.*, 1987).

En los cocodrilianos se han realizado estudios sobre aspectos de la reproducción por medio de estudios de comportamiento reproductivo (Lang, 1987a, 1989; Thorbjarnarson y Hernández, 1993b), análisis de gónadas (Joanen y MacNease, 1989; Kitiyanant *et. al.*, 1994; Lance, 1989; Thorbjarnarson, 1994), de esperma (Kitiyanant *et al.*, 1994; Kofron y Steiner, 1994) y hormonas (Kofron y Steiner, 1994; Lance, 1987, 1989), entre otros. Recientemente Coutinho *et al.* (2001) estudiaron la biología reproductiva de

Caiman yacare en Brasil por medio de análisis morfológicos e histológicos de gónadas y de hormonas sexuales.

Alligator mississippiensis es la especie más estudiada de los cocodrilianos (Mazzotti y Dunson, 1989), por lo que el ciclo reproductivo es bien conocido (Lance, 1989). Se ha estudiado la reproducción de esta especie por medio de hormonas sexuales (Lance, 1987, 1989), la relación de la hormona de estrés (Corticosterona) y la reproducción (Elsey, et. al., 1990a), por medio de morfología de gónadas (Lance, 1989), por comportamiento (Garrick y Lang, 1977; Garrick et. al., 1978; Lang, 1987a, 1989), estudio de nidos (Joanen y McNease, 1989; Wilkinson, 1983) así como el mejoramiento de sistemas productivos (Joanen T. y L. McNease. 1979), entre otros.

Se conocen varios estudios de hormonas sexuales para conocer el ciclo reproductivo en *A. mississippiensis* (Lance 1987; 1989), en el cocodrilo enano de Africa (*Osteolaemus tetraspis*), (Kofron y Steiner, 1994) y en *Caiman yacare* (Coutinho et al., op cit.). A pesar de que existen diversos estudios sobre la reproducción en la mayoría de las especies del orden Crocodylia, no se conocen trabajos específicos, en los cuales se haya estudiado la relación del ambiente con la reproducción, por medio del análisis de hormonas y de factores ambientales y físicos, tan sólo se han relacionado algunos factores como patrones generales de precipitación, con los niveles hormonales (Kofron y Steiner, 1994), la variación de la temperatura global con diferentes eventos reproductivos (espermatogénesis, apareamiento, vitelogénesis y crecimiento folicular) (Lance, 1987, Coutinho et al., 2001), la variación relativa en el nivel de agua con el cortejo, apareamiento, oviposición y nacimientos (Thorbjarnarson y Hernández, 1993a), eventos gonádicos relacionados con la temporada de secas (Thorbjarnarson, 1994), diferentes factores como temperatura de agua, aire y el patrón de precipitación, han sido utilizados para relacionarlos con la ecología de nidos (Wilkinson, 1983), y la temperatura global y los niveles de agua con los eventos reproductivos (Coutinho et al., op cit.). Es ampliamente

aceptado que la temperatura juega un papel importante en la reproducción de los cocodrilos (Lance, 1987, 1989, 2003), grupo que no presenta el órgano fotosensitivo pineal como los demás reptiles, por lo que aparentemente la reproducción es regulada por la temperatura (Lance, 2003), lo cual ha sido probado en la serpiente de cascabel (*Crotalus viridis*), que no presenta órgano fotosensitivo pineal, en la cual el fotoperiodo no influye en la reproducción (espermatogénesis), sólo la temperatura ambiental (Aldridge, 1975).

En *C. acutus* la reproducción se ha estudiado principalmente por comportamiento (Garrick y Lang, 1977) y estudio de nidos (Valtierra-Azotla, 2001). Se conoce un estudio sobre comportamiento reproductivo de la especie en cautiverio, realizado en nuestro sitio de estudio, Centro Reproductor de San Blas (Martínez-Ibarra, 1991) y recientemente se ha desarrollado un nuevo estudio de comportamiento de la especie en cautiverio en Puerto Vallarta (Reyes-Nuñez et al., 2004). Actualmente en México, la reproducción de la especie, así como aspectos de su ecología, son estudiados por medio de nidos en estado silvestre (Valtierra-Azotla op. cit. y J. J. Romero-Villarruel, comunicación personal, 2002).

Al conocer que la mayoría de los aspectos básicos de investigación (muestreos, distribución, estudios de dinámica poblacional, problemática hombre cocodrilos y situación actual), como ya se mencionó anteriormente para *C. acutus*, en los estados de Jalisco y Nayarit, se han cubierto, y debido a la falta de estudios sobre reproducción en *C. acutus*, se considero importante de evaluar el efecto de los cambios físicos del ambiente, en la variación mensual de concentraciones de hormonas sexuales, Testosterona en machos, Estradiol β -17 en hembras y la Corticosterona en machos y hembras, así como determinar que relación tienen las hormonas (sexuales y de estrés) con el ciclo reproductivo, en estado silvestre y cautiverio, durante la temporada más importante del ciclo reproductivo, que es durante el cortejo, apareamiento y

anidación, y finalmente establecer si existen diferencias entre los dos sitios y entre sexos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Permisos de captura, extracción de sangre, trabajo de campo y exportación

Se obtuvieron los permisos de colecta científica (INE-SEMARNAT, México), de Sanidad Animal (SAGAR, México) y para la exportación e importación (CITES México y USA) de muestras de sangre, para poder realizar el análisis de laboratorio en el Centro para la Reproducción de Especies en Peligro (CRES), en San Diego, California.

Áreas de estudio

El estudio en estado silvestre se llevó a cabo en el estero de la Manzanilla. El citado estero se localiza en las coordenadas 19° 17' N y 104° 47' oeste. Es un cuerpo de agua dulce localizado en las cercanías de una población (La Manzanilla), que pertenece al municipio de La Huerta, Jalisco y consiste en un estuario conformado por canales y pequeñas lagunas, donde la vegetación principal es el manglar. Las especies dominantes de mangle son: mangle blanco (*Laguncularia racemosa*: Combretaceae), mangle rojo (*Rhizophora mangle*: Rhizophoraceae) y poco representado el mangle botoncillo (*Conocarpus erecta*: Combretaceae). Tiene una superficie aproximada de 153 ha. La salinidad varía anualmente de cero o cerca de cero a 20 $\mu\text{L L}^{-1}$, aproximadamente, dependiendo de si la barrera entre el mar y el estero se abre para reestablecer comunicación entre este cuerpo de agua dulce y el mar. La interacción o comunicación entre los dos sistemas ocurre aproximadamente cada cinco años. La población de cocodrilos se estima que

es mayor a los 300 ejemplares. Esta población es considerada como la segunda población en importancia después de la reserva Chamela-Cuixmala ya que mantiene una población grande de cocodrilos adultos (Ponce-Campos et al., 2002). En los estudios realizados en La Manzanilla se han marcado casi 60 ejemplares adultos y se han observado otros sin marca. En éste cuerpo de agua la gente local obtiene recursos en forma directa por paseos en lancha, para observar cocodrilos, aves y el hábitat, por medio del turismo que día a día se incrementa, en parte gracias a la población de cocodrilos adultos existente, de la que, desde hace cinco o seis años aproximadamente, el turismo nacional e internacional se percató de su presencia, por lo que los lugareños se ven beneficiados de forma indirecta, gracias al incremento del turismo (Ponce-Campos y Huerta-Ortega, no publicado).

En la Manzanilla la densidad máxima reportada es de 314 individuos en 153 has. = 2.05 cocodrilos/ha. Es importante señalar que la estructura de adultos mayores a los 2.5 m en la Manzanilla equivale al 31%, siendo los juveniles (0.60 –1.5m) los más abundantes, basado en avistamientos nocturnos (Huerta-Ortega et al., 2002). La proporción de sexos en la Manzanilla está basada en las capturas y marcaje de animales hasta la fecha, lo que varía según los datos, aprox. 22 adultos mayores a 2.5 m avistados (Huerta-Ortega et al., 2002) y la proporción de sexos de cocodrilos adultos o mayores de 2 metros de longitud total en la Manzanilla, según datos actualizados es de 10 hembras X 44 machos, (Proporción de sexos 4.4 machos:1 hembra).

El estudio en cautiverio se llevó a cabo: en el Centro Reproductor de Cocodrilos "El Tanque" es localizado en el Ejido la Palma, Municipio de San Blas, Nayarit, entre las coordenadas 21° 48' norte y 105° 21' oeste. Este sitio cuenta con pequeños encierros donde se mantiene una población aproximada de 40 adultos. La proporción de sexos en San Blas es de 16 hembras por 17 machos (Proporción 1:1) (según los datos obtenidos durante el estudio).

Es importante señalar que tallas menores a dos metros no se encontraban en los acuaterrarios de cautiverio, por lo que en la estructura social no influyen tales tallas.

En este sitio, los adultos se muestrearon durante la temporada de estudio, en ocho acuaterrarios de pequeñas dimensiones, por ejemplo una pareja (macho 3.24 y hembra 3m) era mantenida en un área de 100m² rodeada de malla metálica y un estanque de 25 m² y 90 cm de profundidad (Ponce-Campos et al., 2001). En otros acuaterrarios de dimensiones ligeramente más grandes se mantenía a varios machos y varias hembras. En este lugar la comunidad de la Palma, municipio de San Blas, Nayarit, se ve beneficiada directamente por los recursos que obtienen por el manejo del cocodrilario y otras comunidades cercanas en él área, se ven beneficiadas por los paseos en lancha, en parte, para que los turistas observen cocodrilos cautivos o silvestres.

Trabajo de Campo

La toma de muestras de sangre en estado silvestre se llevó a cabo de enero a junio del 2002, en los días comprendidos entre el 2 al 12 de cada mes, y el 14 y/o 15 en cautiverio, con lo que se cubrieron las fases reproductivas más importante de la especie (cortejo, apareamiento y anidación). Se capturaron y recapturaron en total 123 ejemplares de ambos sexos. En estado silvestre un total de 63, con un promedio de diez por mes (esfuerzo de captura: promedio = uno por día; Rango 0 - 6). En estado silvestre sólo se capturaron hembras durante los meses de febrero, marzo y mayo; n = 8) y en cautiverio 5 machos y 5 hembras por mes (total, n = 61). Los animales se marcaron por amputación de escamas caudales y etiquetas o aretes para ganado, en las hileras de escamas dobles de la cola, amarillo del lado izquierdo en las hembras y rojo del lado derecho en los machos, para no capturar el mismo individuo en el mismo mes. Las medidas en longitud total (LT) de los ejemplares varían entre 1.98 a

4.44 m, siendo el promedio de $3.09 \pm .0069$ en estado silvestre y 2.20 a 3.40 m, con un promedio de $2.63 \text{ m} \pm .0032$ en cautiverio. También se registró la longitud hocico cloaca (LHC) de la siguiente forma: desde la punta del hocico hasta el nivel del borde posterior del muslo, cuando el fémur está a 90 grados en ángulo con el cuerpo, medida que coincide con el borde anterior de la abertura de la cloaca, esta última medida es utilizada comúnmente en lagartijas para contar las escamas dorsales a la altura de la cloaca (Smith y Taylor, 1950), y se adaptó en el presente estudio con buenos resultados para determinar la talla LHC de *C. actutus*. Las dos medidas se tomaron por la parte dorsal.

La técnica de extracción de sangre utilizada, fue de la vena espinal (Kevin et al., 2003). Para la extracción se utilizaron jeringas de 10 ml con aguja de 20g X 32mm, 21g X 32mm, 22g X 32mm y 20g X 35mm. Esta última medida se utilizó en animales mayores de 2.5m de longitud total. Después de la extracción (no se utilizó anticoagulante; media del volumen extraído = 9.5 mL), la sangre se depositó en una hielera para su posterior centrifugación (3000 rpm, 2.5 min. temperatura ambiente). El suero fue separado y depositado en tubos con rosca de 2 ml y se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido hasta su exportación. Una vez en el laboratorio, se guardó en un congelador a $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que fue realizado su análisis.

El tiempo de estrés fue tomado durante cada captura, desde que el cocodrilo fue lazado (en cautiverio o estado silvestre), y cuando el cocodrilo mordió la trampa con carnada (pescado) en estado silvestre, cuando el estrés agudo tuvo inicio, hasta que finalizó la extracción de sangre. Diferentes técnicas de captura e inmovilización fueron utilizadas (Pérez-Higareda y Rangel-Rangel, 1991 a,b; Walsh, 1987; Wilkinson, 1994), además de la improvisación, modificación y adaptación de las mismas y utilización de otras técnicas (Ponce-Campos y Huerta-Ortega, no publicadas).

Los factores físicos del ambiente que se registraron en cautiverio y vida silvestre fueron la irradianza, temperatura del aire, humedad relativa y voltaje con recolectores electrónicos de datos HOBO (H8-004-02. RH/Temp/Light. Onset Computer Co.) y temperatura del agua con recolectores sumergibles HOBO (TBI32-20+50) (estanque, en cautiverio), por medio de varias repeticiones diarias. Los recolectores de datos para temperatura del aire, humedad relativa, voltaje e irradianza fueron colocados en un árbol de mangle blanco (*Laguncularia racemosa*) en la Manzanilla y en un guamúchil (*Pithecoelobium dulce*) en San Blas, entre los cuatro y cinco metros de altura. En estado silvestre se colocó en un área cercana al agua dentro del manglar (aproximadamente 10m). Los parámetros físicos del estero de la Manzanilla, como el nivel de agua se midieron por medio de una baliza permanente, la cual tenía adherida una cinta métrica (en cm) y la salinidad (físicoquímico) del estero de la Manzanilla se midió mensualmente por medio de un refractómetro manual (Spartan Refractometers: A 366 ATC). En la localidad de San Blas, Nayarit, no fueron registrados los factores físicos previamente mencionados. Además los promedios de los factores temperatura del aire, agua y humedad relativa obtenidos con el recolector de datos electrónico, en el mes de febrero, provienen de la segunda quincena a partir del día quince, cuando el aparato fue colocado nuevamente, esto debido al daño que sufrió el recolector de datos causado por hormigas y la humedad durante el temporal de lluvias del 2001. También durante cada captura se tomo la temperatura de la cloaca, del aire y agua. Por otra parte, sólo se tienen datos de la temperatura de la cloaca de machos y hembras en cautiverio, de enero a mayo, debido a una avería en el termómetro durante el trabajo de campo.

Trabajo de Laboratorio

El análisis de las hormonas sexuales, Testosterona en machos y Estradiol (β 17) en hembras y la hormona de estrés (Corticosterona), en ambos

sexos, se analizaron mediante la técnica de radio-inmuno-ensayo. Se utilizaron alícuotas, duplicados de 50 μ L de Testosterona y 100 μ L para Estradiol, y 100 μ L de suero para Corticosterona, y se procedió a su análisis mediante la utilización de las técnicas de ensayo utilizadas por Schramm et al. (1999).

Para obtener las concentraciones, los promedios y rangos de concentraciones de hormonas sexuales y de estrés se realizaron transformaciones logarítmicas (Log) según la siguiente fórmula $\text{Log}(Y+1)$, que se aplica cuando se tienen valores cero, debido a que el logaritmo de cero tiene un número infinito negativo. La transformación logarítmica evita detectar diferencias entre las varianzas. Cuando presentaron valores mayores que cero y menores que uno la transformación se realizó con la siguiente fórmula $\text{Log}(Y+10)$ (Sokal y Rohlf, 1981). Además se realizaron los siguientes análisis estadísticos, prueba de homogeneidad de varianzas, prueba de rango múltiple y ANDEVA, regresión de una vía y análisis de covarianza por medio del programa Statgraphics Plus 5.1. Para conocer la relación entre los factores físicos y/o hormonas, por medio de regresión lineal simple, se realizó una transformación logarítmica con las fórmulas citadas. Se transformó la variable dependiente cuando ésta variaba directamente con la variable independiente, como ejemplo la Testosterona con relación al tiempo. Cuando no se conocía la relación se transformaron ambas variables, ejemplo Testosterona vs Corticosterona se transformaron ambas variables (Sokal y Rohlf, 1981).

Las relaciones de los valores mensuales de cada ejemplar muestreado para el análisis de hormonas (Corticosterona, Testosterona y Estradiol β 17), se extrapolaron mediante la ordenación de Bray-Curtis con los factores físicos del ambiente por medio de la utilización del paquete PC-ORD 4.0 (McCune y Mefford, 1999; McCune y Grace, 2002). Este es un paquete que generalmente se utiliza en el estudio de comunidades vegetales (Huerta-Martínez y García-Moya, 2004; McCune y Grace, 2002). Los datos de hormonas y factores físicos se adaptaron al paquete, por medio de la elaboración de dos bases de datos:

Se realizó un análisis por sexo y por sitio (machos en estado silvestre, machos en cautiverio, hembras en estado silvestre y hembras en cautiverio). En la matriz principal se colocaron los valores hormonales en las columnas y los valores de cada ejemplar en las filas, con la utilización de una clave individual y el mes en que fue muestreado cada ejemplar. En la matriz secundaria, se colocaron los factores físicos del ambiente y la longitud total y hocico cloaca de cada individuo en las columnas, y los valores de cada individuo, con su clave individual y mensual, en las filas.

De los recolectores de datos se obtuvo información de irradianza y humedad, expresados de diferentes formas, mismos que se incluyeron en el análisis, además de la temperatura del agua y aire. Se calcularon los valores promedio mensuales de cada factor físico obtenido de los recolectores de datos o se calcularon o se tomaron datos mensuales de algunos factores. A continuación se anotan las claves de las hormonas, los valores obtenidos por los recolectores de datos y de los factores físicos tomados en campo, así como la escala en que están expresados: Testo = Testosterona (ng/ml); Estradiol = Estradiol (pg/ml); Corticos = Corticosterona (ng/ml); LT Mean = Promedio de la longitud total (cm); SVL Mean = Promedio de la longitud hocico cloaca (cm); Tair Trap = Promedio de la temperatura del aire durante la captura (°C); Ta Mean = Promedio de la temperatura del agua (°C); Ta Min = T. mínima del agua (°C); Ta Max = T. máxima del agua (°C); Tir Mean = Promedio de la temperatura del aire (°C); Tir Min = T. mínima del aire (°C); Tir Max = T. máxima del aire (°C); RH% Mean = Promedio de la humedad relativa del aire (%); RH% Min = H. relativa del aire, mínimo (%); RH% Max = H. relativa del aire, máximo; DP Mean = Promedio del punto de rocío (°C); DP Min = P. de rocío, mínimo (°C); DP Max = P. de rocío, máximo (°C); Int Mean = Promedio de la intensidad de luz o irradianza (Lumen/pie²); Int Min = I. mínima de luz (Lumen/pie²); Int Max = I. máxima de luz (Lumen/pie²); AbsHMean = Promedio de la humedad absoluta (gr/m³); AbsHMin = H. absoluta, mínimo (gr/m³); AbsHMax = H. absoluta, máximo (gr/m³); URH%Mean = Promedio de la humedad "Uncom" (=

no compensada) (%); URH%Min = Humedad "Uncom", mínimo (%); URH%Max= Humedad "Uncom", máxima (%); VoltMean = Promedio del voltaje (voltios); VoltMin = V., mínimo (voltios); VoltMax = V., máximo (voltios); OsciH2O = Oscilación agua (Temperatura máxima menos la mínima) (°C); OsciAir = Oscilación del aire (T. máxima menos la mínima) (°C); DifAGAir = Diferencia entre las temperaturas del aire y agua (temperatura del aire menos temperatura del agua) (°C); Nivel de agua en la Manzanilla (el nivel mínimo expresado, es el nivel máximo del agua y el mayor número es el nivel mínimo del agua en la Manzanilla, expresado en centímetros (cm); Salinidad ($0 \mu\text{L L}^{-1}$).

Se analizaron estadísticamente los datos de la temperatura de la cloaca que fue tomada durante cada captura, con algunas excepciones (ver material y métodos) y se analizó su relación con la reproducción, en este caso la temporada pico de despliegues reproductivos y apareamiento debido a que se observaron las figuras visualmente y se encontró la relación con el apareamiento (Figuras 23- 28).

RESULTADOS

Análisis del manejo de muestras en campo.

Se analizó por medio de análisis de varianza el tiempo que permanecieron las muestras de sangre en hielo (Figura 1), posterior a su extracción y previo a su separación (suero y paquete celular), hasta que fueron depositados en nitrógeno líquido. El análisis realizado fue para evaluar si el manejo de las muestras en campo afectó las concentraciones.

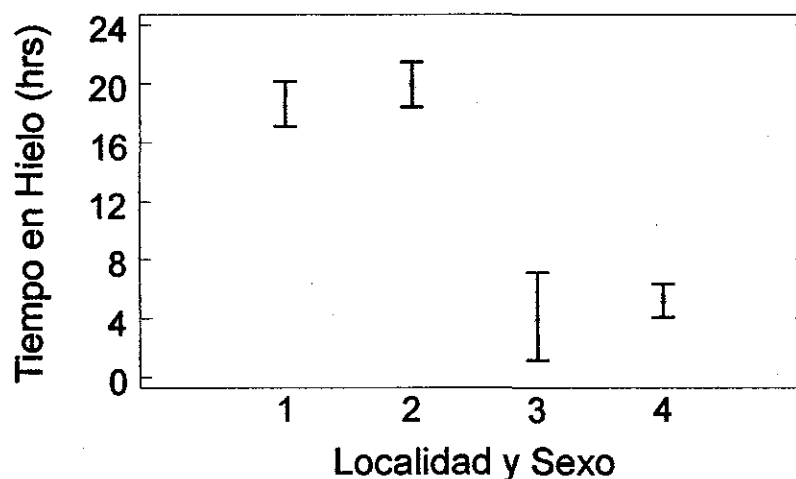


Figura 1. Comparación de los promedios del tiempo que permanecieron las muestras de sangre en hielo. Se muestran los promedios y el desviación estándar. **Tiempo en hielo** = Tiempo que permanecieron las muestras de sangre en hielo, expresado en horas. **SexoLoc** = Sexos y sitios de muestreo de: hembras en cautiverio (HC) (1); machos en cautiverio (MC) (2); hembras en estado silvestre (HVS) (3) y machos en estado silvestre (MVS) (4).

Los niveles de Testosterona de machos en cautiverio (MC) no fueron afectados por el tiempo que permanecieron las muestras de sangre en hielo (0 °C) ($P > 0.05$, $R^2 = 0.54$). Por otro lado la Corticosterona de MC se incremento pero no a un nivel significativo ($P < 0.1$; $R^2 = 9.45$). Los niveles de Estradiol de hembras en cautiverio (HC) no fueron afectados por su almacenamiento en

hielo ($P > 0.05$; $R^2 = 2.5$) y la Corticosterona de HC no se vio afectada ($P > 0.05$, $R^2 = 0.003$).

La Testosterona de machos en vida silvestre (MVS) no fue afectada significativamente ($P < 0.1$; $R^2 = 6.81$), al igual que ocurrió con la Corticosterona de MVS ($P > 0.05$, $R^2 = 6.4$). El Estradiol de las hembras en vida silvestre (HVS) no se vio afectado ($P > 0.05$, $R^2 = 3.1$), así como la Corticosterona ($P > 0.05$, $R^2 = 0.67$).

En general las concentraciones hormonales de hembras y machos en estado silvestre y cautiverio no fueron afectadas por el manejo realizado durante la manipulación de éstas, previo a la separación del suero (centrifugación) y paquete celular y a los ensayos de laboratorio. Por lo que no fue necesario realizar ajustes.

Concentraciones de hormonas sexuales entre sitios

Las concentraciones de Testosterona MC ($n = 31$; media = 7.7 ng/ml) fueron más altas que en MVS ($n = 55$; media 2.5 ng/ml) ($P < 0.05$) (Figura 2). En el caso del Estradiol, no se encontró diferencia en los valores promedio de HC ($n = 30$; media 69.3 pg/ml) y HVS ($n = 8$; media = 84.4 pg/ml) ($P > 0.05$) (Figura 3). En el Cuadro I, se incluyen los valores de las medias, desviaciones estándar, error estándar y máximos y mínimos de las concentraciones de Testosterona y Estradiol. Para la Corticosterona los valores de las medias, desviación estándar, error estándar y máximo y mínimos se reportan en el Cuadro II.

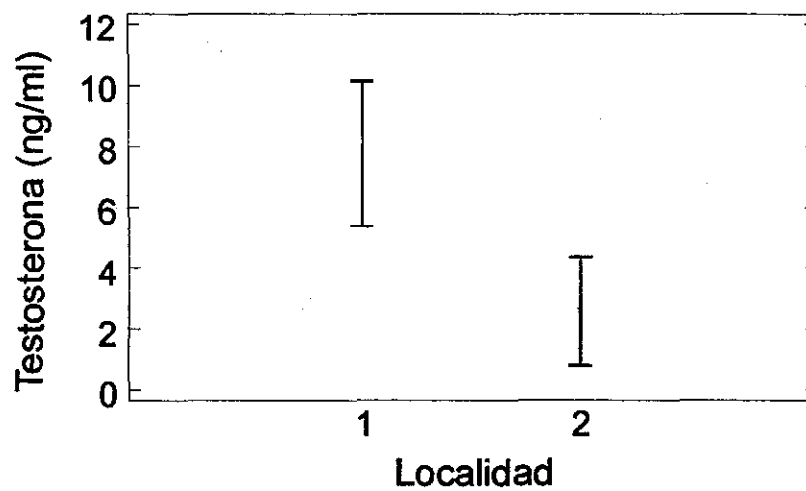


Figura 2.- Promedios de las concentraciones de Testosterona entre machos en estado silvestre y cautiverio. 1 = Cautiverio; 2 = estado silvestre.

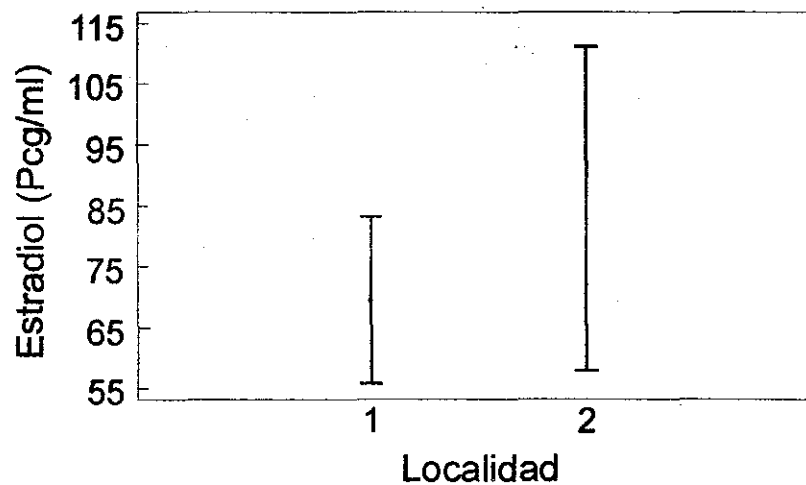


Figura 3.- Comparación de las concentraciones promedio de Estradiol entre hembras en estado silvestre y cautiverio. 1 = Cautiverio; 2 = estado silvestre.

Concentraciones hormonales mensuales y su relación con el ciclo reproductivo

Las concentraciones mensuales de Testosterona de MVS, alcanzan su nivel más alto en el mes de enero y disminuyen en los meses posteriores ($P < 0.05$) (Figura 4). En cautiverio (Figura 5), los machos presentan las concentraciones más altas en enero y febrero, pero sólo enero es diferente estadísticamente con el mes de junio ($P < 0.05$). Las concentraciones mensuales de Estradiol de HVS mostraron diferencias entre los meses marzo y mayo, con los valores máximos en marzo durante la temporada de cópula ($P < 0.05$) (Figura 6), en contraste con las HC, las que no presentan diferencia entre las concentraciones mensuales de Estradiol ($P > 0.05$) (Figura 7).

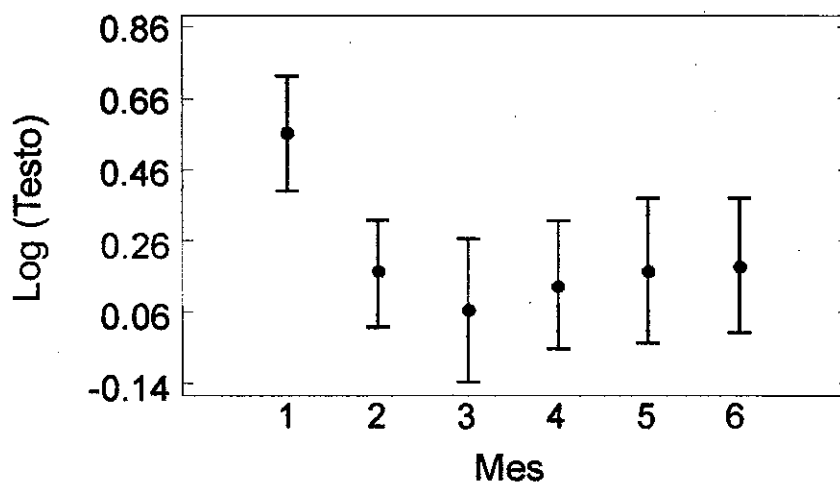


Figura 4. Concentraciones mensuales de Testosterona de machos en estado silvestre. Medias y desviación estándar. $\text{Log (Testo)} = \text{Log}(Y+1)$; Y = Testosterona. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio.

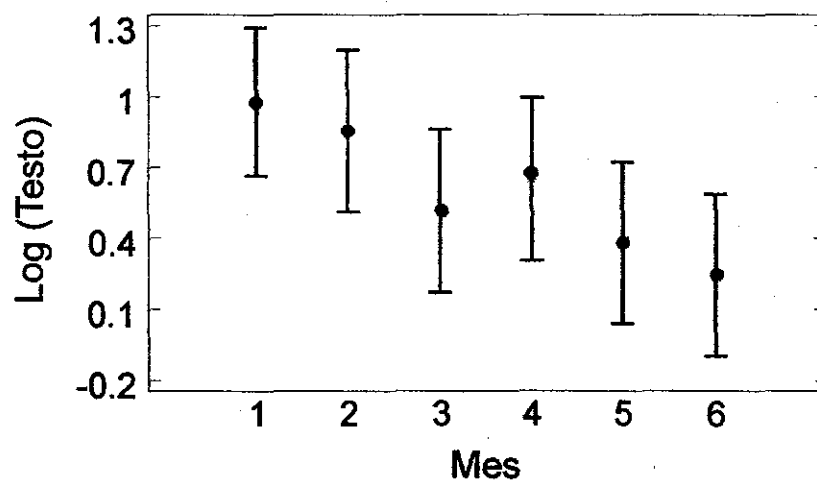


Figura 5. Concentraciones mensuales de Testosterona de machos en cautiverio. Medias y desviación estándar. $\text{Log (Testo)} = \text{Log}(Y+1)$; $Y = \text{Testosterona}$. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio.

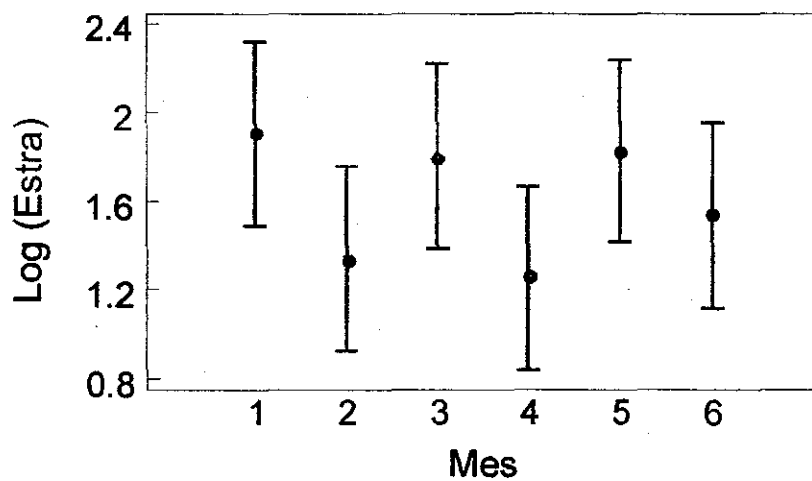


Figura 6. Concentraciones mensuales de Estradiol de hembras en estado silvestre. Medias y desviación estándar. $\text{Log (Estra)} = \text{Log}(Y)$; $Y = \text{Estradiol}$. 2.- Febrero, 3.- Marzo, 5.- Mayo.

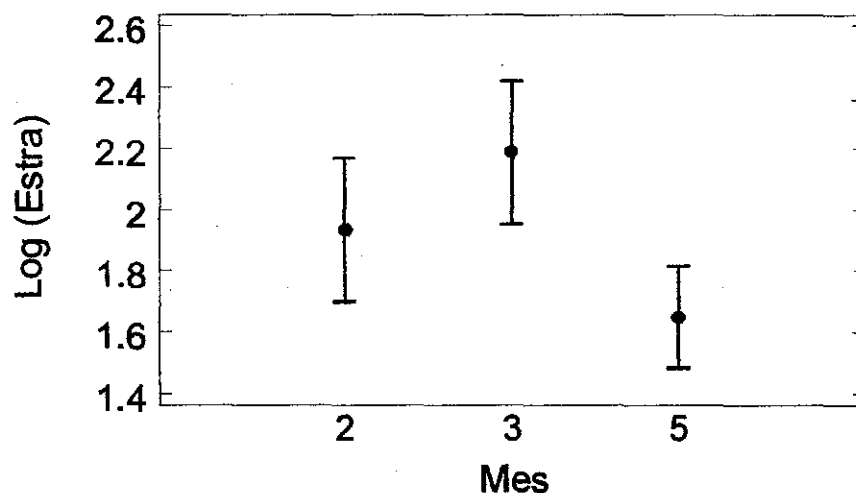


Figura 7. Concentraciones mensuales de Estradiol de hembras en cautiverio. Medias y desviación estándar. $\text{Log (Estra+10)} = \text{Log}(Y+10)$; Y = Estradiol. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio.

La variación mensual de Testosterona en machos muestra un patrón similar en ambas condiciones. En estado silvestre, los niveles más altos se presentan en enero, mes que presentó los niveles de Testosterona significativamente más altos que los meses posteriores, por lo que en general los niveles de Testosterona se mantienen a niveles similares de febrero hasta junio (Figura 4). En cautiverio, los niveles más altos se presentan en enero, valor que fue más alto significativamente que junio, éste último con las concentraciones más bajas ($P < 0.05$), se observa en la figura que las concentraciones van decreciendo de enero a junio (Figura 5).

En general los patrones de Testosterona en los MVS y MC son similares, siendo enero el mes que presentó concentraciones más altas significativamente. Esto indica que el ciclo reproductivo es similar en ambos casos, pero en estado silvestre los promedios de las concentraciones caen en febrero y se mantienen a niveles casi iguales hasta junio a diferencia de los ejemplares en cautiverio, en los que los promedios son más altos entre febrero y mayo. Este efecto se debe a las diferencias entre ambas condiciones, algo

que también se observe en las hembras. Una justificación de esta situación, puede ser debida a que en cautiverio los animales reciben alimento continuamente (Valentine Lance, comunicación personal, 2002) y en estado silvestre los animales se ven limitados, hasta cierto punto, por el alimento y se mantienen más activos, debido a la práctica de caza. Cabe señalar que en la Manzanilla, la alimentación de los ejemplares silvestres es una práctica común por los pescadores, gente local y turistas.

Se puede observar que los patrones reproductivos entre HVS son diferentes a las de cautiverio, pues las concentraciones en febrero son bajas en los dos casos, pero en estado silvestre existe una diferencia de marzo con el mes de mayo, éste último un mes, posterior a la postura, observándose una clara disminución de las concentraciones ($P < 0.05$), después de la postura (fines de abril, principios de mayo). En cautiverio las concentraciones disminuyen en abril ($P > 0.05$), durante la postura y son similares a las de febrero y presentan una diferencia con mayo, éste último mes con concentraciones similares a marzo. Los resultados muestran que el Estradiol de hembras en ambas condiciones disminuye durante la postura. Aún cuando las concentraciones de Estradiol de hembras en cautiverio durante el mes de marzo, no son las concentraciones más altas reportadas, los valores tienen relación con el pico de la temporada de cópula (marzo), cuando se notó mayor agresividad entre los machos.

En el caso de las hembras en estado silvestre, es importante señalar que el número de muestras es muy pequeño, de tal forma que los valores pueden que no sean los valores promedios de la población, ya que en machos se obtuvieron diferencias significativas entre vida silvestre y cautiverio, lo que se podría esperar en las hembras (Figura 2). Según la observación de la temporada pico de postura indican un desfase del ciclo reproductivo de más de una semana, lo que se observa en el pico máximo de la temporada de

postura, mediados de abril en cautiverio y fines de abril y principios de mayo en estado silvestre.

Cuadro I.- Comparación de las concentraciones mensuales de Testosterona, Estradiol. MVS = Machos en estado silvestre; MC = Machos en cautiverio; HVS = Hembras en estado silvestre; HC = Hembras en cautiverio. Testo = Testosterona; Estra = Estradiol. DE = Desviación estándar; EE = Error estándar; 1 = Enero; 2 = Febrero; 3 = Marzo; 4 = Abril; 5 = Mayo; 6 = Junio. LT = Longitud total. Nd = valores no detectables.

Origen	Hormona	Mes	N	Media	DE	EE	Mín	Máx	LT Media	LT Mín	LT Máx
MVS	Testo	1	11	9.41	16.93	5.10	nd	54.32	325.32	200.00	395.50
MVS	Testo	2	13	1.25	3.58	0.99	nd	13.11	300.85	239.00	367.00
MVS	Testo	3	7	0.18	0.30	0.11	nd	0.83	325.71	259.00	366.00
MVS	Testo	4	9	0.63	1.32	0.44	nd	4.02	308.63	214.00	444.70
MVS	Testo	5	7	0.86	1.55	0.58	nd	4.12	299.31	214.00	444.70
MVS	Testo	6	8	0.96	1.72	0.61	nd	4.82	313.25	215.00	370.00
MC	Testo	1	6	16.22	16.52	6.74	nd	45.9	287.83	253.00	340.00
MC	Testo	2	5	14.64	15.40	6.88	0.11	35.00	269.10	248.50	295.00
MC	Testo	3	5	4.43	5.45	2.44	0.03	10.70	268.20	240.00	308.00
MC	Testo	4	5	5.15	4.94	2.21	0.56	10.60	279.30	269.00	296.00
MC	Testo	5	5	2.87	3.95	1.77	0.08	8.55	280.00	240.00	309.00
MC	Testo	6	5	1.25	2.13	0.95	0.05	5.04	285.40	266.00	310.00
HVS	Estra	2	2	92.50	53.03	37.50	55.00	130.00	253.00	196.00	310.00
HVS	Estra	3	2	152.50	24.74	17.50	135.00	170.00	311.50	306.00	317.00
HVS	Estra	5	4	46.25	17.01	8.50	25.00	60.00	269.38	198.00	297.00
HC	Estra	1	5	95.00	47.16	21.09	20.00	150.00	259.00	248.00	273.00
HC	Estra	2	5	70.03	86.93	38.87	nd	210.00	246.60	220.00	267.00
HC	Estra	3	5	72.00	42.51	19.01	30.00	135.00	238.80	227.00	268.00
HC	Estra	4	5	29.00	16.73	7.48	0.00	40.00	242.00	225.50	272.50
HC	Estra	5	5	78.00	48.03	21.48	30.00	135.00	253.00	242.00	269.00
HC	Estra	6	5	72.00	52.51	23.48	nd	135.00	247.00	225.00	268.00

Cuadro II. Promedios, desviaciones estándar, error estándar, máximos y mínimos de las concentraciones de Corticosterona de *Crocodylus acutus* en estado silvestre y cautiverio. MVS = Machos en estado silvestre; MC = Machos en cautiverio; HVS = Hembras en estado silvestre; HC = Hembras en cautiverio. DE = Desviación estándar; EE = Error estándar; 1 = Enero; 2 = Febrero; 3 = Marzo; 4 = Abril; 5 = Mayo; 6 = Junio.

SexLoc	Mes	n	Media	DE	EE	Mín	Máx	LTMedia	LTMín	LTMáx
MVS	1	10	8.06	3.9785	1.2581	4.86	15.6	325.32	200.00	395.50
MVS	2	13	5.61	2.6666	0.7396	2.08	12.3	300.85	239.00	367.00
MVS	3	7	7.22	2.3357	0.8828	3.55	10.14	325.71	259.00	366.00
MVS	4	9	6.27	2.9185	0.9728	2.33	11.45	308.63	214.00	444.70
MVS	5	7	4.18	1.7678	0.6682	2.11	6.69	299.31	214.00	444.70
MVS	6	8	6.89	6.2794	2.2201	1.55	17.78	313.25	215.00	370.00
MC	1	6	12.92	9.3596	3.8210	4.06	28.82	287.83	253.00	340.00
MC	2	5	23.54	9.8268	4.3947	12.62	31.01	269.10	248.50	295.00
MC	3	5	17.47	7.4644	3.3382	6.87	25.29	268.20	240.00	308.00
MC	4	5	20.98	18.0611	8.0772	7.12	45.71	279.30	269.00	296.00
MC	5	5	19.94	9.3293	4.1722	6.77	29.91	280.00	240.00	309.00
MC	6	5	12.45	9.6224	4.3033	3.07	27.13	285.40	266.00	310.00
HVS	2	2	3.36	1.8738	1.3250	2.03	4.68	253.00	196.00	310.00
HVS	3	2	5.20	1.1172	0.7900	4.41	5.99	311.50	306.00	317.00
HVS	5	4	2.99	1.0448	0.5224	2.29	4.54	269.38	198.00	297.00
HC	1	5	14.87	9.1743	4.1029	5.28	25.95	259.00	248.00	273.00
HC	2	5	20.33	15.1594	6.7795	5.74	45.72	246.60	220.00	267.00
HC	3	5	41.22	12.9410	5.7874	22.3	58.17	238.80	227.00	268.00
HC	4	5	17.62	13.1515	5.8815	0.41	33.15	242.00	225.50	272.50
HC	5	5	25.90	6.1670	2.7580	15.82	30.51	253.00	242.00	269.00
HC	6	5	16.36	7.1982	3.2191	7.7	23.68	247.00	225.00	268.00

Relación del estrés y el ciclo reproductivo

El tiempo de estrés entre machos y hembras en cautiverio y vida silvestre es igual estadísticamente ($P > 0.05$), con excepción de los machos en estado silvestre, que presentan tiempo de estrés mayor a los machos y hembras en cautiverio ($P < 0.05$) (Figura 8).

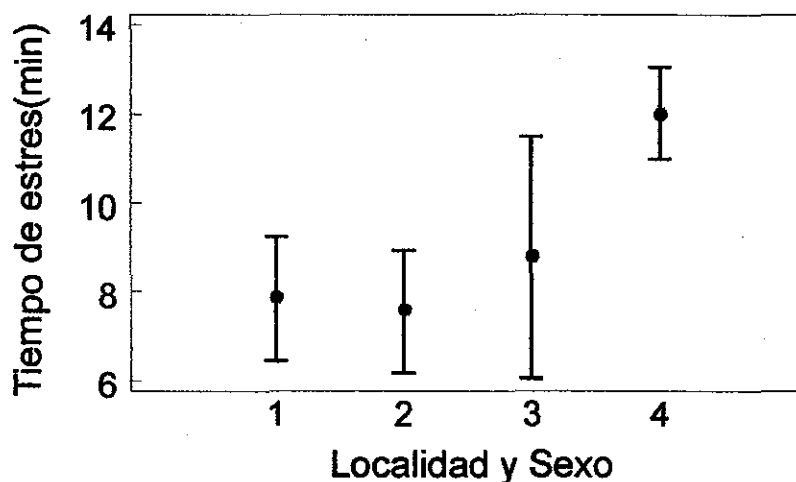


Figura 8. Tiempos de estrés (captura) en machos y hembras en estado silvestre y cautiverio. Medias y desviación estándar. Tiempo de estrés (Tiempo de captura en minutos). 1.- Hembras en Cautiverio; 2.- Machos en cautiverio; 3.- Hembras en vida silvestre; 4.- Machos en estado silvestre.

El análisis de la Corticosterona entre machos y hembras en estado silvestre y cautiverio, mostró que la hormona de estrés presentó concentraciones mucho mayores en cautiverio que en estado silvestre ($P < 0.05$) (Figura 9), lo que muestra que el estrés es mucho mayor en machos y hembras en cautiverio que en estado silvestre, sin embargo, no se detectó diferencia entre machos y hembras en cada sitio ($P > 0.05$).

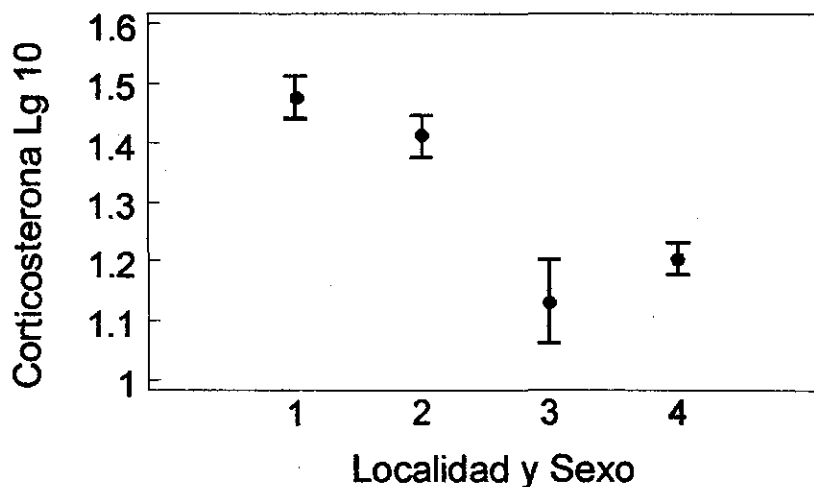


Figura 9. Concentraciones de Corticosterona en machos y hembras en estado silvestre y cautiverio. Medias y desviación estándar. **Corticosterona Lg 10** = $\text{Log}(Y+10)$, Y = Corticosterona; **localidad y sexo**; hembras en cautiverio (1); = machos en cautiverio (2); = hembras en estado silvestre (3) = machos en estado silvestre (4).

Entre los machos en estado silvestre y cautiverio, las concentraciones mensuales de Corticosterona no muestran un patrón claro del ciclo reproductivo, además de no haber diferencia notoria entre las concentraciones mensuales ($P > 0.05$), con excepción de los MVS. En cautiverio, los meses con valores más bajos de las concentraciones de Corticosterona son en enero y junio, previo al inicio de la cópula en la temporada fría y posterior a la cópula en la temporada cálida (Figura 10). No se detectó diferencia significativa entre meses. Las concentraciones de Corticosterona de MVS, fueron más elevadas en enero y marzo que mayo, éste último mes con las concentraciones de Corticosterona más bajas registradas ($P < 0.05$) (Figura 11). Esto muestra que el estrés disminuye después de la cópula en MVS y coincide con las más altas concentraciones de Testosterona al principio del ciclo. La diferencia entre vida silvestre y cautiverio puede ser debida a que en estado silvestre, el estrés en el mes de enero y marzo es significativamente más alto que mayo, además corresponde con las mayores concentraciones de Testosterona en el mes de enero (Figura 4), lo que difiere completamente de cautiverio. Además en los machos en cautiverio, las menores concentraciones de la hormona de estrés

son previas y posteriores (enero y junio) a la cópula y en estado silvestre son mayores previo y durante la cópula, disminuyendo posterior a esta, lo cual podría indicar una ligera relación con el ciclo reproductivo de MVS.

Con relación a la Corticosterona, se observan patrones similares en las HVS y HC, siendo marzo, durante la temporada de cópula cuando las hembras en ambos casos, muestran el pico máximo en las concentraciones mensuales ($P < 0.05$). En cautiverio, marzo presentó concentraciones mayores que enero, febrero, marzo y junio ($P < 0.05$). Con esto se hace notar la relación de la Corticosterona con el ciclo reproductivo de HC, siendo marzo (cópula) cuando presentan mayor estrés (Figura 12). Las HVS también presentan relación con el ciclo reproductivo, siendo marzo cuando se observan las mayores concentraciones, mes en que los valores son más altos que mayo ($P > 0.05$) (Figura 13).

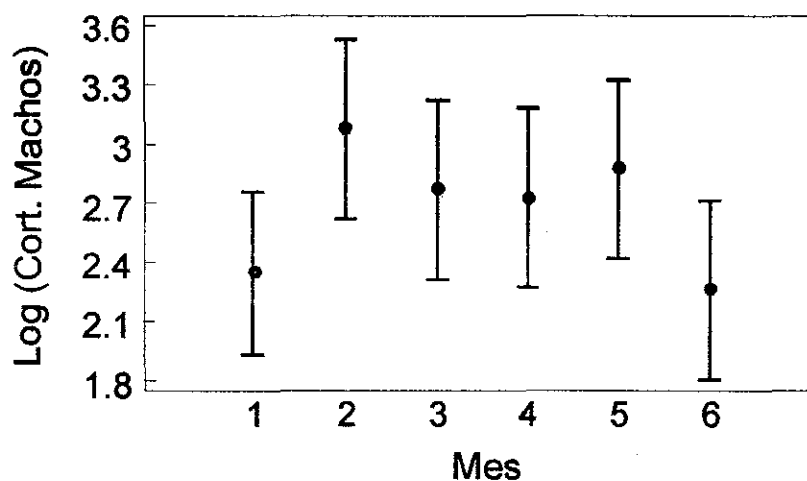


Figura 10. Concentraciones mensuales de Corticosterona de machos en cautiverio durante la temporada reproductiva. Medias y desviación estándar. LogCort Machos = $\text{Log}(Y)$; Y = Corticosterona. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio.

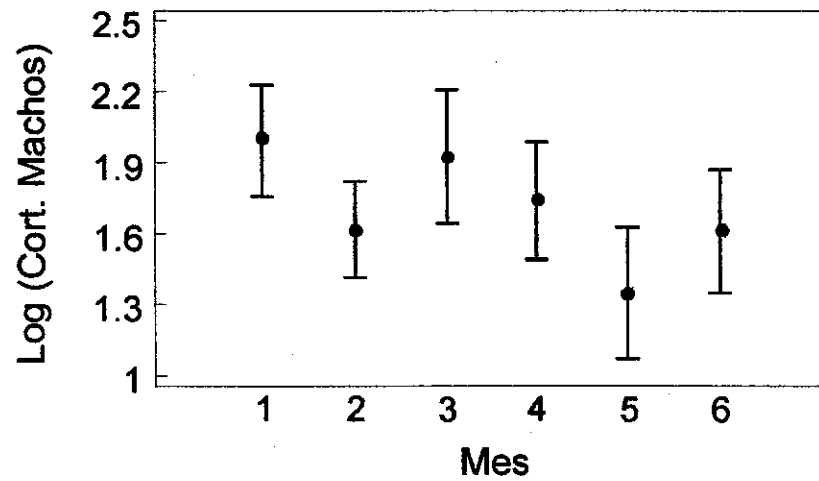


Figura 11. Concentraciones mensuales de Corticosterona de machos en estado silvestre durante la temporada reproductiva. Medias y desviación estándar.. **Log Cort Machos** = $\text{Log}(Y)$; Y = Corticosterona. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio.

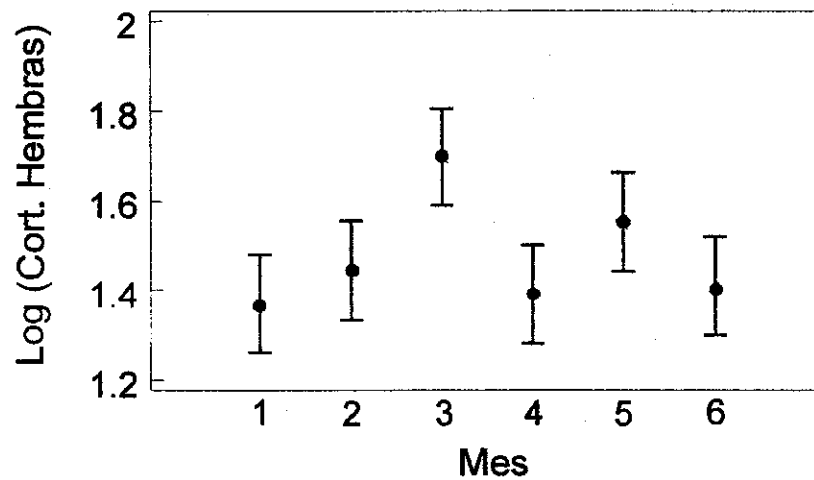


Figura 12. Concentraciones mensuales de Corticosterona de hembras en cautiverio durante la temporada reproductiva. Medias y desviación estándar.. **LogCort Hembras** = $\text{Log}(Y+10)$; Y = Corticosterona. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio.

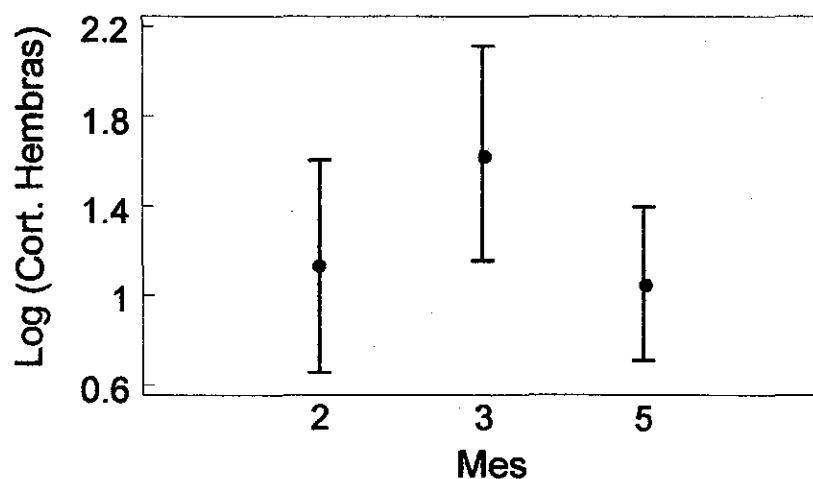


Figura 13. Concentraciones mensuales de Corticosterona de hembras en estado silvestre durante la temporada reproductiva. Medias y desviación estándar. $\text{LogCortFem} = \text{Log}(Y)$; $Y = \text{Corticosterona}$. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio.

Las regresiones lineales (tipo I) realizadas para determinar la relación de las hormonas sexuales (Estradiol y Testosterona) y la hormona de estrés (Corticosterona) en hembras y machos en estado silvestre y cautiverio, con el tiempo de estrés (captura) mostraron que no hay relación del Estradiol de hembras con el tiempo de estrés (tiempo de captura). En el caso de la Testosterona en cautiverio, ésta presentó una relación positiva ($P < 0.01$; $R^2 = 30.2953$) (Figura 14). También la Testosterona de machos en estado silvestre se vio incrementada por el tiempo de estrés ($P < 0.05$; $R^2 = 8.06079$) (Figura 15).

La Corticosterona de HC se ve disminuida con el incremento del tiempo de estrés ($P < 0.05$; $R^2 = 14.04$) (Figura 16). Las HVS no presentaron relación con el tiempo de estrés ($P > 0.05$; $R^2 = 28.9383$) ($\text{LogCortTransf} = 0.121148 + 0.0464867 \cdot \text{TEstrés}$). Los MVS presentaron relación con el tiempo de estrés ($P < 0.05$; $R^2 = 10.0547$) (Figura 17). Los machos en cautiverio no presentaron relación con el tiempo de estrés ($P > 0.05$; $R^2 = 6.86796$) ($\text{Log CortTransf} = 1.38568 - 0.0303801 \cdot \text{TEstrés}$).

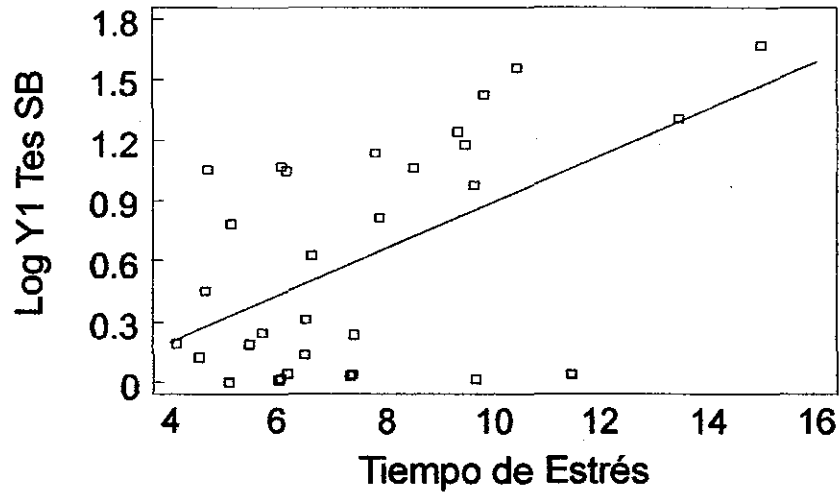


Figura 14. Relación de la Testosterona de Machos en cautiverio con el Tiempo de Estrés. $\text{LogY1TesSB} = \text{Log}(Y+1)$; $Y = \text{Testosterona}$. (Intercepto = -0.257949 ; pendiente = 0.115452 . ($P < 0.01$; $R^2 = 30.2953$). Tiempo de Estrés, expresado en minutos.

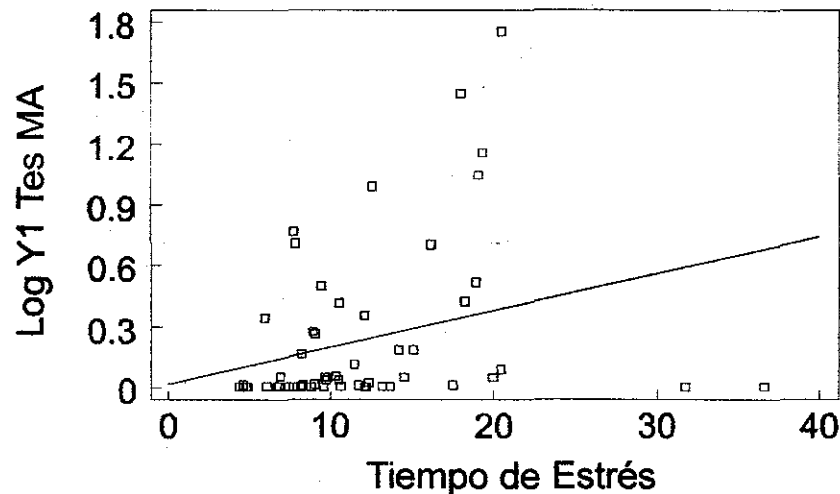


Figura 15. Relación de la Testosterona de Machos en estado silvestre con el Tiempo de Estrés (tiempo de captura). $\text{LogY1TesMA} = \text{Log}(Y+1)$; $Y = \text{Testosterona}$. (Intercepto = 0.0157965 ; Pendiente = 0.0180517 ; ($P < 0.05$; $R^2 = 8.06101$). Tiempo de Estrés, expresado en minutos.

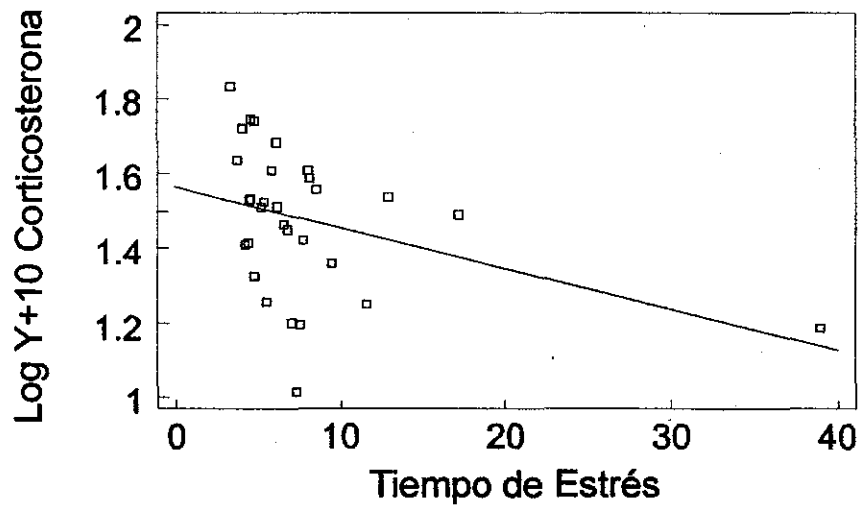


Figura 16.- Relación de la Corticosterona de hembras en cautiverio con el Tiempo de Estrés. $CortTrans = \text{Log}Y+10\text{Corticosterona} = \text{Log}(Y+1)$; $Y = \text{Corticosterona}$. ($\text{Log}Y+10\text{CortTransf} = 1.56165 - 0.010901*\text{Testrés}$); $\text{Testrés} = \text{Tiempo de estrés expresado en minutos}$.

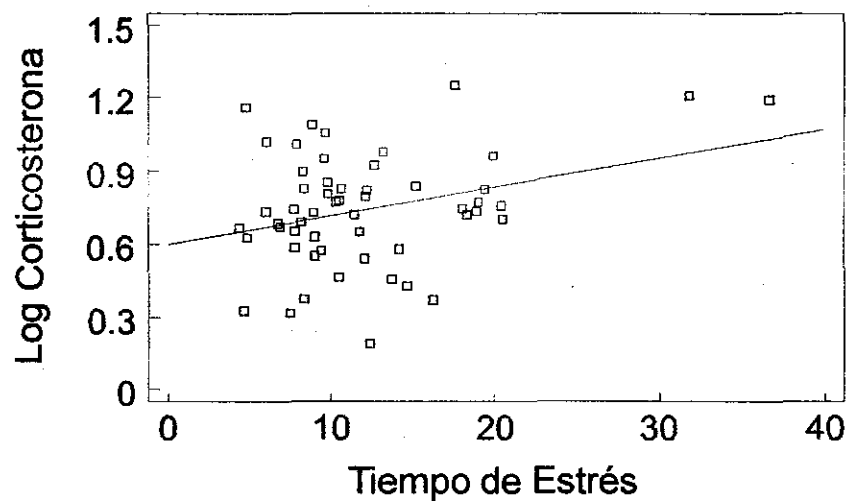


Figura 17. Relación de la Corticosterona de machos en estado silvestre con el Tiempo de Estrés. $\text{Log Corticosterona} = \text{Log} Y = \text{Corticosterona}$. ($\text{LogCortTransf} = 0.600131 + 0.0118513*\text{Testrés}$); $\text{Testrés} = \text{Tiempo de estrés expresado en minutos}$.

Relación de la talla con las concentraciones hormonales y talla mínima reproductiva

La longitud total de los MC no presentó relación con las concentraciones de Testosterona ($\text{LogTestosterona}(Y+1) = -0.992998 + 0.00577069*LT$; $P = 0.2060$; $R^2 = 5.45671$). En estado silvestre, la Testosterona de machos si presentó relación con la longitud total (LT) ($P < 0.01$; $R^2 = 13.9835$) (Figura 18). Se realizó una regresión de la Testosterona y la LT en el mes de enero, para conocer cuales son los valores promedio en un ejemplar en la talla mínima reproductiva (2.8 m) (Thorbjarnarson, 1989) ($\text{LogTestosterona}(Y+1) = -1.8028 + 0.00725969*LT$) y se estima que el promedio de Testosterona en el mes de enero (mes con mayores concentraciones. Figura 4) para los MVS es de 3.72 nanogramos/ml. El Estradiol de HC no presentó relación con la longitud total ($\text{LogEstradiol}(Y+1) = -0.0250599 + 0.00660543*LT$; ($P = 0.3642$; $R^2 = 2.94956$), al igual que las HVS ($\text{LogEstradiol} = 1.32444 + 0.00189255*LT$) ($P = 0.4320$; $R^2 = 10.5701$).

La Corticosterona de MC disminuyó conforme aumentó el tamaño ($P < 0.05$; $R^2 = 16.228$) (Figura 19). En el caso de MVS no existió ninguna relación de la longitud total en relación con la Corticosterona ($\text{LogCorticosteronaMVS} = 0.739871 + 0.0000118376*LT$) ($P = 0.9842$; $R^2 = 0.000763993$). La Corticosterona de HC disminuye conforme aumenta la talla ($P = .0006$; $R^2 = 34.8042$) (Figura 20). Las HVS mostraron un aumento de la Corticosterona según el aumento en talla ($P < 0.05$; $R^2 = 52.0774$) (Figura 21).

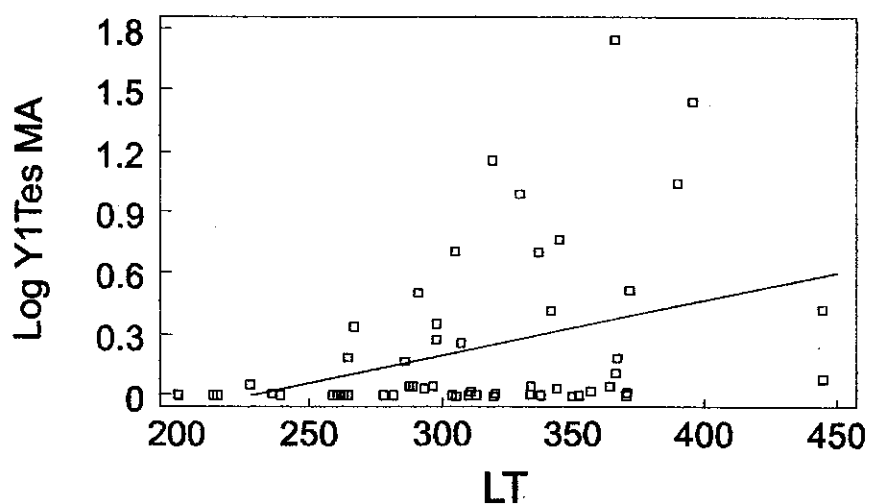


Figura 18. Relación de la Testosterona de machos en estado silvestre con la longitud total (LT). $\text{LogY1TesMA} = \text{Log}(Y+1)$; $Y = \text{Testosterona}$. (Intercepto = -0.615527; Pendiente = 0.00272007; ($P < 0.01$; $R^2 = 13.9835$)). LT = expresada en centímetros.

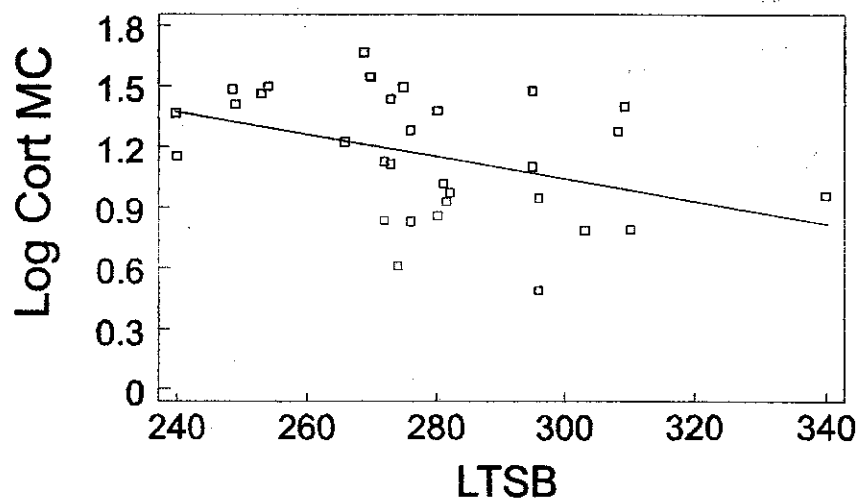


Figura 19. Relación de la Corticosterona de machos en cautiverio con la longitud total (LT). (Intercepto = 2.68841; Pendiente = -0.00550003; ($P < 0.05$; $R^2 = 16.228$)). LT = expresada en centímetros.

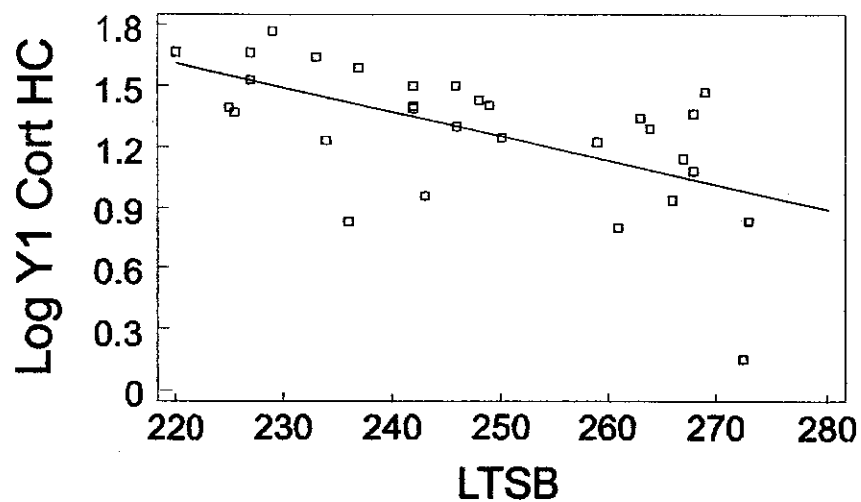


Figura 20. Relación de la Corticosterona de hembras en cautiverio con la longitud total (LT). (Intercepto = 4.26544; Pendiente = -0.0120465; (P = .0006; $R^2 = 34.8042$). LT = expresada en centímetros.

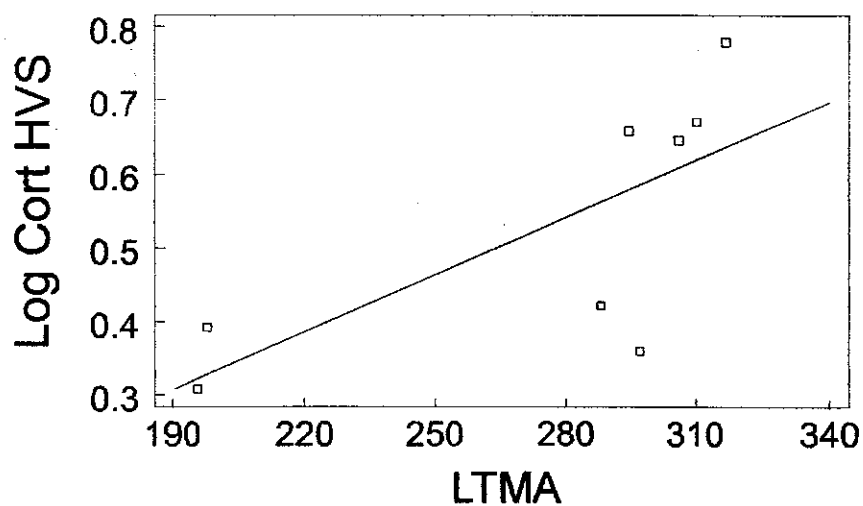


Figura 21. Relación de la Corticosterona de hembras en estado silvestre con la longitud total (LT). (Intercepto = -0.181759; Pendiente = 0.00257722; (P < 0.05; $R^2 = 52.0774$). LT = expresada en centímetros.

Relación de las hormonas sexuales con la Corticosterona

La Testosterona de MC ($\text{Log}(Y+1)\text{Testosterona} = 1.39078 - 0.635596 * \text{Log}(Y+1)\text{Corticosterona}$) ($P = 0.0760$; $R^2 = 10.8146$) no presentó una relación significativa con la Corticosterona, así como en los MVS ($\text{Log}(Y+1)\text{Testosterona} = 0.385705 - 0.180692 * \text{Log}(Y+1)\text{Corticosterona}$) ($P = 0.5239$; $R^2 = 0.7855$). El Estradiol de HC no presentó relación con la Corticosterona ($\text{Log}(Y+1)\text{Estradiol} = 1.7377 + 0.0397736 * \text{Log}(Y+1)\text{Corticosterona}$) ($P = 0.8727$; $R^2 = 0.104755$). Sólo el Estradiol de las HVS presentó una relación significativa con la Corticosterona ($P < 0.05$; $R^2 = 61.4181$), lo que indica una relación directa de la Corticosterona con el ciclo reproductivo (Figura 22).

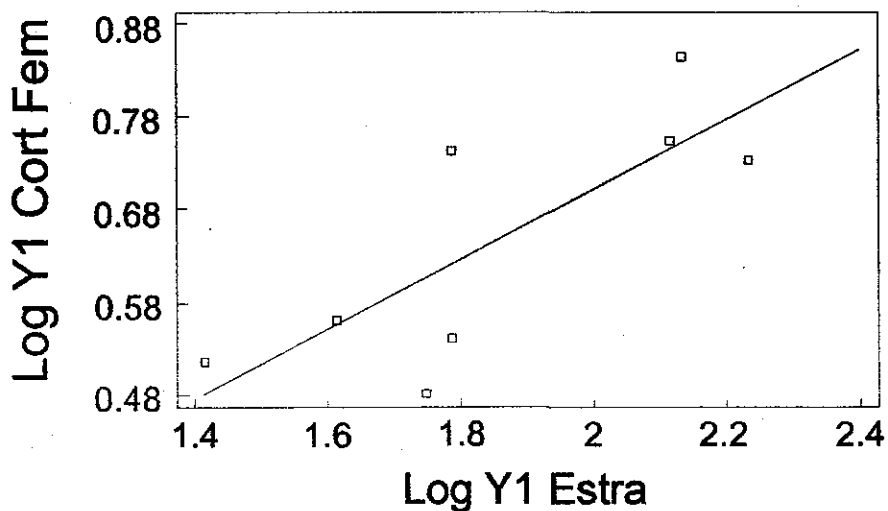


Figura 22. Relación de la Corticosterona con el Estradiol de hembras en estado silvestre. (Intercepto = -0.0512887 ; Pendiente = 0.376737 ; ($P < 0.05$; $R^2 = 61.4181$). LT = expresada en centímetros.

Relación de la temperatura de la cloaca con el apareamiento.

Los resultados indican que la temperatura de la cloaca de MC es más elevada que las HC y MVS ($P < 0.05$) (Figura 23). Los machos en cautiverio no presentaron ninguna relación con la temporada de apareamiento (Figura 24). La temperatura de la cloaca de los MVS presentó una relación directa con la temporada de apareamiento (marzo), cuando disminuye drásticamente la temperatura de la cloaca (corporal $P < 0.05$), lo que indica que debido a los despliegues sexuales y la cópula, los MVS permanecen más tiempo en el agua, por lo que el comportamiento de termorregulación se ve comprometido, disminuyendo la temperatura corporal durante el apareamiento (Figura 25). Las HC tampoco presentan una relación con la temporada de apareamiento (Figura 26), por lo que se considera que ocurre el mismo efecto que en los machos, la temperatura del agua (alta) evita que la temperatura corporal descienda durante el apareamiento. Las HVS al igual que los MVS tienen una relación con la temporada de apareamiento, ya que la temperatura corporal en marzo es menor que mayo ($P < 0.05$) (Figura 27). En las Figuras 28a,b,c se puede observar los promedios mensuales de temperatura de la cloaca, temperatura del aire y agua. Los promedios de la temperatura del aire son menores que los de la temperatura de la cloaca y la temperatura del aire en MVS y HVS (Figuras 28 a y b). Al principio del ciclo reproductivo se puede observar que la temperatura corporal es mayor que la temperatura del aire y agua, pero solamente coincide en marzo con la temperatura del agua en los MVS y HVS y se estabiliza en abril, mayo y junio en los MVS, en los que coincide con la temperatura del aire en junio, y se observa que al aumentar la temperatura del agua, los MVS prefieren termorregular con la temperatura del aire. En las HVS ocurre algo similar, pero estas termorregulan con la temperatura del agua, al menos en marzo (cópula y en mayo). En cautiverio se observó que la temperatura del agua fue mucho más elevada que la de la cloaca y aire. La temperatura corporal de MC fue mas elevada que la de las HC, pero en mayo coincidieron las dos temperaturas corporales, lo que indica que en esta etapa se alcanzó la

temperatura corporal óptima, algo que se detectó en MVS. En general la temperatura corporal al principio del ciclo reproductivo, en la temporada fría, se mantuvo más elevada que la temperatura del agua en MVS y HVS y más elevada que la temperatura del aire en MC y HC y se elevó en los cuatro casos, conforme avanzó el ciclo reproductivo y según aumenta la temperatura del aire y agua, según el caso, para mantenerse a menos de 30 °C en la temporada cálida, lo cual es regulado por el comportamiento de termorregulación utilizando la temperatura del aire.

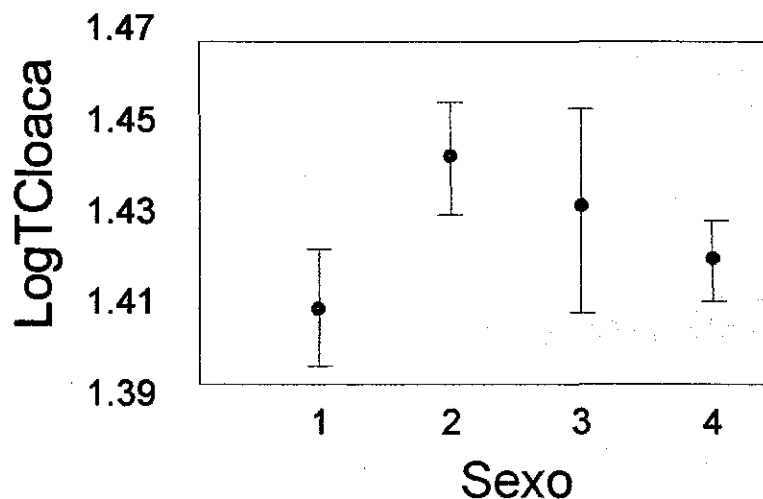


Figura 23. Comparación de la temperatura corporal (cloaca) de machos y hembras en estado silvestre y cautiverio. $\text{LogTCloaca} = \text{Log}(Y)$; Y = Temperatura de la cloaca. 1.- Hembras en cautiverio, 2.- Machos en cautiverio, 3.- Hembras en estado silvestre, 4.- Machos en estado silvestre. Medias y desviaciones estándar.

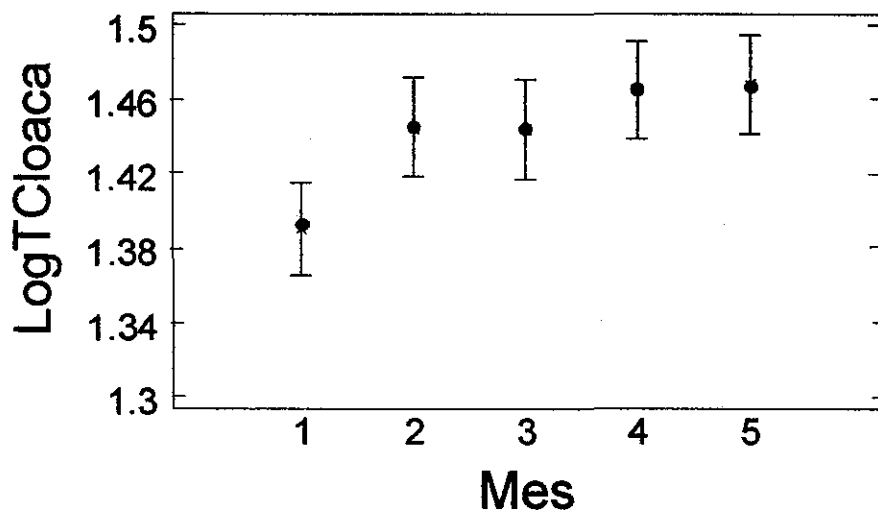


Figura 24. Temperatura de la cloaca de machos en cautiverio durante la temporada reproductiva. $\text{LogTCloaca} = \text{Log}(Y)$; Y = Temperatura de la cloaca. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo. Medias y desviaciones estándar.

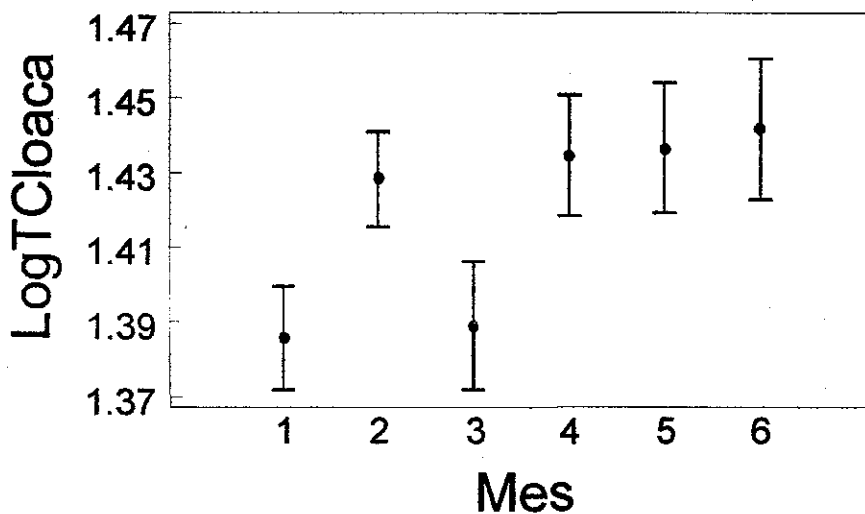


Figura 25. Temperatura de la cloaca de machos en estado silvestre durante la temporada reproductiva. $\text{LogTCloaca} = \text{Log}(Y)$; Y = Temperatura de la cloaca. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo, 6.- Junio. Medias y desviaciones estándar.

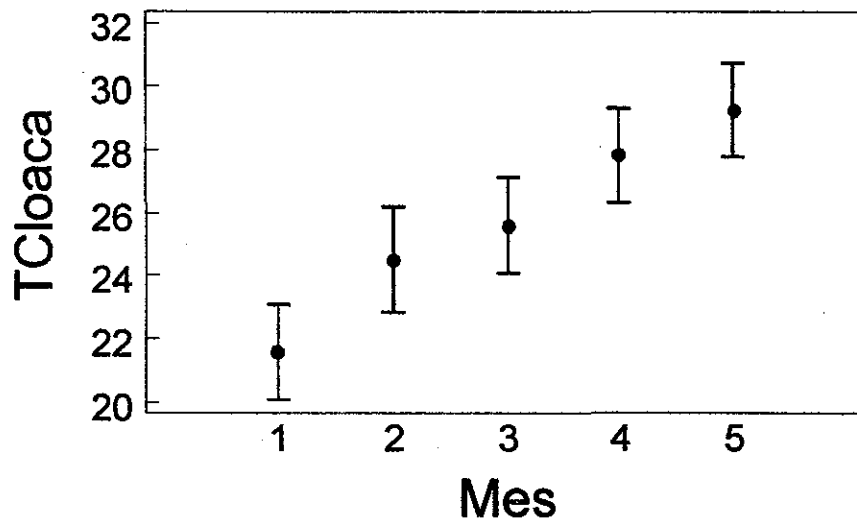


Figura 26. Temperatura de la cloaca de hembras en cautiverio durante la temporada reproductiva. Tcloaca = Temperatura de la cloaca. 1.- Enero, 2.- Febrero, 3.- Marzo, 4.- Abril, 5.- Mayo. Medias y desviaciones estándar.

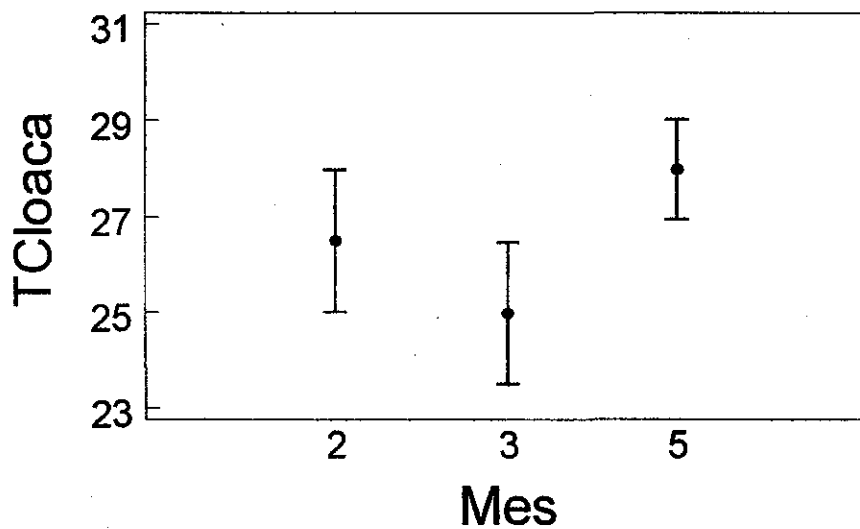


Figura 27. Temperatura de la cloaca de hembras en estado silvestre durante la temporada reproductiva. Tcloaca = Temperatura de la cloaca. 2.- Febrero, 3.- Marzo, 5.- Mayo. Medias y desviaciones estándar.

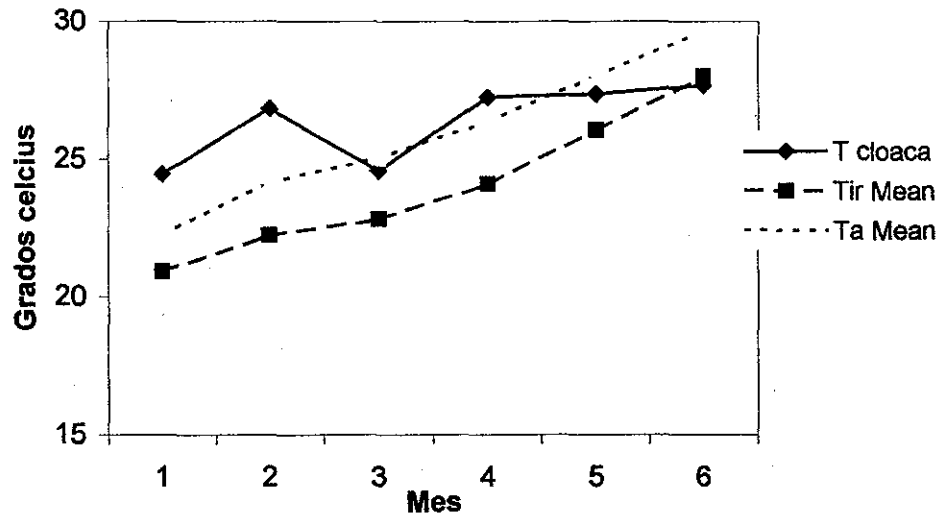


Figura 28a.- Medias mensuales de la temperatura de cloaca, ($^{\circ}\text{C}$) = (T cloaca); aire (Tir Mean) y agua (Ta Mean) de machos de *C. acutus* en estado silvestre durante el ciclo reproductivo. 1 = Enero; 2 = Febrero; 3 = Marzo; 4 = Abril; 5 = Mayo; 6 = Junio.

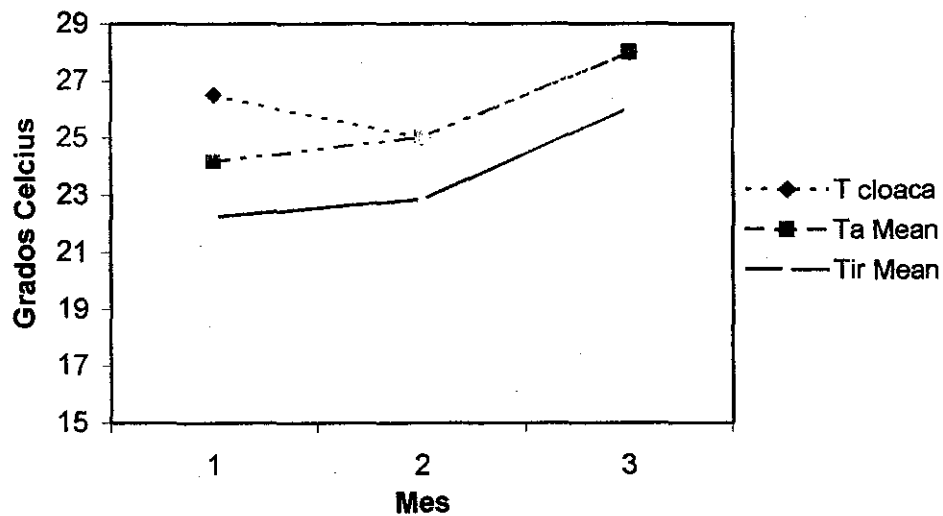


Figura 28b.- Medias mensuales de la temperatura de cloaca, ($^{\circ}\text{C}$) = (T cloaca); aire (Tir Mean) y agua (Ta Mean) de hembras de *C. acutus* en estado silvestre durante el ciclo reproductivo. 1 = Febrero; 2 = Marzo; 3 = Mayo.

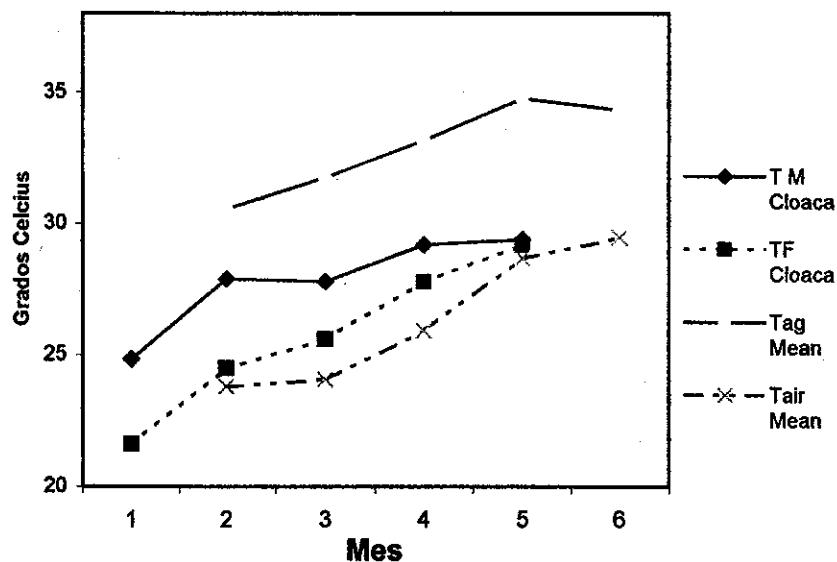


Figura 28c.- Medias mensuales de la temperatura de cloaca ($^{\circ}\text{C}$) = (T Cloaca) de machos (TM Cloaca) y hembras (TF Cloaca) de *C. acutus* en cautiverio durante el ciclo reproductivo. Tag Mean = Temperatura media del agua; Tair Mean = Temperatura media del aire. 1-6 = Enero-Junio.

Relación de la temperatura de cloaca y longitud total

Se analizó la relación de la temperatura de la cloaca y la longitud total por medio de regresión lineal. Sólo los MVS presentaron una relación significativa inversa (Figura 29).

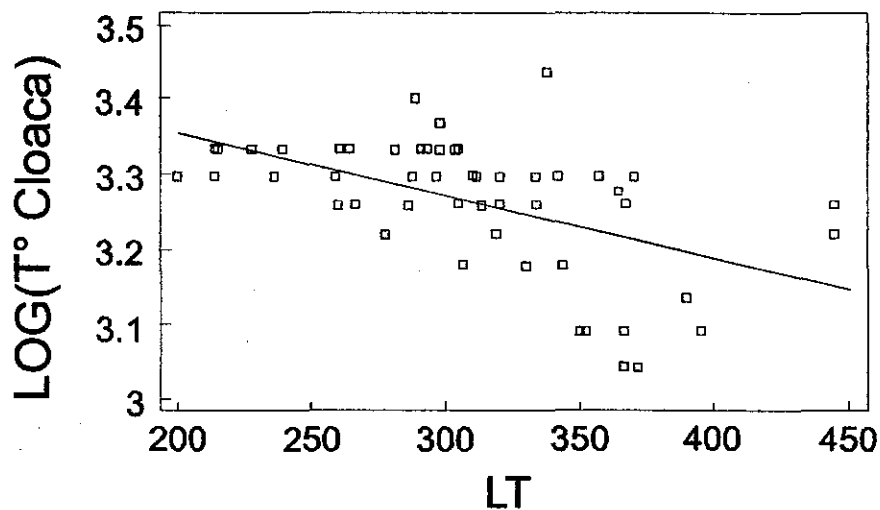


Figura 29. Relación de la temperatura corporal y la longitud total de machos en estado silvestre. $\text{LOG}(T^\circ \text{ Cloaca}) = 3.52095 - 0.000828936 \cdot \text{LT}$ ($R^2 = 27.0757$; $P = 0.0001$). LT = Longitud total (en centímetros).

Relación de las concentraciones hormonales y la temperatura de la cloaca.

La Testosterona de MC disminuye conforme aumenta la temperatura corporal ($R^2 = 40.479$; $P = 0.0005$). (Figura 30), así como en los MVS ($R^2 = 24.5403$; $P = 0.0002$). (Figura 31). Las HC no presentaron relación entre el Estradiol y la temperatura de la cloaca y en las HVS los niveles de Estradiol disminuyen según el aumento de la temperatura corporal ($R^2 = 61.3933$; $P = 0.0214$) (Figura 32). La Corticosterona de HVS no presentó relación con la temperatura corporal, así como las HC. En los MC se observa un incremento de la hormona de estrés con el aumento de temperatura ($R^2 = 32.8203$; $P = 0.0003$) (Figura 33). En los MVS no se observó relación entre la hormona de estrés y la temperatura de la cloaca.

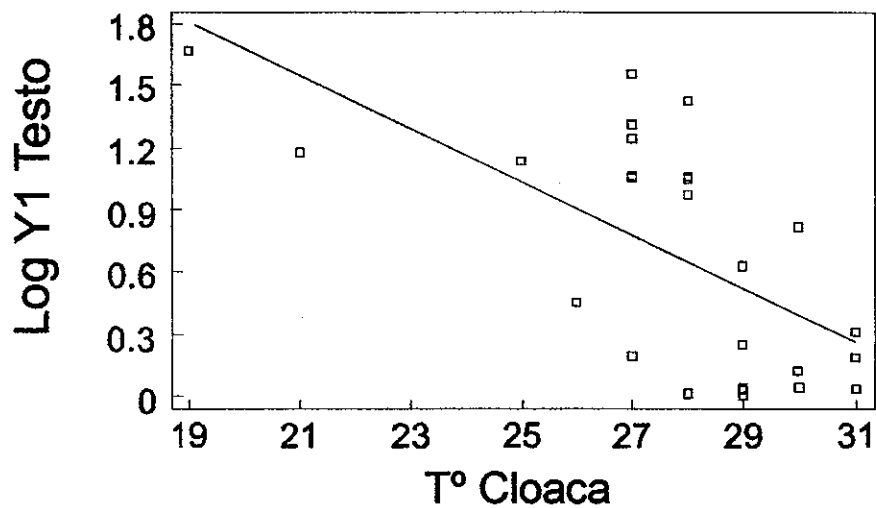


Figura 30. Relación de la temperatura corporal y la concentración de Testosterona de machos en cautiverio. $\text{LogY+1Testosterona} = 4.25931 - 0.12883 \cdot T \text{ Cloaca}$ ($R^2 = 40.479$; $P = 0.0005$).

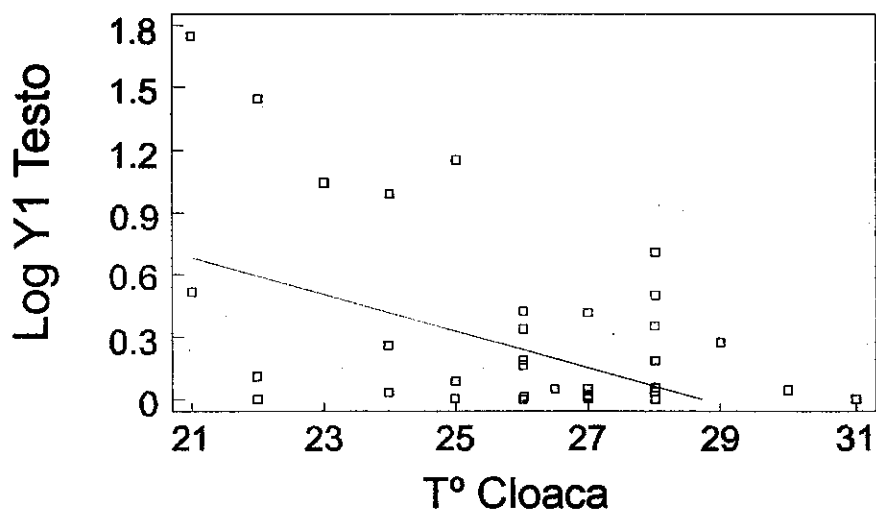


Figura 31. Relación de la temperatura corporal y la concentración de Testosterona de machos en estado silvestre. ($\text{LogY+1Testosterona} = 2.53442 - 0.0882288 \cdot T \text{ Cloaca}$ ($R^2 = 24.5403$; $P = 0.0002$).

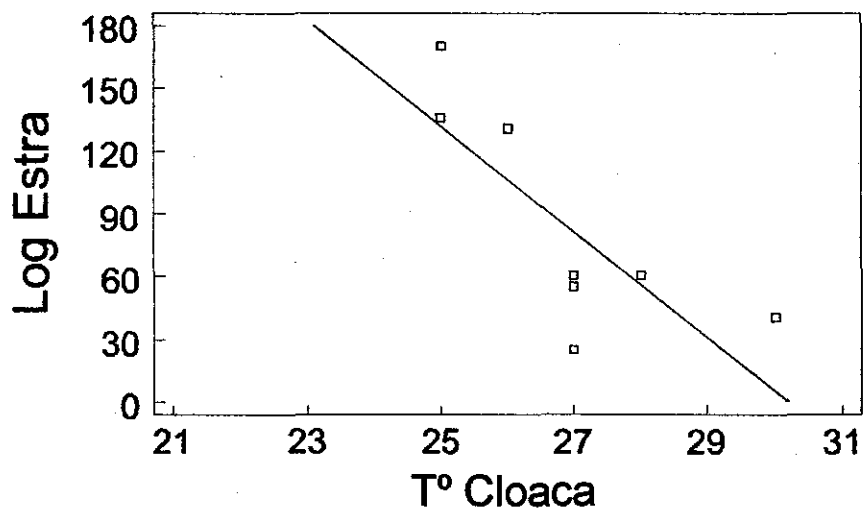


Figura 32. Relación de la temperatura corporal y la concentración de Estradiol hembras en estado silvestre. ($\text{LogEstradiol} = 761.589 - 25.1987 \cdot T \text{ Cloaca}$ ($R^2 = 61.3933$; $P = 0.0214$).

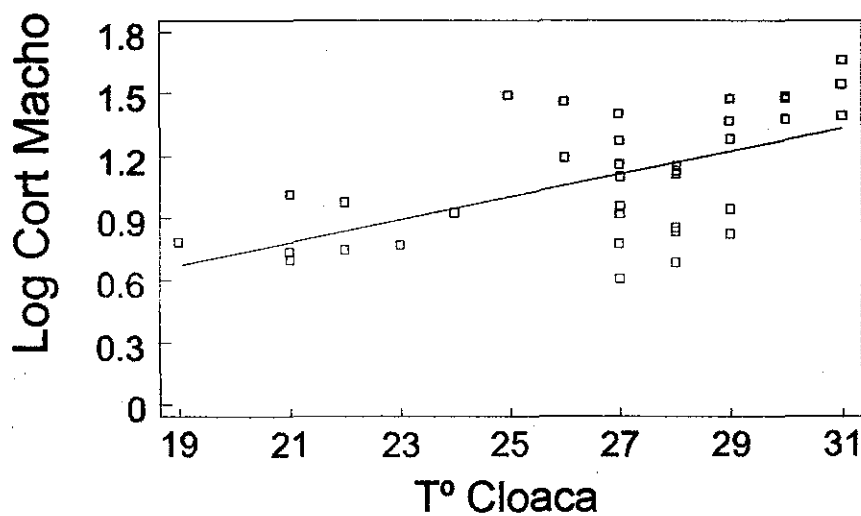


Figura 33. Relación de la temperatura corporal y la concentración de la Corticosterona en machos en cautiverio. ($\text{LogCorticosterona} = -0.342477 + 0.0539817 \cdot T \text{ Cloaca}$; $R^2 = 32.8203$; $P = 0.0003$).

Influencia de los parámetros físicos del ambiente en las concentraciones mensuales de las hormonas reproductivas y de estrés, durante el ciclo reproductivo.

La ordenación Bray-Curtis realizada para los machos en estado silvestre reveló, que el primer eje de la ordenación explica el 70.65% de la variación total, el segundo eje explica el 17.59% y el tercer eje el 9.73%. Nótese que la variación acumulada y explicada por los tres ejes es de casi el 100% (97.96%) (Cuadro III), lo que comprueba que los resultados del análisis son robustos. Los resultados de la ordenación para los machos en cautiverio, muestran que el primer eje explica el 70.92 %, el segundo eje el 22.53% y el tercer eje el 3.82%. El total acumulado de los tres ejes explica cerca del 100% (97.26%) (Cuadro IV).

Los resultados de la ordenación para las hembras en estado silvestre mostraron que el primer eje explicó el 98.40 %, el segundo eje el 1.46 % y el tercer eje el 0.13 %, por lo que el primer eje explica cerca del 100% de la variación (Cuadro V). Para las hembras en cautiverio, los resultados muestran que el primer eje explica el 66.85% de la variación, el segundo eje el 28.13% y el tercer eje sólo el 2.69% (Cuadro VI).

Cuadro III. Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de los machos en estado silvestre (La Manzanilla, Jalisco), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.

Variación Explicada	Eje 1	Eje 2	Eje 3
% Extraído	70.65%	17.59%	9.73%
% Total acumulado	70.65%	88.24%	97.96%

Cuadro IV. Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de los machos en cautiverio (San Blas, Nayarit), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.

Variación Explicada	Eje 1	Eje 2	Eje 3
% Extraído	70.92%	22.53%	3.82%
% Total acumulado	70.92%	93.45%	97.26%

Cuadro V. Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de las hembras en estado silvestre (La Manzanilla, Jalisco), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.

Variación Explicada	Eje 1	Eje 2	Eje 3
% Extraído	98.40 %	1.46 %	0.13 %
% Total acumulado	70.65%	99.86%	99.98%

Cuadro VI. Resultados de la ordenación Bray-Curtis con los valores hormonales mensuales y los factores físicos del ambiente de las hembras en cautiverio (San Blas, Nayarit), durante el periodo más importante del ciclo reproductivo.

Variación Explicada	Eje 1	Eje 2	Eje 3
% Extraído	66.85%	28.13%	2.69%
% Total acumulado	66.85%	94.98%	97.67%

En los machos en estado silvestre, el primer eje de la ordenación correlacionó de manera positiva con el Tiempo de estrés (T estrés $R = 0.375$) (captura), de forma negativa con la temperatura media, mínima y máxima del agua y del aire (Ta Mean $r = -0.429$, Min $r = -0.469$ y Máx $r = -0.384$; T air Mean $r = -0.414$, Min $r = -0.421$ y Max $r = 0.361$), de forma negativa con los valores promedio de punto de rocío (DP Mean $r = -0.396$), de forma negativa con la irradianza promedio (Int Mean $r = -0.398$); en forma negativa con el promedio de la humedad absoluta y la máxima (Abs H Mean $r = -0.388$ y Max $r = -0.346$), en forma positiva con la oscilación del aire (temperatura del aire menos la temperatura del agua) (Oscila Aire $r = 0.385$), en forma positiva con el nivel del agua (Nivel agua $r = 0.404$) y en forma negativa con la temperatura del agua en el momento de la captura (T agua $r = -0.414$). El eje dos, no presenta correlación significativa con ningún factor físico (Cuadro VII), pero es importante señalar que la Corticosterona presenta una correlación con el eje dos (Cuadro XI). El eje tres, sólo presentó una correlación negativa con la diferencia agua-aire (temperatura del aire menos la temperatura del agua) (DifH2OAire $r = -0.403$) y la temperatura de la cloaca (T cloaca) (Cuadro VII).

Los resultados de la ordenación del eje uno, indican el aumento de los tres factores que tienen correlación positiva, influyen en el aumento de las concentraciones de Testosterona ($r = 0.356$. Cuadro XI) y Corticosterona ($r = 0.668$ Cuadro XI) de machos en estado silvestre respectivamente, con excepción del nivel del agua, que está expresado en forma inversa (ver métodos). Los factores que influyen en forma negativa, al aumentar su intensidad producen la disminución de ambas hormonas. En la Figura 34, se muestran dos grupos con mayor concentración de Corticostorena (elipse azul y elipse negro) y un grupo con mayor concentración de Testosterona (elipse rojo). Además se puede observar que en la Testosterona, las mayores concentraciones ocurren principalmente en el mes de enero (Figura 34) lo cual tiene correlación con los factores que influyen de manera positiva (estrés, oscilación del agua y el nivel del agua). Las mayores concentraciones de

Corticosterona se presentan de febrero a mayo (elipse negro) y de enero a mayo en el grupo del elipse azul. El eje tres muestra que las mayores concentraciones de Testosterona (enero y febrero) se ven influidas por una disminución de la diferencia entre la temperatura del agua y aire y una disminución de la temperatura de la cloaca, lo que corresponde con el aumento en los niveles mensuales de Testosterona de machos en estado silvestre (elipse azul, indica el grupo con mayor concentración de dicha hormona (Figura 35). Con respecto a la Corticosterona, se presentaron tres grupos con mayor concentración a grandes rasgos. El elipse rojo indica el grupo con mayor concentración de dicha hormona, el negro es el que le sigue en concentración, los que se ven influidos por el aumento de la temperatura de la cloaca y de la diferencia en las temperaturas del agua y el aire. En el tercer grupo (elipse azul) se ve incrementado por la disminución de los dos factores mencionados.

En los machos en cautiverio, el primer eje de la ordenación, resultado del análisis de los meses de febrero a mayo (de los que se tienen datos de temperatura de la cloaca) se correlacionó sólo con la temperatura de la cloaca al momento de captura (T_{cloaca} $r = -0.515$) y por el estrés producido por el tiempo de extracción (porcentaje explicado por el eje uno 77.52%) (Figura 36) (Cuadro VIII). La ordenación sin la temperatura de la cloaca, ni tiempo de extracción (datos febrero a junio), indica que, al igual que el análisis anterior (datos que incluyen muestras de febrero a mayo), ningún otro factor se correlaciona con el eje uno. Más sin embargo, el eje dos (datos febrero a junio) se correlacionó negativamente con el tiempo que pasaron las muestras en hielo, positivamente con la temperatura media y mínima del aire y ($T_{airMean}$ $r = 0.383$, $Min\ r = 0.430$), punto de rocío promedio, mínimo y máximo (DP_{Mean} $r = 0.397$, $Min\ r = 0.367$, $Max\ r = 0.373$), la intensidad promedio (irradianza) (Int_{Mean} $r = 0.360$), humedad absoluta promedio, mínima y máxima ($AbsH_{Mean}$ $r = 0.401$, $Min\ r = 0.388$, $Max\ r = 0.373$), voltaje promedio y mínimo ($Volt_{Mean}$ $r = 0.376$, $Min\ r = 0.391$), y de manera negativa con la diferencia entre al aire y agua ($DifH_2O_{Aire}$ $r = -0.394$) (Cuadro VIII) (Figura 37).

El eje tres (datos febrero a junio), se correlacionó de manera positiva con el tiempo de estrés (T estrés $r = 0.464$), de manera negativa con el promedio y el mínimo de la temperatura del agua (TaMean $r = -0.541$, Min $r = -0.577$), temperatura promedio y mínima del aire (Tair Mean $r = -0.443$, Min $r = -0.557$), de manera positiva con el la humedad relativa promedio y de manera negativa con la mínima (RH%Mean $r = 0.417$, Min $r = -0.492$). El punto de rocío promedio y mínimo (DPMean $r = -0.471$, Min $r = -0.621$), se correlacionó de manera negativa, así como la irradianza promedio (IntMean $r = -0.518$), humedad absoluta promedio y mínima (AbsHMean $r = -0.452$, Min $r = -0.601$), se correlacionó de manera positiva con el promedio de la humedad uncomp. (UnRH%Mean $r = 0.405$) y de manera negativa con la mínima (UnRH%Min $r = -0.518$), y con el voltaje promedio y mínimo (VoltMean $r = -0.506$, Min $r = -0.354$) (Cuadro VIII, Figura 36).

Para los machos en cautiverio, los resultados de la ordenación muestran que la temperatura de la cloaca es el factor principal que tiene influencia en la producción de Testosterona (datos febrero a mayo) (Cuadro VIII). La disminución de la temperatura de la cloaca produce un aumento en la producción de Testosterona (elipse azul grupo de mayor concentración (Figura 36) ($r = 0.525$, datos febrero-mayo). El tiempo de estrés durante la extracción de sangre influye pero de una manera muy ligera, debido a que sólo en dos ejemplares presentaron el mayor tiempo de extracción (círculos rojos), lo que coincide con las mayores concentraciones de Corticosterona (rectángulo rojo, grupo de mayor concentración) ($r = -.871$.) en ejemplares de febrero a mayo (Figura 36).

Por lo tanto, se nota claramente que el comportamiento de la Testosterona y Corticosterona son opuestos, según la influencia de la temperatura de la cloaca (Figura 36).

Por otra parte el análisis de los datos obtenidos de la ordenación, realizado con los datos que no incluyen la temperatura de la cloaca ni el tiempo de extracción (Figura 37), indican que los factores correlacionados con el eje dos, como la disminución de la temperatura del aire, la humedad expresada como humedad absoluta y punto de rocío, irradianza expresada como voltaje e intensidad, producen un incremento en las concentraciones de Testosterona y Corticosterona. Por otra parte el aumento en el tiempo que pasaron las muestras en hielo y las diferencias de temperatura entre el agua y el aire (temperatura del aire menos la del agua) influyen en el aumento de ambas hormonas. Al respecto es importante señalar que el tiempo que permanecieron las muestras en hielo no influye de manera significativa, según los resultados de este análisis específico. Por otra parte, cabe señalar que la influencia de la temperatura de la cloaca se hace notar separando ambos grupos (Figura 37; elipse azul mayores concentraciones de Testosterona y elipse rojo de Corticosterona respectivamente), efecto de la relación con el eje uno.

En las hembras en estado silvestre, el primer eje de ordenación correlacionó de manera positiva con la temperatura media, mínima y máxima del agua (Ta Mean $r = 0.696$, Min $r = 0.787$, Max $r = 0.526$), temperatura media, mínima y máxima del aire (T air $r = 0.720$, Mean, Min $r = 0.808$, Max $r = -0.647$), de manera negativa con el promedio de la humedad relativa media del ambiente (RH % Mean $r = -0.373$) y de manera positiva con el mínimo de la humedad relativa del ambiente (RH% Min $r = 0.621$), el promedio y el máximo del punto de rocío (DP Mean $r = 0.766$, Max $r = 0.670$), irradianza promedio (Int Mean $r = 0.489$), humedad absoluta promedio y máxima (Abs H Mean $r = 0.722$, Max $r = 0.705$), y de manera negativa con el promedio del porcentaje de humedad no compensada (Un RH% Mean $r = -0.371$), de forma positiva con el porcentaje mínimo de humedad mínimo (Un RH% Min $r = 0.596$), de manera negativa con el promedio del voltaje (Volt Mean $r = -0.735$), oscilación del agua (Oscila H2O $r = -0.599$), oscilación del aire (Oscila Aire $r = -0.837$), diferencia de temperatura entre el agua y el aire (DiferenH2O Aire $r = -0.724$) y el nivel de agua (Nivel

Agua $r = -0.702$), de manera positiva con la salinidad ($r = 0.551$), temperatura de la cloaca ($T_{cloaca} r = 0.729$), temperatura del agua y aire al momento de la captura ($T_{agua} r = 0.777$, $T_{air} r = 0.614$) y de manera negativa con el tiempo que duró la extracción de sangre ($T_{extr} r = -0.595$) (Cuadro IX).

Para las hembras en estado silvestre los resultados de la ordenación indican que los factores que se correlacionan de manera negativa, influyen en el aumento de las concentraciones de Estradiol ($r = -0.0972$, Cuadro XIII), que corresponde con los meses de marzo y febrero (elipse azul Figura 38), con excepción del nivel del agua que está expresado en forma inversa (ver métodos). La Corticosterona (eje uno $r = -0.789$, Cuadro XIII) se ve influida de la misma forma que el Estradiol (elipse azul Figura 38), en los meses de marzo y febrero, con la excepción de un ejemplar de mayo (cuadrado azul), el que se ve influido por los factores físicos con correlación positiva, al igual que los ejemplares con bajas concentraciones, en los meses de mayo y febrero).

En las hembras en cautiverio, el primer eje de ordenación correlacionó de manera positiva con la temperatura máxima del agua ($T_{a\ Max} r = 0.383$), el segundo eje con el tiempo que duró la extracción de la muestra de sangre ($Ext. Time r = 0.386$) y el tercer eje también se correlacionó de manera positiva con la temperatura máxima del aire ($T_{irMax} r = 0.399$) y la irradianza expresada en voltaje máximo ($Volt\ Max r = 0.472$) (Cuadro X).

Los factores que influyeron de manera positiva en las hembras en cautiverio indican que el aumento de la temperatura máxima del agua (estanque) influye en la disminución del Estradiol (eje uno $r = -0.879$ Cuadro XIV), lo que corresponde con ejemplares muestreados de marzo a junio (elipse azul), con excepción de mayo (Figura 39). Según los resultados de la ordenación el tiempo de extracción de sangre influyó en un grado mínimo en el aumento de Estradiol ($r = 0.498$, Cuadro XIV, porcentaje explicado del tercer eje 2.69%)

La Corticosterona, se ve incrementada (rectángulo negro, Figura 39) por el tiempo extracción de sangre (tiempo de estrés, durante la extracción) (eje dos $r = -.0582$, Cuadro XIV), por lo que las concentraciones de dicha hormona se ven incrementadas con las disminución del tiempo de estrés (elipse rojo), en los ejemplares muestreados de febrero hasta junio (Figura 39). El aumento de la temperatura máxima del aire y voltaje máximo influyen muy poco en las dos hormonas debido a que el eje tres explica un porcentaje bajo de variación (2.69%, Cuadro X).

Cuadro VII. Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de machos en estado silvestre.

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LT	0.261	-0.103	0.178
SVL	0.241	0.052	0.172
T estrés	0.375	0.306	0.282
T Ice	0.134	0.278	0.163
Ta Mean	-0.429	-0.100	-0.138
Ta Min	-0.469	-0.101	-0.220
Ta Max	-0.384	-0.053	-0.157
Tair Mean	-0.414	-0.125	-0.087
Tair Min	-0.421	-0.146	-0.052
Tair Max	-0.361	-0.017	-0.183
RH% Mean	0.298	-0.054	0.323
RH% Min	0.061	-0.065	0.211
RH% Max	-	-	-
DP Mean	-0.396	-0.158	-0.019
DP Min	-0.219	0.013	-0.056
DP Max	-0.339	-0.151	0.030
Int Mean	-0.398	-0.005	-0.315
Int Min	-	-	-
Int Max	-	-	-
Abs H Mean	-0.388	-0.164	-0.001
Abs H Min	-0.208	0.017	-0.046
Abs H Max	-0.346	-0.152	0.023

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Un RH% Mean	0.290	-0.057	0.326
Un RH% Min	0.022	-0.059	0.180
Un RH% Max		-	-
Volt Mean	0.314	0.124	-0.042
Volt Min	0.262	-0.047	0.226
Volt Max	0.227	0.073	-0.073
Oscila H2O	0.136	0.093	0.113
Oscila Aire	0.385	0.243	-0.092
Dif H2O Aire	-0.208	0.155	-0.403
Nivel Agua	0.404	0.118	0.188
Salinidad	0.157	-0.081	0.217
T cloaca	-0.325	0.065	-0.385
T agua	-0.414	-0.145	-0.066
T air	-0.228	0.063	0.049
T extr	0.155	0.100	0.047

Cuadro VIII. Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de machos en cautiverio. * Para obtener los resultados de la Temperatura de la cloaca por medio de la ordenación Bray-Curtis, se corrió una prueba con la información de los meses de febrero a mayo, debido a la compatibilidad de los datos (ver metodología). El resto de los resultados se obtuvo de la misma prueba con datos de febrero a junio.

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LT	0.266	0.295	0.031
SVL	0.296	0.278	-0.033
T estres	0.057	-0.145	0.464
T Ice	-0.016	-0.363	0.165
Ta Mean	0.058	0.317	-0.541
Ta Min	0.037	0.283	-0.557
Ta Max	0.092	0.170	-0.610
Tair Mean	0.022	0.383	-0.443
Tair Min	0.074	0.430	-0.493
Tair Max	0.174	0.073	-0.161
RH%Mean	-0.022	-0.309	0.417
RH%Min	-0.003	0.276	-0.492
RH%Max	-	-	-
DPMean	0.032	0.397	-0.471
DPMIn	0.098	0.367	-0.627
DPMax	-0.065	0.373	-0.301
IntMean	0.063	0.360	-0.518
IntMin	-	-	-

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
IntMax	-	-	-
AbsHMean	0.024	0.401	-0.452
AbsHMin	0.074	0.388	-0.601
AbsHMax	-0.067	0.379	-0.248
UnRH%Mean	-0.025	-0.296	0.405
UnRH%Min	0.010	0.298	-0.518
UnRH%	-	-	-
VoltMean	0.057	0.376	-0.506
VoltMin	-0.033	0.391	-0.354
VoltMax	0.165	0.251	-0.062
OscilaH2O	0.063	-0.167	-0.002
OscilaAire	0.071	-0.329	0.317
DifH2OAire	0.039	-0.394	0.181
Tcloaca*	-0.515	-0.293	0.103

Cuadro IX. Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de hembras en estado silvestre.

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LT	-0.341	0.716	0.367
SVL	-0.323	0.592	0.347
T estrés	-0.161	0.286	0.065
T Ice	-0.165	-0.730	0.244
Ta Mean	0.696	-0.264	-0.565
Ta Min	0.787	-0.372	-0.592
Ta Max	0.526	-0.107	-0.484
T air Mean	0.720	-0.290	-0.574
T air Min	0.808	-0.404	-0.594
T air Max	0.647	-0.215	-0.544
RH% Mean	-0.373	-0.012	0.399
RH% Min	0.621	-0.190	-0.532
RH% Max	-	-	-
DP Mean	0.766	-0.344	-0.588
DP Min	0.122	0.182	-0.242
DP Max	0.670	-0.237	-0.554
Int Mean	0.489	-0.077	-0.465
Int Min	-	-	-
Int max	-	-	-

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Abs H Mean	0.772	-0.352	-0.590
Abs H Min	-0.032	0.275	-0.139
Abs H Max	0.705	-0.274	-0.568
Un RH% Mean	-0.371	-0.013	0.398
Un RH% Min	0.596	-0.168	-0.520
UnRH%Min		-	-
Volt Mean	-0.735	0.307	0.579
Volt Min	-0.197	-0.135	0.290
Volt Max	-	-	-
Oscila H2O	-0.599	0.529	0.297
Oscila Aire	-0.837	0.482	0.576
DiferenH2O Aire	-0.724	0.551	0.415
Nivel Agua	-0.702	0.270	0.567
Salinidad	0.551	-0.128	-0.497
T cloaca	0.729	-0.496	-0.773
T agua	0.777	-0.541	-0.537
T aire	0.614	-0.872	-0.499
T extr	-0.595	0.237	0.380

Cuadro X. Coeficientes de correlación entre las variables ambientales (factores físicos), y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos de hembras en cautiverio. * Para obtener los resultados de la Temperatura de la cloaca por medio de la ordenación Bray-Curtis, se corrió una prueba con la información de los meses de febrero a mayo, debido a la compatibilidad de los datos (ver metodología). El resto de los resultados se obtuvo de la misma prueba con datos de febrero a junio.

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
LT	-0.210	0.258	-0.214
SVL	-0.286	0.265	-0.215
T estrés	0.009	0.055	-0.342
T Ice	0.062	0.111	-0.114
Ta Mean	0.208	-0.087	-0.127
Ta Min	0.280	-0.035	-0.205
Ta Max	0.383	0.045	-0.129
Tair Mean	0.119	-0.105	-0.143
Tair Min	0.091	-0.151	-0.029
Tair Max	-0.097	-0.240	0.399
RH% Mean	-0.134	0.101	0.138
RH% Min	0.299	0.073	-0.288

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
RH% Max	-	-	-
DP Mean	0.130	-0.106	-0.133
DP Min	0.240	-0.097	-0.070
DP Max	0.095	-0.009	-0.296
Int Mean	0.163	-0.119	-0.086
Int Min	-	-	-
Int Max	-	-	-
Abs H Mean	0.117	-0.104	-0.141
Abs H Min	0.228	-0.082	-0.115
Abs H Max	0.042	-0.030	-0.265
Un RH%Mean	-0.127	0.105	0.125
Un RH%Min	0.294	0.053	-0.263
Un RH%Max	-	-	-
Volt Mean	0.149	-0.120	-0.092
Volt Min	0.094	-0.055	-0.237
Volt Max	-0.278	-0.294	0.472
Oscila H2O	0.093	0.101	0.113
Oscila Aire	-0.159	-0.052	0.340
DiferenH2O Aire	0.066	0.107	0.134
Ext. Time	-0.092	0.386	0.133
T cloaca*	-0.171	-0.113	-0.057

Cuadro XI. Coeficientes de correlación de las hormonas Testosterona y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray-Crutis de machos en estado silvestre.

Hormona	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Testosterona	0.356	-0.200	0.878
Costicosterona	0.668	0.856	-0.172

Cuadro XII. Coeficientes de correlación de las hormonas Testosterona y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray-Crutis de machos en cautiverio.

Hormona	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Testosterona	-0.474	-0.383	0.840
Corticosterona	-0.854	-0.489	0.116

Cuadro XIII. Coeficientes de correlación de las hormonas Estradiól y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray Crutis de hembras en estado silvestre.

Hormona	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Estradiol	-0.972	0.477	0.610
Corticosterona	-0.789	0.329	0.739

Cuadro XIV. Coeficientes de correlación de las hormonas Estradiól y Corticosterona con los ejes de la ordenación Bray Crutis de hembras en cautiverio.

Hormona	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Estradiol	-0.879	-0.01	0.498
Corticosterona	0.061	-0.582	0.622

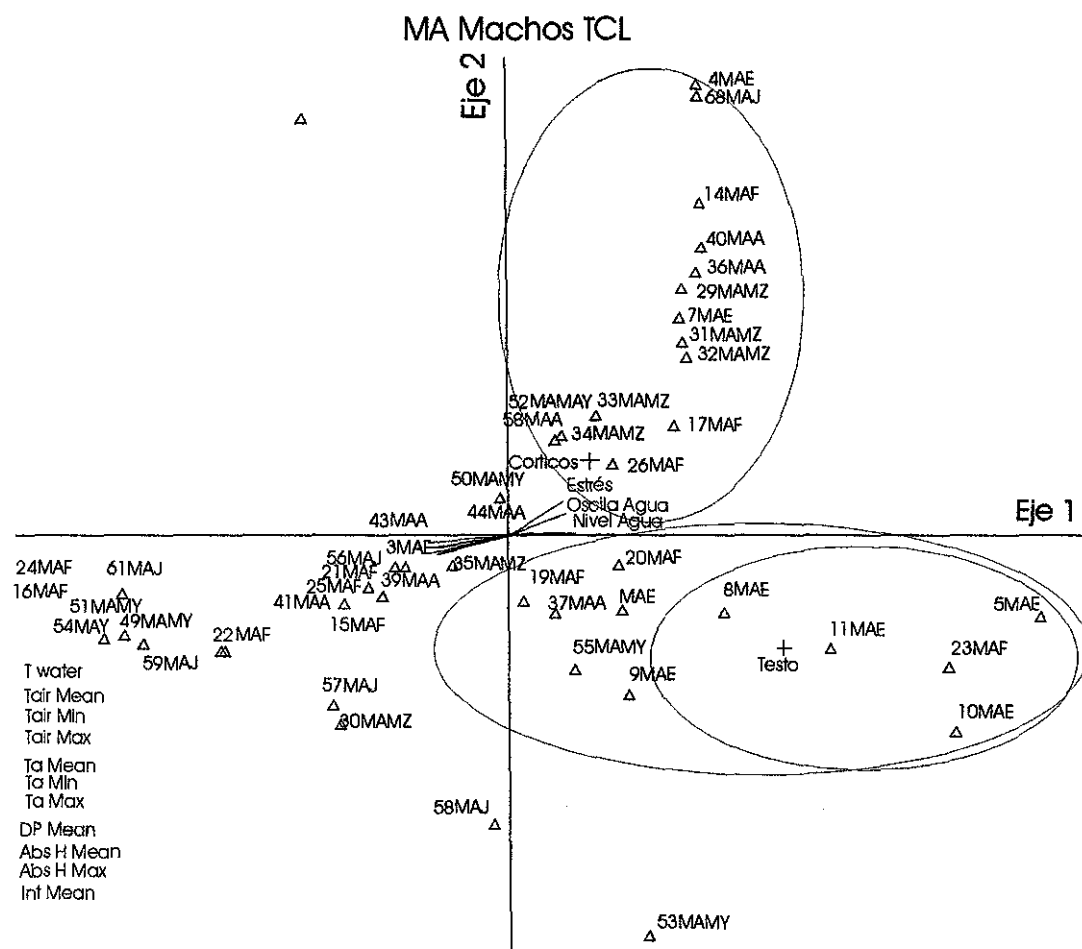


Figura 34. Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en machos en estado silvestre.

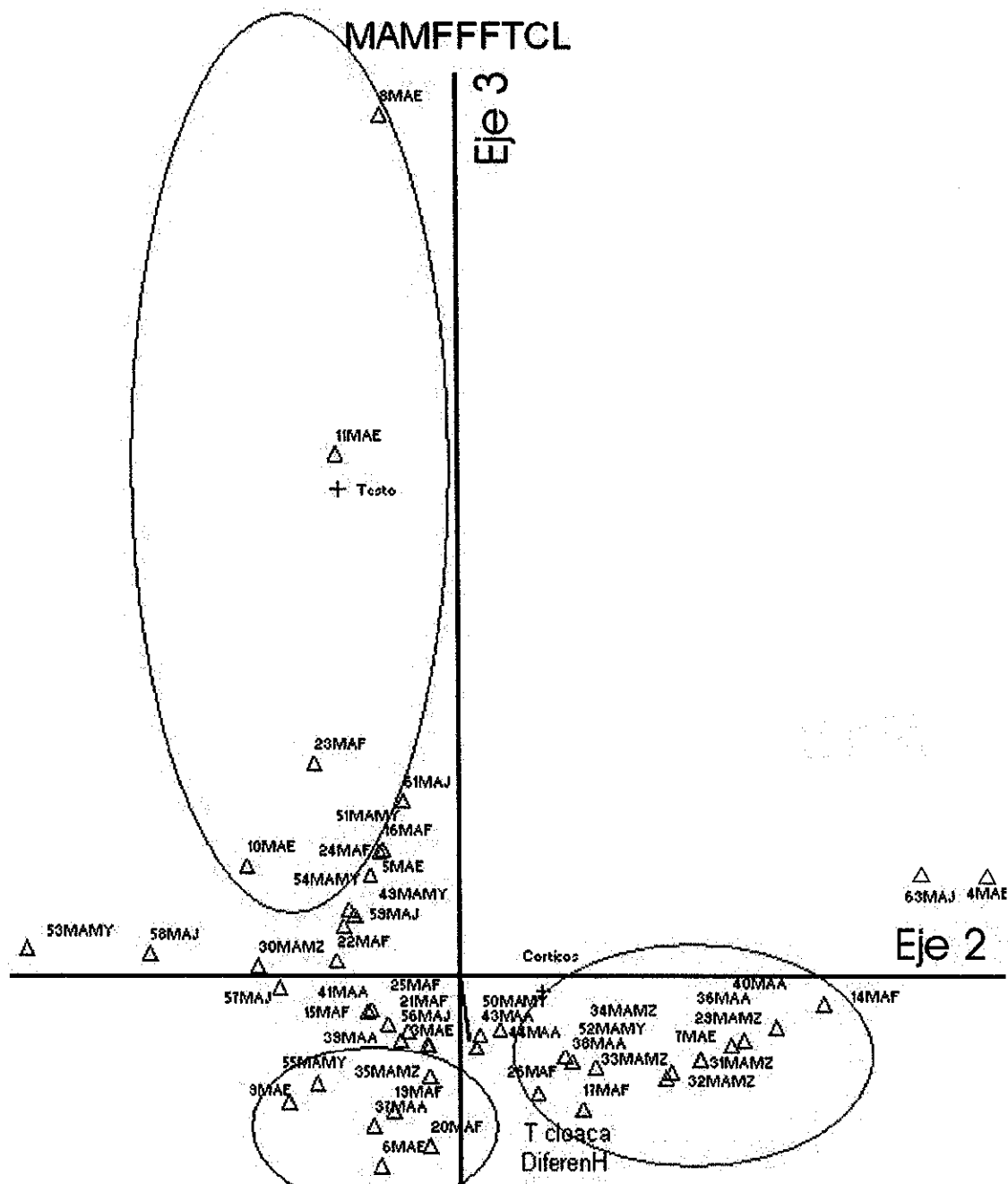


Figura 35. Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en machos en estado silvestre. Ejes dos y tres.

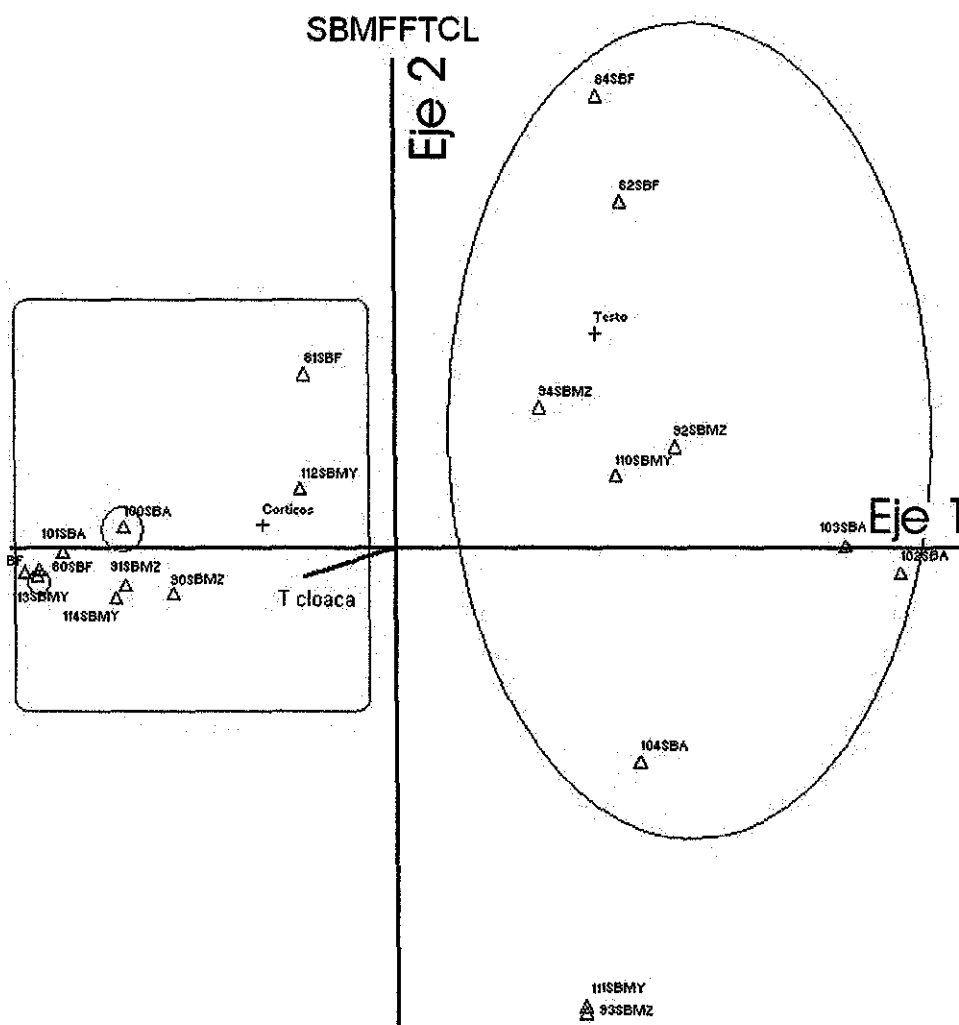


Figura 36. Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en machos en cautiverio. Este análisis se corrió con datos de febrero a mayo, para obtener resultados sobre la temperatura de la cloaca. Ejes uno y dos.

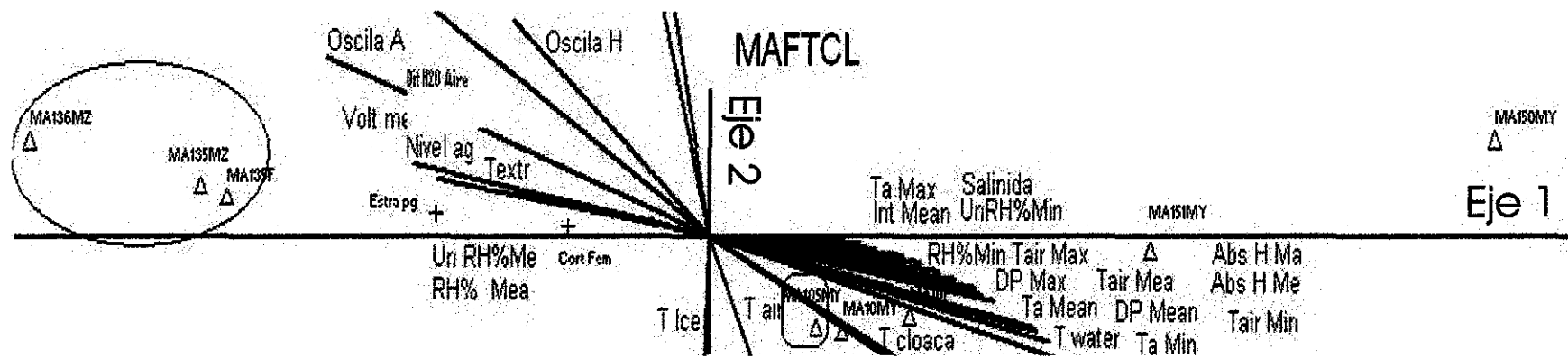


Figura 38. Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en hembras en estado silvestre. Ejes uno y dos.

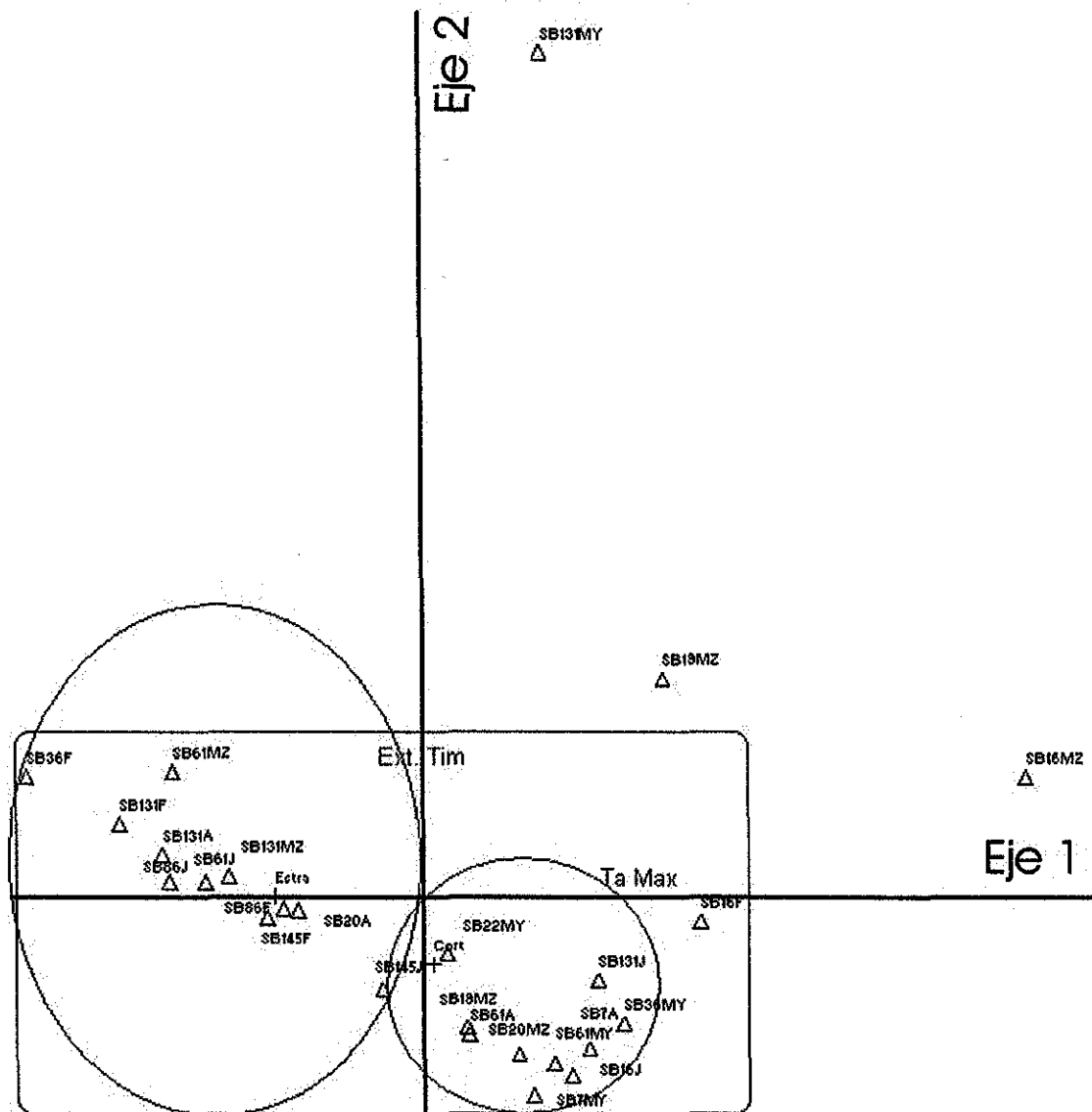


Figura 39. Ordenación de Bray-Curtis que indica cada ejemplar y el mes de muestreo (triángulos) y las variables ambientales (factores físicos), longitud total y hocico cloaca, tiempo de estrés en hembras en cautiverio. Ejes uno y dos.

DISCUSIÓN

Diferencias en las condiciones entre el estado silvestre y el cautiverio, así como algunas consideraciones

Lo reducido de los estanques en cautiverio, provoca que la temperatura del agua sea más elevada que lo registrado en estado silvestre (Figuras 28a-c), además de la reducción del espacio, produce cambios en el comportamiento jerárquico en cautiverio en comparación con estado silvestre. Por otra parte, el clima incluye varios factores que varían entre las dos condiciones, debido a la ubicación y fisiografía de cada sitio (ver gráficos del apéndice). Otras diferencias son el nivel del agua y la salinidad, factores que sólo se pueden medir en estado silvestre a diferencia de cautiverio. En el caso de la latitud y a pesar de existir diferencias en el clima, la latitud no se considera un factor que influya entre los dos sitios de muestreo, debido a los sitios de estudio son cercanos tomando en cuenta la distribución de la especie. Las diferencias en la temporada de postura a diferentes latitudes en *C. acutus*, se hacen notar por Thorbjarnarson (1989) y por Lance (1987) en el lagarto americano. La salinidad y el nivel de agua son limitantes que no afectan a los ejemplares en cautiverio, pero es importante mencionar que son factores secundarios que ejercen cierta influencia en los ejemplares silvestres. Aún cuando el cautiverio limita a los animales, se comprueba que el factor de mayor influencia para la reproducción y/o el estrés es la temperatura, como se observará más adelante.

Concentraciones hormonales de *Crocodylus acutus* durante el ciclo reproductivo

Según el análisis realizado, el manejo de las muestras previo a su congelación no influyó en las concentraciones de las tres hormonas estudiadas en machos y hembras en estado silvestre y cautiverio. Según un estudio

reciente sobre el manejo de las muestras en campo, previo a su análisis, las hormonas Testosterona y Estradiol β 17, en la serpiente de cascabel *Crotalus atrox*, el plasma fue sometido a diferentes tiempos (6 y 24 hrs) de enfriamiento 0 °C (como en este estudio) y calentamiento. No se encontraron diferencias significativas, lo que indica, que una variación por el manejo de las muestras ya sea por calentamiento (40 °C) o mantenimiento en hielo (0 °C) en un periodo igual o menor a 24 hrs (Taylor y Schuett, 2004) no afecta a las hormonas sexuales estudiadas, por lo que nuestros resultados son confiables (ver Figura 1). Con relación a la Corticosterona, se piensa que ésta probablemente puede ser afectada por el manejo previo a su análisis (Taylor y Schuett, op. cit), lo que según los resultados del presente estudio no ocurre, al igual que las hormonas sexuales.

Existen pocos estudios sobre las concentraciones de esteroides sexuales durante ciclo reproductivo de diferentes especies de cocodrilianos. Los niveles promedio de Testosterona reportados en este estudio para *C. acutus* en estado silvestre y cautiverio se ubican entre los valores registrados para los cocodrilianos. En el cocodrilo enano de Africa (*Osteolaemus tetraspis*) se han registrado valores máximos de 21 ng/ml en dos machos durante el ciclo reproductivo (Kofron y Steiner, 1994), en el lagarto americano (*A. mississippiensis*) se registran promedios máximos que oscilan alrededor de los 50 ng/ml (Lance, 1987; 1989; Lance y Elsey, 1986) y mayores a los 75 ng/ml en machos adultos (Lance, 2003) durante el ciclo reproductivo. Los valores máximos de Testosterona en esta especie son mayores a los 100 ng/ml (Lance, 1989; Lance y Elsey, 1986). Para los machos adultos de *Caiman yacare*, se reporta un promedio máximo aproximado de 4 ng/ml durante el ciclo reproductivo y el valor máximo registrado 20 ng/ml (Coutinho et al., 2001), valores que son menores a los reportados para *C. acutus*, especie que registró los promedios máximos en el mes de enero de 9.4 ng/ml en MVS (valor máximo de 54.3 ng/ml) y 16.2 ng/ml en MC (valor máximo 49.5). En el caso de otras especies de reptiles los promedios máximos de Testosterona en machos

adultos durante el ciclo reproductivo son de 170 ng/ml, en la tortuga de desierto (*Gopherus agassizii*), con valores máximos registrados mayores a los 300 ng/ml (Lance y Rostal, 2002). Rostal et al. (1994) registraron promedios máximos cercanos a los 243 ng/ml en la misma especie de tortuga. Los promedios máximos de Testosterona durante el ciclo reproductivo en la tortuga de Galápagos (*Geochelone nigra*) alcanzan los 29.9 ng/ml, con valores máximos de 69 ng/ml y por último los niveles hormonales en la lagartija de bloques laterales (*Uta stansburiana*), en machos adultos dominantes, alcanza promedios que superan los 203 ng/ml, con valores máximos cercanos a los 230 ng/ml (dos machos) (Sinervo et al., 2000). Con lo anterior se demuestra que los cocodrilianos, al menos en las especies aquí mencionadas, presentan valores menores que otros reptiles, con excepción de la tortuga de Galápagos.

En el caso del Estradiol de hembras, existen diversidad de estudios durante el ciclo reproductivo, pero la mayoría son en *A. mississippiensis*. Los valores promedios máximos de Estradiol β 17 durante el ciclo reproductivo de hembras de *C. acutus* en estado silvestre y cautiverio varían entre 152.5 (HVS marzo) y 95 (HC enero) pg/ml, con valores máximos de 170 (HVS) y 150 (HC). Las hembras de *C. acutus* registraron valores menores que los de hembras de *A. mississippiensis*, pues éstas últimas alcanzan valores promedios de casi 600 pg/ml durante el ciclo reproductivo (Lance, 1987;1989) y alcanzan valores máximos de 1000 pg/ml (Elsley et al,1991). Lance (1989) cita información no publicada de Kofron, quién menciona que los niveles de Estradiol en hembras del cocodrilos del Nilo (*Crocodylus niloticus*) durante la etapa preovulatoria (pico máximo de Estradiol) presentan valores similares a los de *A. mississippiensis*.

En el caso de la tortuga de desierto, la variación en las concentraciones de Estradiol de hembras en estado silvestre y cautiverio puede variar año con año. En 1992 se registraron diferencias significativas en las concentraciones en la tortuga de desierto, siendo las HVS en las que se observaron valores más altos significativamente. En el siguiente año, no se detectaron diferencias

(Lance y Rostal, 2002), lo que pudiera ocurrir en hembras de *C. acutus*. Este efecto puede ser debido a los cambios en el clima año con año, ya que Lance (1987) indica que la reproducción (anidación) puede ser alterada por la temperatura ambiental, adelantando o retrasando la anidación. A diferencia de las hembras, en los machos de *C. acutus*, se observa que las concentraciones de Testosterona son mucho más elevadas en cautiverio. Además es importante señalar que los resultados obtenidos en este estudio, muestran que la temperatura es el factor con mayor influencia en las hormonas sexuales y de estrés de *C. acutus*.

La mayoría de los estudios sobre Corticosterona en el orden Crocodylia se concentran principalmente en el lagarto americano. Hasta la fecha no se conoce ningún estudio sobre los niveles de Corticosterona de machos y hembras de cocodrilianos en estado silvestre y cautiverio durante el ciclo reproductivo. La mayoría de estudios son enfocados a estudios de estrés, manejo en la producción de poblaciones cautivas y en el ciclo circadiano (Elsley et al., 1990a,b; Elsley et al., 1991; Lance, 1992; Lance y Lauren, 1984; Lance y Elsley, 1986; 1999a,b; Lance et al., 2001).

En *C. acutus* en cautiverio se observan valores mucho más altos que los de estado silvestre (Ver Figura 9), no se registro diferencia significativa entre sexos en las mismas condiciones. En cambio en adultos del lagarto americano registraron diferencias significativas entre sexos en ambas condiciones (cautiverio y estado silvestre). Además los ejemplares que se mantuvieron en altas densidades presentaron concentraciones de Corticosterona mucho más altas que los de estado silvestre y los de densidades bajas en cautiverio (Elsley et al., 1990a), lo que ocurre con *C. acutus* en cautiverio, los que son mantenidos en hacinamiento, produciendo altas concentraciones de Corticosterona. Es importante hacer notar que Moore et al. (2000) determinaron que la Corticosterona tiene relación con el estado corporal de la serpiente de jardín (*Thamnophis sirtalis concinnus*), a menor concentración de la hormona de

estrés, el estado corporal se encuentra positivamente en mejores condiciones. Lo anterior sugiere que las altas concentraciones de Corticosterona de *C. acutus* en cautiverio pueden ser indicadores de malas condiciones corporales y de posibles problemas en el sistema inmune, baja capacidad de reproducción, entre otros problemas (Lance et al., 2001). Cabe señalar que los resultados de este estudio muestran que la dominancia jerárquica tiene relación con el nivel de estrés, por lo que los problemas que pudiera tener la población cautiva serían en los ejemplares sometidos principalmente.

Los promedios máximos de Corticosterona de MC de *C. acutus* durante el ciclo reproductivo son de 23.5 ng/ml (rango 3 - 45.7 ng/ml). Los MVS tienen los promedios máximos de 8 ng/ml en enero (rango = 1.5 -17-7 ng/ml); Las HC presentan los valores promedio máximos en marzo con 41.2 ng/ml (no detectable - 58.2 ng/ml) y las HVS tienen valores de 5 ng/ml en marzo (rango = 2 - 6 ng/ml). Los valores promedios máximos de Corticosterona reportados para machos en cautiverio (alta densidad) en el lagarto americano son ligeramente mayores a lo 2 ng/ml (Eisey et al., 1990a). En lagartos americanos HC los valores son aproximadamente de dos ng/ml. Los MVS del lagarto americano tienen valores ligeramente menores de un ng/ml y las HVS registraron aproximadamente la mitad de los valores en MVS (Eisey et al., 1990a). Con esto se nota claramente que *C. acutus* alcanza valores de Corticosterona mayores que al lagarto americano, aunque es importante señalar que durante los estudios de estrés agudo producido en juveniles del lagarto americano se alcanzan valores máximos de 16 ng/ml (Lance, 1994; Lance y Eisey, 1999a; Eisey et al., 1990b), valores similares que se han obtenido en hembras (Eisey et al., 1991) y en machos adultos (< 20 ng/ml) (Lance y Eisey, 1986), valores máximos que sólo superan las concentraciones máximas de Corticosterona de las HVS de *C. acutus*.

Concentraciones de esteroides sexuales y de estrés y su relación con el ciclo reproductivo.

Entre los machos en estado silvestre y cautiverio, las concentraciones mensuales de Corticosterona no muestran un patrón claro del ciclo reproductivo, además de no haber diferencia notoria entre las concentraciones mensuales ($P > 0.05$), con excepción de los MVS. En cautiverio, los meses con valores más bajos de Corticosterona son en enero y junio, previo al inicio de la cópula, en la temporada fría y posterior a la cópula en la temporada cálida (Figura 10). Las concentraciones de Corticosterona de machos en estado silvestre, aún cuando no muestran una relación directa con el ciclo reproductivo, los meses de enero y febrero presentan concentraciones más altas que mayo ($P < 0.05$), mes con las concentraciones de Corticosterona más bajas registradas (Figura 11). Esto muestra que el estrés disminuye después de la cópula en los MVS, en los que coinciden las mayores concentraciones de Testosterona y Corticosterona (principio del ciclo) y marca la diferencia con los ejemplares machos en cautiverio (Figura 4). En los MC las concentraciones bajas son previas y posteriores (enero y junio) a la cópula y en estado silvestre son mayores previo y durante la cópula, disminuyendo posterior a esta, lo cual podría indicar una ligera relación con el ciclo reproductivo de forma asincrónica, al igual que la Testosterona, esto con relación al ciclo en las hembras.

Con relación a la Corticosterona, en las HVS y HC se observan patrones similares, siendo marzo, durante la temporada de cópula cuando las hembras en ambos casos, muestran el pico máximo en las concentraciones mensuales. En cautiverio, marzo presentó concentraciones mayores que enero, febrero y mayo ($P < 0.05$). Con esto se hace notar la relación de la Corticosterona con el ciclo reproductivo de HC, siendo marzo (cópula) cuando presentan mayor estrés (Figura 12). Las hembras en estado silvestre también presentan relación con el ciclo reproductivo, siendo marzo cuando se observan las mayores concentraciones ($P > 0.05$) (Figura 13). La relación con el ciclo reproductivo se

hace notar con los resultados de la Figura 22, donde se presenta que las HVS fueron las únicas en que la hormona sexual tiene relación significativa con la Corticosterona, aún cuando no se reporta diferencia significativa entre meses en la hormona de estrés de HVS.

La Testosterona de MC y MVS no presenta una relación clara con el ciclo reproductivo. El ciclo reproductivo de las hormonas sexuales de *C. acutus* machos en estado silvestre y cautiverio es asincrónico con relación al de las hembras, algo que ocurre en la lagartija *Niveoscincus ocellatus* (Jones et al., 1997), pero no en el lagarto americano, en el que las mayores concentraciones de hormonas en machos y hembras son en la misma temporada (Lance, 1989). Los machos de *C. acutus* presentan las mayores concentraciones de Testosterona al principio del ciclo, previo a la temporada de cópula y en las hembras el pico máximo de Estradiol se presenta durante la temporada de cópula, en marzo. Esto marcadas diferencias entre el ciclo reproductivo de machos del lagarto americano y *C. acutus*. Los resultados indican que en estado silvestre los machos presentan el pico máximo de testosterona al menos con un mes de diferencia entre la temporada pico de apareamiento en marzo, comprobada por los niveles de Estradiol y Corticosterona de HVS y HC, además de la disminución de la temperatura de la cloaca (marzo) en MVS y HVS (Figuras 28a,b). En cautiverio pasa algo similar, en los que la Testosterona tiene su valores máximos en enero y va disminuyendo poco a poco hasta junio. En el lagarto americano, los niveles máximos de Testosterona se presentan en abril y mayo y la cópula a fines de mayo y principios de junio, lo que coincide con el pico máximo de espermatogénesis y mayor masa testicular (Lance, 1989; Lance, 2003) y en el pico máximo de Estradiol que es en abril y mayo (Lance, 1989). El Estradiol de *C. acutus* HC no presenta una relación clara con el ciclo reproductivo, pero al igual que las HVS, las que presentan una fuerte relación con el ciclo reproductivo, las concentraciones de febrero son bajas y los niveles de la hormona disminuyen durante la temporada de postura. En las hembras del lagarto americano el pico máximo de Estradiol es en abril y mayo durante la

temporada pico de apareamientos y caen abruptamente en junio, durante la postura (Lance, 1989). La diferencia en *C. acutus* se debe, a que sólo se presentan los niveles máximos de Estradiol (HVS) y Corticosterona en un solo mes (marzo) durante la temporada de cópula.

Se han registrado pocos estudios de Corticosterona durante el ciclo reproductivo en reptiles (Schramm et al., 1999) y hasta la fecha no se conoce ningún estudio en cocodrilos, por lo que no se sabe si existe relación de la hormona de estrés con el ciclo reproductivo, algo que sólo se reporta para las hembras de *C. acutus* y posiblemente para los machos en estado silvestre. El comportamiento de la hormona de estrés en machos de *C. acutus* durante el ciclo reproductivo es diferente (de forma no significativa) en ambas condiciones (estado silvestre y cautiverio). Se realizó un análisis de covarianza para observar el comportamiento de las hormonas Testosterona y Corticosterona en MVS y MC, en los que se detectó una relación entre el comportamiento de ambas hormonas, lo que indica que los ciclos reproductivos y el estrés son similares en machos en ambas condiciones ($R^2 = 19.2218$; $P = 0.0006$) (Figura 40). En el caso de las hembras, la relación entre el Estradiol y la Corticosterona, indica que los ciclos reproductivos son diferentes (Figura 41) ($R^2 = 10.693$; $P = 0.3129$), lo que sugiere diferentes adaptaciones entre la hormona de estrés y las hormonas sexuales y por consiguiente el ciclo reproductivo, debido al cautiverio. Se ha registrado una relación directa de la Corticosterona y el ciclo reproductivo en la tortuga de desierto (*G. agassizzi*). En las hembras de esta tortuga, el pico máximo coincide con la temporada de apareamiento, relación que se observa en hembras de *C. acutus* y en los machos de esta tortuga, a diferencia de *C. acutus*, la hormona tiene una estrecha correlación con la Testosterona (Lance y Rostal, 2002; Lance et al., 2001). En la tortuga de Galápagos (*Geochelone nigra*) la Corticosterona tiene relación con el ciclo reproductivo. En las hembras, el pico máximo es durante la segunda mitad de la temporada de apareamiento y en los machos tiene una relación estrecha con la Testosterona, con el pico máximo durante la temporada máxima de cópulas

(Schramm et al., 1999). En la serpiente de jardín (*Thamnophis sirtalis concinnus*) la Testosterona y la Corticosterona tienen una relación directa con el ciclo reproductivo de la especie (Moore et al., 2000).

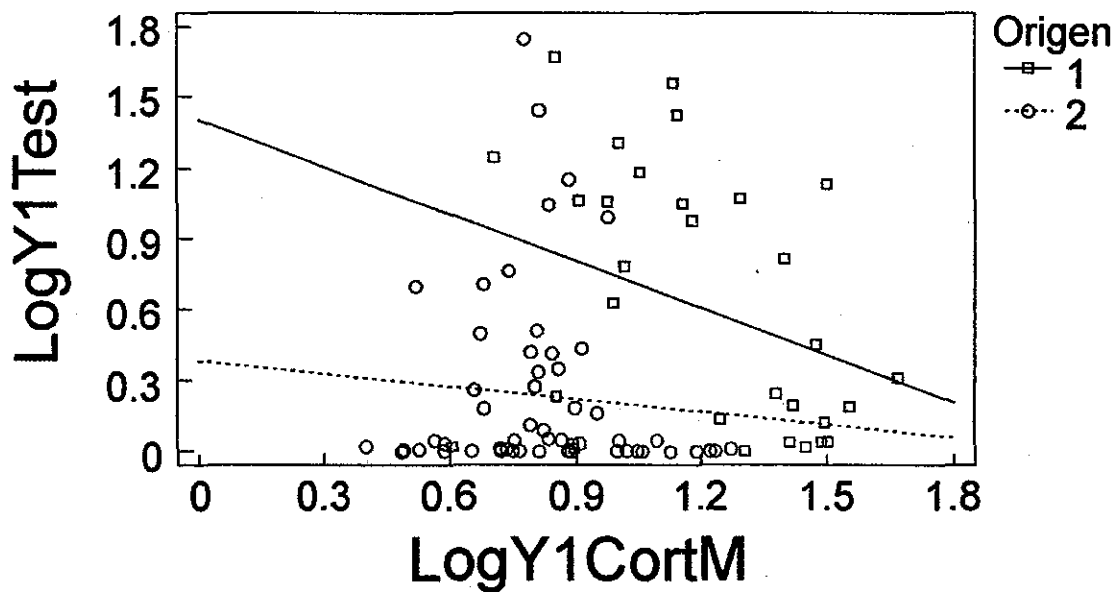


Figura 40.- Comparación de dos líneas de regresión entre MVS y MC. Relación de la Testosterona y Corticosterona. ($R^2 = 19.2218$; $F = 6.42$; $Df = 3, 81$; $P = 0.0006$). Origen: 1.- Cautiverio; 2.- Estado silvestre.

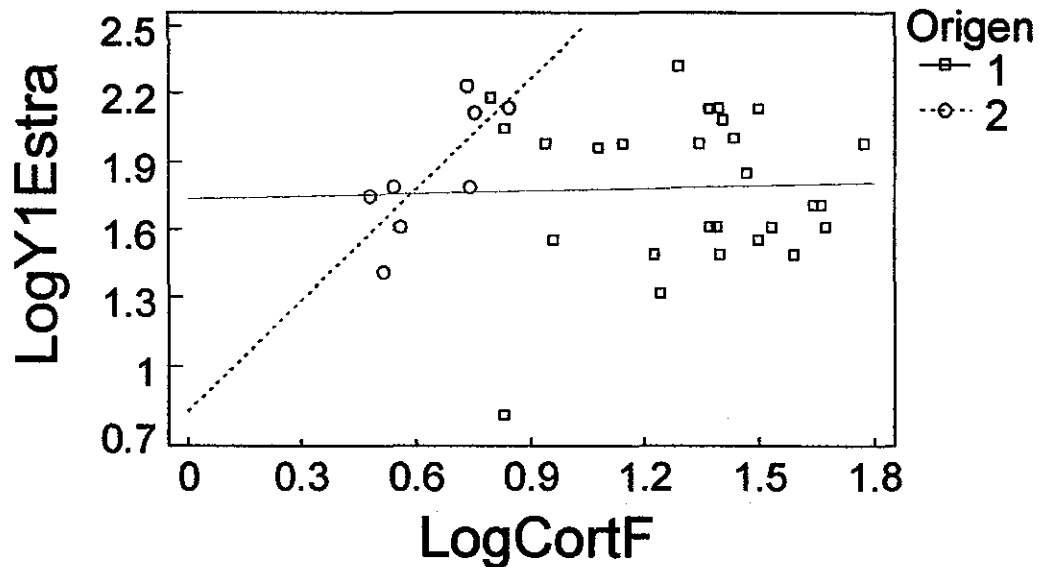


Figura 41.- Comparación de dos líneas de regresión entre HVS y HC. Relación del Estradiol y Corticosterona en hembra en estado silvestre y cautiverio. $\text{LogY1Estra} = \text{Log}(Y+1)$ Estradiol; $\text{LogY1Cort} = \text{Log}(Y+1)$ Corticosterona. ($R^2 = 10.693$; $F = 1.24$; $Df = 3, 81$; $P = 0.3129$). 1.- Cautiverio; 2.- Estado silvestre.

Estrés durante el ciclo reproductivo y comportamientos implicados

Lance et al, (2001) concluyen que el conocimiento del estrés en poblaciones silvestres de cocodrilianos se encuentra en espera de futuras investigaciones. En el presente estudio se aporta información importante sobre el estrés en una población silvestre de *C. acutus*, la que es comparada con una población en cautiverio. Con esto se aporta la primera información sobre estrés en poblaciones cautivas y silvestres de la especie y la primera investigación sobre estrés en poblaciones silvestres de cocodrilianos durante el ciclo reproductivo.

El estrés en reptiles y el lagarto americano ha sido ampliamente estudiado por medio de la Corticosterona, de la cual se han realizado diversos estudios. Los resultados de la Corticosterona indican que el grado de estrés en *C. acutus* es significativamente más alto en cautiverio que en estado silvestre

(Figura 9), lo que se sugiere, tiene relación con el hacinamiento observado en el sitio de muestreo en cautiverio (San Blas). Lo anterior coincide con el estudio de estrés realizado con animales adultos silvestres y cautivos del lagarto americano, (Elsley et al., 1990a). Por otra parte en el presente estudio los MC presentaron los mayores niveles de estrés de febrero a mayo ($P > 0.05$) y en los MVS el estrés disminuye en mayo significativamente, posterior a la temporada de cópula.

En cambio en las hembras de *C. acutus*, el mayor grado de estrés se presenta en marzo durante la cópula, en ambos casos (estado silvestre y cautiverio). Este efecto sugiere que el grado de estrés está relacionado con la presión que tienen las HVS por los machos que pretenden reproducirse, y/o por otras hembras y el cuidado del territorio reproductivo. De esto se pueden inferir situaciones diferentes según el caso. En HC la presión es por el espacio, las alfa protegen su territorio (estanque y área de anidación), lo que es producido por una dominancia jerárquica, comportamiento común en cocodrilos y en la especie en estudio (Garrick y Lang, 1977). En este caso la presión de otros machos hacia las hembras reproductivas disminuye gracias a la protección del macho alfa. Las HVS, aún cuando pueden hacer uso de mayor espacio, estas presentaron una relación hembras:machos muy baja comparada con los machos adultos. En el lagarto americano se estima que no hay sesgo en la proporción de machos:hembras en estado silvestre (Lance et al., 2000). Otro factor que puede ocurrir es, que el área de anidación se encuentra restringida en la Manzanilla, por lo que se observó durante el estudio, las hembras comienzan a cuidar (HC) o permanecer cerca del área de anidación tiempo antes de la postura (HVS). Se observaron dos HVS que sobrepasan los tres metros de longitud total (marcadas con etiquetas amarillas # 1 y # 2, que permanecieron en la misma área desde febrero hasta la temporada de anidación).

Testosterona, Estradiol y Corticosterona y su relación con el tiempo de captura

El tiempo de captura no afectó significativamente al Estradiol de HVS y HC. En cambio la Testosterona de MVS y MC aumentó con el tiempo de estrés. Según estudios realizados con el lagarto americano, el Estradiol y la Testosterona se ven disminuidos por el aumento de la Corticosterona y por consecuencia el tiempo de estrés. El Estradiol muestra las mayores concentraciones en las primeras cuatro horas, que es cuando la Corticosterona va en aumento, posteriormente ésta continúa incrementándose y el Estradiol declina (Eisey et al., 1991). Por esta razón se piensa que el Estradiol no tuvo relación con el tiempo de estrés ni con los niveles de Corticosterona, debido a que, según el tiempo de estrés en este estudio, las dos hormonas van en aumento en el tiempo cero. En cambio la Testosterona del lagarto americano disminuye en las primeras cuatro horas mientras la Corticosterona aumenta (Lance y Eisey, 1986), lo que no ocurrió con la Testosterona de *C. acutus* en relación con el tiempo de estrés. Lo anterior puede ser otra razón de que no exista relación entre la Testosterona de machos y la Corticosteron, aunque esto no ocurre según los resultados. Por lo tanto, la Testosterona de machos de *C. acutus* podría ser alterada por el tiempo de estrés. Según un estudio reciente (Lance et al., 2003, en prensa), la Testosterona del lagarto americano aumenta inmediatamente después de la captura, en el tiempo cero, lo que coincide con el presente estudio. Los autores no registran el tiempo de captura, pero por las tallas de captura en el estudio se estima que la extracción de sangre fue menor a los 10 minutos, tiempo aproximado a los tiempos promedios de captura de este estudio. Por último, es importante señalar que los niveles de Corticosterona obtenidos para *C. acutus* durante el ciclo reproductivo, fueron obtenidos antes de que se alcancen los niveles máximos de estrés según los estudios realizados. Los MVS de *C. acutus* alcanzan valores similares a los que se reportan para los machos del lagarto americano en las primeras cuatro horas (Lance y Eisey, 1986) y las HVS presentan niveles ligeramente menores al 50%

del que alcanzan las hembras del lagarto americano en las primeras cuatro horas (Eisey et al., 1991). Los MC tienen valores ligeramente más elevados que los que presenta el lagarto americano en el punto máximo (12 horas) y las HC superan por un poco más del 50% los valores que alcanzan las hembras del lagarto americano durante el pico máximo de concentración de Corticosterona (12 y 16 hrs). Con esta información se hace notar que los ejemplares en el sitio de cautiverio presentan altos niveles de estrés comparados con los machos de *C. acutus* en estado silvestre y los experimentos de estrés agudo realizados en el lagarto americano.

Relación de las hormonas sexuales y de estrés y la longitud total

Sólo en los MVS la Testosterona tiene relación con la longitud total, en esto se puede relacionar con la dominancia de los machos alfa, que generalmente los dominantes son los más grandes, lo que ha sido observado en *C. acutus* y otras especies (Garrick y Lang, 1977). Este efecto se observó tanto en estado silvestre como cautiverio durante el estudio. No se considera la posibilidad de que el tiempo de captura influya en la relación de longitud total y la hormona sexual, aún cuando el tiempo de estrés en MVS fue significativamente más elevado, debido a que el tiempo de estrés influyo de igual forma en MC y MVS. Se analizaron datos de concentraciones hormonales (Testosterona y Corticosterona) de machos del lagarto americano que presentan Lance y Eisey (1986). Se realizó una regresión lineal simple (tipo I) y se observo el incremento de la Testosterona con relación a la longitud total (tiempo de estrés 5 minutos máximo; $n = 6$. Tallas 1.8 – 2.71m) (Figura 42). El Estradiol no mostró relación con la longitud total en ninguno de los dos casos (*C. acutus* en estado silvestre y cautiverio).

La Corticosterona de MC disminuye conforme aumenta el tamaño ($P < 0.05$; $R^2 = 16.228$), lo que también puede estar relacionado con la dominancia,

animales de mayor tamaño someten a los de menor talla, lo que produce mayor estrés. Este tipo de dominancia jerárquica en cocodrilos, es comentada por varios autores (Garrick y Lang, 1977; y Lang, 1989). En machos adultos del lagarto americano en cautiverio, se observa el efecto contrario (datos analizados de Lance y Elsey (1986) (Figura 43), lo que puede ser debido a que la Testosterona y Corticosterona del lagarto americano presentaron una relación estrecha según nuestro análisis ($\text{LogY}+10\text{Testosterona} = -10.3357 + 11.1412*\text{LogY}+10\text{Corticosterona}$; $R^2 = 93.8845$; $P = 0.0014$), por tal razón esto, puede tener otro tipo de implicaciones en el comportamiento de la especie a diferencia de *C. acutus*.

La dominancia de machos de gran tamaño fue comprobada visualmente en cautiverio, ya que los animales dominantes podían permanecer en el estanque sin que algún otro macho estuviera dentro del agua. En el caso de MVS no existe ninguna relación de la longitud total con relación a la Corticosterona, lo que indica que los machos y hembras de menor tamaño, tienen la misma posibilidad de esconderse o retirarse debido a que hay mas espacio en estado silvestre con relación al cautiverio. Mayor información sobre este tipo de eventos se comenta más adelante con el análisis de la temperatura. Las HC presentaron el mismo efecto que los MC, la disminución de la hormona de estrés según el aumento de talla, pero con una relación más estrecha. Durante el trabajo de campo se observó lo mismo que en los machos, las hembras dominantes permanecían dentro del estanque libremente y atacaban a otras hembras cuando se introducían al agua. Las HVS, en cambio mostraron un aumento de la Corticosterona según el aumento en talla, lo que puede estar relacionado con el gran número de machos y la presión de apareamiento con las hembras en etapa reproductiva, desde 2.2 metros (Thorbjarnarson, 1989), con lo cual las hembras de menor tamaño podrían presentar menor presión.

Sólo para los MVS se puede estimar el promedio de concentración de Testosterona en el mes de enero (mes con mayor concentración), según los

resultados se estima que un macho adulto de 2.8 m en el mes de enero presenta un promedio de 3.72 ng/ml. Lance (2003) menciona que ejemplares machos del lagarto americano son sexualmente maduros cuando alcanzan la talla de 1.8 –2.2 m y aún cuando se reporta la presencia de espermatozoides en la ranura peniana, la reproducción no es factible debido que deben competir con los adultos, además de que el periodo de producción de espermatozoides en animales de esta talla es mas corto que en adultos mayores a 2.7 (Lance, 1989) y según los resultados de Lance (2003), en los ejemplares juveniles (LT = 122-150) del lagarto americano la Testosterona presenta un ciclo igual a los adultos, pero en concentraciones menores al 10%, por lo tanto los ejemplares del lagarto americano entre 1.8 y 2.6 pueden ser considerados subadultos. Por tal motivo se estima que ejemplares mayores de 2.6 m se reproducen satisfactoriamente (Lance, 2003). Además se conoce que no existe suficiente información, pero se sabe que los niveles de Testosterona en la sangre se relacionan con la talla, lo que se comprobó con el análisis de los datos Lance y Eisey (1986), además de que se observó y comprobó en MVS de *C. acutus* en este estudio. Es importante hacer notar que este efecto depende de la talla, población y estructura social y espacio disponible.

En el caso de las HC de *C. acutus* se calculan los valores promedio de Corticosterona en la talla mínima reproductiva (220 cm, Thorbjarnarson, 1989) durante marzo, mes de mayores concentraciones, son de 53.99 pg/ml (Corticosterona HC= 203.449 - 0.679358*LT²; R² = 77.4957; P = 0.0488).

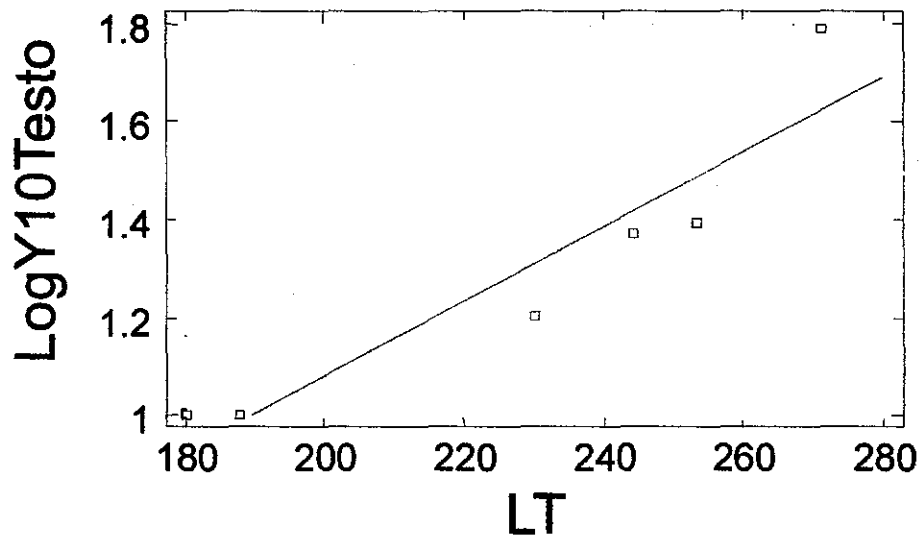


Figura 42. Relación de la Testosterona con la talla de machos del lagarto americano (*A. mississippiensis*) y la longitud total. ($\text{LogY}+10\text{Testosterona} = -0.431632 + 0.00757955 \cdot \text{LT}$; $R^2 = 87.5582$; $P = 0.0061$).

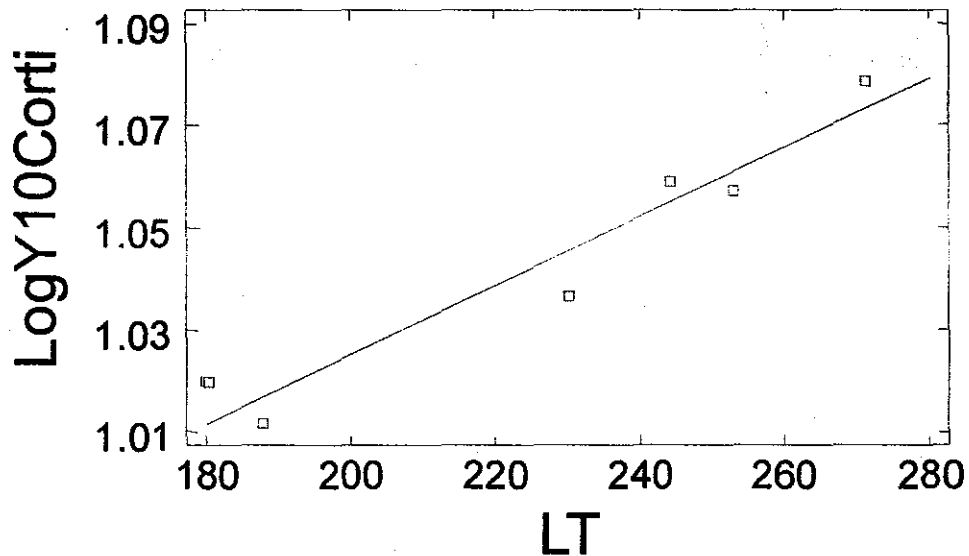


Figura 43. Relación de la Corticosterona con la talla de machos del lagarto americano (*A. mississippiensis*) y la longitud total. ($\text{LogY}+10\text{Corticosterona} = 0.889506 + 0.000677905 \cdot \text{LT}$; $R^2 = 92.6021$; $P = 0.0021$).

No existen estudios de comportamiento relacionado con las hormonas sexuales y la hormona de estrés en cocodrilianos, pero se puede inferir que al menos en *C. acutus*, las concentraciones de hormonas sexuales y de estrés dependen de las condiciones en que se encuentren, así como de la talla. Altos niveles de Testosterona que aumentan con la talla, se relaciona con la dominancia, al igual que en cautiverio la disminución de la Corticosterona de machos. En el caso de las hembras las condiciones en que se encuentran indican diferencias en comportamiento. Las HC utilizan el sistema jerárquico al igual que los machos, por tal razón, las concentraciones de Corticosterona disminuyen según el aumento de talla. Las HVS, en cambio, el estrés aumenta según el aumento en talla, lo que se relaciona con la condición de proporción de sexos, alto sesgo para los machos en estado silvestre, además de la falta de áreas de anidación.

Influencia de los parámetros físicos del ambiente en las concentraciones mensuales de las hormonas reproductivas y de estrés durante el ciclo reproductivo.

En cocodrilos, no existen estudios donde se correlacione las hormonas sexuales y la de estrés para evaluar el efecto y que factores físicos del ambiente tienen influencia en la reproducción. En muchos estudios se ha sugerido que ciertos parámetros afectan o influyen en la reproducción o en el ciclo reproductivo. En la tortuga de desierto, por ejemplo se ha correlacionado la temperatura anual y el patrón de lluvia con los niveles hormonales (Lance y Rostal, 2002).

Los cocodrilianos son un grupo que se origino del mismo grupo que los dinosaurios y la aves y se considera que presentan más relación con las aves que con los reptiles (Brochu, 2001; Lance, 2003), por lo que presentan diferencias de los anteriores: Los cocodrilianos se derivan del tronco de los

arcosaurios primitivos, mismo que dio origen a las aves; presentan pulmones con volumen a diferencia de los otros reptiles, la dentición es de tipo tecodonta, única dentro de los reptiles, el corazón presenta cuatro cavidades (con un foramen de paniza) y el resto de los reptiles tres cavidades, un ventrículo y dos aurículas; el cerebro medio el es más desarrollado dentro de los reptiles, lo que está relacionado con el comportamiento, (comportamiento social y reproductivo más complejo, incluyendo cuidado maternal); también existen diferencias anatómicas con los reptiles que están relacionadas con los dinosaurios y con las aves, entre otros. Por esta razón el estudiar el orden Crocodylia puede presentar similitudes y diferencias del grupo de reptiles en general, lo que es importante tomar en cuenta.

Existen diversas investigaciones en reptiles donde se ha estudiado si el ambiente presenta relación con la reproducción por medio de estudio de gónadas y hormonas sexuales de diferentes especies. En algunos casos se ha determinado la influencia del fotoperiodo y la temperatura en la reproducción de varias especies de reptiles (Angelini et al., 1976a; Angelini et al., 1980); la temperatura (Aldridge, 1975; Weil y Aldridge, 1979), la estacionalidad (Aldridge y Metter, 1973; Fleming y Hooker, 1975; Telford, 1970) y también se ha determinado que la temperatura es el factor más importante y el fotoperiodo es secundario o refuerza la influencia del ciclo reproductivo en la reproducción de las lagartijas del género *Lacerta*, grupo con órgano fotosensible (glándula pineal) (Angelini et al., 1976a; Angelini et al., 1980). De forma contraria, los grupos en los que no se ha detectado la influencia del fotoperiodo, como el caso de las serpientes de jardín (*Thamnophis sirtalis parietalis*) (Hawley y Aleksuk, 1975) y de cascabel (*Crotalus viridis*) (Aldridge, 1975), sin glándula pineal, el fotoperiodo no tiene influencia en el ciclo reproductivo. Lo que se podría esperar en cocodrilianos, de los que se piensa, no presentan órgano fotosensible (Lance, 2003). Por lo tanto la temperatura y el fotoperiodo son factores ambientales importantes en la reproducción de reptiles en general. Además de

estos, otro factor que puede influir en la reproducción de reptiles es la altitud (Licht y Gorman, 1975; Goldberg, 1974).

En los cocodrilianos se ha relacionado la estacionalidad con el comportamiento (Garrick y Lang, 1977; Thorbjarnarson y Hernández, 1993b), donde la ecología reproductiva está limitada por la disponibilidad de agua (Thorbjarnarson, 1994); la anidación con los niveles de agua y la temporada de lluvias (Thorbjarnarson y Hernández, 1993a), el ciclo reproductivo con la temperatura anual (Lance, 1987) y las concentraciones hormonales con el patrón anual de lluvia (Kofron y Steiner, 1994). Es bien conocido que la temperatura tiene influencia en la reproducción de los cocodrilianos, pero debido a la carencia del órgano fotosensible, presente en la mayoría de las lagartijas, la glándula pineal, se piensa que la reproducción es independiente del fotoperiodo en los cocodrilos (Lance, 2003). Por lo tanto, una meta de este estudio es comprobar si la intensidad de luz (irradianza) presenta una relación directa con el ciclo reproductivo de *C. acutus* en estado silvestre y cautiverio.

Es importante mencionar, que al menos en el cocodrilo de nueva guinea (*C. novaeguineae*) se sugiere que el factor que gobierna el ciclo reproductivo es la precipitación anual, y que la temperatura y fotoperiodo se consideran uniformes durante todo el año, por lo que no influyen, a diferencia del lagarto americano, en el que la temporada de postura, presentó una correlación negativa con la temperatura durante la primavera (Marzo-Mayo; $P < 0.001$) (Hall, 1991). Además se conoce la influencia de la temperatura y la latitud en la postura de esta especie (Lance, 1987).

Según los resultados del presente estudio, de los factores físicos estudiados, existen diferencias en la influencia de la reproducción y/o estrés según sea el caso, en machos o hembras o estado silvestre y cautiverio (ver gráficos en apéndice). Los resultados comprueban que la irradianza, en este caso, expresado como intensidad y voltaje, tiene influencia en la reproducción

de la especie en estudio, factores que son más importantes en ejemplares en estado silvestre y no influyen o lo hacen débilmente en cautiverio.

Influencia de los factores físicos del ambiente en el ciclo reproductivo y el estrés en machos

De acuerdo con los resultados de la ordenación, la reproducción y el estrés en los MVS se ve influida principalmente por la temperatura, la cual correlacionó con el eje uno. La temperatura media, mínima y máxima del aire y agua, se comportan de la misma manera, pues la influencia es la misma para las dos hormonas. La disminución de estos factores influye en el aumento de las concentraciones hormonales. A estos factores, se les puede agregar la temperatura del agua en el momento de la captura, la que influye de la misma manera. La oscilación térmica del aire influye de forma inversa a los demás factores de temperatura. El incremento en la amplitud de este factor influye en el aumento de las concentraciones de Testosterona y de estrés (Corticosterona), por lo que el incremento en la diferencia de la temperatura máxima y mínima del aire, sugiere que un rango amplio de temperaturas (máxima y mínima), favorecen en parte, a la reproducción, pero influyen más en el grado de estrés. La disminución en el nivel del agua, influye en la disminución de la Testosterona. Esto sugiere el grado de asincronía de los machos con las hembras, pues, en los machos los niveles más altos de Testosterona se presentan al principio del ciclo, cuando el nivel de agua es más alto (y las temperaturas más bajas), hasta el grado de que, a un nivel de agua relativamente bajo (marzo) ocurre la cópula (Estradiol de hembras alto). Lo anterior se comprobó con la relación de la temperatura de la cloaca con el apareamiento (marzo), cuando el nivel del agua va en disminución (ver figuras en el apéndice y figura 34). De la misma manera, el estrés aumenta cuando disminuye el nivel del agua, a un nivel más estrecho que la Testosterona en MVS (Cuadro XI, figura 34), lo que también tiene relación con el incremento de

la temperatura, además de ciertos comportamientos jerárquicos de los machos, como el patrullaje del territorio y defensa, formación de grupos reproductivos (un macho con una o más hembras) y el comportamiento previo a la cópula y la cópula. Por esta razón los efectos son mayores en el estrés que en la Testosterona. El eje dos no aporta información relevante.

El eje tres, sólo explica un poco la influencia de la diferencia de la temperatura del aire y agua y la temperatura de la cloaca con la Testosterona (Cuadros VII y XI). La diferencia de estas temperaturas sugieren que la disminución de la amplitud de temperaturas favorece en parte, el aumento de las concentraciones de Testosterona, lo mismo que ocurre con la temperatura de la cloaca en el momento de la captura, cuando esta disminuye, las concentraciones de Testosterona se elevan (Figura 35).

El eje uno de la ordenación para los machos en cautiverio muestra que la temperatura es el factor que tiene mayor influencia en el ciclo reproductivo, en este caso expresada como la temperatura de la cloaca (Cuadro VIII), pero la hormona de estrés y la Testosterona se ven influenciadas de manera opuesta por la temperatura de la cloaca (Figura 36), a diferencia de lo que ocurre con los machos en estado silvestre. Esto sugiere, que la disminución de este factor favorece la producción de Testosterona, durante el ciclo reproductivo y rige el comportamiento reproductivo de los machos adultos de la especie (Garrick y Lang, 1977) y otras especies (Lang, 1989), pues tienen que patrullar el territorio (acuático) durante la temporada reproductiva. Además por esta razón los MC mantiene la temperatura promedio de la cloaca más alta que las HC, lo que tiene relación con mayor tiempo de permanencia en el agua (Figura 23), y a su vez, la utilización del comportamiento jerárquico, cuidando el área de apareamiento. De forma contraria, el estrés aumenta debido a que, los MC no pueden hacer uso de los parámetros físicos del ambiente libremente (diferentes micro-ambientes) para termoregular (Figura 36) (Grigg y Seebacher, 2001)

como es el caso de los MVS, los que se ven influidos también por otros factores además de la temperatura (Figura 34).

El eje dos muestra que debido a las condiciones de cautiverio los machos, no pueden hacer el uso debido de los micro-ambientes, por lo que la irradiación expresada como intensidad y como voltaje actúan en una forma muy ligera. Además de que el aumento de la intensidad y voltaje promedio, actúan, producen un aumento ligero en la Testosterona y en la Corticosterona y que la influencia de la irradiación expresada como el mínimo del voltaje y la diferencia entre la temperatura del agua y aire, muestran que el aumento de luz (intensidad) disparan el desarrollo gonádico y la disminución en los niveles de Testosterona, y pueden dar inicio la espermatogénesis. El aumento entre estas diferencias (amplitud) de temperaturas (diferencia entre agua y aire), muestra que la utilización de estos dos factores les favorece, permitiéndoles termorregular y mantener la temperatura corporal dentro del rango óptimo para que se puedan reproducir satisfactoriamente. Esto permite explicar la importancia de la temperatura corporal, factor de mayor influencia en MC y también que el comportamiento reproductivo (defensa de territorio, cortejo y apareamiento) obliga a los machos a depender de la temperatura corporal, por estar obligados a termorregular entre la temperatura del estanque y el ambiente (incluye la radiación solar).

El eje tres, explica un bajo porcentaje de variación, refuerza la hipótesis de que los machos en cautiverio están sujetos a la restricción de diferentes micro-ambientes, se ve reforzada por la correlación de la temperatura (Cuadro VIII), algo que ocurre también con las HC y por los resultados obtenidos en MVS y HVS, los que pueden hacer uso de diferentes micro-ambientes y en los que diversos factores físicos se correlacionan con el ciclo reproductivo.

Influencia de los factores físicos del ambiente en el ciclo reproductivo y el estrés en hembras

En las HVS, el eje uno muestra que la reproducción se ve influenciada principalmente por la temperatura, expresada como temperatura del agua, aire (T_a y T_{air}), y temperatura de la cloaca, aire y del agua al momento de la captura (T_{cloaca} ; T_{aire} ; T_{agua}). Estos factores indican una correlación estrecha con el ciclo reproductivo y a su vez indican que el aumento de la temperatura, ya sea la temperatura promedio, la mínima o la máxima, afectan las concentraciones de hormonas sexuales y de estrés durante el ciclo reproductivo provocando su disminución. Además, el que actúen de la misma forma los promedios, máximos y mínimos de la temperatura, indica que es el factor más importante en la reproducción de hembras en estado silvestre, además de ser un indicador de la adaptación del ciclo reproductivo de la especie a la variación climática en esta latitud (temperatura). El factor temperatura produce un desfase de la postura en las hembras del lagarto americano, debido a la latitud (Lance, 1989). Un ejemplo de lo anterior se puede observar por que la temperatura mínima es importante, ya que se ha determinado en el aligador americano, que la temperatura del ambiente es determinante en la actividad de la especie, cuando los promedios de temperatura del ambiente son menores a $16\text{ }^{\circ}\text{C}$, la especie no se encuentra activa. Además cuando la temperatura ambiental supera este límite, la actividad alimenticia y sexual dan inicio (Lance, 2003), lo que marca grandes diferencias entre la especie en estudio y el lagarto americano, puesto que *C. acutus* se encuentra activa todo el año.

Por otra parte, la humedad del ambiente influye de manera diferente a la temperatura. La humedad expresada como el promedio de humedad relativa y humedad no compensada (Uncomp), indican que el aumento de la humedad aumenta las concentraciones de Estradiol y el estrés durante el ciclo reproductivo de hembras en estado silvestre. Esto muestra que los valores promedio de la humedad se mantienen en un rango que es óptimo para las

HVS, lo que favorece la reproducción, algo similar a lo que ocurre con la temperatura. La humedad expresada como el máximo y mínimo de punto de rocío y humedad absoluta y el mínimo de humedad no compensada (uncomp) (el programa no aporta datos de la humedad no compensada, máxima, ni humedad relativa máxima), producen una disminución de las concentraciones de las dos hormonas, lo que marca la diferencia. Por lo tanto, la capacidad reproductiva se ve disminuida así como el estrés. Lo anterior sugiere que los valores mínimos de estos factores físicos del ambiente, en el caso del valor mínimo, cuando aumentan pueden disparar o favorecer la maduración de gónadas y la producción del Estradiol. También los valores mínimos afectan provocando estrés en la temporada más fría, durante el invierno. Los valores máximos de humedad sugieren el fin de la temporada reproductiva provocando la regresión de las gónadas y bajando o terminando con la producción de Estradiol en las HVS y del estrés.

El aumento del promedio de la irradianza, expresado como voltaje (el programa no produjo datos de voltaje máximo), produce un incremento en las concentraciones mensuales de ambas hormonas durante el ciclo reproductivo. Esto indica que la irradianza tiene influencia en el ciclo reproductivo y en el estrés. De forma contraria el aumento en el promedio de la irradianza expresada como iluminación, produce una disminución e influye en la disminución de la capacidad reproductiva, lo cual refuerza la sugerencia de que la regresión de las gónadas inicia con el aumento de la irradianza y por consecuencia según el aumento del fotoperiodo (periodo diario de luz que reciben los organismos) y también aumenta el estrés, lo que tiene relación con el aumento de la temperatura (Figura 38).

La oscilación térmica del agua y aire y la diferencia entre la temperatura del agua y del aire (temperatura del aire menos la del agua), se comportan de manera similar. El aumento de estos factores indica una mayor amplitud en las diferencias, entre temperaturas máximas y mínimas y la diferencia entre la

temperatura del agua y del aire, favorecen la reproducción, aun cuando el estrés se incrementa, lo que indica el inicio de la etapa reproductiva y el fin de la misma, así como el rango óptimo de temperatura de la especie y la posibilidad de hacer uso de diferentes micro-ambientes para obtener la temperatura corporal optima (Figura 38; Cuadro IX).

La disminución del nivel de agua (los valores están expresados de forma inversa. Ver métodos) produce una influencia positiva en el ciclo reproductivo, pues las HVS se reproducen cuando bajan los niveles del agua y ponen mientras el nivel se mantiene bajo, lo cual tienen relación con la temporada seca, tiempo en el que se aparean y anidan (Hall y Johnson, 1987; Thorbarnarson, 1994; Thorbarnarson y Hernández, 1993a) para que las crías nazcan cuando el nivel de agua se incrementa (Thorbarnarson y Hernández, 1993a), durante el temporal de lluvia. En el caso de la salinidad, los resultados sugieren que el aumento de la misma afecta la reproducción y produce estrés (Figura 38). Es importante hacer notar el bajo número de muestras en HVS y que sólo se tienen datos de tres meses, por lo que pudiera ser que exista un sesgo en los resultados, razón por la que se recomienda realizar más investigaciones al respecto con HVS.

Los resultados del eje dos en HVS, indican la relación que existe entre los factores que se correlacionan con los ejemplares que presentaron las concentraciones más bajas, lo contrario que ocurre con los que presentaron las concentraciones más altas (Figura 38). En las hembras con concentraciones más altas la talla influye un poco (Cuadro IX), el aumento en talla influye en el aumento de Estradiol y de estrés, de una forma ligera. La correlación de las temperaturas mínimas del agua y del aire con el eje dos, muestran que al aumentar la temperatura ambiental mínima, se dispara la producción de Estradiol y por consecuencia el crecimiento de las gónadas. Sin embargo, al aumentar la temperatura del agua y del aire aumenta el estrés, lo que puede sugerir que si existen temperaturas extremas el estrés aumenta, por lo que la

especie mantiene una temperatura corporal óptima durante el ciclo reproductivo (Figura 44). El eje tres, confirma en parte los resultados con el eje dos, pues los valores se contraponen (son inversos) a los del eje uno.

Para las hembras en cautiverio, la situación es diferente. Ni la humedad, ni la irradiación tienen influencia en el ciclo reproductivo, sólo el voltaje aparece en el eje tres el cual explica un bajo porcentaje de la variación de los datos. Sólo la temperatura resultó ser el factor determinante en la reproducción y el estrés. El incremento de la temperatura máxima del agua, afecta negativamente el ciclo reproductivo, pero a su vez disminuye el estrés. Lo anterior indica que la especie, de alguna forma, se tiene que adaptar o se ve obligada a un rango específico de temperaturas, al menos hacia la temperatura máxima, lo cual no ocurre en la condición silvestre (Figura 39).

El eje dos, sólo se correlaciona con el tiempo que duró la extracción de las muestra de sangre en cada ejemplar, produciendo un incremento de estrés, lo cual se analizó por separado y no fue significativo.

El eje tres muestra que el incremento en la temperatura máxima del aire, favorece en parte al ciclo reproductivo y a su vez produce el incremento del estrés. Con relación al estrés, el eje uno, muestra que el comportamiento del Estradiol y la Corticosterona son opuestos (Cuadro XIV), por lo que el incremento de la temperatura del agua aumenta el estrés y disminuye la capacidad reproductiva (Cuadro XIV). Con estos resultados nos podemos percatar de que la condición de cautiverio afecta negativamente a las hembras las que de alguna forma deben de adaptarse al ambiente extremo (temperatura máxima), de que deben de hacer uso, permaneciendo fuera del agua cuando ocurre la temperatura máxima y utilizando los estanques por la noche o viceversa según la temperatura del ambiente y estanques (Grigg y Seebacher, 2001). Lo anterior marca importantes diferencias entre hembras en ambas

condiciones y muestra la capacidad de adaptación de las HVS al ambiente y las grandes limitaciones del cautiverio para las HC.

Desafortunadamente no se conocen estudios similares en reptiles y específicamente en cocodrilianos, para poder hacer comparaciones. Sólo se conocen algunos experimentos con lagartijas en las que se ha comprobado que la temperatura es el factor más importante en machos (Angelini et al., 1980) y hembras (Botte et al., 1978), donde el fotoperiodo juega un papel sinérgico secundario. Por otra parte, es importante hacer notar que no se conocen estudios sobre el estrés durante el ciclo reproductivo de cocodrilos, ni estudios que relacionen factores ambientales con el estrés (Corticosterona). En el caso de los ejemplares de cautiverio, la temperatura resultó ser el factor ambiental determinante en la influencia de la reproducción y el estrés, con lo que se comprueba que, de los factores estudiados, la temperatura es el factor ambiental más importante en la reproducción y el estrés de *C. acutus* estado silvestre y cautiverio. La influencia de estos factores varía según el sexo y su estado (silvestre o cautivo) y actuando de manera inversa en machos y hembras (asincronía). Por último en estado silvestre (machos y hembras), la influencia de varios factores se debe a las posibilidades de utilización de diferentes micro-ambientes y en cautiverio la sola influencia de la temperatura, se debe a las limitantes de utilización de los micro-ambientes. En ambos casos se ven implicados diferentes tipos de comportamientos como los jerárquicos, reproductivos y sociales, los que a su vez influyen en la utilización de los micro-ambientes y por consiguiente la influencia del ambiente en el ciclo reproductivo y de estrés se refleja de diferente manera.

Comparación de los ciclos reproductivos y de estrés entre sexos sitios y la influencia de ambiente

En el caso de los machos el ambiente influye de una forma muy diferente debido a las condiciones, posibilidad de explotar los diferentes micro-ambientes por los MVS y la limitante de espacio y micro-ambientes en los MC. Por lo que, en estado silvestre la temperatura es el factor más importante en la influencia del ambiente en el ciclo reproductivo, y la irradianza, así como la humedad son factores secundarios que actúan de manera sinérgica. En cambio en los MC, sólo la temperatura es el factor determinante en la influencia del ciclo reproductivo, por lo que la baja influencia de la irradianza y la humedad indican la imposibilidad de los MC de hacer uso o de que estos factores influyan en la reproducción, lo que a su vez sugiere que estos deben de hacer uso del comportamiento termorregulatorio para poder aproximarse a obtener una temperatura corporal óptima (o aproximarse a la temperatura óptima). En el caso de machos de la serpiente de agua común (*Nerodia spideon*), sólo el crecimiento gonádico y desarrollo de espermatogénesis presentaron relación con la temperatura, no así con el fotoperiodo (Weil y Aldridge, 1979). Según los datos de este estudio, el cautiverio y la restricción de espacio influyen en que la irradianza y la humedad no actúen o influyan de una manera muy ligera en MC. En el caso de lagartijas (*Lacerta sicula*), se sabe que el fotoperiodo actúa de forma sinérgica con la temperatura durante el desarrollo testicular (Angelini et al., 1976a).

Las diferencias en la influencia del estrés, juegan un papel determinante entre los MVS y MC. Esto sugiere que se tiene relación con lo ya mencionado, a lo que se le puede agregar el hacinamiento y el comportamiento jerárquico, lo que cambia totalmente el patrón entre el estado silvestre y el cautiverio, como se hace notar con el análisis y discusión de la relación de la temperatura de la cloaca con la reproducción. Lo anterior se puede observar en las figuras (34, 36

y 37), donde la Corticosterona y Testosterona tienen una influencia inversa de los factores físicos, lo que no ocurre en estado silvestre.

Las hembras al igual que los machos presentan diferencias similares respecto a que la temperatura es el factor más importante y en HVS el la irradianza y la humedad son factores sinérgicos que influyen el ciclo reproductivo, siendo secundarios. Lo anterior se comprueba por que también en las hembras en cautiverio, al igual que los MC la temperatura es el factor determinante en el ciclo reproductivo y de estrés, lo que es producido por el hacinamiento y otras condiciones que operan en los machos en cautiverio.

Gracias a estos resultados, por medio de la comparación en los dos sitios de estudio, se determinó con claridad que la temperatura es el factor determinante en la reproducción y estrés de la especie en estudio. Además, la irradianza y humedad del ambiente son factores actúan como en forma sinérgica con la temperatura, de forma secundaria. Lo anterior se desconocía en el orden Crocodylia, lo cual sugiere que los cocodrilos tienen órgano fotosensible. Recientemente, Franklin y Seebacher (2003) citan un comentario personal de Daphne Soares, quién descubrió la glándula pineal en el lagarto americano (*A. mississippiensis*).

Comparación entre sexos en estado silvestre

Aún cuando el factor principal que influye en el ciclo reproductivo de machos y hembras en estado silvestre es, la temperatura. Los factores sinérgicos secundarios son la irradianza y la humedad, de los cuales existen diferencias importantes en la forma en que actúan dichos factores. La temperatura del aire y agua influyen de manera inversa en ambos casos, al igual que la irradianza y la humedad, oscilación del aire, nivel de agua y temperatura del agua al momento de la captura (Cuadros VII y IX). Esto indica

que, en parte, el comportamiento social, la dominancia jerárquica y la utilización de los micro-ambientes por parte de ambos sexos es diferente. Además, existen otras diferencias como la oscilación del agua y la diferencia entre la temperatura del agua y el aire, las que son importantes para las hembras y no así para los machos. En las hembras, esto marca grandes diferencias en el comportamiento termorregulatorio, por lo que las hembras termorregulan con mayor utilización del agua y el aire y los machos pueden estar más restringidos a la termorregulación con el agua, debido a diferentes factores de comportamiento reproductivo y social. La termorregulación, por medio de la utilización del agua y aire, por la hembras se ve reflejada por la correlación de la temperatura de la cloaca y del agua y aire al momento de la captura, en cambio los machos solo presentan correlación con la temperatura del agua. Por último la salinidad tiene una influencia negativa en las concentraciones de las hormonas sexual y de estrés en las hembras, las que disminuyen según el aumento de dicho factor fisicoquímico. Las diferencias mencionadas entre la influencia de los diferentes factores o la influencia inversa de estos factores entres entre sexos, es un claro ejemplo de que el ambiente influye de manera diferente e influye produciendo una asincronía en el ciclo reproductivo de *Crocodylus acutus* a diferencia de lo que ocurre con el lagarto americano (Lance, 1989).

Comparación entre sexos en cautiverio

Aún cuando la temperatura es el factor más importante durante la reproducción y en el estrés de machos y hembras en cautiverio, existen diferencias notables. En los machos, la temperatura de la cloaca es el factor de mayor influencia, lo que determina y soporta nuevamente la hipótesis de que los machos, por diferentes razones, están obligados a permanecer mas tiempo en el agua. En cambio las hembras, aunque la temperatura máxima del agua es el factor más importante, el aumento en la temperatura corporal (cloaca) aumenta el grado de estrés y su disminución produce el aumento de las concentraciones

de Testosterona en machos, lo que indica, que los machos presentan un ciclo asincrónico hormonal con las hembras (lo que también ocurre en estado silvestre). Por esta razón, la producción de Testosterona se ve afectada con el aumento en la temperatura. En las hembras en cautiverio el aumento de la temperatura máxima del aire, es el factor que afecta la producción de Estradiol, por lo que el pico máximo se produce antes de que ocurra la temperatura máxima durante el ciclo reproductivo. Lo anterior, también es sugerido por la correlación de la temperatura máxima del aire en el eje tres y por el voltaje máximo. Es este caso la Corticosterona de las hembras no se ve tan afectada por este factor. Otra diferencia es, que las hembras presentan mayor influencia de la temperatura y según los resultados, la humedad y la irradianza no actúan, solo expresado como voltaje (valores máximos). En cambio, en los machos la irradianza influye de manera diferente, pues no influye el voltaje máximo, en cambio el incremento promedio y el mínimo del voltaje, indican el grado de asincronía, marcando el rango óptimo de la intensidad de luz y el fin de la producción de Testosterona y por consecuencia el inicio de la espermatogénesis en los machos. Además, la humedad e irradianza, aún cuando presentan una influencia débil, no como ocurre en los ejemplares de en estado silvestre, actúan de manera sinérgica, algo que no ocurre en las hembras en cautiverio, con excepción del voltaje máximo. Estas diferencias en la influencia de algunos factores y la influencia inversa de otros factores entre sexos, también indica la asincronía del ciclo reproductivo entre sexos, al igual que ocurre en estado silvestre, además de las diferencias en la utilización de los micro-ambientes.

En el caso de la Manzanilla (estado silvestre). Es importante señalar al respecto que, el efecto que se observa, puede estar influenciado por que el año en que se realizó el estudio, ocurrió una sequía extrema en toda la costa del estado, lo que afecto de forma severa a la Manzanilla produciendo que sólo quedara un canal de aproximadamente 1.2 km con agua disponible para toda la población. Además la salinidad es un indicador de la sequía extrema en el 2001

(salinidad mayor a $15 \mu\text{L L}^{-1}$). La sequía incrementó la salinidad en el estero de la Manzanilla, que generalmente se mantiene en menos de $10 \mu\text{L L}^{-1}$ y en temporada de lluvias es cero o cercana a cero, factor fisicoquímico que influyó en el ciclo reproductivo de HVS.

En las HC, a diferencia de las HVS, debido a lo reducido de los encierros y lo pequeño de los hábitat y el comportamiento jerárquico en cautiverio y la temperatura de los estanques más elevada de lo normal, las HC no pueden hacer uso de este factor (temperatura del agua) o se ven limitadas para regular el grado de estrés. Como se observa en la figura 44, la temperatura promedio óptima de *C. acutus* en estado silvestre y cautiverio durante el ciclo reproductivo se mantiene entre los 23.9 y 28.4 °C.

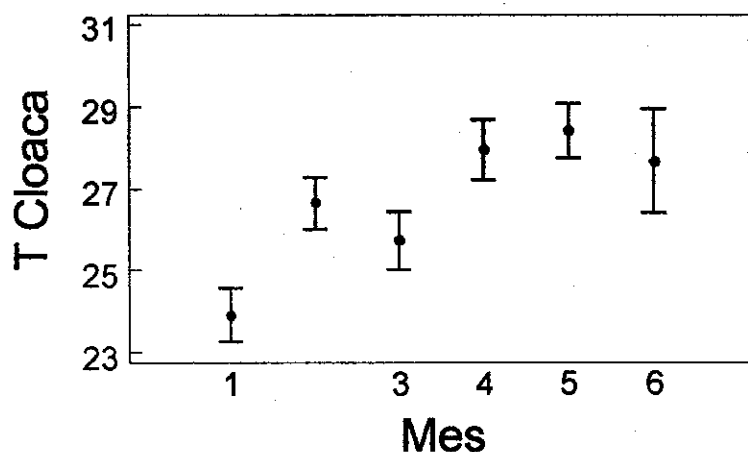


Figura 44. Temperatura Corporal Óptima de *Crocodylus acutus* durante el Ciclo Reproductivo. Promedios Combinados de la Temperatura de la Cloaca de machos y hembras en estado silvestre y cautiverio. (MVS promedios de enero a junio; MC y HC promedios de enero a mayo; HVS promedios de enero, febrero y mayo). 1.- Enero; 2.- Febrero; 3.- Marzo; 4.- Abril; 5.- Mayo; 6.- Junio.

Análisis de las relaciones térmicas con el ciclo reproductivo de *C. acutus* y comportamientos implicados

Según diferentes experimentos, se ha sugerido que la temperatura es determinante en el proceso del ciclo reproductivo de diferentes especies de reptiles (Aldridge, 1975; Angelini y Picariello, 1978; Angelini et al., 1976a,b; 1980; Noeske y Meier, 1977; Weil y Aldridge, 1979). En cocodrilianos se ha comprobado que la temperatura del ambiente influye en el ciclo reproductivo (Lance 1987; 2003). Además se sabe que diferentes tipos de comportamientos, ya sean social y reproductivo pueden afectar las relaciones térmicas de los cocodrilianos (Grigg y Seebacher, 2001), lo que ha sido comprobado en el presente estudio.

Según los resultados del presente estudio, la temperatura es el factor más importante en la reproducción de *C. acutus* en estado silvestre y cautiverio, la cual influencia la reproducción y afecta a la especie provocando estrés durante el ciclo reproductivo, junto con otros factores. Según los análisis de temperatura corporal (cloaca), se comprueba la importancia de la temperatura y la adaptación de la especie al ambiente por medio de diferentes comportamientos.

Se han realizado diversos estudios en cocodrilianos donde se estudia la temperatura corporal (Lang, 1987b; Grigg y Seebacher, 2001; Grigg et al., 1998; Seebacher y Grigg, 2001; Seebacher et al., 2003a,b) pero en ninguno se ha determinado que el comportamiento de termorregulación se ve comprometido por el comportamiento reproductivo, produciendo una disminución de la temperatura corporal durante la temporada apareamiento, como se observa en el presente estudio. Se sabe que la temperatura corporal es controlada diariamente por medio del comportamiento termorregulatorio (Grigg y Seebacher, 2001; Lang, 1987b), y en diferentes estudios durante el ciclo reproductivo se ha comprobado que la temperatura global tiene relación con

ciertos eventos reproductivos (Lance 1987; Lance 2003, Lang, 1987b), debido a que los cocodrilos son heterotermos (Lang, 1987b) y necesitan de calor externo para mantener los procesos fisiológicos a un nivel óptimo. Existen otras formas en las que los cocodrilianos pueden elevar la temperatura corporal. Se sabe que con la inoculación bacteriana, la temperatura corporal se puede incrementar (Lang, 1987b). Estudios recientes muestran que el lagarto americano puede elevar fisiológicamente la temperatura corporal hasta cierto grado (Seebacher et al., 2003b), lo que no ha sido comprobado en otras especies. Es importante señalar que el lagarto americano, es la especie con distribución más nortea del orden Crocodylia, por lo que es una especie que se desarrolla en altas latitudes, desde los 35° N hasta los 25° S (Lance, 2003), donde la especie se ve obligada a la estivación por 4 o 6 meses, debido a que la temperatura media del aire durante este tiempo, es menor a los 16°, temperatura mínima de actividad de esta especie (Lance, 2003). *C. acutus* por otra parte, se distribuye en latitudes menores y en general la especie se ha visto activa todo el año. Esta especie se distribuye en la isoterma de los 18° C del mes de enero (Casas-Andreu y Reyna-Trujillo, 1994), lo que marca grandes diferencias con el lagarto americano.

Los resultados indican que en los machos en ambas condiciones, la Testosterona disminuye según el aumento de la temperatura corporal (Figuras 30 y 31) y la temperatura del ambiente (agua y aire) aumenta conforme avanza el ciclo reproductivo, ya que los niveles máximos de Testosterona los alcanzan en enero (Figuras 4, 5 y 28a,c). En las HC nos se detectó ningún efecto relacionado con la temperatura corporal. En las HVS Estradiol también disminuye conforme aumenta la temperatura corporal, lo cual tiene el mismo efecto que en los machos, según avanza el ciclo reproductivo la temperatura del ambiente (agua y aire) aumenta y el Estradiol disminuye después de la postura (Figuras 6, 7 y 28b) .

En el caso de los resultados de la temperatura corporal durante el ciclo reproductivo, sólo los MVS y HVS mostraron una disminución durante el mes de marzo. Según los estudios en otras especies, la mayor frecuencia de cópulas (etapa preovulatoria) ocurre con tres semanas o tres semanas y media (Lance 1989) o un mes de anticipación a la postura (Garrick y Lang, 1977). Lo que coincide con los más altos niveles de Estradiol en hembras de la tortuga Galápagos (Schramm et al., 1999) y en el lagarto americano (Lance, 1989). Se ha considerado que el momento de la ovulación podría ser un reflejo por el prolongado proceso del comportamiento de apareamiento (Lance, 1989).

La disminución de la temperatura de la cloaca en *C. acutus*, se considera que coincide con la temporada de mayor frecuencia de apareamientos en la especie, debido a que la mayor frecuencia de posturas ocurre a mediados de abril en cautiverio y a fines de abril y principios de mayo en estado silvestre (La Manzanilla). Además coincide con las mayores concentraciones de Estradiol de HVS, que tienen relación con la temporada máxima de apareamientos y a su vez coincide que este mismo proceso ocurre en el lagarto americano (Lance, 1987; 1989). La Corticosterona de HVS presentó relación con el Estradiol y el ciclo reproductivo con lo que se comprueba que marzo, es el mes de cópula de *C. acutus* en los sitios de estudio, ya que Thorbjarnason (1989) menciona que la temporada de reproducción varía según la región.

En cautiverio no se observó ninguna relación entre la temperatura de la cloaca de los machos con la temporada pico de apareamiento. En teoría, los encierros pequeños donde se realizó el estudio, permiten el calentamiento del agua en cada estanque, la cual es bastante alta cuando se compara con estado silvestre (Figuras 28a,b,c). Por otra parte se observó un comportamiento diferente al reportado por Seebacher y Grigg (2001), quienes reportan que el factor limitante en *Crocodylus johnstoni* y *C. porosus* son las áreas de asoleadero, en condiciones de semicautiverio. Por tal razón, los ejemplares dominantes no permiten que los subalternos alcancen la temperatura corporal

óptima, por lo tanto los dominantes mantienen una temperatura más alta que los subordinados en condiciones de semicautiverio en las especies mencionadas. Los autores antes citados, realizaron el estudio en estanques con dimensiones notoriamente mayores que en el sitio de estudio en cautiverio (Centro Reproductor de Cocodrilos en San Blas, Nayarit). En este estudio encontramos que los machos alfa permiten a la(s) hembra(s) dominante(s) permanecer dentro del estanque, pero no así a los subordinados, los que generalmente permanecen fuera del estanque y en el sol (en la mayoría de los casos), principalmente durante la temporada de apareamiento. Por estas razones (temperatura del estanque muy alta y el comportamiento jerárquico) se sugiere, que según los resultados obtenidos, los ejemplares en cautiverio no mostraron ninguna relación de la temperatura de cloaca con la temporada pico de apareamiento.

Tal como reportan Grigg et al. (1998), en cocodrilos adultos de *Crocodylus porosus* en condiciones de semicautiverio, la especie en este estudio (*C. acutus*), mantiene la temperatura media del cuerpo (cloaca) entre un rango específico durante el ciclo reproductivo. Los rangos de temperatura corporal media varía entre 20-30°C de hembras en cautiverio; 25-30 °C de hembras en estado silvestre; 19-31 de machos en cautiverio y 21-31 de machos en estado silvestre. Los resultados, difieren con lo que Lance (2003) comenta sobre el rango de temperatura corporal óptimo en cocodrilianos (25 y 35 °C). Por otra parte los resultados coinciden con que los cocodrilos de grandes masas son termoestables, con una variación de 1 o 2 grados centígrados (Grigg et al, 1998; Grigg y Seebacher, 2001), ya que el rango de los promedios totales de la temperatura corporal en *C. acutus* MVS es de 1.0 °C; de MC 1.4 °C; en las HC 1.5 °C, con excepción de hembras en estado silvestre con un rango de 2.6 °C. En general el rango de la temperatura media de *C. acutus* en nuestro estudio es muy reducido y es similar (con excepción de las HVS) a lo reportado por Grigg et al. (op. cit), en su estudio con *C. porosus*, quienes reportan rangos

de temperatura durante el verano e invierno entre 1.0 y 1.4 °C en animales mayores a los 660 kg.

La temperatura entre sitios y sexos indica que los machos en cautiverio mantienen la temperatura general más alta que las hembras en cautiverio y que los machos en estado silvestre ($P < 0.05$). Según las figuras de temperatura del agua en estado silvestre (Figura 28a,b) y cautiverio (Figura 28c) y las temperaturas corporales y temperatura del aire, en estado silvestre la especie utiliza la termorregulación por medio del agua y aire y radiación solar dependiendo de la temporada y en cautiverio la especie utiliza más la temperatura del aire, que la del agua, ya que mantienen la temperatura corporal media muy por debajo de la temperatura del estanque.

Con esto, surge otra pregunta: ¿Por qué razón las HC mantienen la temperatura media de la cloaca (cuerpo) más baja que en los machos? (Ver Figura 23). Seebacher y Grigg (2001) indican que los ejemplares dominantes mantienen la temperatura corporal más alta que los subordinados, evitando que éstos últimos tengan el tiempo necesario en las áreas de asoleadero. Lo contrario es observado en el sitio de cautiverio como ya se comentó anteriormente, sin embargo se sugiere que el comportamiento de termorregulación de HC es similar para *C. acutus* en estado silvestre. En cautiverio los machos alfa, permanecen más tiempo en el agua debido a que deben defender su territorio para completar el proceso reproductivo. Por esta razón, la temperatura media de la cloaca de MC es alta, además de que no presentan una disminución de la temperatura durante la temporada pico de apareamiento. Por otra parte, las HC pueden escoger su temperatura óptima y pueden tener un comportamiento de termorregulación libre a diferencia de los machos, que se sugiere, es similar a la especie en estado silvestre, con sus consecuencias debido a que la alta temperatura de los estanques, no permite que las HC muestren una disminución de la temperatura corporal durante la temporada de apareamiento.

Según los diferentes estudios realizados en cocodrilianos y otros reptiles, el comportamiento termoregulatorio depende de varios factores como la especie, tipo de hábitat, talla y estado reproductivo, alimentación, entre otros (Grigg y Seebacher, 2001), lo cual es manejado por clase de tamaño y o sexo según se necesite, ya sea asoleándose o volviendo al agua para mantener la temperatura óptima (Lang, 1987). Según resultados de este estudio, el comportamiento termoregulatorio se ve comprometido por el comportamiento reproductivo, lo cual provoca una disminución en la temperatura corporal durante la temporada de cópula de *C. acutus* en estado silvestre. Por tal razón, durante la temporada de apareamiento el comportamiento termoregulatorio pasa a segundo plano, siendo primordial el comportamiento reproductivo (marzo).

Relación entre talla y temperatura la cloaca

Los machos y hembras en cautiverio y las hembras en estado silvestre no mostraron ninguna relación entre la temperatura de la cloaca y la longitud hocico cloaca (LHC). Sólo los machos en estado silvestre presentaron una relación significativa entre la temperatura de la cloaca y LT. Los resultados en este estudio contrastan con los datos de masa y temperatura reportados por Girgg et. al. (1998). La temperatura corporal en los machos de *C. acutus* decrece cuando LT incrementa. Este efecto sugiere que los MVS adultos de *C. acutus*, según el aumentando de talla (masa corporal), prefieren temperaturas bajas además de ser termoestables.

Fotoperiodo y ciclo reproductivo

No se ha estudiado si el fotoperiodo influye en los cocodrilianos y se considera que es muy probable que este proceso no afecte la reproducción de este grupo de organismo por la falta de fosea pineal (órgano sensitivo a la luz) (Lance, 2003). Es importante señalar que en las especies donde se ha comprobado que el fotoperiodo tiene efecto, no se conoce si éste tiene influencia con el ciclo reproductivo. En general el fotoperiodo tiene relación con el ciclo reproductivo, pero de forma específica no es bien sabido. Se sabe que cuando los días son más cortos, la temperatura es más baja, y según el de tiempo de luz, la temperatura aumenta, lo cual indica una relación y una función específica con el ciclo reproductivo por medio de la estacionalidad. Existen varios tipos de ciclo reproductivo dependiendo de las especies de dentro de los reptiles, (Callard y Mei Ho, 1980) por lo que dependiendo de la latitud, altitud y tipo de hábitat, alimentación y talla, las especies se adaptan reproduciéndose varias veces o una vez al año, poniendo huevos o teniendo las crías vivas, produciendo poca o mucha descendencia.

El orden Crocodylia se distingue por reproducirse una vez al año, poner muchos huevos, vivir en latitudes no tan sureñas y norteñas como otros reptiles, lo que se determina por el clima, por lo que se distribuyen en las regiones intertropicales. Además se distinguen, por que la reproducción está sincronizada con la estacionalidad. Muchas especies se reproducen durante la temporada secas, cuando el fotoperiodo va en aumento (mayor tiempo de luz) al igual que la temperatura del aire, y además, la postura es previa o al inicio de la temporada de lluvias. Se sabe esto, por medio del comportamiento reproductivo en varias especies, como el cocodrilo del nilo (*C. niloticus*), el cocodrilo americano o caimán (*C. acutus*) y el lagarto americano (*A. mississippiensis*) (Garrick y Lang, 1977); por medio de la morfología del esperma y los tractos reproductivos en el cocodrilo de agua dulce (*C. siamensis*) (Kitiyant et al., 1994). Una excepción es el cocodrilo de nueva

Guinea (*C. novaeguineae*), especie en la que la anidación es durante la estación lluviosa (Hall y Johnson, 1987; 1991), el comportamiento reproductivo, se sugiere que está sincronizado con el inicio de la misma. Esto puede ser debido a que la temperatura y la lluvia y fotoperiodo son casi constantes en todo el año (Hall, 1991). Se considera que la reproducción varía en los trópicos y subtropicos siendo el nivel de agua, la alimentación y la temperatura los factores que influyen en subtropicos (Grigg y Seebacher, 2001; Lance, 1987).

Se ha comprobado en serpientes, grupo de reptiles que no presenta foseta pineal, que la reproducción no se ve influenciada por el fotoperiodo, sino por la temperatura (Aldridge, 1975; Weil y Aldridge, 1979; Hawley y Aleksik, 1976). En cambio en lagartijas (con glándula o foseta pineal) se ha comprobado que la temperatura y el fotoperiodo juegan un papel importante en la reproducción, siendo el fotoperiodo secundario, pero con efecto sinérgico junto con la temperatura (Angelini et al., 1976; 1980; Angelini y Picariello, 1978; Noeske y Meier, 1977). En el "caimán" *C. acutus*, se comprueba que el la irradianza, junto con la temperatura, juega un papel importante en el ciclo reproductivo de la especie y así como en el estrés afecta de diferente manera según las condiciones (machos o hembras / estado silvestre y cautiverio), pero este sinergismo se ve afectado o disminuido por las condiciones de cautiverio, con lo que se comprueba que la temperatura es el factor más importante en el ciclo reproductivo y el estrés de *C. acutus*, en ambas condiciones. Al igual que en la lagartija (*Lacerta s. sicula*) el fotoperiodo juega un papel secundario. En *C. acutus*, no en todos los casos influye en la reproducción o el estrés de igual forma o intensidad, por lo que también funciona sinérgicamente junto con la temperatura y otros factores. Es importante señalar que lo anterior ocurre en estado silvestre, pero en cautiverio las condiciones de hacinamiento y por consecuencia la imposibilidad de hacer uso del los diferentes micro-ambientes, explotados en estados silvestre, muestran que la irradianza y voltaje tiene un efecto muy disminuido en machos y hembras en cautiverio. Se considera que según los diferentes comportamientos, comprobados por los análisis de las

diferencias entre condiciones y los factores físicos, la especie puede hacer uso o adaptarse hasta cierto punto a la variación en temperatura del ambiente (agua, aire y la radiación solar). En cautiverio la temperatura resulta ser el factor más importante, en el que los ejemplares se ven obligados a explotar, por la restricción de espacio-área de asoleadero o sombra- y temperatura elevada de los estanques, áreas de anidación, etc., al factor temperatura. Por lo tanto el la irradianza, es un factor que, aún cuando actúa en forma sinérgica, es un factor secundario, que tiene poca influencia junto con la temperatura y humedad del ambiente.

CONCLUSIONES

La temperatura es el factor de mayor influencia y el más importante en *Crocodylus acutus* estado silvestre y cautiverio con diversos efectos según el sexo y la condición, además de ser el factor al que la especie puede adaptarse de diferentes maneras. La irradianza y la humedad, son factores secundarios, que actúan de manera sinérgica, principalmente en los ejemplares en estado silvestre. El hacinamiento disminuye o anula la posibilidad de explotar diferentes tipos de micro-ambientes en cautiverio, por lo que la temperatura es el factor determinante en la reproducción y estrés durante el ciclo reproductivo a diferencia del estado silvestre.

El que la irradianza tenga efecto en la reproducción, aún de manera secundaria o sinérgica, sugiere que *Crocodylus acutus* presenta glándula pineal, algo recientemente descubierto en *Alligator mississippiensis*.

Los factores físicos estudiados que tienen efecto en los machos en estado silvestre y cautiverio, actúan de manera inversa durante el ciclo reproductivo con respecto a las hembras, lo que en parte muestra la asincronía del ciclo entre sexos.

Existen diferencias entre el estado silvestre y cautiverio que indican que el manejo afecta las concentraciones hormonales y el estrés durante el ciclo reproductivo en cautiverio, produciendo altas concentraciones de Corticosterona, por lo que se concluye que el hacinamiento afecta de forma negativa a la especie.

En las hembras en estado silvestre y cautiverio, el Estradiol y la Corticosterona tienen relación directa con el ciclo reproductivo, con un pico máximo en Marzo, con excepción del Estradiol de las hembras en cautiverio, en las que la relación con el ciclo no es clara.

El comportamiento termorregulatorio de machos y hembras en estado silvestre se ve comprometido por el comportamiento reproductivo, lo que produce la disminución de la temperatura corporal durante la temporada de apareamiento (marzo).

El rango óptimo de temperatura corporal media de *Crocodylus acutus* en estado silvestre y cautiverio durante el ciclo reproductivo, es entre los 23.9 y los 28.4 °C.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Aldridge, R. D. 1975. Environmental Control of Spermatogenesis in the Rattlesnake *Crotalus viridis*. *Copeia* (3):493-496.
- Aldridge, R. D. and D. E. Metter. 1973. The Reproduction of the Western Worm Snake, *Carphohis vermins*, in Missouri. *Copeia*. (3):472-477.
- Angelini V. and O. Picariello. 1978. Autumn Photothermal Regimes and Spring Reproduction in the Female Lizard, *Lacerta sicula*. *Herpetologica* 34(3):298-302.
- Angelini F., O. Picariello and V. Botte. 1976a. Influence of Photoperiod and Temperature on the Testicular Activity of the Lizard, *Lacertas s. sicula* RAF. *Boll. Zool.* 43:111-123.
- Angelini F., O. Picariello and R. Molino. 1976b. The Regulation of the Reproductive Cycle of the Female Lizard, *Lacerta sicula sicula* RAF. *Monitore Zool.* 10:119-133.
- Angelini F., V. Botte and R. Boschi. 1980. The Regulation of the Reproductive Cycle in *Podarcis s. sicula* RAF. (Reptilia LACERTIDAE): Influence of the Refractory Period on the Springtime Testicular Activity. *Monitore Zool. Ital. (N.S.)* 14:27-39.
- Botte V, F Angellini and O. Picariello. 1978. Autumn Photothermal Regimes and Spring Reproduction in the Female Lizard, *Lacerta sicula*. *Herpetologica*. 34(3):298-302.
- Brochu C. A. 2001. Congruence between physiology, phylogenetics and the fossil record on crocodylians historical biogeography. In: Grigg, G. C., Seebacher, F. Franklin, C. E. (Eds), *Crocodylian Biology and Evolution*, Surrey Beatty, Chipping Norton, NSW. 9-28 p.
- Cabrera-Aldabe, A. 1997. Industrias Moreletii, S.A. de C. V. Memorias de la 4ta reunión regional del grupo de especialistas de cocodrilos de América Latina y el Caribe. Centro de Innovación Agroindustrial, S. C. Villahermosa, Tabasco. p 255-256.

- Callard I. P. and S. Mei Ho. 1980. Seasonal Reproductive Cycles in Reptiles. *Prog. Reprod. Biol.* 5:5-38.
- Casas Andreu, G. 1982. Anfibios y Reptiles de la Costa Suroeste del Estado de Jalisco, con Aspectos sobre su Ecología y Biogeografía. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias, UNAM. México. D. F. 316 p.
- Casas Andreu, G. y M. Guzmán A. 1970. Estado Actual de las Investigaciones Sobre Cocodrilos Mexicanos. México. Inst. Nac. Invest. Biol. Pesq., Serie. Divulgación. Boletín (3):52, 50 p.
- Casas Andreu, G y Antonio Rogel Bohena. 1986. Observaciones Sobre los Nidos y Nidadas de *Crocodylus moreleti* en México. *An. Inst. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Antón. México*, 13(1):323-330.
- Casas-Andreu, G. and T. Reyna-Trujillo. 1994. Climate and Distribution of *Crocodylus acutus* in the Mexican Pacific Coast. *Biogeographica*. 70(2): 69-75.
- CITES. 1992. Appendices I, II and III to the Convention on International Trade in Endangered species of Wild Fauna and Flora. September 30.
- COMACROM. 2000. Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de los Crocodylia en México. Primera edición. Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca, Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAP-INE. México Distrito Federal. 107 pp.
- Coutinho M., Z. Campos, F. Cardoso, P. Massara, and A. Castro. 2001. Reproductive Biology and its Implications for Management of Caiman *Caiman yacare* in the Pantanal Wetland, Brazil. In: Grigg, G. C., Seebacher, F. Franklin, C. E. (Eds), *Crocodylian Biology and Evolution*, Surrey Beatty, Chipping Norton, NSW. 229-243 p.
- Davis, L. M., T. C. Glenn; R. M. Elsey, H. C. Dessauer and R. H Sawyer. 2001. Multiple Paternity and Mating Patterns in the American Alligator, *Alligator mississippiensis*. *Molecular Ecology* 10:1011-1024.
- Diario Oficial. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-

Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Segunda sección. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Miércoles 6 de Marzo. 85 pp.

- Elsley R. M., T. Joanen, L. McNease and, V. A. Lance. 1990a. Stress and Plasma Corticosterone Levels in the American Alligator-Relationships with Stocking Density and Nesting Success. *Comp. Biochem. Physiol.* 95a(1):55-63.
- Elsley R. M., T. Joanen, L. McNease and, V. A. Lance. 1990b. Growth Rate and Plasma Corticosterone Levels in Juvenile Alligators Maintained at Different Stocking Densities. *The Journal of Experimental Zoology.* 255: 30-36.
- Elsley R. M., V. A. Lance, T. Joanen and, L. McNease. 1991. Acute Stress Suppresses Plasma Estradiol Levels in Female Alligators (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 100(3):649-651.
- Fleming T. H. and R. S. Hooker. 1975. *Anolis cupreus*: The Response of a Lizard to Tropical Seasonality. *Ecology.* 56(6):1243-1261.
- Fonseca Sans, N. y R. Berovides Calvo. 1999. First Breeding *C. acutus* in Manzanillo. CSG/SSC, IUCN. Newsletter. 12-13 pp.
- Franklin C. E. and F. Seebacher. 2003. The effect of heat transfer mode on heart rate responses and hysteresis during heating and cooling in the estuarine crocodile *Crocodylus porosus*. *The Journal of Experimental Biology.* 206: 1143-1151.
- Garrick L. D and J. W. Lang. 1977. Social Signals and Behavior of Adult Alligators and Crocodiles. *Amer. Zool.* 17: 225-239.
- Garrick L. D, J. W. Lang and H. A. Herzog, Jr. 1978. Social Signals of Adult American Alligators. *Bulletin of the American Museum of Natural History.* Vol 3: Article 3 New York. 153-192.
- Goldberg S. R. 1974. Reproduction in Mountain and Lowland Populations of the Lizard *Sceloporus occidentalis*. *Copeia.* (1):176-182.
- Grigg G. C and F. Seebacher. 2001. Crocodilian Thermal Relations In: *Crocodilian Biology and Evolution.* Edited by G. C. Grigg, F.

- Seebacher and C. E. Franklin. Surrey Beatty and Sons. Australia. 297-309.
- Grigg G. C, F. Seebacher, L. A Beard and D. Morris. 1998. Thermal Relations of Large Crocodiles, *Crocodylus porosus*, free-ranging in a naturalistic situation. Proc. R. Soc. Lond. 265: 1793-1799 pp.
- Hall P. M. 1991. Estimation of Nesting Female Crocodylian Size from Clutch Characteristics: Correlates of Reproductive Mode, and Harvest Implications. Journal of Herpetology. 25(2):133-141.
- Hall P. M and D. R. Johnson. 1987. Nesting Biology of *Crocodylus novaeguineae* in Lake Murray District, Papua New Guinea. Herpetologica. 43(2):249-258.
- Hawley A. W. and M. Aleksuk. 1975. The Influence of Photoperiod and Temperature on Seasonal Testicular Recrudescens in the Red-Sided Garter Snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*). Comp. Biochem. Physiol. 53A: 215-221.
- Huerta-Martínez, F. M. y E. García-Moya. 2004. Diversidad de Especies Perenes y su Relación con el Ambiente en un Área Semiárida del Centro de México: Implicaciones para la Conservación. Interciencia 29(8):435-441.
- Huerta-Ortega, S. M. y P. Ponce-Campos. 2002. Interacción Hombre-Cocodrilo en la Costa de Jalisco, México. pp. 200-203. In: Crocodiles. Proceedings of the 16th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group, IUCN – The World Conservation Union, Gland Switzerland and Cambridge UK: xx + 416
- Huerta-Ortega, S. M., P. Ponce-Campos and J. P. Ross. 2002. Preliminary Results of a Population Study of American Crocodile (*Crocodylus acutus*) in Jalisco, Mexico. pp. 231-238. In: Crocodiles. Proceedings of the 16th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group, IUCN – The World Conservation Union, Gland Switzerland and Cambridge UK: xx + 416.

- Joanen T. and L. McNease. 1979. Culture of the American Alligator *Alligator mississippiensis*. International Zoo Yearbook. Vol.19:61-66.
- Joanen T. and L. MacNease. 1989. Ecology and Physiology of Nesting and Early Development of the American Alligator. American Zoologist. 29 (3): 987-198.
- Jones S. M., E. Wapstra and R. Swain. 1997. Asynchronous Male Female Gonadal Cycles and Plasma Steroid Concentrations in a Viviparous Lizard, *Niveoscincus ocellatus* (Scincidae), from Tasmania. General and Comparative Endocrinology. 108:271-281.
- Kevin C. Z., H. B. Lillywhite, and C. R. J. Mladinich. 2003. Anatomy of the Crocodylian Spinal Vein. Journal of Morphology (258):327-335.
- Kitiyant Y., P. Youngprapakorn, C. Songthaveesin, C. Tocharus, M. Jaruanswan, S. Junprasert and K. Pavsuthipaisit. 1994. Seasonal Changes in Sperm Morphology and Reproductive Tracts of *Crocodylus siamensis*. Proceedings of the 12th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group of the Species Survival Commission of IUCN- The World Conservation Union. Pttaya, Thailand, 2-6 May. Vol. 2. 268-278.
- Kofron C. P. and C. Steiner. 1994. Observations on the African Dwarf Crocodile, *Osteolaemus tetrapsis*. Copeia (2):553-535.
- Lance V. A. 1987. Hormonal Control of Reproduction in Crocodylians. In: Wildlife Management: Crocodyles and Alligators. de by Graham J. W. Webb, S. Charlie Manolis and Peter J. Whitehead. Surrey Beatty and Sons Tty Limited in association with the Conservation Commission of the Northern Territory. 409-415.
- Lance V. A. 1989. Rerproductive Cycle of the American Aligator. American Zoologist. 29 (3): 999-1018.
- Lance V. A. 1992. Evaluating Pain and Stress in Reptiles. In: Schaeffer DO, Klewow KM, Krulish L, editor. The Care and Use of Amphibians, Reptiles and Fish in Research. Bethesda, Md:scan.101-106.

- Lance V. A. 1994. Life in the slow lane: hormones, stress, and the immune system in reptiles. In: Davey KG, Peter RE, Tobe SS, editors. Perspectives in comparative endocrinology. Ottawa: National Research Council of Canada. P 529-534.
- Lance V. A. 2003. Alligator physiology and life history: the importance of temperature. *Experimental Gerontology* (38):801-805.
- Lance A. V. and R. M. Elsey. 1986. Stress-Induced Suppression of Testosterone Secretion in Males Alligators. *The Journal of Experimental Zoology*. 239: 241-246.
- Lance A. V. and R. M. Elsey. 1999a. Plasma Catecholamines and Plasma Corticosterone Following Restrain Stress in Juvenile Alligators. *Journal of Experimental Zoology*. 283: 559-565.
- Lance A. V. and R. M. Elsey. 1999b. Hormonal and Metabolic Responses of Juvenile Alligators to Cold Shock. *Journal of Experimental Zoology*. 283: 566-572.
- Lance, V. A. and D. Lauren. 1984. Circadian Variation in Plasma Corticosterone in the American Alligator, *Alligator mississippiensis*, and effects of ACTH Injections. *General and Comparative Endocrinology*. 54: 1-7.
- Lance V. A. and D. C. Rostal. 2002. The Annual Reproductive Cycle of the Male and Female Desert Tortoise: Physiology and Endocrinology. *Chelonian Conservation and Biology*. 4(2):302-312.
- Lance V. A., R. M. Elsey, G. Butterstein, and P. L. Trosclair III. 2003 (In press). Rapid suppression of testosterone secretion after capture in male American alligators (*Alligator mississippiensis*). *General and Comparative Endocrinology*.
- Lance A. V., R. M. Elsey and J. W. Lang. 2000. Sex Ratios of American alligator (*Crocodylidae*): male of female biased?. *J. Zool. Lond.* (252):71-78.
- Lance V. A., L. A. Morici and R. Elsey. 2001. Physiology and Endocrinology of Stress in Crocodylians. In: *Crocodylian Biology and Evolution*. Ed.

- By G. C. Grigg, F. Seebacher and C. E. Franklin. Surrey Beatty and Sons. Australia. 327-240.
- Lang J. W. 1987a. Crocodlian Behavior: Implications for Management. In: Wildlife Management: Crocodiles and Alligators. In. Wildlife Management: Crocodiles and Aligators. Ed. by Grahame J. W. Webb, S. C. Manolis and P. J. Whitehead. Surrey Beatty, Sydney. 273-294.
- Lang J. W. 1987b. Crocodilian Thermal Selection. In. Wildlife Management: Crocodiles and Alligators. Ed. by Grahame J. W. Webb, S. C. Manolis and P. J. Whitehead. Surrey Beatty, Sydney. 301-317.
- Lang J. W. 1989. Social Behavior. In: Alligators and Crocodiles, de. by C. A. Ross. Golden Press Pty Ltd., Sydney. 102-117.
- Lazcano Barrero, M. A. 1996. Crocodile Attacks in Cancun. CSG/ Newsletter. IUCN. vol 15 No 4 18-19.
- Licht P., and G. C. Gorman. 1975. Altitudinal Effects of the Seasonal Testis Cycles of Tropical *Anolis* Lizards. *Copeia* (3):496-504.
- León-Ojeda, F. J. y P. Arredondo R. 2000. Experiencias en pruebas con mezclas de crecimiento lento y rápido de *Crocodylus moreletii* en el Criadero Cocodrilos Mexicanos. S. A. de C. V., Culiacán, México. In: Crocodiles. Proceedings of the 15th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group, UICN – The World Conservation Union, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 156-162.
- López-Vázquez, Ma. de la P. 1997. Crianza de Caimanes (*Caiman crocodylus fuscus*) en Cautiverio. Memorias de la 4ta reunión regional del grupo de especialistas de cocodrilos de América Latina y el Caribe. Centro de Innovación Agroindustrial, S. C. Villahermosa, Tabasco. p 126-128.
- Martínez-Ibarra, J. A. 1991. Comportamiento Sexual de *Crocodylus acutus* (Cuvier 1807) en Cautiverio. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Guadalajara. 80 p.

- Martínez-Ibarra J. A., Naranjo-Piñera E, Nelson K. y R. Rodiles-Hernández. 1997a. Estado de las poblaciones de cocodrilianos (*Crocodylus acutus*, *Caiman crocodilus*) en una zona pesquera de la Reserva de la Biosfera "La Encrucijada", Chiapas, México. Memorias de la 4ta reunión regional del grupo de especialistas de cocodrilos de América Latina y el Caribe. Centro de Innovación Agroindustrial, S. C. Villahermosa, Tabasco. p 105-112.
- Martínez-Ibarra J. A., Naranjo-Piñera E, Nelson K. 1997b. Relaciones Existentes entre los Cocodrilianos y los Pescadores de la Reserva de la Biosfera "La Encrucijada", Chiapas, México. Memorias de la 4ta reunión regional del grupo de especialistas de cocodrilos de América Latina y el Caribe. Centro de Innovación Agroindustrial, S. C. Villahermosa, Tabasco. p 113-116.
- Mazotti F. J. and W. A. Dunson. 1989. Osmoregulation in Crocodylians. *American Zoologist. Biology of the Crocodylia*. 29(3):903-920.
- McCune B. and J. B. Grace. 2002. *Analysis of Ecological Communities*. MjM Software. Gleneden Beach, Oregon. 300 pp.
- McCune B. and M. J. Mefford, 1999. *PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data*. Version 4.0. MjM Software. Gleneden Beach, Oregon.
- Mendez-de la Cruz y G. Casas-Andreu. 1992. *Status y Distribución de Crocodylus acutus* en la Costa de Jalisco, México. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Auton. México, Ser. Zool.* 63 (1): 125-133.
- Moore I. T., J P. Lerner, D. T. Lerner and R. T. Manson. 2000. Relationship between Annual Cycles of Testosterone, Corticosterone, and Body Condition in Male Red-Spotted Garter Snake, *Thamnophis sirtalis concinnus*. *Physiological and Biochemical Zoology*. 73(3):307-312.
- Noeske T. A. and A. H. Meier. 1977. Photoperiodic and Thermoperiodic Interaction Affecting Fat Stores and Reproductive Indexes in the Male Green Anole, *Anolis carolinensis*. *The Journal of Eperimental Zoology*. 202(1):97-102.

- Pérez-Higareda G. y A. Rangel-Rangel. 1991 a. Métodos Prácticos Para Captura en Vivo de Cocodrilos. Resumen 1er curso Taller sobre la Biología, Manejo y Cultivo de Cocodrilos en México, Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas", Veracruz y la granja de cocodrilos de Buenavista, "El Centro" de Tabasco.
- Pérez-Higareda G. y A. Rangel-Rangel. 1991b. Técnica de Manejo e Inmovilización de Cocodrilos. Resumen I curso Taller sobre la Biología, Manejo y Cultivo de Cocodrilos en México, Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas", Veracruz y la granja de cocodrilos de Buenavista, "El Centro" de Tabasco.
- Ponce-Campos, P. 2001. Reporte de Actividades: Investigación. Memorias de la Tercera Reunión de Trabajo del Subcomité COMACROM. 22-23.
- Ponce-Campos, P. 2004. Breve Análisis sobre la Situación de las Poblaciones Silvestres de *Crocodylus acutus* en México. Memorias de la VI Reunión del COMACROM. Puerto Vallarta Jalisco, México. 8p.
- Ponce-Campos, P. y J. M. Dubach. 2004. Variabilidad Genética del "Caimán" *Crocodylus acutus* en la Costa de Jalisco, México. Memorias de la VI Reunión del COMACROM. Puerto Vallarta Jalisco, México. 12p.
- Ponce-Campos, Paulino y S. M. Huerta-Ortega . 1997. Plan para la Conservación del "Caimán" *Crocodylus acutus* Cuvier (CROCODILIDAE) en el Estado de Jalisco, México. Presentado en la Primera Reunión de Trabajo para la Conservación de Cocodrilos en Jalisco. Hotel Westin Regina en Puerto Vallarta, Jalisco, el día 7 de Marzo. 44 p.
- Ponce-Campos, P., S. M. Huerta-Ortega. y C. Magallón-Morineau. 1996. Contribution to the Status of "Caiman" or "River Crocodile" (*Crocodylus acutus*) in the Jalisco Coast, Mexico. Crocodile Specialist Group. Newsletter. IUCN/SSC. April-June (15)2:20-21.
- Ponce-Campos, P. S. M. Huerta-Ortega and J. J. Romero-Villaruel. 2001. Crocodilian Earthquake. CSG, Newsletter. 20(4):86-97.

- Ponce-Campos P., V. Lance, and S. M. Huerta-Ortega. 2002. Relationship Between Physical Variables of the Environment and Reproductive Development in American Crocodile (*Crocodylus acutus* Cuvier). *In*: Crocodiles. Proceedings of the 16th working meeting of the Crocodile Specialist Group, UICN – The World Conservation Union, Gland, Switzerland and Cambridge UK. 153-156.
- Ponce-Campos, P., C. Magallón-Morineau, J. de D. Quintana-Hau y J. M. Dubach. 2004. Concentraciones Totales de Proteína en Plasma del “Caimán” *Crocodylus acutus* en Poblaciones Silvestres de Jalisco, México. Memorias de la VI Reunión del COMACROM. Puerto Vallarta Jalisco, México. 8p.
- Ramírez-Bautista, Aurelio and Laurie J. Vitt. 1998a. Reproduction in the Lizard *Anolis nebulosus* (POLYCHROTIDAE) from the Pacific Coast of Mexico. *Herpetologica*. 54(4):423-431.
- Ramírez-Bautista, Aurelio and Laurie J. Vitt. 1998b. Reproductive Biology of *Urosaurus bicarinatus* (SAURIA: Phrynosomatidae) from a Tropical Dry Forest of Mexico. *The Southwestern Naturalist*. 43(3):381-390.
- Ramírez-Bautista, Aurelio, Juan Barba-Torres, and Laurie J. Vitt. 1998. Reproductive Cycle and Brood Size of *Eumeces lynxe* from Pinal de Asmoles, Queretaro México. *Journal of Herpetology*. 32(1):18-24.
- Reyes-Núñez C., L. Solis-Pecero y H. Hernández-Hurtado. 2004. Comportamiento Reproductivo en Cautiverio de *Crocodylus acutus* en La Uma Reptilario Cipactli (Temporada 2003-2004). Memorias de la VI Reunión del COMACROM. Puerto Vallarta Jalisco, México.
- Romero-Villarruel, J. de J., I. Martínez-Brown, A. Razo-Pérez y J. A. Cervantes-Romero. 2002. Estudio de Población y Distribución del Cocodrilos de Río (*Crocodylus acutus*) en el embalse de la Presa de Agua Milpa, Nayarit. Memorias de la Cuarta Reunión de Trabajo para la

Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de los Crocodylia en México. 17-28.

- Ross, J P. (ed.) 1998. Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan. 2nd Edition. IUCN/SSC Crocodile Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. viii + 96 pp.
- Rostal D. C., V. A. Lance, J. S. Grumbles and A. C. Alberts. 1994. Seasonal Reproductive Cycle of the Desert Tortoise (*Gopherus agassizii*) in the Eastern Mojave Desert. Herpetological Monographs. (8):72-82.
- Schramm, B. G., Casares, M. and Lance, V. A. 1999. Steroid levels and reproductive cycle of the Galapagos tortoise, *Geochelone nigra*, living under semi-natural conditions on Santa Cruz Island (Galapagos). Gen. Comp. Endocrinol. 114: 108-120.
- Seebacher F. and G. C. Grigg. 2001. Social Interactions compromise Thermoregulation in Crocodiles *Crocodylus johnstoni* and *Crocodylus porosus*. In: Crocodilian Biology and Evolution. Edited by G. C. Grigg, F. Seebacher and C. E. Franklin. Surrey Beatty and Sons. Australia. 310-316.
- Seebacher F., R. M. Elsey and P.L. Trosclair III. 2003a. Body Temperature Null Distributions in Reptiles with Nonzero Heat Capacity: Seasonal Thermoregulation in the American Alligator *Alligator mississippiensis*). *Physiological and Biochemical Zoology* 76(3):348-359.
- Seebacher F., H. Guderley, R. M. Elsey and P. L. Trosclair III. 2003b. Seasonal acclimatisation of muscle metabolic enzymes in a reptile (*Alligator mississippiensis*). *The Journal of Experimental Biology* 206, 1193-1200.
- Seymour, R. S., G. J. W. Webb, A. F. Bennett and D. F. Bradford. 1987. Effect of Capture on the Physiology of *Crocodylus porosus*. Webb, Grahame J.W., C. Manolis and P. J. Whitehead editors. Surrey Beatty and Sons of Australia. 253-257.

- Sigler L., León-Ojeda. F, J. Domínguez-Lazo, P. L. Lavín y O. Hinojosa. 2002. Monitoreo de Poblaciones Silvestres del Cocodilo de Morelet *Crocodylus moreletii* en varios estados de la República Mexicana. Resumen. p 222. In: Crocodiles. Proceedings of the 16th Working Meeting of the Crocodiles Specialist Group., IUCN – The World Conservation Union, Gland Switzerland and Cambridge UK: xx + 416 p.
- Sigler L., F. León-Ojeda; J. Domínguez-Lazo; L. López-Ozuna; P. Lavín-Murcio y O. Hinojosa-Falcón. 2003. "Muestreos de poblaciones silvestres de Cocodrilos de Morelet *Crocodylus moreletii* en varios estados de la República Mexicana". En: Memorias de la V Reunión de Trabajo del COMACROM. Zoomat/IHNE. Chiapas, México. Luis Sigler y J. Domínguez, Lazo (Editores). 7pp.
- Sinervo B, D. B. Miles, W. A. Frankino, M. Klukowski and D. F. DeNardos. 2000. Testosterone, Endurance, and Darwinian Fitness: Natural and Sexual Selection on the Physiological Bases of Alternative Male Behaviors in Side-Blotched Lizards. *Hormones and Behavior* (38):222-233.
- Smith H., M. and E. H. Taylor. 1950. An Annotated Checklist and Key to the Reptiles of Mexico Exclusive of the Snakes. Bull. Smithsonian Institution U.S. Nat. Mus. 199:vi + 1-253 p.
- Sokal, R. R. and F. J. Rohlf. 1981. Biometry. 2d ed. W. H. Freedman and Company Eds. N. Y. USA. 859 pp.
- Taplin L. E. and G.C. Grigg. 1989. Historical Zoogeography of the Eusuchian Crocodylians: A physiological perspective. *American Zoologist. Biology of the Crocodylia*. 29(3):885-901.
- Taylor E. N. and G. W. Schuett. 2004. Effect of Temperature and Storage Duration on the Stability of Steroid Homones in Blood Samples from Western Diamond-backed Rattlesnakes (*Crotalus atrox*). *Herpetological Review* 35(1):14-17.

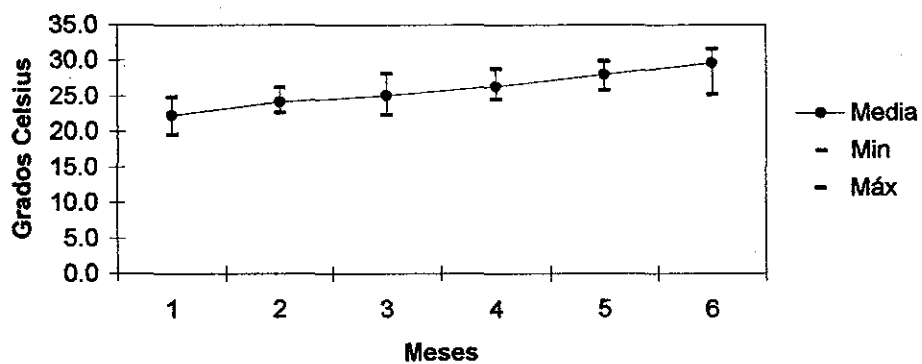
- Telford S. R. 1970. Seasonal Fluctuation in Liver and Fat Body Weights of the Japanese Lacertid *Takydromus tachydromoides* Schelgel. *Copeia*. (4):681-688.
- Thorbjarnarson, J. 1989. Ecology of the American Crocodile, *Crocodylus acutus*. Crocodiles. Their ecology, management, and conservation. IUCN Publications New series. 229-259.
- Thorbjarnarson, John B. 1994. Reproductive Ecology of the Spectacled Caiman (*Caiman crocodylus*) in the Venezuelan Llanos. *Copeia*. Vol 4. 907-919.
- Thorbjarnarson, J. B. 1996. Reproductive Characteristics of the order Crocodylia. *Herpetologica*. 52(1):8-24.
- Thorbjarnarson, John B. and Guatavo Hernández. 1993a. Reproductive Ecology of the Orinoco Crocodile (*Crocodylus intermedius*) in Venezuela. I. Nesting Ecology and Egg and Clutch Relationships. *Journal of Herpetology*. 27(4):363-370.
- Thorbjarnarson, J. B. and Guatavo Hernández. 1993b. Reproductive Ecology of the Orinoco Crocodile (*Crocodylus intermedius*) in Venezuela. II. Reproductive and Social Behavior. *Journal of Herpetology*. 27(4):371-379.
- Thorbjarnarson, J., H. Messel, F. W. King and J. P. Ross. 1992. Crocodiles An Action Plan for their Conservation. IUCN/SSC Crocodile Specialist Group. Published by IUCN, Gland, Switzerland. 136 pp.
- Valtierra-Azotla, M. 2001. Estado Actual de la Población de *Crocodylus acutus* en la Reserva de La Biosfera Chamela-Cuixmala; Trece Años de Protección: Recomendaciones para su Manejo Sostenible. Memorias de la Tercera Reunión de Trabajo del Subcomité COMACROM. 61-68.
- Walsh, B. 1987. Crocodile Capture Methods Used in the Northern Territory of Australia. G. J. W. Webb, C. Manolis and P. J. Whitehead editors. Surrey Beatty and Sons of Australia. 249-252.

- Weil M. R. and R. D. Aldridge. 1979. The Effect of Temperature on the Male Reproductive System of the Common Water Snake (*Nerodia sipedon*). J. Exp. Zool. 210:327-332.
- Wilkinson, P. M. 1983. Nesting Ecology of the American Alligator in coastal South Carolina. Study Completion Report. August 1978-Sep 1983. S. C. Wildlife and Marine Resources Dept. Division of Wildlife and Freshwater Fisheries. Columbia, South Carolina. 113 p.
- Wilkinson, P. M. 1994. A Walk-Through Snare Design for the Live Capture of Alligators. Proceedings of the 12th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group of the Species Survival Commission of IUCN- The World Conservation Union. Pttaya, Thailand, 2-6 May. Vol. 2. 74-76.

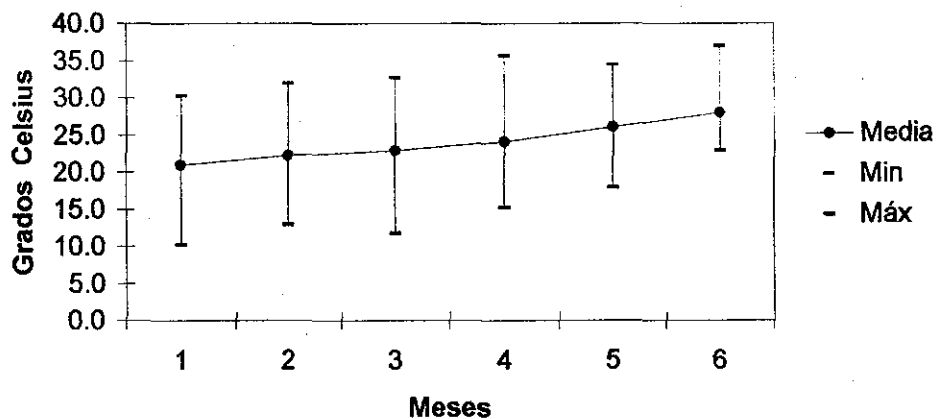
APÉNDICE

Manzanilla (Estado silvestre).

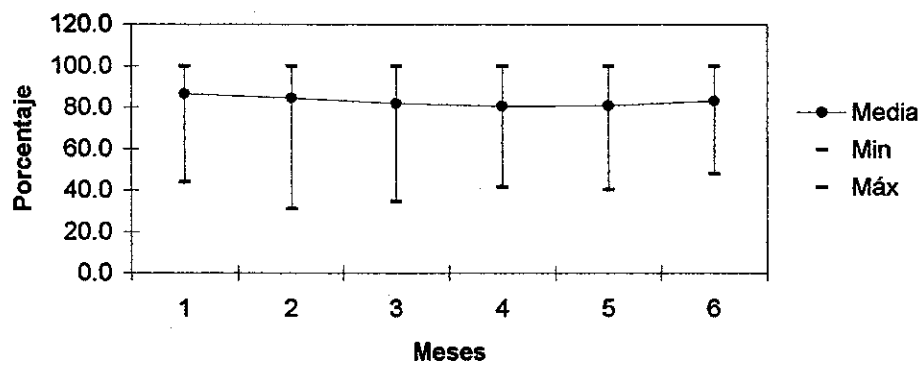
Temperatura de Agua Manzanilla



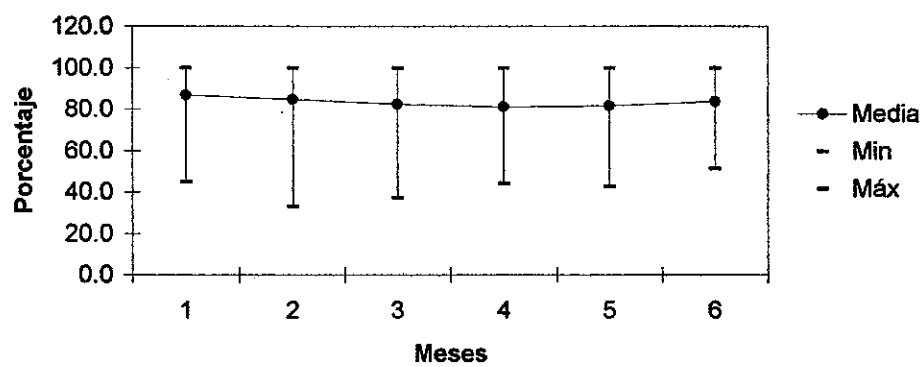
Temperatura del Aire Manzanilla



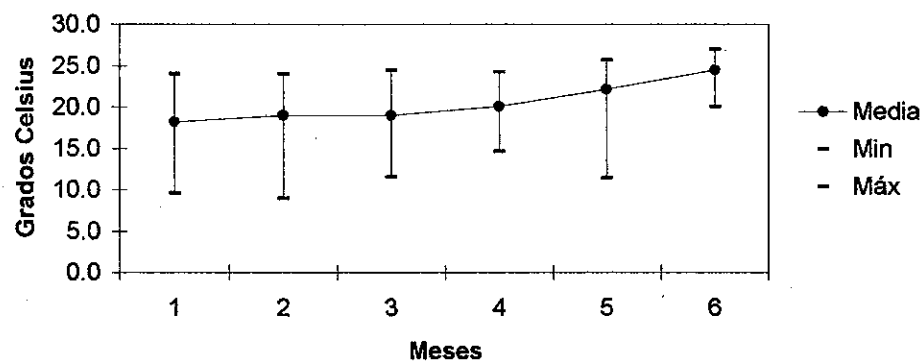
Porcentaje de Humedad Relativa Manzanilla



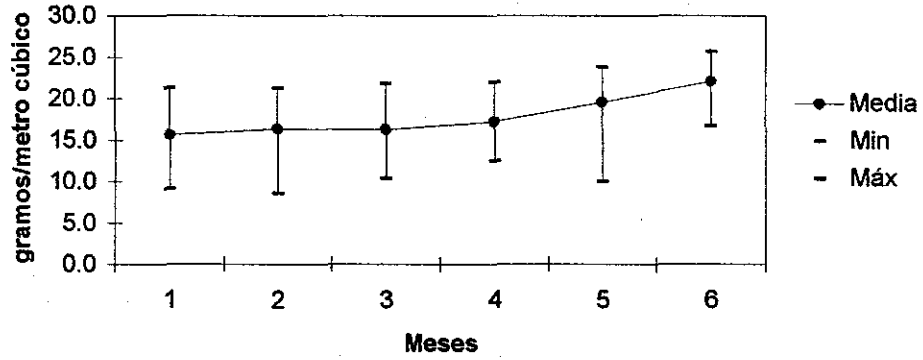
Humedad Relativa no compensada Manzanilla



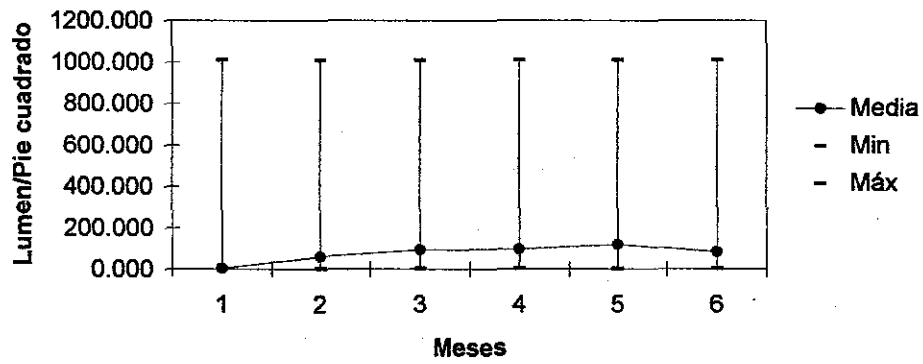
Punto de Rocío Manzanilla



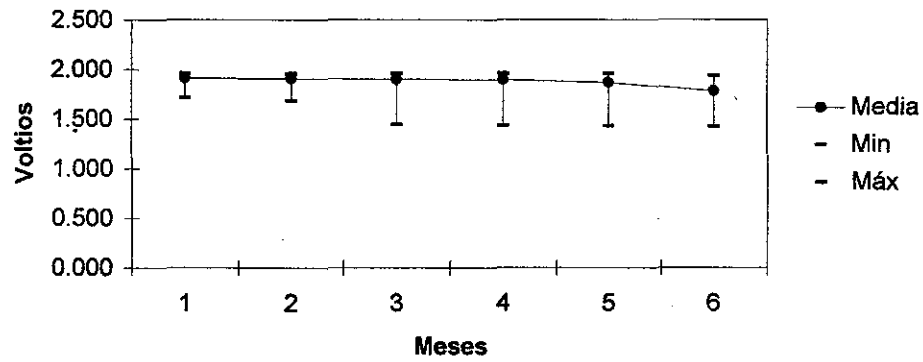
Humedad Absoluta Manzanilla



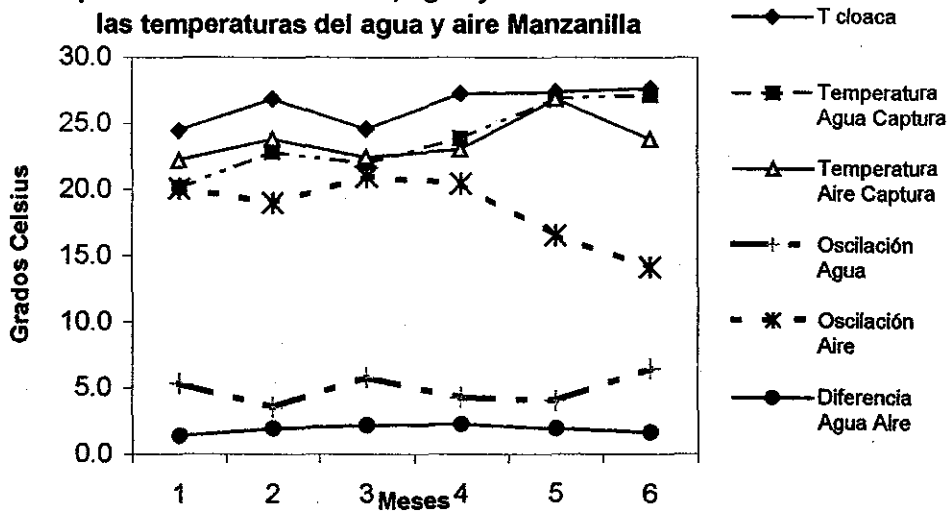
Intensidad de Luz Manzanilla



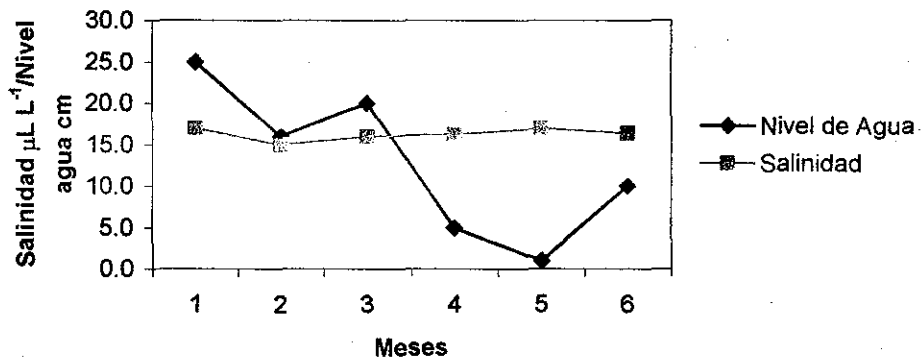
Voltaje Manzanilla



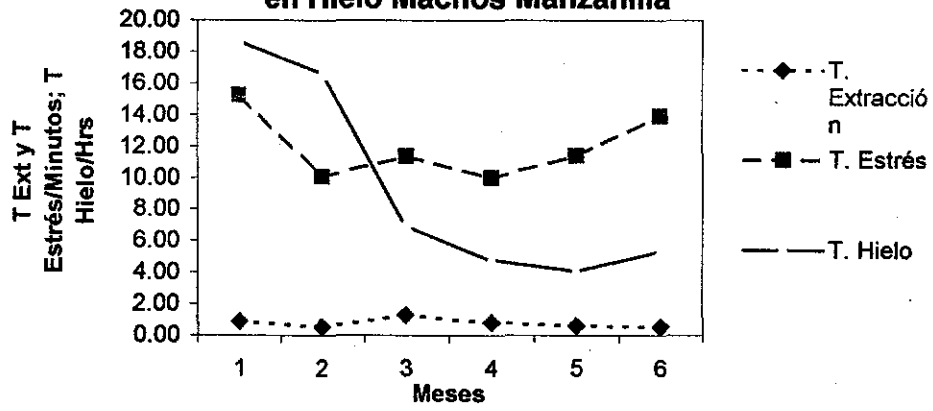
Temperatura del agua, aire y cloaca (machos) durante la Captura. Oscilación del aire, agua y la diferencia de las temperaturas del agua y aire Manzanilla



Nivel de Agua y Salinidad Manzanilla

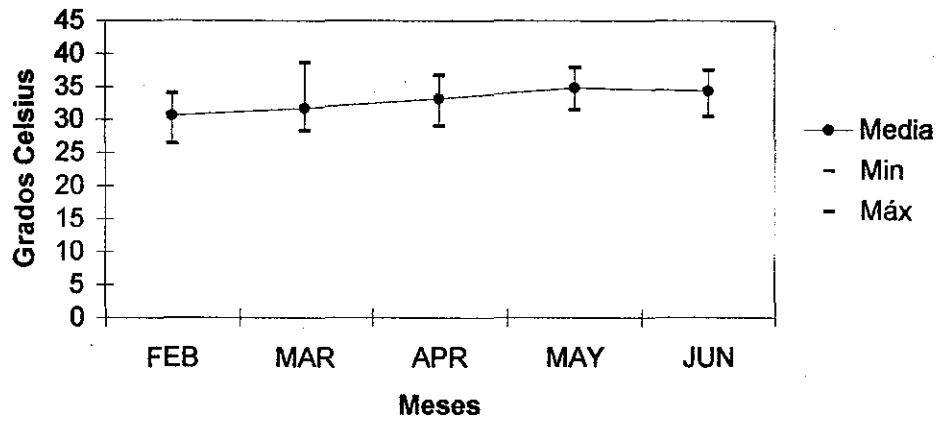


Tiempo de Extracción, Tiempo de Estrés y Tiempo en Hielo Machos Manzanilla

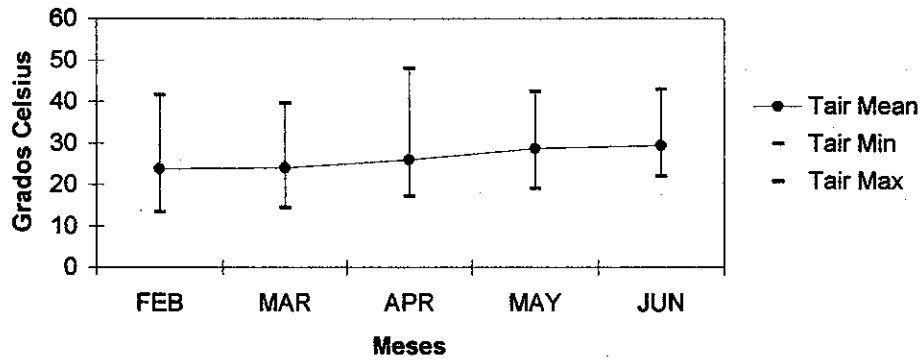


San Blas (Cautiverio).

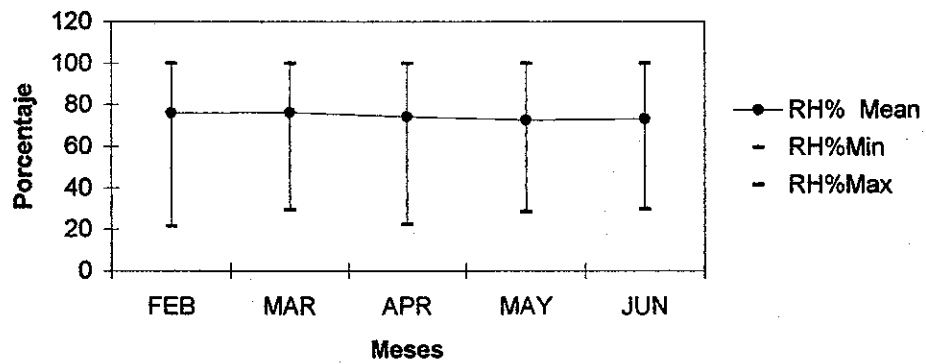
Temperatura del Agua San Blas



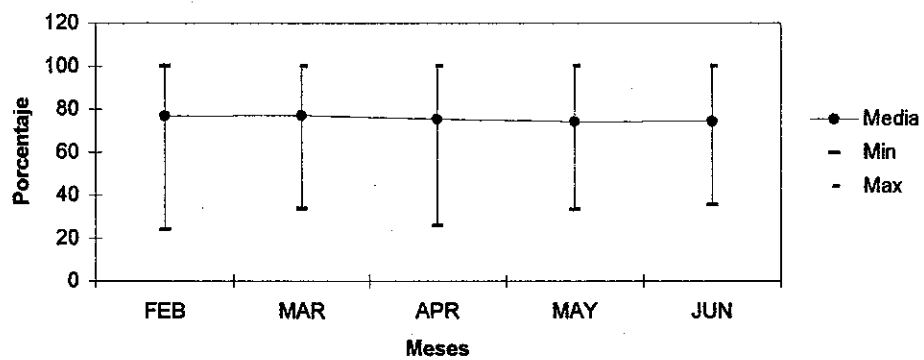
Temperatura del Aire San Blas



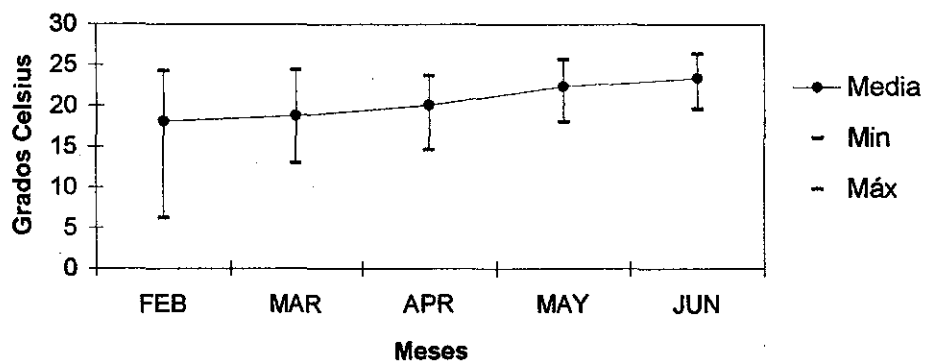
Porcentaje de Humedad Relativa San Blas



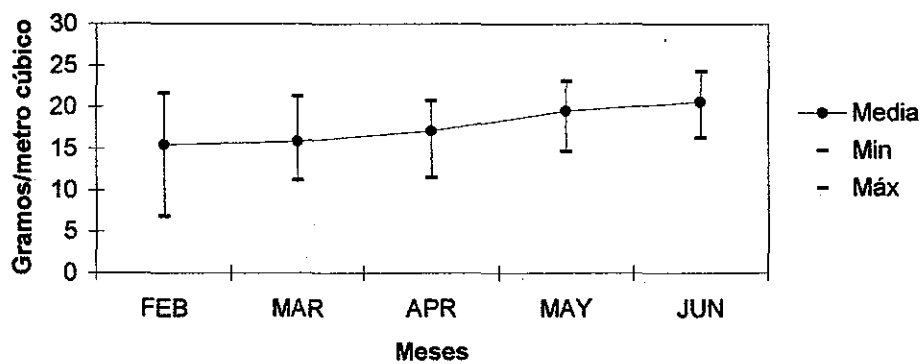
Porcentaje de Humedad no compensada San Blas



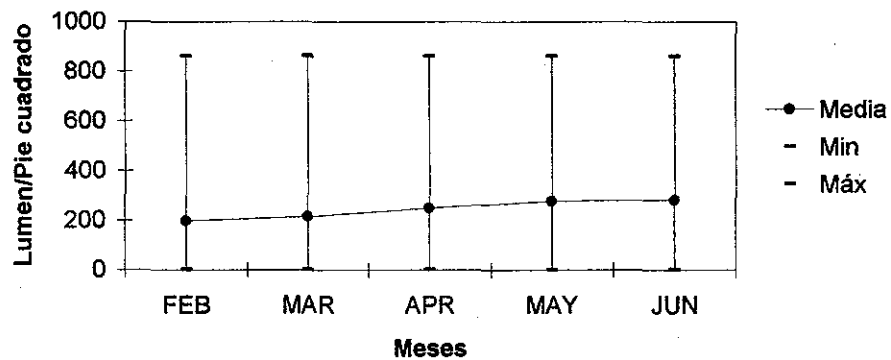
Punto de Rocío San Blas



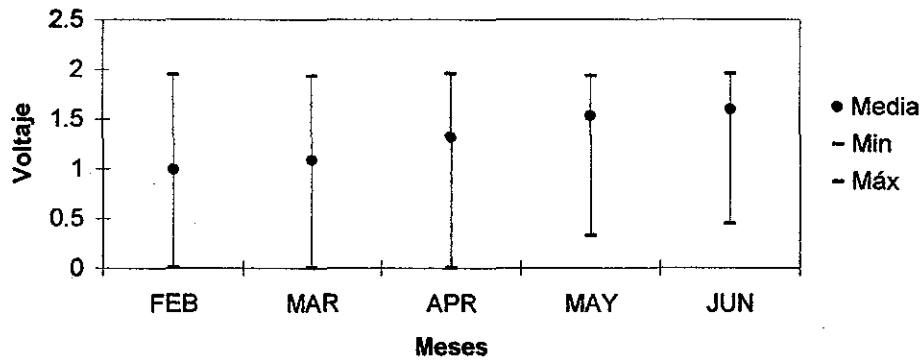
Humadad Absoluta San Blas



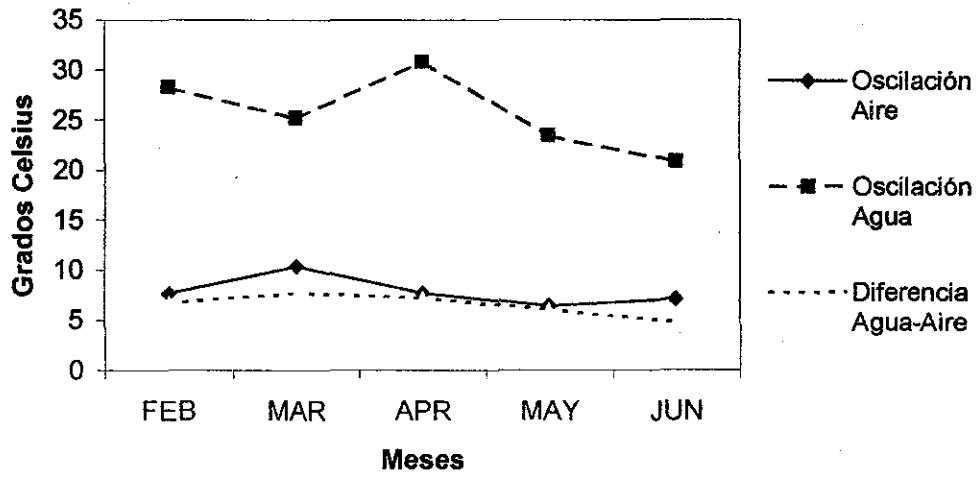
Intensidad de Luz San Blas



Voltaje San Blas



Oscilación Agua y Aire. Diferencia Agua-Aire San Blas



Tiempo de Extracción, Tiempo de Estrés y Tiempo en Hielo San Blas

