



Universidad del Mar

Campus Puerto Escondido

Manejo reproductivo en una unidad de producción intensiva de iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) para evitar la consanguinidad, en la región
costa de Oaxaca

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias: Manejo de Fauna Silvestre

Presenta

Bióloga Ariana Palestina Rodríguez

Director

Dr. Juan Manuel Villa Hernández

Co-Director

Dr. José Luis Arcos García

Puerto Escondido, Oaxaca, 2025

Agradecimientos

Mi más profundo agradecimiento para el director de este proyecto, Dr. Juan Manuel Villa Hernández, por su confianza, experiencia, consejos y comprensión desde que ingrese al posgrado hasta ahora. Gracias por la paciencia y compromiso durante mi aprendizaje en el laboratorio. Su apoyo, atención, compromiso y amistad hicieron la diferencia.

Al comité tutorial Dr. José Luis Arcos García, Dr. Roberto López Pozos, Dr. Héctor Santiago Romero, así como, a las revisoras Dra. Valentina Islas Villanueva y Dra. Erika Antúnez Argüelles, agradezco infinitamente por compartir su experiencia, tiempo y apoyo para culminar este proyecto, gracias por las correcciones y oportunos consejos para enriquecer este trabajo.

Mis agradecimientos sinceros al Coordinador del posgrado Maestría en Ciencias: Manejo de Fauna Silvestre, Dr. Miguel Ángel De Labra Hernández, por su infinito apoyo siempre. Gracias por la paciencia, la disposición para resolver dudas, por compartir su tiempo y experiencia, por los consejos, por motivarnos a aprender cosas nuevas y siempre considerarnos en actividades que suman a nuestra experiencia académica.

Agradezco a la Universidad del Mar por abrirme las puertas de esta casa de estudios y por el apoyo constante. También agradezco a la división de estudios de posgrado por aceptarme y permitirme realizar el posgrado Maestría en Ciencias: Manejo de Fauna Silvestre.

Mis agradecimientos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), actualmente Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por otorgarme la beca (CVU: 12500096) que hizo posible la realización de mis estudios de maestría.

Al Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar, por permitirme desarrollar esta investigación con la población de iguana negra. Gracias infinitas a la Maestra Beatriz Pinacho y al Ingeniero Esteban Ulises, por compartir su experiencia y por su apoyo constante con el manejo de las iguanas.

Gracias al laboratorio de genética de la Universidad del Mar, principalmente a la Maestra Julieta Karina Cruz y a la Doctora Erika Antúnez, por su excelente atención y disposición ante las necesidades de material y equipo para este proyecto.

Agradezco a Biól. Dioselina Díaz Sánchez, por todo el apoyo, el trabajo en equipo, el compañerismo y la amistad. Sin duda compartimos muchos momentos inolvidables y aprendimos mucho juntas a lo largo de los proyectos. De igual manera, agradezco a las personas que me apoyaron en la obtención de las muestras de sangre y en el trabajo de

laboratorio: Biól. Mario Alvarado, Biól. Nanaxhi Zarate y Maestra Anayansi Ramírez, mil gracias por su compromiso, tiempo y disposición en estas actividades.

Gracias a mis compañeras y amigos: a Eme por siempre tener algo lindo que decirme, por los detalles, los peinados y por los postres que hacían los días más bonitos; a Dio por la amistad, las pláticas que hacían el trabajo más ameno y todos los momentos compartidos durante los proyectos; a Nana y Ámbar por acompañarnos siendo foráneas, por las risas, por abrirme las puertas de su casa, de su corazón y de su familia, por los consejos y por siempre estar para mí; a Abi por tu ayuda desde el momento uno, por las risas, las experiencias, por escucharme, aconsejarme y acompañarme, por siempre incluirme y abrirme las puertas de tu hogar y tu corazón. A Julio y Mike por siempre hacerme sentir bienvenida, por los viajes y por las risas. Hicieron de mi estancia durante la maestría algo muy bello. Mis sin control y mis tíos, se volvieron una nueva familia para mí.

Gracias a mis amigos de toda la vida: Esben, Brayam, Dani Ortega, Mary, Pato y Dani Cruz, por su apoyo cuando las cosas se ponían difíciles, por la confianza, por sus palabras y acompañamiento. A Dani Vega, gracias por las llamadas y estar conmigo, aún a la distancia, cuando más lo necesité. A Sergio, por siempre estar para mí, por escucharme, por mantenerte presente en todo momento y compartir conmigo las alegrías y los momentos difíciles. A Toño, por estar siempre para mí, por tus palabras, por escucharme, por siempre ayudarme a creer en mí, por tu amor y amistad incondicional en todo momento. La vida nos ha permitido crecer juntos, gracias por celebrar este logro conmigo.

Muchas gracias, Juan G., por todo, por tanto. Por tu confianza, por motivarme, por creer en mí, por tu cariño, por escucharme, apoyarme y siempre estar para mí. Por las experiencias compartidas, por todo lo que he aprendido de ti y contigo. Tu presencia en mi vida ha hecho una diferencia enorme, sin tu compañía, este proceso no habría sido el mismo. Si existiera una medida para mi cariño y agradecimiento, sería de aquí al foco. Este logro también es tuyo. Gracias por ser tú.

Mi más sincero agradecimiento a mi familia: a mis padres, Miguel y Adriana, por su confianza, apoyo y amor infinito, sé que cuento con ustedes para lograr cualquier cosa que me proponga. A mis hermanos Jazmín y Miguel Palestina, ustedes son mi amor más grande y mi motivación, gracias por siempre estar para mí. A mis Abuelitas Rocío Cruz y María Ortega, gracias por su apoyo y amor incondicional, por sus buenos deseos y por sus oraciones. A mis tías y tíos, por su amor, por desear lo mejor para mí y por motivarme a lograr mis metas. Gracias a todos por siempre creer en mí y apoyarme a realizar mis sueños, este logro también es de ustedes.

Dedicatoria

A mis padres, Miguel Palestina Cruz y Adriana Rodríguez Ortega, quienes me han brindado su amor y apoyo incondicional. A ustedes, que siempre han creído en mis sueños y me han acompañado en cada paso hasta lograrlo. Son mi inspiración, mi fuerza y mi lugar seguro. Soy muy afortunada de ser su hija.

A mis hermanos, Miguel y Jazmín Palestina Rodríguez, su compañía y amor incondicional son mi fuente de alegría y mi motor en todo momento.

A mi abuelita Rocío Cruz López, quien siempre ha creído en mí y me ha apoyado en cada meta que me propongo. Su gran amor siempre ha sido una fuente de motivación para mí.

A mi familia y amigos, quienes siempre estuvieron para escucharme, apoyarme, animarme y devolverme la confianza en mí cuando fue necesario.

A la versión de mí misma que en algún momento dudó, pero no se rindió. ¡Lo logramos!

Lo importante es no dejar de cuestionar. La curiosidad tiene su propia razón de ser. Es inevitable maravillarse al contemplar los misterios de la eternidad, de la vida, de la maravillosa estructura de la realidad. Basta con intentar comprender un poco de este misterio cada día.

-Albert Einstein

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	I
ÍNDICE DE CUADROS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT	VII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1 <i>Ctenosaura pectinata</i>	3
2.1.1 Distribución	3
2.1.2 Taxonomía.....	3
2.1.3 Importancia	3
2.1.4 Anatomía general	4
2.1.5 Variables fenotípicas de importancia reproductiva	5
2.1.6 Comportamiento	5
2.1.7 Conservación y reproducción en México.....	6
2.2 Manejo reproductivo.....	7
2.3 Endogamia	8
2.4 Variabilidad Genética	8
2.5 Marcadores moleculares para el estudio de la endogamia: microsatélites	9
2.6 Estudios moleculares en iguanas.....	11
III. HIPÓTESIS.....	15
IV. OBJETIVOS.....	16
General.....	16

Particulares.....	16
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
5.1 Sitio de Estudio.....	17
5.2 Manejo de ejemplares.....	18
5.2.1 Selección y marcaje de individuos.....	18
5.2.2 Recinto.....	18
5.2.3 Alimentación.....	19
5.4 Metodología.....	19
5.4.1 Plan de manejo reproductivo actual.....	19
5.4.2 Características morfométricas.....	19
5.4.3 Análisis de endogamia y consanguinidad.....	21
5.4.3.1 Extracción de sangre.....	21
5.4.3.2 Extracción, integridad y cuantificación de ADN.....	21
5.4.3.3 Amplificación de microsatélites.....	22
5.4.3.4 Detección de alelos.....	24
5.5 Análisis estadístico.....	26
5.5.1 Parámetros morfométricos.....	26
5.5.2 Determinación de endogamia y consanguinidad.....	26
5.6 Propuesta de manejo reproductivo.....	27
VI. RESULTADOS.....	28
6.1 Plan de manejo reproductivo actual.....	28
6.2 Parámetros morfométricos.....	29
6.3 Análisis de consanguinidad.....	30
6.3.1 Integridad de ADN.....	30
6.3.2 Amplificación de microsatélites.....	31

6.3.3 Determinación de endogamia y consanguinidad.....	35
VII. DISCUSIÓN	39
7.1 Plan de manejo reproductivo actual.....	39
7.2 Parámetros morfométricos	41
7.3 Determinación de consanguinidad.....	42
VIII. CONCLUSIONES.....	46
IX. PROPUESTA DE MANEJO REPRODUCTIVO.....	47
9.1 Registro de individuos	47
9.1.1 Cópula	47
9.1.2 Incubación.....	47
9.2 Marcaje de individuos.....	47
9.3 Densidad poblacional por jaula de reproducción.....	48
9.3.1 Selección de individuos reproductores	48
9.4 Introducción y liberación de individuos.....	48
X. BIBLIOGRAFÍA	49
XI. ANEXOS	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Loci reportados como polimórficos para <i>I. delicatissima</i> e <i>I. iguana</i>	12
Cuadro 2. Loci reportados para <i>Ctenosaura pectinata</i>	13
Cuadro 3. Equilibrio de Hardy-Weinberg e índice Fis de 10 loci evaluados en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR).....	14
Cuadro 4. Regiones Loci amplificadas	22
Cuadro 5. Mezcla de reacción de amplificación para todos los microsatélites	23
Cuadro 6. Temperatura y condiciones de amplificación de microsatélites analizados ..	23
Cuadro 7. Temperatura óptima de alineamiento.....	24
Cuadro 8. Fluoróforo para cada primer.....	25
Cuadro 9. Mezcla de reacción de amplificación para detección de alelos	25
Cuadro 10. Condiciones de amplificación para detección de alelos.....	26
Cuadro 11. Manejo reproductivo propuesto y actual de <i>C. pectinata</i> en el CECOREI-UMAR.	29
Cuadro 12. Medidas morfométricas de individuos adultos de <i>C. pectinata</i>	30
Cuadro 13. Alelos y frecuencias alélicas de cada microsatélite en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR	36
Cuadro 14. Equilibrio de Hardy Weinberg e índice de endogamia Fis de los cuatro microsatélites analizados en la población de iguana negra	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Coloración de un ejemplar de iguana negra en cautiverio.	4
Figura 2. Mapa de localización del CECOREI-UMAR (INEGI, 2014).	17
Figura 3. Recintos de las iguanas en el CECOREI-UMAR.	19
Figura 4. Medidas morfométricas.	20
Figura 5. Análisis electroforético de ADN genómico de <i>C. pectinata</i>	31
Figura 6. Amplificación de microsatélites Pec01 y Pec16.	32
Figura 7. Amplificación de microsatélite Pec24.	32
Figura 8. Amplificación de microsatélite Pec25 e IgdL19.	33
Figura 9. Amplificación de microsatélite IgdL12 e IgdL17.	33
Figura 10. Amplificación de microsatélites Pec01, Pec24 y Pec25.	34
Figura 11. Electroferograma del individuo 14.	35
Figura 12. Coeficiente de relación de la población de iguana negra.	37
Figura 13. Matriz de relación por pares de la población de iguana negra del CECOREI-UMAR.	38

RESUMEN

La iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) es una especie endémica de México, catalogada como amenazada en la NOM-059. Una de las estrategias de conservación de esta especie es la cría y manejo en cautiverio. Sin embargo, el manejo en cautiverio puede enfrentar desafíos como la endogamia, debido al reducido número de individuos en las unidades o criaderos. Este estudio tuvo como objetivo analizar el manejo reproductivo, las características morfométricas, el nivel de endogamia y el grado de consanguinidad actual de la iguana negra en el Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar, para proponer estrategias de reproducción. Se llevó a cabo una revisión del plan de manejo reproductivo actual; se midieron 7 caracteres morfométricos: poros femorales, longitud hocico-cloaca, longitud de la pierna, longitud de la cabeza, ancho de la cabeza y longitud del hocico de 40 individuos. Posteriormente se extrajo ADN genómico a partir de células sanguíneas y se amplificaron 4 microsatélites polimórficos (Pec01, Pec16, Pec25 e IgdL19) con los cuales se realizó el análisis de endogamia y consanguinidad de la población. Se determinó que el manejo reproductivo en el CECOREI-UMAR no se ajusta al plan de manejo registrado ante SEMARNAT. Con respecto a las características morfométricas se observó que los machos fueron más grandes y pesados que las hembras ($p < 0.05$). Para el análisis de endogamia y consanguinidad, se descartó un individuo debido a que la amplificación de los microsatélites no fue exitosa; los resultados indican que no hay evidencia de endogamia ($F_{is} = -0.03$) ($p > 0.05$) y la población no presenta una relación de parentesco cercana ($r = 0.1$) ($p > 0.05$), posiblemente se deba a estrategias naturales de la especie. Al ser una población en cautiverio, se recomienda apearse al plan de manejo reproductivo e implementar un control de parentesco que permita seleccionar adecuadamente a las iguanas reproductivas, contribuyendo así a la conservación de la de la especie manteniendo la variabilidad genética.

ABSTRACT

The black iguana (*Ctenosaura pectinata*) is an endemic species of Mexico, classified as threatened under the NOM-059. One of the conservation strategies for this species is captive breeding and management. However, captive management can face challenges such as inbreeding due to the reduced number of individuals in the units or breeding facilities. This study aimed to analyze the reproductive management, morphometric characteristics, level of inbreeding, and current degree of consanguinity of the black iguana at the Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar, to propose reproductive strategies. A review of the current reproductive management plan was conducted; seven morphometric characteristics were measured: femoral pores, snout-vent length, leg length, head length, head width, and snout length of 40 individuals. Subsequently, genomic DNA was extracted from blood cells. From the DNA samples, four polymorphic microsatellites (Pec01, Pec16, Pec25, and IgdL19) were amplified, with which the inbreeding and consanguinity analysis of the population was performed. It was determined that the reproductive management at CECOREI-UMAR does not conform to the management plan registered with SEMARNAT. Regarding morphometric characteristics, males were observed to be larger and heavier than females ($p < 0.05$). For the inbreeding and consanguinity analysis, one individual was discarded due to unsuccessful microsatellite amplification; the results indicate no evidence of inbreeding ($F_{is} = -0.03$) ($p > 0.05$), and the population does not present a close kinship relationships ($r = 0.1$) ($p > 0.05$), possibly due to natural strategies of the species. As a captive population, it is recommended to adhere to the reproductive management plan and implement kinship control to adequately select breeding iguanas, thus contributing to the conservation of the species while maintaining genetic variability.

I. INTRODUCCIÓN

La iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) está catalogada como especie endémica de México (Diario Oficial de la Federación [DOF], 2019). En algunas regiones es considerada como fuente de alimento, de igual manera, es utilizada en medicina rural, bisutería, adornos y mascotas, aprovechando así la carne, piel y al organismo como tal (Arcos-García et al., 2002; Galarza, 2021). El aprovechamiento excesivo de las iguanas, la fragmentación del hábitat y la comercialización ilegal, han llevado a una disminución de la población en vida silvestre, colocándola como especie amenazada por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF, 2019). Por ello, se han desarrollado diferentes estrategias para su conservación, como la crianza y manejo en cautiverio. Los objetivos de la crianza y manejo en cautiverio de iguana negra buscan la reintroducción de ejemplares al hábitat natural, además, de lograr comercializar la especie de forma rentable para contribuir a la demanda que existe de esta (Galarza, 2021). Sin embargo, el manejo de fauna silvestre en cautiverio se enfrenta, entre otros factores, a fenómenos de endogamia, por el bajo número de individuos presentes en las unidades o criaderos (Félix, 2016; Arias, 2020).

Uno de los efectos de la endogamia es la reducción de la variabilidad genética. Esta reducción conduce a un cambio en la aptitud reproductiva; además, de que los organismos pueden ser más susceptibles a enfermedades y parásitos (Ocampo y Cardona, 2013; Esteves, 2022). La variabilidad genética es fundamental para la capacidad de respuesta de los organismos ante retos ambientales y con ello garantizar la sobrevivencia en vida silvestre (Caballero, 2013; Esteves, 2022). Por lo tanto, los factores genéticos son un punto clave a considerar en el manejo y conservación de fauna silvestre. La evaluación del grado de endogamia y/o de consanguinidad de las poblaciones cautivas es fundamental para proponer medidas que contribuyan a la preservación de la variabilidad genética y así garantizar la persistencia de la población (Chan, 2022; Esteves, 2022).

Por lo anterior, han surgido diferentes técnicas, como los marcadores moleculares, para determinar diversidad genética, grado de endogamia y consanguinidad, entre otras

características de las especies (Contreras-Diaz et al., 2021). Los cuáles, han sido de utilidad en los estudios genéticos de poblaciones, ya que permiten describir patrones genéticos con los cuales se puede hacer inferencias de procesos demográficos, lo cual, debe considerarse para evaluar riesgos de la población y realizar estrategias de conservación (Ball et al., 2020).

Este trabajo busca conocer el manejo reproductivo actual y el estado de la variabilidad genética de iguana negra en el Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar (CECOREI-UMAR) para realizar una propuesta de reproducción, con la finalidad de evitar la consanguinidad y contribuir con las estrategias de conservación de la especie.

II. ANTECEDENTES

2.1 *Ctenosaura pectinata*

2.1.1 Distribución

La especie está catalogada como endémica de México desde 1993 (DOF, 1993), su distribución natural se encuentra en la costa del pacífico, desde el sur de Sinaloa hasta el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, con registros en Durango, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Morelos, Guerrero y Puebla (Gómez-Mora et al., 2012). Además, la iguana negra fue introducida en el sur de Texas, sureste de Florida, las islas Isabel y tres Marías del Océano Pacífico (Núñez, 2020). El hábitat natural se ubica en regiones donde la vegetación predominante es selva mediana subperennifolia, selva baja caducifolia y selva baja con un clima tropical y periodos relativos de sequía (Galarza, 2021).

2.1.2 Taxonomía

La especie *Ctenosaura pectinata* es conocida como iguana negra, iguana de cola espinosa o garrobo. Pertenece a la clase Reptilia, orden Squamata y familia Iguanidae (Galarza, 2021). La clasificación completa se muestra a continuación.

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Sauropsida

Orden: Squamata

Familia: Iguanidae

Género: *Ctenosaura*

Especie: *C. pectinata* (Wiegmann, 1834)

2.1.3 Importancia

La iguana negra juega un papel ecológico importante dentro de los ambientes donde se encuentra, ya que es parte de la cadena trófica, puede ser controlador de plagas, así como dispersor de semillas, lo cual contribuye a la regeneración de la vegetación de su entorno (Gómez-Mora et al., 2012). También, es considerada una especie de importancia económica en las zonas donde se distribuye, tiene alto valor

alimentario, se utiliza como fuente de proteínas, además en la medicina tradicional y uso comercial (Arcos-García et al., 2002; Mena, 2021).

2.1.4 Anatomía general

La iguana negra es un iguánido de talla grande, en etapa adulta alcanza los 1.2 m de longitud total (Arcos-García y López-Pozos, 2009), con cuerpo comprimido lateralmente largo y robusto (Félix, 2016). Son individuos de cabeza larga y aplanada anteriormente, cubierta de escamas hexagonales y quilladas de tamaño pequeño y tienen parpados móviles (Rojas, 2018). Las escamas del hocico son suaves y más largas que el resto de la cabeza, fosas nasales grandes cercanas al hocico, membrana timpánica de tamaño similar a la órbita ocular y pliegue gular transverso pronunciado (Félix, 2016).

El cuerpo puede ser color negro con manchas irregulares dispersas de color blanco-amarillento (Figura 1) (Rojas, 2018), anaranjadas o azul turquesa (Félix, 2016), con escamas dorsales lisas más pequeñas que las escamas ventrales (Rojas, 2018). Presentan poros femorales que son de mayor tamaño en los machos, y pueden variar en número de 4-4 a 13-13; las escamas de las patas carecen de espinas y presentan dedos largos, principalmente en las patas traseras (Félix, 2016).



Figura 1. Coloración de un ejemplar de iguana negra en cautiverio.

Presentan cresta dorsal continua (hilera de escamas a lo largo de la línea media dorsal del cuerpo), que se extiende desde el cuello hasta la base de la cola, compuesta de 63 a 75 espinas dorsales (Félix, 2016). En machos juveniles, las escamas de la cresta dorsal son más grandes, así como los poros femorales son de mayor tamaño en los machos (0.05-1.0 mm) que en las hembras (Arcos-García et al., 2005b).

La cola es larga con escamas dispuestas en anillos (Rojas, 2018), presenta dos tipos: 1) alargadas: grandes y espinosas, y 2) intercalares: pequeñas y planas; los primeros cinco a seis anillos están separados por tres hileras de escamas planas intercalares, los siguientes 5 a 6 anillos están separados solo por dos hileras (Félix, 2016).

2.1.5 Variables fenotípicas de importancia reproductiva

El tamaño corporal de las iguanas tiene un efecto sobre el ámbito hogareño y en las interacciones intra e interespecíficas (Mazariegos, 2020). La iguana negra es una especie territorial, durante la etapa reproductiva el macho defiende el territorio de la hembra que está cortejando (Rojas, 2018). Las medidas consideradas como indicadores de la aptitud de las iguanas son la longitud hocico-cloaca (LHC), ancho de la cabeza, tamaño del hocico y peso total del individuo; ya que se relacionan con la capacidad de defensa y reproducción de los individuos (Judson et al., 2018).

En el caso de las hembras, la condición corporal está directamente relacionada con la eficiencia reproductiva de las mismas; ya que durante la temporada reproductiva la energía requerida corresponde a un tercio del peso corporal (Arcos-García et al., 2020). De acuerdo con López et al. (2012), el tamaño y el peso de las hembras se relaciona positivamente con el número de huevos que oviposita, así como en el peso promedio de los mismos.

2.1.6 Comportamiento

La iguana negra presenta hábitos diurnos y arborícolas, se encuentra principalmente cerca de cuerpos de agua, en lugares rocosos, a nivel del suelo, troncos e incluso en techos de casas (Gómez-Mora et al., 2012; Galarza, 2021).

Se ha reportado que el ciclo sexual de la iguana negra es anual y se presenta entre los dos y medio y los tres años (Arcos-García et al., 2002). La temporada reproductiva generalmente es entre noviembre y abril (Arcos-García et al., 2005b). Los machos

establecen un territorio y llevan a cabo un ritual de cortejo, que consta de movimientos de cabeza, mientras se ensancha la papada; si la hembra lo acepta, el macho defiende este territorio, aun cuando corteje a otras hembras, sin descuidar del todo el territorio para que otros machos no tengan acceso a la hembra que ya lo aceptó (Rojas, 2018). Las hembras presentan un ciclo estral estacional, se clasifican como monoestrales, es decir, completan un solo ciclo de estro anualmente y un periodo amplio de anestro (Arcos-García y López, 2009). Las hembras se muestran receptivas a partir del mes de febrero y es cuando ocurre el apareamiento, este periodo es conocido como estro o periodo de celo. El apareamiento puede durar entre 3 y 12 minutos y puede ocurrir más de una vez (Rojas, 2018).

En condiciones de cautiverio, Arcos-García y López (2009) reportaron que en las hembras el periodo de celo dura alrededor de 9 días, copulan con más de un macho, la gravidez dura cerca de 60 días y cada hembra pone un promedio de 30 huevos.

2.1.7 Conservación y reproducción en México

Las Unidades de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre (UMA) se implementaron en México con la finalidad de contar con alternativas de desarrollo socioeconómico. Las UMAs promueven actividades productivas del sector rural que contribuyen a la conservación y aprovechamiento sustentable de los recursos naturales (Chan, 2022). Las unidades de manejo son predios o instalaciones registradas ante la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) que operan conforme a un plan de manejo previamente aprobado por esta misma entidad, dentro de las cuales se da seguimiento permanente al estado del hábitat, poblaciones o ejemplares que ahí se distribuyen (SEMARNAT, 2018). El objetivo general de las UMAs es la conservación tanto del hábitat natural como de las poblaciones o ejemplares de vida silvestre que lo habitan. Además, otros de sus objetivos específicos pueden involucrar la restauración, protección, mantenimiento, recuperación, reproducción, repoblación, reintroducción, investigación, rescate, resguardo, rehabilitación, exhibición, recreación, educación ambiental y aprovechamiento sustentable de la misma (Galarza, 2021). El manejo de fauna silvestre se realiza con ejemplares o poblaciones de especies que se desarrollan

ya sea en condiciones naturales (sin restricciones) o en condiciones de cautiverio (SEMARNAT, 2018).

La crianza en cautiverio se ha convertido en una herramienta importante para la búsqueda de iniciativas de recuperación de especies (Shaffer et al., 2015). La crianza y manejo de animales en cautiverio puede contribuir a la conservación de fauna silvestre, haciendo posible la reintroducción de sus poblaciones a la vida silvestre (Arcos-García et al., 2005a). Uno de los objetivos principales de la conservación es garantizar que las poblaciones sigan siendo viables y mantengan la diversidad genética (Shaffer et al., 2015). En el caso de la iguana negra se busca contrarrestar la disminución de la población, mediante la reintroducción de ejemplares a la vida silvestre; así como lograr una producción que permita la comercialización de forma sustentable y rentable, para satisfacer la demanda comercial con fines alimenticios que existe de esta especie y así disminuir la extracción y tráfico ilegal a partir de las poblaciones naturales (Galarza, 2021).

Por otro lado, la preocupación central para la conservación de especies amenazadas es la preservación de la variabilidad genética, debido a su importancia para el potencial evolutivo y adaptativo de las especies. Por lo tanto, analizar la composición genética de organismos criados en cautiverio puede mejorar la comprensión de la predicción de patrones de diversidad genética y mejorar el manejo de estas especies (Shaffer et al., 2015).

2.2 Manejo reproductivo

El manejo reproductivo consiste en un conjunto de técnicas encaminadas a la inducción, aceleración, modificación o intervención en ciertas fases de los procesos reproductivos de ejemplares silvestres en cautiverio. Implica el manejo planificado de los ejemplares, poblaciones o del hábitat, con la finalidad de incrementar el número de individuos de una población. Este proceso se realiza bajo condiciones de protección a los ejemplares y especies, mediante un seguimiento sistemático que garantice que una población se mantenga sana (DOF, 2018).

2.3 Endogamia

Las poblaciones pequeñas se pueden ver afectadas por fenómenos de endogamia y deriva génica (Bererhi et al., 2023). Se entiende como endogamia al cruce entre dos individuos genéticamente emparentados; es decir, que tienen uno o más antepasados en común (Ocampo y Cardona, 2013). Cuando el tamaño poblacional es reducido o se presentan fenómenos de endogamia, la diversidad genética disminuye, lo que incrementa la probabilidad de que algunos alelos de un gen no estén representados en las siguientes generaciones. Esto facilita el proceso de deriva génica, en el cual las frecuencias alélicas cambian de manera aleatoria, provocando la desaparición gradual de ciertos alelos. Como resultado, se reduce aún más la variabilidad genética, y el gen puede llegar a ser monomórfico (Bererhi et al., 2023).

Cuando existe endogamia en una población, los individuos tienen mayor probabilidad de poseer genotipos homocigotos, es decir que reciban los mismos alelos de ambos padres (Arias, 2020). Una de las consecuencias de esta condición es que hay una reducción en la adecuación de los organismos, a este fenómeno se le conoce como depresión por endogamia, de igual forma se expresa como un aumento en el coeficiente de consanguinidad (Arias, 2020; Bererhi et al., 2023).

Para determinar el grado de endogamia en una población, se utiliza el coeficiente de endogamia o Fis. Este coeficiente pertenece a los estadísticos F de Wright y se basa en la desviación de la heterocigosidad observada en comparación con la esperada bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg (Magallán-Hernández et al., 2009). Puede variar de -1 a 1, valores cercanos a -1 indican exceso de heterocigotos, valores cercanos a 1 indican deficiencia de heterocigotos como consecuencia de la endogamia y entre más cercano a 0, indica ausencia de fenómenos de endogamia (Valladares, 2019).

2.4 Variabilidad Genética

Los organismos de una misma especie son diferentes entre sí, esto se debe, en buena medida, a la existencia de la variabilidad genética. Esta variación surge por mutaciones en el material hereditario, las cuales son necesarias para la adaptación y evolución de las especies (Judson et al., 2018). La variación genética es el primer punto donde la selección natural puede actuar y así dar origen a adaptaciones. Cuando una población presenta una amplia variabilidad genética se considera con buena salud, de lo

contrario la capacidad de respuesta ante un cambio ambiental se ve limitada a corto y largo plazo. Los análisis de diversidad permiten identificar las variaciones genéticas entre o dentro de una población con respecto al genoma completo de los organismos analizados (Chan, 2022). La diversidad genética representa variaciones en la secuencia de nucleótidos en un segmento particular (*locus*) de una molécula de ADN. Cuando estas variaciones se presentan en regiones codificantes, se pueden generar diferencias en la secuencia de aminoácidos en la proteína codificada por el *locus*. Dicha diferencia proteica da lugar a diferencias bioquímicas o morfológicas funcionales que podrían afectar la tasa reproductiva, supervivencia o el comportamiento de los individuos (Frankham et al., 2002).

Los enfoques genómicos ofrecen la oportunidad de caracterizar la diversidad genética y las distintas formas que puede tomar una secuencia específica de ADN (Iniesta et al., 2005), que en algunas ocasiones permitirá la adaptación de las especies ante situaciones externas, tales como el cambio climático que es una de las mayores problemáticas actuales (Shaffer et al., 2015). Dichos estudios se abordan mediante segmentos de ADN que proporcionan información sobre la variación alélica y algunos permiten distinguir individuos, estos segmentos de ADN son conocidos como marcadores moleculares (Alejos et al., 2014).

2.5 Marcadores moleculares para el estudio de la endogamia: microsatélites

Los marcadores moleculares se basan en el análisis de las diferencias en moléculas de ADN, ARN o proteínas. Representan una herramienta útil en el estudio de la naturaleza desde diferentes perspectivas con enfoques novedosos. Actualmente se han desarrollado varias técnicas basadas en secuencias de ADN con las que se puede obtener información relevante en procesos ecológicos o evolutivos, paternidad, adaptación, especiación e interacciones, diversidad genética, entre otros (Cornejo et al., 2014).

Un microsatélite es una secuencia corta de ADN con una longitud de uno a seis pares de bases que se repite múltiples veces en sucesión en una ubicación genómica particular y es utilizado como marcador molecular (Contreras-Díaz et al., 2021). Se consideran marcadores co-dominantes, ya que permiten diferenciar homocigotos de heterocigotos (Cornejo et al., 2014; Domínguez-Román, 2018). Se ubican en regiones

del genoma codificantes o no codificantes, son altamente polimórficos lo que los hace marcadores adecuados en estudios a nivel poblacional (Lobo y Morales, 2014). Además, pueden ser utilizados en diferentes especies que se encuentren en grupos taxonómicos relacionados (Wang et al., 2005; Ojeda et al., 2012). Se recomienda que el tamaño de la muestra poblacional para estudios con microsatélites sea igual o dos veces mayor al número de alelos encontrados en el *locus* más polimórfico (Félix, 2016).

Los polimorfismos genéticos son variantes del genoma que aparecen principalmente por mutaciones o por recombinación, son heredables y adquieren una frecuencia elevada (>1%) en la población tras varias generaciones, por lo que son considerados la base de la evolución. Un polimorfismo en una población puede proporcionar ventajas adaptativas a los individuos. Los polimorfismos más frecuentes son cambios de una única base, llamados polimorfismos de un solo nucleótido o SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*, por sus siglas en inglés) (Iniesta et al., 2005).

Un polimorfismo presenta distintos nucleótidos o variantes en una posición concreta del genoma, que se conoce como *Locus* (el plural de *locus* se denomina *Loc*). A cada posible nucleótido o variante se le denomina alelo. En el caso de los SNP, generalmente son dos posibles alelos por cada *locus*. Cada individuo es portador de dos alelos, uno por herencia materna y otro por herencia paterna, a esta pareja de alelos se le denomina genotipo. Si los individuos presentan dos alelos diferentes se denominan heterocigotos y si presentan alelos idénticos se denominan homocigotos (Iniesta et al., 2005).

Para analizar la variación genética en una población existen diferentes estimadores, entre ellos se encuentra el porcentaje y proporción de loci polimórficos, heterocigosis, equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W), riqueza alélica (Arias, 2020).

El equilibrio de H-W es un principio genético que establece que, en ausencia de fuerzas evolutivas como la deriva génica, la selección natural, la migración y otras, las frecuencias genotípicas en una población permanecerán constantes de una generación a la siguiente. Se basa en la heterocigosis observada (H_o), entendida como la frecuencia relativa de individuos heterocigotos observados en la muestra para cualquiera de los loci, en comparación con la heterocigosis esperada (H_E) que es la probabilidad de que dos

alelos tomados al azar de la población sean diferentes, en los casos donde la población se desvía de dichas proporciones, se habla de desequilibrio H-W (Núñez-Colín, 2018).

2.6 Estudios moleculares en iguanas

Se ha demostrado que los microsatélites pueden utilizarse en especies pertenecientes a taxones relacionados (Wang et al., 2005; Ojeda et al., 2012). Por ejemplo, seis regiones loci (Cuadro 1) descritas para iguana del caribe (*Iguana delicatissima*) resultaron polimórficas también para iguana verde (*Iguana iguana*) (Valette, 2013; De Jesús-Villanueva, 2021).

Para iguana negra, Zarza et al. (2009), desarrollaron una biblioteca de microsatélites con el objetivo de comprender la dinámica reproductiva de la especie, además de resolver problemas de comercio ilegal, translocación de animales y reintroducción en la naturaleza. Analizaron 10 loci para la especie, concluyeron que todos fueron polimórficos para *C. pectinata*, siendo Pec24 el más polimórfico con 19 alelos, adicionalmente registraron un déficit de heterocigotos en el *locus* Pec21, según el equilibrio de Hardy-Weinberg (Cuadro 2).

Félix (2016) analizó los diez loci reportados para *C. pectinata* (Cuadro 3) en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR. Los resultados indicaron una desviación del equilibrio de H-W en nueve de los diez loci, además de la presencia de endogamia mediante el índice de Fis (Cuadro 3). Esto se atribuye al manejo realizado y el ambiente cautivo que propician la reproducción entre individuos emparentados. En dicho estudio, se concluye que se requieren más estudios en el área para realizar cambios en el manejo reproductivo del centro que busquen disminuir los índices de consanguinidad.

Cuadro 1. Loci reportados como polimórficos para *I. delicatissima* e *I. iguana*.

Locus	Primer	Motivo de repetición	Ta (°C)	pb	N_a
IgdL12	F: GAGCCCACCAATTAATGGAA	(TG)12	56	170–243	20
	R: TCTCTGTTGCAATCCAGCAA				
IgdL14	F: CCTACAGATCATATCTTGTGCATTC	(CA)16	56	174–197	13
	R: TGGGAGAGATTCATCGGAAC				
IgdL17	F: AACCATAATGTCCATCCACACA	(GT)7	56	191–260	21
	R: TGGAAGTTCAGGTGAATCCAT				
IgdL19	F: CCTGGGTACCACTCAAGCTC	(GT)18	56	188–276	22
	R: GCTGCTGCAGAAGTCATAGC				
IgdL20	F: CCTGTGCTAGAACTTGCCATT	(TC)13 + (CA)20	56	180–402	24
	R: GATGAAAAGTGCCCTCCTAGACA				
IgdL24	R: GGGCAGGGAGGAATAGAGTAA	(GT)14	56	156–205	11

T_a=temperatura de alineamiento, pb=tamaño de rango en pares de bases, N_a=número de alelos (Valette, 2013; De Jesús-Villanueva, 2021).

Cuadro 2. Loci reportados para *Ctenosaura pectinata*.

Locus	Primer	Motivo de repetición	Ta (°C)	N_a	pb	H_o/H_E
Pec01	F:[H]GGGTCTGTGAAGTAGATGC R: GCAGTATATCCCCTCAAAGAC	(AC)12	55	4	93-101	0.48/0.48
Pec03	F: [H]CCAGAGCAAATTCACAGATC R: GGTCAGATGTAGTCCAGCATAG	(CACG)4+(AC)5	60	2	219-221	0.41/0.50
Pec16	F: [H]GGCCTGGTAAAAATACTTCAG R: GTTTCGGGAAAAAGATTGTTGTG	(AC)18	55	8	214-239	0.85/0.80
Pec20	F: [F]CTGGACAAAACCTCACTCATC R: GTTTCGGCACAAACACTACAGATC	(AC)10	55	2	226-228	0.52/0.50
Pec21	F: [F]CCTCACAGAAGTTGAGTAGTTTC R: GTTTGTTATGTTTCTGTGTGCAAGAC	(CT)8C(AC)5 + (CT) 9C(AC)11	55	11	283-314	0.45/0.71
Pec24	F: [H]ACACATGCCCGGAAG R: GCTTCACCCATTCTCAC	(GGAA)8(GGGA)3 + (AC)12 (AT)6(ACAT)2(AC)10	55	19	390-438	0.96/0.90
Pec25	F: [H]GGCTGTATATGTGATGAGAG R: CTGTGTTTGTGGGTATTG	(AC)11	53	4	186-194	0.41/0.38
Pec73	F: [N]GCAATGGAAACGAGGCTGGAC R: ATGACATACACGGGCACAACCTG	(AC)10	58	3	186-190	0.78/0.68
Pec89	F: [F]TCTTCCCTGACTTCCATTC R: GCTGACTGCCATCTGTAAG	(AC)12AT(AC)4	53	3	246-254	0.15/0.14
PecTN1	F: [F]ATGGGTGACTGTAATGCG R: GTTCCCTTTACGAAGATCC	(CA)2(CG)4(CA)7 + (CAG)5A(TGA)5	56	3	195-207	0.52/0.51

Ta=temperatura de alineamiento, N_a=número de alelos, pb=tamaño del amplicón en pares de bases, H_o=Heterocigosidad observada, H_E=Heterocigosidad Esperada. Etiquetas fluorescentes [H] (5HEX), [F] (6FAM) y [N] (NED) (Zarza et al., 2009)

Cuadro 3. Equilibrio de Hardy-Weinberg e índice Fis de 10 loci evaluados en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR con los programas Genepop (Raymond y Rousset, 2008) y Arlequin (Excoffier, 1998-2015).

Loci	S. Genepop			S. Arlequin		
	H.O.	H.E.	Fis	H.O.	H.E.	Fis
Pec01	29	37.82	0.23*	0.65	0.85	-0.24
Pec03	12	23.96	0.50*	0.38	0.77	0.85
Pec16	35	37.01	0.05*	0.71	0.75	-0.24
Pec20	9	16.72	0.46*	0.3	0.55	0.6
Pec21	21	33.63	0.37*	0.5	0.8	0.59
Pec24	14	39.88	0.65*	0.32	0.91	0.48
Pec25	32	40.96	0.22*	0.72	0.92	0.73
Pec73	33	30.63	-0.07	0.26	0.23	-0.09***
Pec89	22	35.96	0.39*	0.53	0.85	0.62
PecTN1	4	34.1	0.88*	0.09	0.78	0.95

H.O.=Heterocigosidad Observada, H.E.=Heterocigosidad Esperada, Fis=coeficiente de endogamia. Desviación del equilibrio H-W (*), no significativo ($p>0.05$) (***) (Félix, 2016).

Las estimaciones de diversidad genética deben considerarse en los programas de conservación de las especies, ya que es un factor determinante para que las poblaciones puedan adaptarse a los cambios ambientales (Chan, 2022). Además, es necesario tener en cuenta las características morfométricas que influyan en el éxito reproductivo al momento de seleccionar a los individuos reproductores. Conocer las características morfométricas y el estado de consanguinidad de la población de iguana negra del CECOREI es relevante para la toma de decisiones en el plan de manejo reproductivo del centro, con la finalidad de aumentar el éxito de reproducción, evitar la reducción de la variabilidad genética y así contribuir a la conservación de la especie.

III. HIPÓTESIS

Debido a las condiciones de cautiverio y manejo de iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) del Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar, se espera que exista un incremento en el grado de consanguinidad de los individuos de la población y por lo tanto la presencia de endogamia en la misma.

IV. OBJETIVOS

General

Conocer el manejo reproductivo, el nivel de endogamia y el grado de consanguinidad actual de la iguana negra (*C. pectinata*) para realizar una propuesta de plan de reproducción con el fin de evitar la consanguinidad en el Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar, de la Región Costa de Oaxaca, México.

Particulares

- Conocer el manejo reproductivo de iguana negra del CECOREI-UMAR.
- Analizar las variaciones fenotípicas de individuos adultos de *C. pectinata* mantenidos en condiciones de cautiverio.
- Determinar la variabilidad genética para describir el nivel de endogamia y el grado de consanguinidad de iguana negra en confinamiento.
- Realizar una propuesta de plan de manejo reproductivo con base en el nivel de endogamia y el grado de consanguinidad de la población de iguana negra del CECOREI-UMAR.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Sitio de Estudio

El presente trabajo se llevó a cabo en el Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar (CECOREI-UMAR), el cual está registrado como Unidad de Manejo Ambiental de tipo intensivo ante la SEMARNAT (Arcos-García, 2003). Se localiza en el kilómetro 128.1 de la Carretera Federal No. 200, Pinotepa Nacional-Puerto Escondido, Oaxaca, México con coordenadas geográficas 15°55'23.1" N y 97°09'05" O en Bajos de Chila, Municipio de San Pedro Mixtepec, Oaxaca, México (Núñez, 2020). El mapa de localización del sitio (Figura 2) se realizó con la información cartográfica del Instituto Nacional de Estadística y Geografía INEGI (2014).

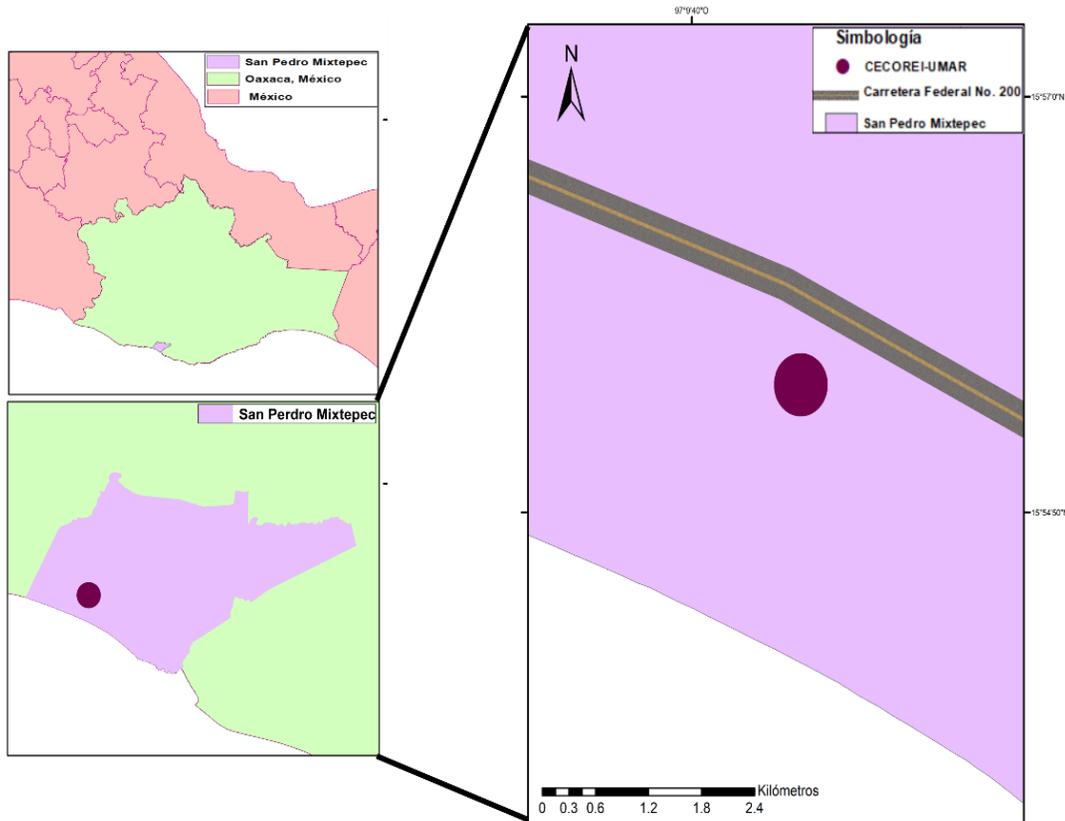


Figura 2. Mapa de localización del CECOREI-UMAR (INEGI, 2014).

5.2 Manejo de ejemplares

5.2.1 Selección y marcaje de individuos

Se seleccionaron 40 individuos de *Ctenosaura pectinata* en etapa adulta, de los cuales fueron 20 machos y 20 hembras. Se tomó el tamaño de los poros femorales como característica principal para diferenciar el sexo: 1.13 ± 0.39 mm en machos y 0.29 ± 0.15 mm en hembras.

Para el marcaje de las iguanas se utilizó el sistema de colores de chaquiras que se colocaron en la base de la cola, de acuerdo con el plan de manejo del centro (Arcos-García, 2003). Se utilizaron 10 colores, a cada uno le corresponde un número del 0 al 9. La marca consistió en un número consecutivo (del 1 al 40) seguido de las últimas dos cifras del año en que se inició el estudio.

5.2.2 Recinto

Los individuos se mantuvieron en el mismo recinto (Figura 3) y con las mismas condiciones de manejo. Las medidas del alojamiento fueron de 5 x 6 m, la altura del techo fue de 3 m al centro y de 2.5 metros a los lados; con puertas dobles, para evitar el escape de los ejemplares al entrar o salir. Las paredes eran de malla de criba con una barda de 1 m de altura de lámina galvanizada. El recinto contaba con espacio expuesto al sol, bebedero, comedero y arenero (para la puesta de huevos), un árbol que proporcionaba sombra y zona de descanso, según el plan de manejo (Arcos-García, 2003). La limpieza de la jaula y de piletas se realizó cada tercer día.



Figura 3. Recintos de las iguanas en el CECOREI-UMAR.

5.2.3 Alimentación

El alimento se ofreció cada mañana a libre acceso y constó de concentrado para conejo (conejina turbo) de la marca Purina® y alimento para gallinas de postura (Pone oro) de la marca Api-aba®, en proporción 1:1.

5.4 Metodología

5.4.1 Plan de manejo reproductivo actual

Se llevó a cabo una revisión del plan de manejo del CECOREI-UMAR (Arcos-García, 2003). Además, se observaron y registraron las actividades que realizaban los trabajadores, durante la temporada reproductiva.

5.4.2 Características morfométricas

Se midieron los caracteres morfométricos (sexuales, longitudinales y peso) de los 40 organismos adultos de iguana negra seleccionados (Figura 4). Para las mediciones se utilizó un vernier digital de fibra de carbono, con resolución 0.1 ± 0.01 mm un flexómetro marca Handi Works® exactitud ± 56 mm y una báscula digital marca TORREY® modelo EQB100/200 con capacidad de 100 ± 0.2 Kg.

1. Poros femorales. Se consideraron como caracteres sexuales diferenciales a los poros femorales, que en los machos de iguana negra son más grandes y están más desarrollados en comparación con los poros femorales de las hembras (Arcos-García et al., 2005b).

2. LHC (cm). Medida que involucra la longitud del cuerpo desde la apertura cloacal hasta la punta del hocico (Núñez, 2020).

3. Longitud de la pierna (cm). Longitud que va desde la rodilla hasta la flexión de la pata (Félix, 2016).

4. Longitud de la cabeza (cm). Medida que va desde la punta del hocico hasta el margen anterior de la apertura del oído (Núñez, 2020).

5. Ancho de la cabeza (cm). Ancho entre la comisura izquierda y derecha del hocico (Félix, 2016).

6. Longitud del hocico (cm). Medida que va desde la punta del hocico hasta el margen anterior de la órbita (Félix, 2016).

7. Peso total del individuo (Kg). Se determinó mediante una balanza granataria (Félix, 2016).

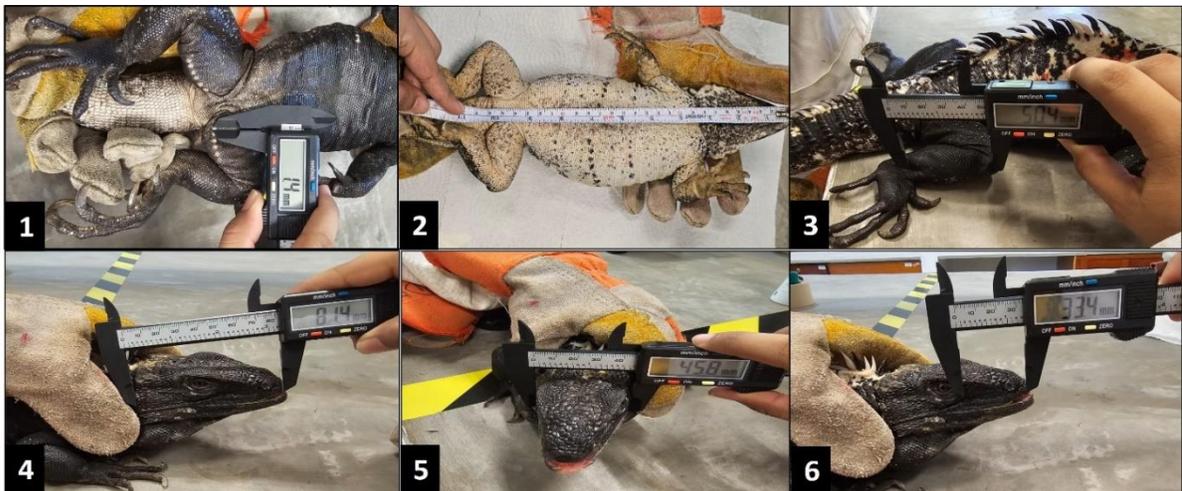


Figura 4. Medidas morfométricas. 1. Poros femorales; 2. LHC= Longitud hocico-cloaca; 3. Longitud de la pierna; 4. Longitud de la cabeza; 5. Ancho de la cabeza; 6. Longitud del hocico.

5.4.3 Análisis de endogamia y consanguinidad

5.4.3.1 Extracción de sangre

Las muestras sanguíneas se tomaron mediante punción de la vena coxígea. El procedimiento se realizó con jeringas hipodérmicas de 3 mL con aguja desmontable de 23G x 25 mm. Se extrajeron 50 μ L de sangre de cada individuo y se colocaron en microtubos estériles y se aforaron a 1.5 mL con etanol absoluto. Las muestras se almacenaron a -4 °C hasta su uso (Félix, 2016).

5.4.3.2 Extracción, integridad y cuantificación de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo de Amaru et al. (2006), modificado por Félix (2016). Se tomó un volumen de 250 μ L de la muestra sanguínea refrigerada y se resuspendió en 900 μ L de buffer NLB-SDS, (Trisaminometano 10mM pH 8.2, cloruro de sodio 0.4M, ácido etilendiaminotetraacético disódico 2 mM pH 8.0 y Dodecilsulfatosódico 10%). Se añadieron 300 μ L de cloruro de sodio 6 M y se agitó en vórtex durante 1 min. El volumen total se dividió en dos microtubos estériles (725 μ L c/u) y a cada uno se le agregó 300 μ L de cloroformo, se mezcló por inversión durante 5 min hasta observar una solución homogénea. La mezcla se centrifugó a 4 821 x g durante 5 min a 15 °C y se transfirió 1 mL a un microtubo limpio y estéril (se realizó por duplicado). A cada tubo se agregó 300 μ L de la mezcla cloroformo-alcohol isoamílico 24:1 (v/v) y se mezcló por inversión durante 5 min hasta observar una solución homogénea. Se centrifugó a 4 821 x g durante 15 min, el sobrenadante se dividió en 4 tubos estériles (650 μ L por muestra) y el pellet se desechó. A cada tubo se agregaron 30 μ L de acetato de sodio 3 M y 1 mL de etanol absoluto frío. Las muestras se incubaron a -20°C al menos 20 min y se centrifugaron a 4 821 x g durante 15 min. Se desechó el sobrenadante y el pellet se lavó con 1 mL de etanol al 70% (v/v), posteriormente se centrifugaron las muestras a 4 821 x g durante 15 min y se desechó el sobrenadante. El ADN extraído se incubó a temperatura ambiente durante al menos 12 h y posteriormente, se resuspendió en 100 μ L de agua inyectable, recuperando el ADN de todas las muestras. Las muestras se almacenaron a -20°C hasta su uso.

La integridad del ADN se determinó a través de análisis electroforético en geles de agarosa al 1% (p/v) en buffer TBE 1X, teñido con bromuro de etidio (EtBr) a una concentración final de 0.5 µg/mL. Se utilizó como referencia el marcador de peso molecular 1Kb (1kb DNA Ladder, Promega®). El análisis se realizó durante 50 min a 100 V. El gel se visualizó en un transiluminador UV (Benchtop® UV transilluminator UVP) para la obtención de la imagen. La concentración de ADN de cada muestra se determinó con el análisis de la intensidad de las bandas mediante el programa ImageJ.

5.4.3.3 Amplificación de microsatélites

Se realizó la amplificación de siete microsatélites, cuatro de ellos fueron descritos para *C. pectinata* y tres de ellos descritos para *Iguana delicatissima* (Cuadro 4).

Cuadro 4. Regiones Loci amplificadas

<i>Locus</i>	<i>Primer</i>	Motivo de repetición	T_a (°C)	N_a	pb
Pec01	F: GGGTCTGTGAAGTAGATGC R: GCAGTATATCCCCTCAAAGAC	(AC)12	55	4	93-101
Pec16	F: GGCCTGGTAAAAATACTTCAG R: GTTTCGGGAAAAAGATTGTTGTG	(AC)18	55	8	214-239
Pec24	F: ACACATGCCCGGAAG R: GCTTCACCCATTCTCAC	(GGAA)8(GGGA)3 + (AC)12 (AT)6(ACAT)2(AC)10	55	19	390-438
Pec25	F: GGCTGTATATGTGATGAGAG R: CTGTGTTTGTGGGTATTG	(AC)11	53	4	186-194
IgdL12	F: GAGCCCACCAATTAATGGAA R: TCTCTGTTGCAATCCAGCAA	(TG)12	56	20	170– 243
IgdL17	F: AACCATAATGTCCATCCACACA R: TGGAAGTTCAGGTGAATCCAT	(GT)7	56	21	191– 260
IgdL19	F: CCTGGGTACCACTCAAGCTC R: GCTGCTGCAGAAGTCATAGC	(GT)18	56	22	188– 276

F=*primer* forward, R=*primer* reverse, T_a=temperatura óptima de alineamiento, N_a=número de alelos, bp=tamaño del amplicón en pares de bases (Zarza et al., 2009; Valette, et al., 2012).

Para corroborar que los siete *primers* amplificaran correctamente, se determinaron las temperaturas óptimas de alineamiento de los *primers* sin marca fluorescente, las amplificaciones se llevaron a cabo con la mezcla de buffer de reacción 5X (PROMEGA®), desoxinucleótidos (dNTPs) 10 mM (PROMEGA®), dos secuencias de amplificación (*primers*) 5 μ M (IDT®), GoTaq DNA polimerasa 0.5 u/ μ L (PROMEGA®) y el ADN templado a una concentración de 50 ng/ μ L, en un volumen final de reacción de 25 μ L (Cuadro 5). La amplificación de los fragmentos se realizó en un termociclador (Bio Rad® modelo T100). Las condiciones de reacción se muestran en el Cuadro 6 y las temperaturas óptimas obtenidas en el Cuadro 7.

Cuadro 5. Mezcla de reacción de amplificación para todos los microsatélites

Reactivo	Volumen (μ L)
Agua inyectable	16.25
Buffer 5X	5
dNTP'S (10 mM)	1
Primer F (5 μ M)	1
Primer R (5 μ M)	1
Taq Pol (5u/ μ l)	0.25
ADN	0.5
Volumen final	25

Cuadro 6. Temperatura y condiciones de amplificación de microsatélites analizados

Paso	Condiciones	
	Temperatura	Tiempo
Incubación inicial	95 °C	5 min
Desnaturalización	94 °C	45 s
Ciclos	30	
Alineación	Ta (Cuadro 7)	45 s
Extensión	72 °C	1 min
Incubación final	72 °C	5 min

Cuadro 7. Temperatura óptima de alineamiento

Primer	Temperatura óptima °C
Pec01	56.0
Pec16	56.0
Pec24	59.7
Pec25	53.0
IgdL12	56.6
IgdL17	56.6
IgdL19	56.4

De cada uno de los productos amplificados, se tomaron 15 μL y se visualizaron mediante análisis electroforético TBE 1X en geles de agarosa al 2% (p/v), el cual se tiñó con EtBr a una concentración final de 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se utilizó como referencia el marcador de peso molecular 2000 pb (2000 bp HyperLadder, BIOLINE®). La electroforesis se resolvió durante 2 h a 100 V. El gel se visualizó en un transiluminador UV (High Performance UV transilluminator UVP) para la obtención de la imagen.

5.4.3.4 Detección de alelos

Para la detección de alelos, los *primers forward* se marcaron con fluoróforos específicos FAM, NED, VIC o PET (Cuadro 8). El tipo de fluoróforo se asignó con base en el tamaño esperado del amplicón de cada microsatélite. Se realizó la mezcla de los *primers* en la cual se añadieron 0.5 μL primer *forward* [2 μM] (IDT®), 0.5 μL primer *forward* marcado con fluoróforo [2 μM] (ThermoFisherScientific ®), y 1 μL de primer *reverse* [2 μM] (IDT®) de cada uno de los microsatélites, se aforó a 50 μL con agua inyectable.

Cuadro 8. Fluoróforo para cada primer

Primer	Fluoróforo
Pec01	FAM™ (6-carboxyfluorescein)
Pec16	FAM™ (6-carboxyfluorescein)
Pec24	FAM™ (6-carboxyfluorescein)
Pec25	FAM™ (6-carboxyfluorescein)
IgdL12	NED™ (NED-2'-deoxycytidine)
IgdL17	VIC® (VIC® dye)
IgdL19	PET™

Tomando en cuenta la temperatura de alineamiento de cada microsatélite, se realizaron dos PCRs por cada individuo. La primera amplificación (Pec01, Pec16, Pec25, IgdL17 e IgdL19) se realizó a 60°C. La segunda se realizó a 58°C para el caso de Pec24 e IgdL12. Se utilizó el kit *Type-it microsatellite PCR* (QIAGEN®), ya que permite amplificar simultáneamente varios microsatélites en cada reacción.

La mezcla de reacción contenía la mezcla de *primers*, antes mencionada, el kit *Type-it microsatellite PCR* (QIAGEN®) y el ADN molde [50 ng/μL], en un volumen final de 5 μL (Cuadro 9). Las condiciones de reacción se realizaron de acuerdo con las recomendaciones del proveedor (*Type-it microsatellite PCR kit*, QIAGEN®) (Cuadro 10).

Cuadro 9. Mezcla de reacción de amplificación para detección de alelos

Reactivo	Volumen (μL)
Mezcla de primers	1
Type-it microsatellite PCR kit	2.5
ADN	1
Agua inyectable	0.5
Volumen final de reacción	5

Cuadro 10. Condiciones de amplificación para detección de alelos

Fase	Condiciones	
	Temperatura	Tiempo
Incubación inicial	95 °C	5 min
Desnaturalización	94 °C	30 s
Ciclos	28	
Alineación	58-60 °C	45 s
Extensión	72 °C	30 s
Incubación final	60 °C	30 min

Los productos de la PCR se enviaron al laboratorio de Secuenciación por Electroforesis Capilar CES (*Capillary Electrophoresis Sequencing*, por sus siglas en inglés) de MacroGen, Inc. Corea del Sur, para el análisis de fragmentos. Con los resultados se obtuvo un electroferograma que se analizó con la aplicación en línea de acceso libre *Microsatellite Analysis* por ThermoFisherScientific®, para obtener el genotipo de los individuos, con el cual se realizó la determinación del nivel de endogamia y grado de consanguinidad.

5.5 Análisis estadístico

5.5.1 Parámetros morfométricos

Se realizó una prueba de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos, cuando no se ajustó a una distribución normal, se aplicó una transformación con logaritmo. Para determinar la homocedasticidad de varianzas, se llevó a cabo una prueba de Levene. Se utilizó el programa RStudio (versión 2024.12.0) (RStudio team, 2024).

Se realizó una prueba de T de Welch para determinar diferencias significativas entre las medidas morfométricas de machos y hembras. Se llevo a cabo mediante el programa estadístico RStudio (versión 2024.12.0) (RStudio team, 2024).

5.5.2 Determinación de endogamia y consanguinidad

Con la finalidad de verificar la calidad de los microsatélites amplificados y realizar los análisis posteriores, se determinó el error de genotipificación y la presencia de alelos nulos mediante el software MicroCheker (versión 2.2.3.) (van Oosterhout et al., 2004a), para esto, se realizaron réplicas del análisis de microsatélites del 20% de los individuos.

Los microsatélites que presentaron un porcentaje alto de error de genotipificación y/o frecuencia de alelos nulos mayor a 0.20 se descartaron (van Oosterhout et al., 2004b).

Se utilizó el programa Arlequín (versión 3.5.2.2) (Excoffier, 1998-2015) para calcular los estadísticos de homocigosis y heterocigosis esperados bajo el equilibrio H-W con 100000 pasos de desmemorización para asegurar la representatividad de los datos con un 95% de confianza. El coeficiente de endogamia Fis se determinó con el programa Fstat (versión 2.9.4) (Goudet, 2003) con 80 aleatorizaciones para un 95% de confianza.

Se realizó una corrección de Bonferroni para garantizar la representatividad de los datos con un 95% de confianza, dado que se realizaron 4 pruebas simultáneas al analizar 4 microsatélites. Para corregir el valor de p, se utilizó la siguiente formula:

$$\alpha * = \frac{\alpha}{n}$$

Donde:

α^* = Valor de p corregido

α = nivel de significancia (0.05)

n= número de pruebas (4)

$$\alpha * = \frac{0.05}{4} = 0.012$$

Para determinar el parentesco, se realizó un análisis de máxima verosimilitud de parentesco *Relatedness* (*r*) mediante el software Coancestry (versión 1.0.1.11) (Wang, 2023) con *bootstrapping*=100 para un 95% de confianza. Con el programa ML-relate (versión 1.0.3034.16164) (Kalinowski et al., 2006) se determinó la relación por pares (Medios hermanos, hermanos completos, padre e hijo).

5.6 Propuesta de manejo reproductivo

Con los resultados obtenidos del análisis de endogamia y consanguinidad se proponen alternativas al manejo reproductivo de *C. pectinata* en el Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar, a corto y mediano plazo.

VI. RESULTADOS

6.1 Plan de manejo reproductivo actual

De acuerdo con el plan de manejo intensivo registrado para el CECOREI-UMAR, el objetivo general del centro es establecer un centro de investigación, reproducción, exhibición, difusión y conservación de iguanas, que sea capaz de proporcionar ejemplares tanto de iguana negra (*C. pectinata*) como de iguana verde (*Iguana iguana*) a comunidades y centros de investigación interesados en los mismos fines, promoviendo así la investigación básica y aplicada en todas las etapas de desarrollo de las iguanas, con respecto a aspectos nutricionales, reproductivos, económicos, genéticos, sanitarios y de manejo general de ambas especies. Para llevar a cabo lo anterior, se establecieron estrategias de acuerdo con las necesidades de las especies. En cuanto al manejo reproductivo de *C. pectinata* se plantearon actividades que buscan mantener generaciones sanas y evitar la consanguinidad, con base en el ciclo biológico de iguana negra, sin embargo, no todas se llevan a cabo actualmente. El Cuadro 11 muestra las actividades propuestas en el manejo reproductivo que se llevan y no se llevan a cabo en la actualidad.

Cuadro 11. Manejo reproductivo propuesto y actual de *C. pectinata* en el CECOREI-UMAR.

Actividad propuesta	Se realiza	No se realiza
Mantener una densidad por jaula de reproducción de 8 a 12 hembras y de 3 a 4 machos		X
Monitoreo de individuos emparentados		X
Liberación de individuos cada cinco años		X
Introducción de nuevos individuos al centro cada cinco años		X
Selección de individuos reproductivos		X
Control de Temperatura y humedad durante la incubación		X
Establecer un marcaje eficaz		X
Monitoreo poblacional por jaula	X	
Revisión de nidos	X	
Cuidado de huevos	X	
Cuidado de crías	X	

6.2 Parámetros morfométricos

Con los individuos de iguana negra del CECOREI-UMAR analizados, se determinó que los machos presentaron tallas más grandes y un peso mayor en comparación con las hembras ($p < 0.05$). Los machos tuvieron un peso promedio de 1.14 ± 0.05 Kg, mientras que las hembras pesaron 0.76 ± 0.03 Kg. La LHC fue de 31.5 ± 0.57 cm para los machos y de 27.04 ± 0.32 cm para las hembras. El tamaño de los poros femorales en machos fue de 1.13 ± 0.09 mm y en hembras fue de 0.29 ± 0.03 mm (Cuadro 12).

Cuadro 12. Medidas morfométricas de individuos adultos de *C. pectinata*.

	Promedio		Rango	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Peso (Kg)	1.14±0.24 ^a	0.76±0.15 ^b	0.62-1.54	0.44-1.06
LHC (cm)	31.5 ±2.55 ^a	27.04±1.43 ^b	26.1-35.5	23.5-29.5
AC (cm)	4.46±0.45 ^a	3.69±0.29 ^b	3.41-4.97	3.16-4.29
LC (cm)	7.80±1.50 ^a	5.82±0.47 ^b	2.48-9.18	4.97-6.63
LH (cm)	3.46±0.51 ^a	2.63±0.20 ^b	2.18-4.26	2.16-2.96
LP (cm)	4.84±0.38 ^a	4.31±0.27 ^b	3.87-5.52	3.76-4.81
PF (mm)	1.13±0.40 ^a	0.29±0.15 ^b	0.50-1.90	0.10-0.50

LHC=Longitud Hocico-Cloaca; AC=Ancho de la cabeza; LC=Longitud de la Cabeza; LH=Longitud del Hocico; LP=Longitud de la pierna; PF= Poros femorales; ^{ab}=Literales diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0.05).

6.3 Análisis de consanguinidad

6.3.1 Integridad de ADN

La extracción de ADN genómico de cada ejemplar de iguana se realizó para identificar siete diferentes marcadores genéticos (microsatélites). El análisis electroforético del ADN extraído se muestra en la Figura 5, donde se observa una banda en cada una de las muestras de ADN colocadas; lo cual indica que el ADN de los 40 individuos de iguana negra no estaba degradado, por lo tanto, se consideró integro. Además, se puede observar, por la intensidad de las bandas, que cada muestra presenta una concentración diferente de ADN. Las bandas con mayor intensidad presentan una mayor concentración de ADN en comparación con aquellas que se observan con menor intensidad.

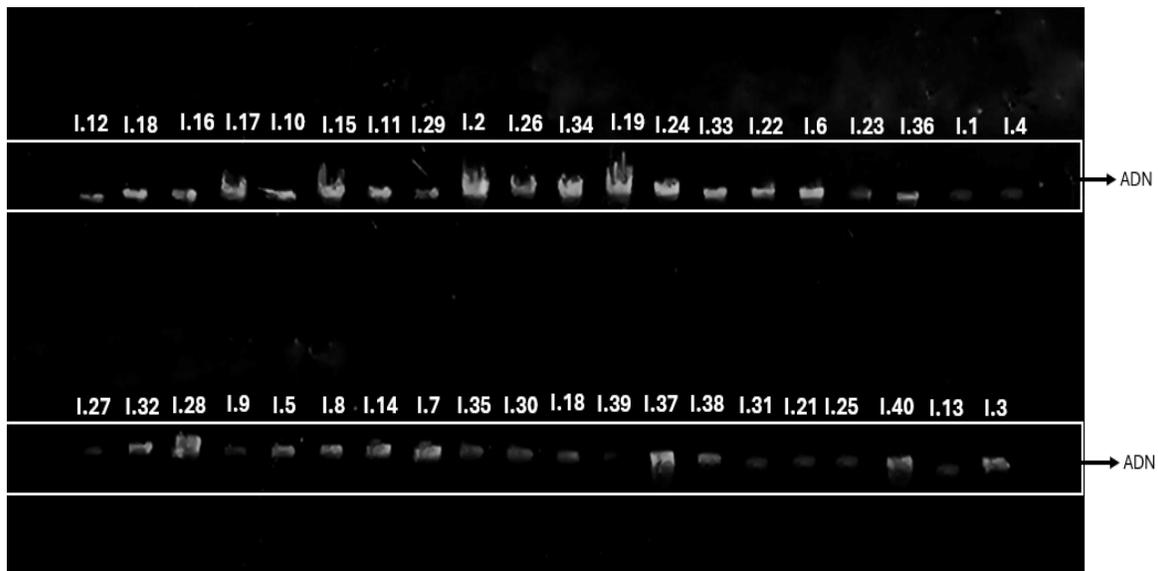


Figura 5. Análisis electroforético de ADN genómico de *C. pectinata*. I= Individuo al que pertenece la muestra.

6.3.2 Amplificación de microsatélites

Los siete microsatélites utilizados como marcadores moleculares amplificaron correctamente, de acuerdo con el tamaño de rango esperado. La amplificación del microsatélite Pec01 generó un amplicón de aproximadamente 100 pares de bases (pb) y su amplificación fue óptima usando una temperatura de alineación (T_m) de 56°C . El amplicón con el microsatélite Pec16 tuvo un peso molecular por arriba de los 200 pb y una T_m de 56°C (Figura 6). En el caso de Pec24, el amplicón fue superior a los 400 pb y T_m de 59.7°C (Figura 7). El amplicón de Pec25 tuvo un peso molecular por debajo de los 200 pb y una T_m de 53°C ; IgdL19 generó un amplicón de alrededor de 250 pb usando una T_m de 56.4°C (Figura 8). IgdL12 tuvo un amplicón de alrededor de los 200 pb a 56.6°C , IgdL 17 por arriba de los 200 pb a 56.6°C (Figura 9).

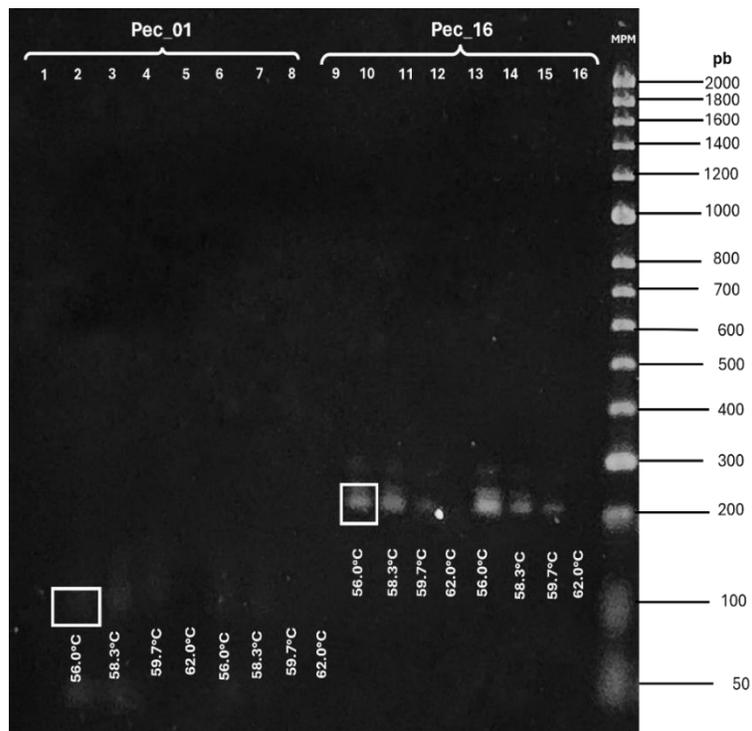


Figura 6. Amplificación de microsatélites Pec01 (carriles 1 al 8) y Pec16 (carriles 9 al 16). MPM= Marcador de Peso Molecular; pb= pares de bases. Se muestra en un cuadro el fragmento con la temperatura de alineación elegida.

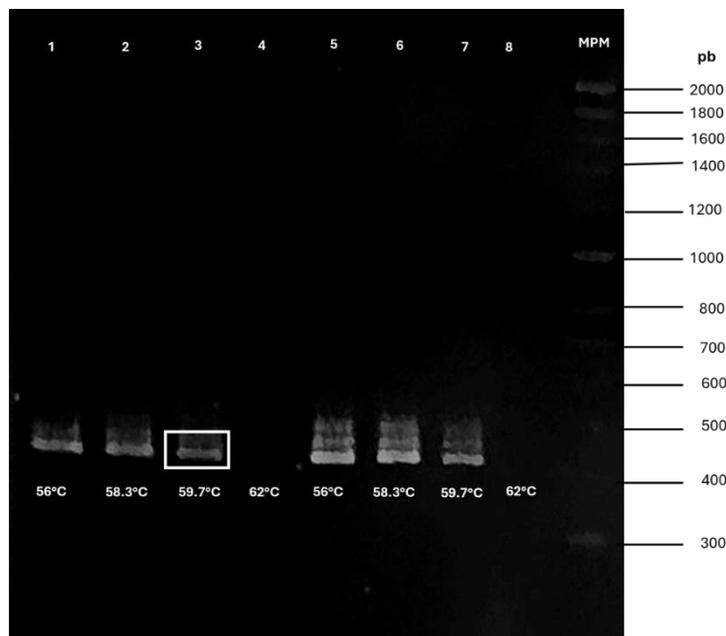


Figura 7. Amplificación de microsatélite Pec24. MPM= Marcador de Peso Molecular; pb= pares de bases. Se muestra en un cuadro el fragmento con la temperatura de alineación elegida.

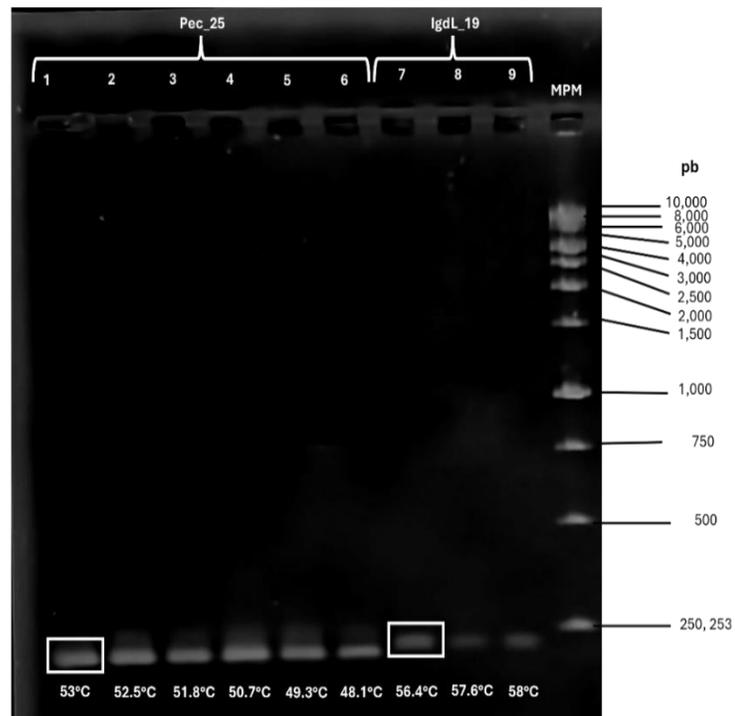


Figura 8. Amplificación de microsatélite Pec25 (carriles 1 al 6) e IgdL19 (carriles 7 al 9). MPM= Marcador de Peso Molecular; pb= pares de bases. Se muestra en un cuadro el fragmento con la temperatura de alineación elegida.

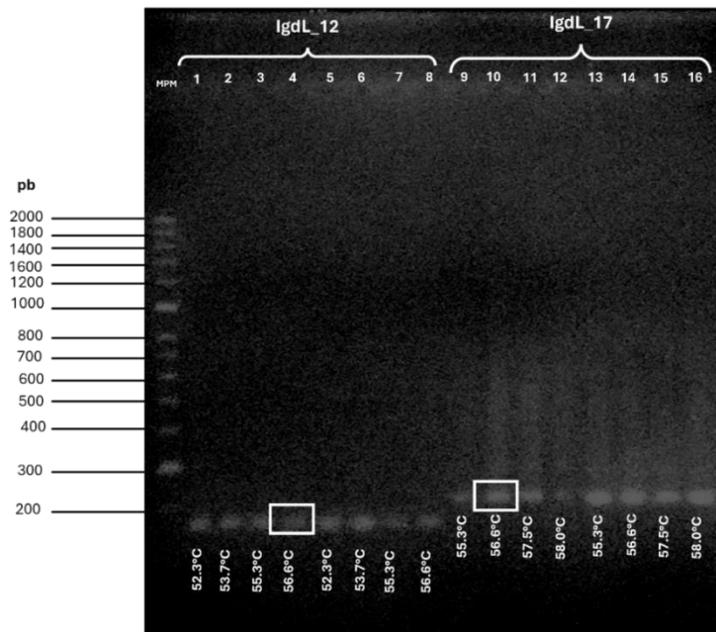


Figura 9. Amplificación de microsatélite IgdL12 (carriles 1 al 8) e IgdL17 (carriles 9 al 16). MPM= Marcador de Peso Molecular; pb= pares de bases. Se muestra en un cuadro el fragmento con la temperatura de alineación elegida.

Para amplificar los siete microsatélites por cada individuo, se realizaron dos PCR con el ADN genómico de cada iguana, para ello se utilizó el kit Type-it microsatellite PCR (QIAGEN®), que permite amplificar más de un microsatélite en cada reacción. Con el objetivo de corroborar la amplificación, se llevó a cabo un análisis electroforético con la amplificación de tres microsatélites con diferente peso molecular (Pec01, Pec24 y Pec25) (Figura 10).

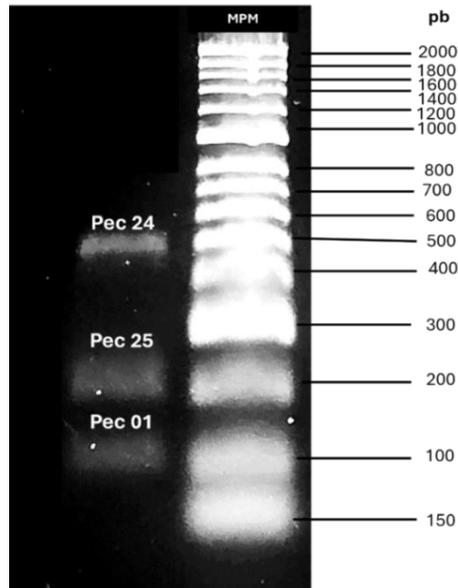


Figura 10. Amplificación de microsatélites Pec01, Pec24 y Pec25. MPM= Marcador de Peso Molecular; pb= pares de bases.

Para el análisis de los alelos de cada microsatélite se obtuvieron electroferogramas para cada individuo. Cada electroferograma mostraba todos los alelos amplificados de cada loci de acuerdo con su tamaño y con el fluoróforo con el que se marcó, con esta información se obtuvo el genotipo de cada iguana. En la Figura 11 se presenta un electroferograma representativo correspondiente al individuo 14, en el cual se observan los picos correspondientes a los alelos amplificados para cada microsatélite.

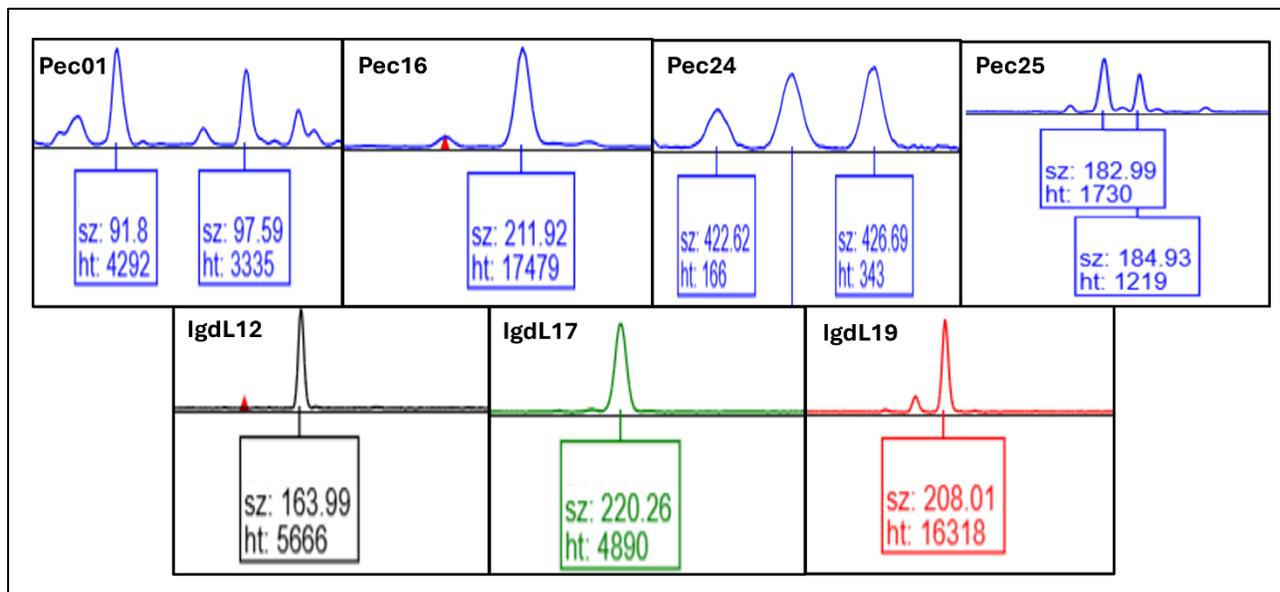


Figura 11. Electroferograma del individuo 14. sz= tamaño del alelo en pares de bases; ht= intensidad de la fluorescencia.

6.3.3 Determinación de endogamia y consanguinidad

El ensayo de amplificación de todos los microsatélites se realizó en la totalidad de los ejemplares de iguana incluidos en este estudio. Sin embargo, el individuo 13 se descartó, ya que la amplificación de los microsatélites no fue exitosa (Anexo 1), por lo que los análisis se llevaron a cabo con 39 individuos.

Tres de los siete microsatélites estudiados (Pec24, IgdL12 e IgdL17) se descartaron para los análisis de endogamia y consanguinidad. Pec24 presentó una frecuencia de alelos nulos de 0.32 de acuerdo con el estimador de van Oosterhout et al., (2004); los marcadores IgdL12 e IgdL17 resultaron monomórficos para esta población (Anexo 2), no aportando información útil para calcular parámetros como la heterocigosidad o los coeficientes de endogamia, que se basan en la comparación entre diferentes alelos en la población.

Con los microsatélites Pec01, Pec16, Pec25 e IgdL19 se obtuvo el genotipo de los 39 individuos de iguana negra del CECOREI-UMAR (Anexo 3). Estos cuatro marcadores no presentaron error de genotipificación y la frecuencia de alelos nulos fue <0.20 de acuerdo con el estimador de van Oosterhout et al., (2004). Además, resultaron

polimórficos para la población presentando de 7 a 9 alelos por cada *locus* (Cuadro 13); por lo que, se tomaron en cuenta para los análisis de endogamia y consanguinidad.

Cuadro 13. Alelos y frecuencias alélicas de cada microsatélite en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR

Pec01		Pec16		Pec25		IgdL19	
Alelo	F.A.	Alelo	F.A.	Alelo	F.A.	Alelo	F.A.
90	0.012	212	0.381	183	0.31	185	0.111
92	0.166	214	0.21	185	0.067	202	0.097
94	0.192	216	0.197	187	0.013	208	0.402
96	0.051	218	0.052	189	0.148	214	0.013
98	0.384	220	0.026	191	0.121	216	0.027
100	0.179	222	0.078	193	0.148	218	0.055
102	0.012	224	0.052	197	0.013	222	0.138
				199	0.121	224	0.152
				201	0.054		

F.A.=Frecuencia Alélica

Se determinó que los cuatro *loci* analizados (Pec01, Pec16, Pec25 e IgdL19) están en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.012$) (Cuadro 14). Por otro lado, El índice de endogamia Fis poblacional fue de -0.03 ($p > 0.012$), de acuerdo con la corrección de Bonferroni el valor de significancia para un 95% de confianza.

Cuadro 14. Equilibrio de Hardy Weinberg e índice de endogamia Fis de los cuatro microsatélites analizados en la población de iguana negra

Locus	N	N_a	Amplicón (pb)	Equilibrio de H-W				Fis
				H_o	H_e	D.E.	p	
Pec01	39	7	90-102	0.757	0.780	0.0003	0.10	0.03
Pec16	39	7	212-224	0.838	0.776	0.0002	0.04	-0.08
Pec25	37	9	183-201	0.914	0.827	0.0003	0.80	-0.1
IgdL19	37	8	202-224	0.771	0.790	0.0003	0.83	0.02
Poblacional				0.820	0.793			-0.03

N=Número de individuos genotipados con éxito, N_a=Número de alelos, P_b=Pares de bases, H_o= Heterocigosidad Observada, H_e=Heterocigosidad Esperada. Para H_o, H_e y Fis el valor de significancia para un 95% de confianza con base en la corrección de Bonferroni fue $p < 0.012$.

El coeficiente de parentesco promedio de la población fue de $r=0.1$. En la Figura 12 se observa que más del 70% de las posibles relaciones por pares se mantuvo con $r<0.3$. Sin embargo, cuatro individuos presentaron relación de parentesco cercana ($r=1$).

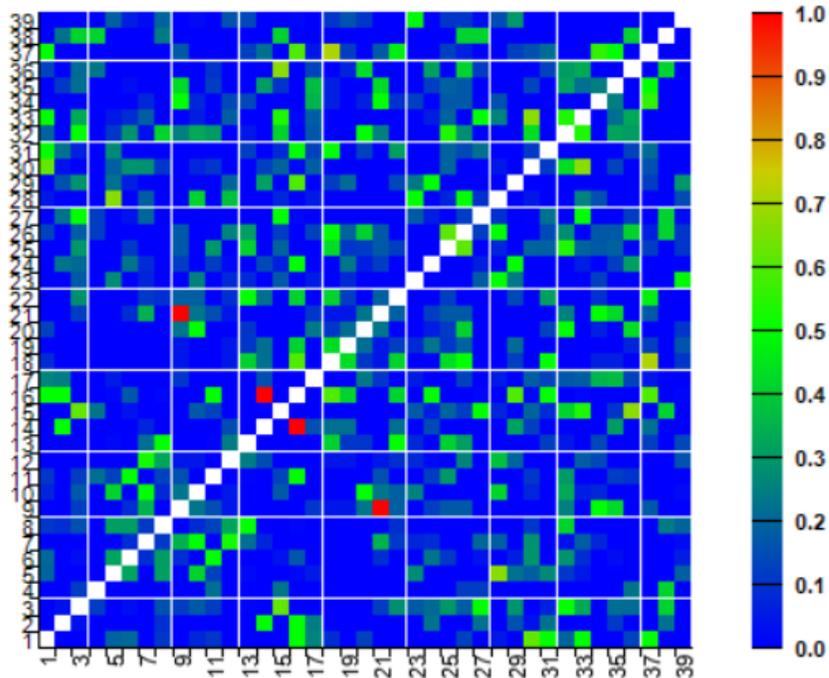


Figura 12. Coeficiente de relación de la población de iguana negra.

En la Figura 13 se muestra una matriz donde se puede observar el tipo de relación de parentesco por pares (Medios hermanos, Hermanos completos, Padre-Hijo o sin relación cercana) con base en los alelos compartidos en cada pareja de individuos. El 24% de las posibles parejas presentó una relación de parentesco cercana (medios hermanos, padre-Hijo, hermanos completos), de estas relaciones, el 47% corresponde a parejas conformadas por macho y hembra (Anexo 4).

	N01	N02	N03	N04	N05	N06	N07	N08	N09	N10	N11	N12	N14	N15	N16	N18	N20	N21	N22	N23	N24	N25	N26	N27	N28	N29	N30	N31	N32	N33	N34	N35	N36	N37	N38	N39	N40			
N01	-																																							
N02	SR	-																																						
N03	SR	SR	-																																					
N04	SR	SR	SR	-																																				
N05	MH	SR	SR	SR	-																																			
N06	SR	SR	SR	SR	MH	-																																		
N07	SR	SR	SR	SR	SR	SR	-																																	
N08	SR	SR	SR	SR	PH	MH	MH	-																																
N09	SR	SR	SR	SR	SR	SR	PH	SR	-																															
N10	SR	SR	SR	SR	PH	SR	PH	SR	MH	-																														
N11	SR	SR	SR	MH	PH	PH	SR	SR	PH	SR	-																													
N12	SR	SR	SR	SR	SR	SR	PH	PH	MH	SR	SR	-																												
N14	SR	SR	MH	SR	SR	SR	SR	PH	SR	SR	SR	MH	-																											
N15	SR	PH	SR	MH	SR	-																																		
N16	SR	SR	HC	MH	SR	PH	SR	SR	SR	-																														
N18	MH	HC	SR	SR	SR	SR	SR	SR	MH	SR	SR	SR	SR	MH	SR	-																								
N20	SR	-																																						
N21	SR	HC	PH	PH	SR	SR	SR	SR	MH	MH	-																													
N22	SR	SR	SR	SR	SR	SR	PH	SR	HC	MH	SR	MH	SR	SR	SR	SR	HC	-																						
N23	SR	SR	PH	SR	SR	SR	SR	MH	SR	SR	SR	MH	PH	MH	SR	SR	SR	SR	-																					
N24	SR	SR	SR	SR	MH	SR	SR	SR	SR	MH	SR	-																												
N25	SR	SR	MH	SR	SR	MH	SR	MH	SR	SR	MH	SR	SR	SR	-																									
N26	SR	SR	PH	SR	SR	MH	SR	SR	MH	SR	PH	SR	HC	SR	SR	SR	SR	MH	SR	SR	SR	-																		
N27	SR	SR	PH	SR	PH	PH	SR	SR	MH	HC	SR	SR	SR	SR	SR	PH	-																							
N28	SR	SR	PH	SR	MH	SR	SR	SR	SR	SR	-																													
N29	SR	SR	SR	SR	HC	SR	SR	SR	SR	SR	PH	SR	PH	SR	PH	SR	SR	PH	SR	-																				
N30	SR	MH	PH	SR	MH	SR	MH	SR	SR	MH	SR	SR	MH	HC	PH	SR	-																							
N31	HC	SR	SR	SR	MH	MH	PH	SR	SR	SR	HC	SR	SR	MH	SR	MH	SR	-																						
N32	PH	SR	MH	SR	PH	SR	PH	SR	SR	MH	MH	SR	SR	SR	SR	SR	MH	-																						
N33	MH	SR	PH	SR	SR	MH	SR	SR	PH	PH	HC	SR	SR	SR	PH	SR	SR	PH	PH	SR	SR	SR	SR	PH	PH	SR	SR	SR	PH	PH	SR	-								
N34	PH	SR	PH	SR	PH	MH	SR	PH	MH	SR	-																													
N35	SR	PH	SR	MH	SR	SR	-																																	
N36	SR	MH	PH	SR	HC	MH	PH	SR	MH	SR	SR	SR	SR	MH	SR	PH	MH	PH	-																					
N37	SR	SR	PH	MH	SR	SR	SR	SR	SR	SR	PH	SR	SR	SR	HC	SR	SR	HC	SR	SR	SR	SR	PH	SR	HC	SR	SR	-												
N38	PH	SR	MH	SR	SR	SR	SR	MH	SR	SR	SR	MH	HC	SR	SR	SR	MH	SR	SR	SR	SR	MH	MH	SR	SR	PH	PH	SR	SR	SR	SR	-								
N39	SR	MH	SR	SR	SR	SR	SR	PH	SR	SR	-																													
N40	SR	SR	SR	SR	MH	SR	SR	MH	SR	SR	SR	MH	SR	SR	SR	SR	MH	SR	MH	HC	SR	SR	-																	

Figura 13. Matriz de relación por pares de la población de iguana negra del CECOREI-UMAR. SR= Sin Relación, MH= Medios Hermanos, HC=Hermanos Completos, PH=Padre-Hijo.

VII. DISCUSIÓN

7.1 Plan de manejo reproductivo actual

El plan de manejo es la herramienta principal para llevar a cabo un manejo sustentable de una especie o especies a través de una UMA. En él se describen los objetivos de la UMA, así como, las metas a corto, mediano y largo plazo, de acuerdo con lo establecido en la SEMARNAT (SEMARNAT y CONAFOR, 2009). Uno de los puntos es establecer el plan de manejo reproductivo de la o las especies, con el objetivo de incrementar el número de individuos de una población a través de técnicas que intervengan en ciertas fases del proceso reproductivo (DOF, 2018).

En el Diario Oficial de la Federación DOF (2018) se establece que las estrategias de reproducción deben realizarse bajo condiciones de protección, siguiendo un sistema que garantice poblaciones sanas, por lo tanto, que tengan la capacidad de sobrevivir y reproducirse. De acuerdo con ello, las técnicas de reproducción planteadas en el plan de manejo del CECOREI-UMAR son adecuadas para la conservación de la especie; sin embargo, la posible problemática de endogamia se sustentaba en que actualmente no se está siguiendo el esquema de manejo reproductivo planteado y registrado ante la SEMARNAT (Arcos-García, 2003). Lo anterior puede deberse a que se requiera mayor mano de obra y que se dedique mayor tiempo a las actividades realizadas en el CECOREI. Es decir, que el centro no cuenta con el personal suficiente para llevar a cabo las actividades registradas. Este estudio sugiere apegarse al plan de manejo y actualizar el mismo.

Dentro de las estrategias de manejo reproductivo del CECOREI-UMAR, hace 20 años se planteó mantener una densidad poblacional por jaula de reproducción de 8-12 hembras y 3-4 machos (Arcos-García, 2003). La proporción de machos y hembras es importante ya que influye en la selección de parejas, así como en la territorialidad propia de la especie. Además, de acuerdo con Arcos y López (2009), las hembras copulan con más de un macho para garantizar una mayor cantidad de huevos fértiles. Se sugiere tomar en cuenta dicha información para determinar la densidad poblacional por jaula y que tanto machos como hembras tengan posibilidad de elección; dado que, la selección

de pareja es una estrategia natural para evitar la endogamia en vertebrados (Bererhi et al., 2023).

Otra de las problemáticas que se presentan es que el marcaje de los individuos no es duradero, ya que la marca se rompe. Esto puede deberse al material con el que está fabricado la marca o a un error técnico al momento del marcaje. Esto dificulta la identificación de los individuos para asignarlos a jaulas de reproducción, así como para dar un seguimiento adecuado a nidos y crías por cada hembra. De acuerdo con Vences y Villegas (2014) se debe marcar cada uno de los nidos y a las hembras que ovipositan en él. Una vez que estos huevos se lleven a incubación, se deberá etiquetar el nido al que pertenecen. Actualmente se registra a que jaula pertenece cada nido que se incuba, sin embargo, no se cuenta con los datos de origen de cada hembra, ni se lleva un registro de que hembra ovipositó en cada nido.

En una tesis realizada en el CECOREI-UMAR por Pinacho (2008), se registró que la incubación y el seguimiento de los huevos se realizaba de acuerdo con lo planteado en el plan de manejo dentro del centro para la población de *Iguana iguana*, sin embargo, ya no se realiza de esa manera actualmente. De acuerdo con Vences y Villegas (2014) las crías deben marcarse desde que eclosionan del huevo y dicha marca debe permanecer hasta la etapa adulta, cuando se presente la temporada reproductiva deberán permanecer separados aquellos individuos que tengan relación de hermanos o padre-hijo, para evitar el entrecruzamiento de individuos emparentados. Sin embargo, en el CECOREI-UMAR no se cuenta con un registro detallado que permita el seguimiento de parentesco entre individuos.

El método de marcaje utilizado en el CECOREI-UMAR consiste en colocar chaquiras de colores en la base de la cola, dicho método debe realizarse con la técnica y el material adecuado. Dentro del plan de manejo se propone utilizar un marcaje con microchips (Arcos-García 2003); sin embargo, no se lleva a cabo, posiblemente por los altos costos que representa. Dado que, es necesario identificar a las iguanas para una mejor selección de individuos reproductivos por jaula, se recomienda que, además del marcaje con chaquiras, se lleve a cabo un monitoreo y registro constante de los

ejemplares en cada recinto y en caso de que una marca se dañe, reemplazarla inmediatamente para evitar confundir individuos.

7.2 Parámetros morfométricos

Las características morfométricas han servido para realizar descripciones y observaciones acerca de las especies. En conjunto con estudios moleculares, funcionan para determinar relaciones de parentesco entre grupos, poblaciones o especies (Villalobos-Leíva y Benítez, 2020). Los reptiles siguen creciendo durante toda su vida, incluso después de alcanzar la madurez sexual, y se ha registrado que la iguana negra alcanza la madurez sexual a los tres años y, como en otros reptiles, el crecimiento es continuo durante toda la vida de la iguana (López et al., 2012). En la población de iguana negra del CECOREI-UMAR se observó que los machos presentaron una talla y un peso mayor en comparación con las hembras, lo cual coincide con lo reportado por Castro-Franco et al. (2024).

De acuerdo con Judson, et al. 2018 La LHC, ancho de la cabeza, tamaño del hocico y peso corporal son medidas que están relacionadas con la capacidad de defensa de las iguanas ante depredadores o para defender el territorio ante otros individuos de su especie. Se recomienda considerar dichas medidas para la selección de machos reproductores y así estos tengan una capacidad similar de defensa similar del territorio dentro del recinto.

Por otro lado, en iguana negra se ha reportado que el tamaño y el peso de las hembras influye positivamente en el tamaño de nidada y el peso promedio de los huevos (López et al., 2012). Tanto el tamaño como el peso de las iguanas son utilizados para determinar la condición corporal de las hembras, este parámetro está directamente relacionado con la eficiencia reproductiva de las mismas, ya que el periodo reproductivo requiere una demanda de energía alta que corresponde a un tercio del peso total de la hembra (Arcos-García et al., 2020). Por ello es importante considerar dichas medidas para seleccionar las hembras reproductoras en cautiverio como parte del manejo reproductivo, para garantizar un mayor éxito de reproducción.

7.3 Determinación de consanguinidad

Un alelo nulo es una variante de un gen que no se detecta en la población (Lorena, 2019), esto puede ser el resultado de mutaciones en la secuencia flanqueante del cebador o la preferencia de amplificación por alelos cortos a causa de la cantidad y calidad del ADN molde (Wen et al., 2013). El microsatélite Pec24 presentó evidencia de alelos nulos. La presencia de alelos nulos es común en estudios con marcadores moleculares como los microsatélites (Marie-Pierre y Arnaud, 2007). Sin embargo, se ha demostrado que los alelos nulos generan un sesgo en las estimaciones poblacionales, (Marie-Pierre y Arnaud, 2007; Engels, 2009; Lorena, 2019); por lo que, Pec24 se descartó para los análisis de endogamia y consanguinidad.

En 2016, Félix reportó que en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR los microsatélites Pec01, Pec16 y Pec25 presentaron 14, 11 y 19 alelos respectivamente; en el presente estudio se observó que el número de alelos fue menor para estas regiones *loci* (7, 7 y 9), esto podría indicar que en la actualidad hay una disminución en la diversidad genética de la población del Centro. No obstante, se ha registrado un menor número de alelos en poblaciones silvestres en comparación con lo obtenido en el presente estudio. Zarza et al. (2009) reportaron 4 alelos para Pec01 y Pec25, y 8 alelos para Pec16 en poblaciones silvestres de *C. pectinata*; Valette (2012) reportó en poblaciones *Iguana delicatissima* únicamente 2 alelos para IgdL19, mientras que en el presente estudio se encontraron 8 alelos para este marcador. Además, Zarza et al. (2009) reportan estimadores de heterocigosidad observada (H_o) para Pec01 y Pec25 ($H_o=0.48$ y $H_o=0.41$) en poblaciones silvestres de *C. pectinata*, mientras que en este estudio fue mayor ($H_o=0.75$ y $H_o=0.91$). En este sentido se puede plantear que la población de iguana negra del CECOREI-UMAR presenta una buena diversidad genética.

En las actividades planteadas para el manejo adecuado de la población de *C. pectinata*, están la liberación e introducción de iguanas cada cinco años en el CECOREI-UMAR (Arcos-García, 2003), sin embargo, no se llevan a cabo. Considerando que, en poblaciones silvestres la migración de individuos es un factor importante para la conservación de la variabilidad genética (Johnson, 2023), realizar la liberación e introducción de individuos en el centro, como se planteó en el plan de manejo original,

podría afectar de manera positiva la conservación de la diversidad genética de la población de iguana negra cautiva.

Se determinó que los cuatro microsatélites (Pec01, Pec16, Pec25 e IgdL19) se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg. Se ha reportado que cuando se presenta un equilibrio de H-W, las frecuencias genotípicas se mantienen de generación en generación (Núñez-Colín, 2018). Este resultado difiere de lo reportado por Félix (2016), donde se encontró que dichos microsatélites presentaron una desviación del equilibrio de H-W en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR, lo cual puede deberse a que, se reportó evidencia de alelos nulos. De acuerdo con Engels (2009) y Lorena (2019), el análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg es sensible a presencia de alelos nulos; ya que, pueden aumentar los estimados de homocigosidad, afectando la confiabilidad de los resultados de forma negativa. En poblaciones silvestres, los cuatro microsatélites se han registrado en equilibrio de H-W, Pec01, Pec16 y Pec25 en iguana negra (Zarza, 2009) e IgdL19 en *Iguana delicatissima* (Valette, 2012) e *Iguana iguana* (de Jesús-Villanueva, 2021).

El coeficiente de endogamia o Fis puede variar de -1 a 1, valores cercanos a -1 indican exceso de heterocigotos, valores cercanos a 1 indican deficiencia de heterocigotos como consecuencia de la endogamia y entre más cercano a 0, indica ausencia de fenómenos de endogamia (Valladares, 2019). En este estudio el Fis poblacional (-0.03) indica que no hay evidencia de un exceso de entrecruzamiento entre individuos emparentados en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR. Este resultado difiere de lo registrado por Félix en 2016, donde se reportaron coeficientes de Fis >0.5 en 5 de 10 microsatélites analizados en la población de iguana negra del Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar. Esto pudo deberse a que se reportó que nueve de los diez *loci* utilizados en los análisis, presentaron evidencia de alelos nulos. De acuerdo con Marie-Pierre y Arnaud (2007), los alelos nulos afectan los resultados de estadísticos de F de Wright, como son Fis, Fst y Fit, sobreestimando los mismos. Por lo que, los autores recomiendan descartar marcadores con evidencia de alelos nulos. No se encontraron registros de endogamia en poblaciones silvestres de *C. pectinata*.

El coeficiente de relación de máxima verosimilitud r , se interpreta como la proporción de Genes Idénticos por Descendencia (GID) entre individuos o entre grupos de individuos. Valores cercanos a 1, indican una mayor proporción de GID (individuos con relación de parentesco cercana) y valores cercanos a 0 una menor proporción de GID (individuos no emparentados) (Wagner et al., 2006). El promedio poblacional $r=0.1$ indica que la mayoría de los individuos de la población (76%) no tienen una relación de parentesco cercana. Sin embargo, de las posibles parejas, el 10.5% tuvo una relación de medios hermanos, el 9.6% relación padre-hijo y el 3.5% de hermanos completos. Se debe tomar en cuenta que cerca del 50% de las relaciones de parentesco cercanas corresponden a parejas macho-hembra (Anexo 4), por lo tanto, se sugiere tomar en cuenta los resultados de este estudio para asignar en jaulas diferentes a los individuos macho-hembra que presenten una relación de parentesco.

De acuerdo con lo registrado en este estudio, el CECOREI-UMAR no tiene registro parental de los individuos, por ende, no realiza adecuadamente las estrategias de manejo reproductivo que eviten la endogamia; por lo que, la ausencia de entrecruzamiento entre individuos emparentados podría deberse a estrategias naturales de *C. pectinata*, o bien a actividades en el centro que no hayan sido registradas, tal como introducción de nuevos individuos y/o liberación de ejemplares.

Los reptiles presentan capacidades fisiológicas para reconocer individuos genéticamente cercanos (Ibáñez et al., 2022; Bererhi et al., 2023), esto contribuye a evitar el entrecruzamiento entre individuos emparentados, lo que favorece el éxito reproductivo y la conservación de la diversidad genética; aún en condiciones de ambientes extremadamente controlados por el cautiverio o por poblaciones pequeñas (Ibáñez et al., 2022). El reconocimiento de individuos de la misma especie y de individuos emparentados se da principalmente mediante quimiorrecepción (Kelley et al., 2021). De acuerdo con Tellkamp et al. (2020) La quimiorrecepción en iguanas y lagartos está asociada a los poros femorales, ya que, poseen glándulas secretoras importantes en procesos reproductivos y de territorialidad (Tellkamp et al., 2020).

En *C. pectinata* no se han reportado estudios que confirmen el reconocimiento de individuos mediante señalización química. Sin embargo, en otras especies de Lacertilios,

se han descrito procesos de comunicación química inter e intraespecífica. Martín et al. (2021) reportaron que las hembras de anfisbenios *Trogonophis wiegmanni*, son capaces de reconocer y discriminar, mediante señales químicas, a sus descendientes de otros individuos de la misma especie. Ibáñez et al. (2022) registraron que las hembras de *Lacerta agilis* perciben sustancias olfativas, asociadas al Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) secretadas por los machos, por lo que seleccionan parejas con un genotipo del CMH diferente al propio. Se sugiere realizar más estudios para determinar si la ausencia de endogamia se debe a estrategias naturales de la iguana negra para evitar fenómenos de endogamia.

VIII. CONCLUSIONES

El plan de manejo reproductivo del Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar registrado ante la SEMARNAT es adecuado para el manejo de la especie *Ctenosaura pectinata*.

El manejo reproductivo actual de iguana negra no corresponde al plan de manejo registrado para el CECOREI-UMAR. Esto puede deberse a falta de recursos y de personal.

En la actualidad, no existe evidencia de endogamia y el grado de consanguinidad es bajo en la población de iguana negra del CECOREI-UMAR. Es posible que se deba a que la especie presente un mecanismo para reconocer a sus parientes más cercanos. Es necesario realizar estudios sobre los métodos de reconocimiento intraespecífico de la misma.

Al ser una población en cautiverio, se requiere un control de parentesco mediante marcaje de individuos para seleccionar a las iguanas reproductivas adecuadamente y así contribuir a la conservación de la especie.

IX. PROPUESTA DE MANEJO REPRODUCTIVO

La presente propuesta se realizó con base en lo planteado en el plan de manejo del CECOREI-UMAR registrado por Arcos-García (2003) ante la SEMARNAT, y en los resultados de este estudio. Tiene como objetivo que se realice un manejo reproductivo adecuado de la población de iguana negra. Por lo que se recomienda añadir lo siguiente:

9.1 Registro de individuos

El centro debe contar con una bitácora que contenga la información del origen parental de cada iguana. Es necesario realizar un marcaje efectivo desde la etapa de cría hasta la etapa adulta. Además, registrar datos de las cópulas, nidos e incubación por cada ejemplar.

9.1.1 Cópula

Durante la etapa reproductiva es necesario realizar un monitoreo continuo de las jaulas de reproducción. Por cada hembra se debe registrar el macho o machos con los que tuvo cópula durante la temporada, esto con la finalidad de conocer el origen parental de las crías. Para ello es recomendable contar con al menos una persona encargada del registro de las cópulas, misma que llevará a cabo el registro de las incubaciones.

9.1.2 Incubación

Cada caja de incubación debe contar con la siguiente información: Hembra a la que corresponde el nido, fecha de oviposición, fecha de incubación, total de huevos incubados.

9.2 Marcaje de individuos

El método de marcaje utilizado actualmente es ineficiente. Todos los individuos deben contar con un marcaje continuo. La marca debe corresponder con el registro de cada individuo y se debe mantener desde la etapa de cría hasta la etapa adulta. Se recomienda llevar a cabo el marcaje de los individuos con microchips, propuesto en el plan original.

9.3 Densidad poblacional por jaula de reproducción

Tomando en cuenta las características de territorialidad y poliandria de la especie, se sugiere mantener dos machos por cada cuatro hembras en cada una de las jaulas de reproducción.

9.3.1 Selección de individuos reproductores

El tamaño y el peso de las iguanas influye en el éxito reproductivo de las mismas, por lo que, es necesario considerar las características morfométricas de los ejemplares al momento de seleccionar los individuos reproductores por jaula. Se sugiere que, en cada jaula de reproducción, se mantengan individuos de tamaño similar.

9.4 Introducción y liberación de individuos

Se sugiere apegarse al plan de manejo y realizar la liberación e introducción de iguanas cada 5 años al centro.

Para realizar una liberación e introducción adecuada de ejemplares, se sugiere realizar estudios genéticos y de sanidad a los individuos, así se disminuye la posibilidad de que los individuos liberados causen efectos negativos en la población silvestre y los introducidos al CECOREI-UMAR a la población actual de iguanas del centro.

X. BIBLIOGRAFÍA

Alejos, L., María, A. y Cornejo, A. (2014). Extracción y purificación de ADN. En A. Cornejo, A. Serrato, R. Beatriz, y M. Graciela, Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos (1ª ed., pp. 1-26). Ciudad de México: INECC-SEMARNAT.

Amaru, R., Miguez, H., Peñaloza, R., Torres, G., Silvestre, J. y Cuevas, H. (2006). DNA-UMSAgen, extracción de DNA genómico para diagnóstico molecular: método rápido y económico. *Cuadernos*, 51(2). 11-15.

Excoffier, L. (1998-2015). Arlequin (ver 3.5.2.2) [Software]. Institute of Ecology and Evolution, University of Berne Swiss Institute of Bioinformatics. <https://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/>

Arcos-García, J. L. (2003). Plan de manejo intensivo del Centro de Conservación y Reproducción de Iguanas de la Universidad del Mar. Puerto Escondido, Oaxaca, México: Universidad del Mar

Arcos-García, J. L., Cobos, M., Reynoso, V., Mendoza, G., Ortega, M. y Clemente, F. (2002). Caracterización del crecimiento de la iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) en cautiverio. *Veterinaria México*, 33(4), 409-419.

Arcos, J. L. y López, R. (2009). La iguana negra, fundamentos de reproducción, nutrición y manejo. Universidad del Mar, 164

Arcos-García, J. L., Nuñez, J., García, J., Rueda, R., Santiago, H. y López-Pozos, R. (2020). Body condition index in breeding black iguana females (*Ctenosaura pectinata*) in captivity. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Rev. FCA UNCUYO*, 52(2), 349-359. <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/RFCA/article/view/3025>

Arcos-García, J. L., Reynoso, V., Mendoza, G., Clemente, F., Tarango, L. y Crosby, M. (2005a). Efecto del tipo de dieta y temperatura sobre el crecimiento y eficiencia alimenticia de la iguana negra (*Ctenosaura pectinata*). *Revista Científica* 15(4), 338-344.

Arcos-García, J. L., Reynoso, V., Mendoza, G. y Hernández, D. (2005b). Identificación del sexo y medición del crecimiento en iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) en las etapas de cría y juvenil. *Veterinaria México*, 36(1). 53-62.

Arias, E. (2020). Evaluación de la reintroducción como herramienta de conservación para la vida silvestre: caso de la lapa roja (*Ara macao*) en el sureste de la

península de Nicoya, Puntarenas, costa Rica [Tesis de Maestría, Universidad de Costa Rica]. Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica <https://www.kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/85273>

Ball, S., Hand, N., Willman, F., Durrant, C., Uller, T. y Claus, K. (2020). Genetic and demographic vulnerability of adder populations: Results of a genetic study in mainland Britain. *PLoS ONE*, 15(4) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231809>

Bererhi, B., Duchesne, P., Schwartz, T., Ujvari, B., Wapstra, E. y Olsson, M. (2023). Effect of MHC and inbreeding on disassortative reproduction: A data revisit, extension and inclusion of fertilization in sand lizards. *Ecology and Evolution*, 13(3). <https://doi.org/10.1002/ece3.9934>

Caballero, A. (2013). Genètica de la conservació L'aplicació dels conceptes de l'evolució a la conservació de la diversitat biològica. *Metode*, (78). <https://metode.es/revistas-metode/monograficos/genetica-de-la-conservacion.html>

Castro-Franco, R., Bustos-Zagal, M., Castro Bustos, D., Trujillo-Jiménez, P. y Mena-Maldonado, F. (2024). Variation in the morphology of hatchlings of black iguanas *Ctenosaura pectinata* (Wiegman, 1834) (Squamata: Iguanidae). *Acta Zoológica Mexicana* (N.S), 40(1), 1–11. <https://doi.org/10.21829/azm.2024.4012624>

Chan, D. (2022). Sexado molecular y Endogamia de la guacamaya verde (*Ara militaris*) en la UMA "Nuestra Señora", con fines reproductivos [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa]. Repositorio Institucional BUELNA http://repositorio.uas.edu.mx/jspui/handle/DGB_UAS/205

Contreras-Díaz, R., González-González, M., Aguayo-Cruces, F., Gacitúa-Arias, S. y Porcile-Saavedra, V. (2021). Análisis de diversidad y estructura genética de poblaciones de *Prosopis chilensis* entre las provincias de Chacabuco y San Felipe de Aconcagua, usando marcadores moleculares microsatélites. *Bosque (Valdivia)*, 42(3), 371-382. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002021000300371>

Cornejo, A., Serrato, A., Rendón, B. y Rocha, M. (2014). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. Ciudad de México: INECC-SEMARNAT.

De Jesús-Villanueva, C., Falcón, W., Velez-Suano, X., Papa, R. y Lyn-Malone, C. (2021). Origin of the green iguana (*Iguana iguana*) invasión in the greater Caribbean Region and Fiji. *Biological invasions*, 23, 2591-2610. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02524-5>

Diario Oficial de la Federación. (02 de agosto de 1993). Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-PA-CRN-001/93, que determina las especies de flora y fauna silvestres

terrestres y acuáticas, raras, endémicas, amenazadas, en peligro de extinción y las sujetas a protección especial.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4765974&fecha=02/08/1993#gsc.tab=0

Diario Oficial de la Federación. (14 de noviembre de 2019). MODIFICACIÓN del Anexo Normativo III, Lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, 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, publicada el 30 de diciembre de 2010.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11/2019#gsc.tab=0

Diario Oficial de la Federación. (19 de enero de 2018). Ley General de Vida Silvestre. https://www.senado.gob.mx/comisiones/medio_ambiente/docs/LGVS.pdf

Engels, W. R. (2009). Exact Tests for Hardy–Weinberg Proportions. *Genetics*, 183(4), 1431-1441. <https://doi.org/10.1534/genetics.109.108977>

Esteves, J. (2022). Diversidad genética, nivel de endogamia y viabilidad de las poblaciones de *Phyllodactylus sentosus* (Squamata: Phyllodactylidae). [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/18571>

Félix, M. (2016). Estructura genética y endogamia poblacional de iguana negra *Ctenosaura pectinata* (reptilia: squamata: iguanidae) en cautiverio [Tesis de maestría, Universidad del Mar]. Biblioteca Virtual SIBUMAR <http://coralito.umar.mx:8383/jspui/handle/123456789/875>

Frankham, R., Ballou, J. D., Briscoe, D. A., y McInnes, K. H. (2002). Genetic diversity en Cambridge University Press (Ed.), *Introduction to Conservation Genetics* (pp. 45-71). Cambridge University. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511808999.005>

Galarza, G. (2021). Plan de manejo para la cría de iguana negra (*Ctenosaura Pectinata*) en la localidad de San José Ixtapa, en el municipio de Zihuatanejo, Guerrero. Guerrero, México: UNAM CUAUTITLÁN.

Gómez-Mora, A., Suazo-Ortuño, I. y Alvarado-Díaz, J. (2012). Distribución, abundancia y uso de hábitat de la iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) y la iguana verde (Iguana iguana) en el municipio de Buenavista, Michoacán. *Biológicas*, 14(2), 67-74.

Goudet, J. (2003). Fstat (Versión 2.9.4) [Software]. Universidad de Lausana. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>

Ibáñez, A., Skupien-Rabian, B., Jankowska, U., Kędracka-Krok, S., Zając, B. y Pabijan, M. (2022). Functional Protein Composition in Femoral Glands of Sand Lizards (*Lacerta agilis*). *Molecules*, 27(7). <https://doi.org/10.3390/molecules27072371>

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (2014). División política estatal 2012, escala: 1:250000. edición: 5, México.

Iniesta, R., Guinó, E. y Moreno, V. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria del Instituto Catalán de Oncología*, 19(4), 333-341.

Johnson, O., Ribas, C. C., Aleixo, A., Naka, L. N., Harvey, M. G., y Brumfield, R. T. (2023). Amazonian birds in more dynamic habitats have less population genetic structure and higher gene Flow. *Molecular Ecology*, 32(9), 2186-2205. <https://doi.org/10.1111/mec.16886>

Judson J., Knapp C. y Welch M. (2018). Age-dependent, negative heterozygosity–fitness correlations and local effects in an endangered Caribbean reptile, *Iguana delicatissima*. *Ecology and Evolution*, 8(4), 2088–2096. <https://doi.org/10.1002/ece3.3826>

Kelley, M., Ka, C., Finger, J. y Mendonça, M. (2021). Behavioural discrimination of male mental gland secretions of the gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*) by both sexes. *Behavioural Processes*, 183, 104-314. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2021.104314>

Lobo, A. y Morales, A. (2014). Microsatélites. En A. Cornejo, A. Serrato, B. Rendon y M. Rocha, Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos (1ª ed., pp. 75-100). Ciudad de México: INECC-SEMARNAT.

López, O., Arcos-García, J.L., Mendoza-Martínez, G., López-Pozos, R., López-Garrido, S. y Vélez-Hernández, L. (2012). Parámetros reproductivos de las hembras de iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) en condiciones intensivas. *Revista Científica*, XXII(1), 65-71. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95921743010>

Magallán-Hernández, F., Martínez, M., Hernández-Sandoval, L. y Oyama, K. (2009). Estructura genética de poblaciones de *Eriocaulon Bilobatum* (Eriocaulaceae): una especie amenazada de humedades temporales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (85), 81-88.

Marie-Pierre, C. y Arnaud, E. (2007). Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24(3), 621-631. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl191>

Martín, J., Raya-García, E., Ortega, J. y López, P. (2021). Offspring and adult chemosensory recognition by an amphisbaenian reptile may allow maintaining familiar

links in the fossorial environment. *PeerJ Zoological Science*.
<https://doi.org/10.7717/peerj.10780>

Mazariegos, E. (2020). Efectos de la fragmentación, estacionalidad y tamaño corporal sobre los ámbitos de hogar y patrones de movimiento de la iguana de órgano (*Ctenosaura palearis*: Iguanidae) en un bosque estacionalmente seco en Cabañas, Zacapa, Guatemala. [Tesis de licenciatura, Universidad del Valle de Guatemala]. Repositorio Institucional UVG <https://repositorio.uvg.edu.gt/handle/123456789/3869>

Mena, F. (2021). Ecología y aprovechamiento de la iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) en el parque estatal cerro de la tortuga, Tetelpa, Morelos, México [Tesis de maestría, Universidad Autónoma del Estado de Morelos]. Repositorio Institucional de Acceso Abierto <http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/1855>

Núñez-Colín, C. (2018). Does the Hardy-Weinberg law of equilibrium work in autopolyploids as it does in diploids?. *Journal of Basic and Applied Genetics*, 29(1), 51-64.

Núñez, J. (2020). Condición corporal y manejo nutricional de la hembra de iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) para incrementar la eficiencia reproductiva en cautiverio. [Tesis de maestría, Universidad del Mar]. Biblioteca Virtual SIBUMAR <http://coralito.umar.mx:8383/jspui/handle/123456789/889>

Ocampo, G. y Cardona, C. (2013). La endogamia en la producción animal. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5(1), 463-479.

Ojeda, A., Hirt, L. y Zapata, P. (2012). Interspecific amplification de *Astyanax abramis* microsatellites using primers for the related *astyanax fasciatus*. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 17(1), 38-43.

Pinacho, B. (2008). Parámetros reproductivos de la iguana verde (*Iguana iguana*) en condiciones de cautiverio [Tesis de licenciatura, Universidad del Mar]. Biblioteca Virtual SIBUMAR. <http://coralito.umar.mx:8383/jspui/handle/123456789/800>

Queller, D. C. y Goodnight, K. F. (1989). Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*, 43(2), 258-275. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb04226.x>

RStudio Team. (2024). RStudio: Integrated Development Environment for R (Versión 2024.12.0) [Software]. RStudio, PBC. <https://www.rstudio.com/>

Rojas, C. (2018). Ecología de la Iguana Negra (*Ctenosaura pectinata*), (Wiegmann, 1834), en un área fragmentada en la comunidad de Alpuyeca, Morelos [Tesis de maestría, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. Repositorio Digital Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/45216>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (30 de septiembre de 2018). Importancia de las UMAS: <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/las-uma-sitios-dedicados-a-la-conservacion-de-la-vida-silvestre#:~:text=del%20territorio%20nacional.-,Las%20UMA%20son%20predios%20de%20propietarios%20o%20poseedores%20que%20voluntariamente,el%20desarrollo%20socioecon>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Comisión Nacional Forestal. (2009). Manejo de vida silvestre, manual técnico para beneficios. Coordinación General de Educación y Desarrollo Tecnológico. <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.conafor.gob.mx%2Fbiblioteca%2Fmanejo-de-vida-silvestre.pdf&psig=AOvVaw1GhFHGvx5EZke88vJq8Avi&ust=1723939280658000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CAYQrpoMahcKEwjo3bq23PqHAXUAAAAHQAAAAQBA>

Shaffer, B., Tellez, M. y Müge, G. (2015). Conservation Genetics and Genomics of Amphibians and Reptiles. *The Annual Review of Animal Biosciences*, 19(20), 23.1 – 23.6

Tellkamp, F., Lang, F., Ibáñez, A., Abraham, L., Quezada, G., Günter, S., Looso, M., Tann, F., Müller, D., Cemic, F., Hemberger, J., Steinfartz, S. y Krüger, S. (2020). Proteomics of Galápagos Marine Iguanas Links Function of Femoral Gland Proteins to the Immune System. *Molecular and Cellular Proteomics*, 19(9), 1523-1532. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA120.001947>

Thermo Fisher Scientific. (2024). Microsatellite Analysis App. [Aplicación en Línea]. ThermoFisherScientific Connect Platform. <https://apps.thermofisher.com/editor-web/#/app/app-microsatellites-web>

Valette, V., Filipová, L., Vuillaume, B., Charbonnel, C., Risterucci, A., Delaunay, C., Breuil, M. y Grandjean, F. (2013). Isolation and characterization of microsatellite loci from *Iguana delicatissima* (Reptilia: Iguanidae), new perspectives for investigation of hybridization events with *Iguana iguana*. *Conservation Genet Resour*, 5, 173-175.

Valladares, R. (2019). Caracterización molecular de dos poblaciones de cuyes nativos (*Cavia porcellus*) de cuzco y puno utilizando marcadores STR. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Library <https://1library.co/document/zgg6g38z-caracterizacion-molecular-poblaciones-nativos-cavia-porcellus-utilizando-marcadores.html>

van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004a). MicroChecker (Versión 2.2.3) [Software]. University of Hull. <https://www.microchecker.com/lander>

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. y Shipley, P. (2004b). MicroChecker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite

data. *Molecular Ecology*, 4(3), 535-538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>

Vences, R. y Villegas, A. (2014). Creación de una UMA para la conservación y comercialización de la iguana en San Pedro Limón, municipio de Tlatlaya, México [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Repositorio Institucional Universidad Autónoma del Estado de México <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/68786>

Villalobos-Leiva, A., y Benítez, H. A. (2020). Morfometría Geométrica y sus Nuevas Aplicaciones en Ecología y Biología Evolutiva. Parte 2. *International Journal of Morphology*, 38(6), 1818-1836. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022020000601818>

Wagner, A. P., Creel, S. y Kalinowski S. T. (2006). Estimating relatedness and relationships using microsatellite loci with null alleles. *Heredity*, 97, 336-345. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800865>

Wang, J. (2023). Coancestry (Versión 1.0.1.11) [Software]. Zoological Society of London. <http://www.zsl.org/science/software/coancestry>

Wang, M., Barkley, N., Yu, J., Dean, R., Newman, M., Sorrells, M. y Pederson, A. (2005). Transfer of simple sequence repeat (SSR) markers from major cereal crops to minor grass species for germplasm characterization and evaluation. *Plant Genetic Resources*, 3(1), 45-57. <https://doi.org/10.1079/PGR200461>

Wen, Y. F., Uchiyama, K., Han, W., Ueno, S., Xie, W., Xu, G. y Tsumura, Y. (2013). Null alleles in microsatellite markers. *Biodiversity Science*, 21(1), 117-126. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1003.2013.10133>

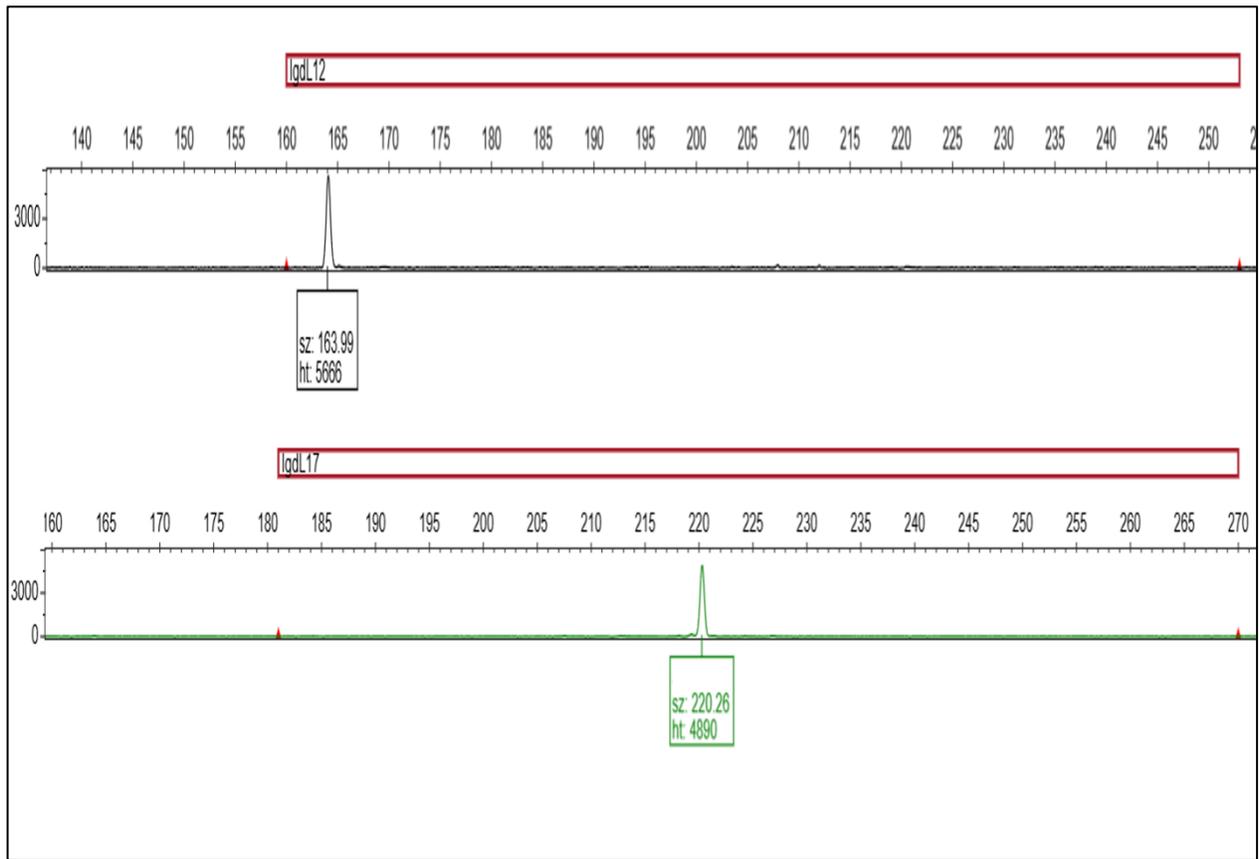
Zarza, E., Pereyra, R., Reynoso, V. y Emerson, B. (2009). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in the black spiny tailed iguana (*Ctenosaura pectinata*) and their cross-utility in other *Ctenosaura*. *Molecular Ecology Resources*, 9(1), 117-111. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02379.x>

XI. ANEXOS

Anexo 1. Electroferograma del individuo 13. La amplificación de los microsátélites no fue exitosa, por lo que el electroferograma no contiene información de los alelos.



Anexo 2. Electroferograma de los microsatélites IgdL12 e IgdL17. IgdL12 presentó un alelo de 164 pares de bases en todos los individuos; IgdL 17 presentó un alelo de 220 pares de bases en todos los individuos. sz= tamaño del alelo en pares de bases; ht= intensidad de fluorescencia.



Anexo 3. Genotipo de los individuos de *Ctenosaura pectinata* del CECOREI-UMAR

Individuo	Pec01		Pec16		Pec25		IgdL19	
	Alelo 1	Alelo 2						
N01	098	100	212	214	183	191	216	224
N02	096	098	222	224	191	193	185	222
N03	094	098	212	216	183	193	208	222
N04	090	102	212	216	183	187	208	218
N05	092	100	212	214	193	199	208	224
N06	094	094	212	214	199	199	000	000
N07	092	094	214	216	183	185	202	185
N08	092	096	212	214	185	199	208	222
N09	094	098	214	222	183	189	202	208
N10	092	100	214	214	183	193	202	208
N11	094	098	212	214	199	183	208	218
N12	092	098	214	216	185	189	208	185
N14	092	098	212	212	183	185	208	208
N15	098	098	212	224	000	000	185	185
N16	094	100	212	216	183	193	218	222
N17	098	098	000	000	191	199	000	000
N18	098	100	222	224	183	183	224	224
N19	098	098	212	212	189	191	208	208
N20	098	098	218	220	189	201	208	208
N21	098	100	214	222	183	201	208	208
N22	094	098	214	222	183	189	202	208
N23	098	098	212	212	185	193	202	208
N24	092	092	216	218	183	193	208	224
N25	094	098	216	220	199	201	185	222
N26	094	100	212	212	183	189	208	208
N27	098	100	212	216	183	189	208	208
N28	092	094	212	216	191	193	214	222
N29	092	100	214	216	189	193	208	224
N30	098	098	216	218	193	199	208	185
N31	094	100	212	214	183	191	185	224
N32	098	100	212	212	191	193	208	216
N33	094	100	212	214	183	183	208	222
N34	094	100	214	216	183	191	222	224
N35	092	098	212	222	183	189	202	224
N36	094	098	212	224	183	189	222	224
N37	098	100	212	216	183	201	218	222
N38	098	098	212	212	189	191	202	224
N39	096	096	212	216	000	000	000	000
N40	092	092	216	218	197	199	208	208

Anexo 4. Cuadro de relación de parentesco por pares. Se enlista las parejas que presentaron relación de parentesco cercana, se muestra la identificación del individuo, seguido del sexo de los individuos (M=macho, H=hembra) que conforman la pareja. Se marca con * las parejas conformadas por macho y hembra.

Medios hermanos		Padre e Hijo		Hermanos completos	
Individuo 1	Individuo 2	Individuo 1	Individuo 2	Individuo 1	Individuo 2
*N01-M	N33-H	*N01-M	N32-H	*N11-H	N31-M
*N03-M	N14-H	*N02-M	N15-H	*N14-H	N26-M
*N03-M	N25-H	*N03-M	N27-H	*N15-H	N36-M
*N03-M	N32-H	*N03-M	N33-H	*N16-M	N37-H
*N04-M	N11-H	*N03-M	N37-H	*N24-H	N30-M
*N04-M	N37-H	*N05-M	N10-H	*N30-M	N40-H
*N05-M	N06-H	*N05-M	N11-H	*N31-M	N33-H
*N05-M	N40-H	*N05-M	N24-H	N01-M	N31-M
*N06-H	N08-M	*N05-M	N32-H	N02-M	N18-M
*N06-H	N05-M	*N07-H	N31-M	N03-M	N16-M
*N06-H	N26-M	*N08-M	N12-H	N05-M	N29-M
*N06-H	N31-M	*N08-M	N14-H	N09-H	N21-H
*N07-H	N08-M	*N09-H	N35-M	N09-H	N22-H
*N08-M	N40-H	*N10-H	N29-M	N11-H	N33-H
*N09-H	N10-H	*N11-H	N16-M	N21-H	N22-H
*N09-H	N18-M	*N11-H	N26-M	N21-H	N27-H
*N09-H	N29-M	*N14-H	N23-M	N21-H	N37-H
*N09-H	N38-M	*N16-M	N33-H	N23-M	N38-M
*N12-H	N23-M	*N16-M	N24-H	N24-H	N40-H
*N12-H	N30-M	*N22-H	N35-M	N27-H	N37-H
*N15-H	N18-M	*N23-M	N32-H	N31-M	N34-M
*N15-H	N23-M	*N24-H	N29-M		
*N15-H	N30-M	*N25-H	N30-M		
*N15-H	N31-M	*N26-M	N27-H		
*N15-H	N38-M	*N26-M	N33-H		
*N18-M	N21-H	*N27-H	N29-M		
*N18-M	N22-H	*N33-H	N34-M		
*N20-H	N30-M	*N33-H	N36-M		
*N22-H	N26-M	*N34-M	N37-H		
*N24-H	N28-M	N01-M	N34-M		
*N24-H	N35-M	N01-M	N38-M		
*N26-M	N32-H	N03-M	N23-M		
*N27-H	N38-M	N03-M	N26-M		
*N29-M	N40-H	N03-M	N28-M		

Hermanos completos		Padre-Hijo	
Individuo 1	Individuo 2	Individuo 1	Individuo 2
*N31-M	N32-H	N03-M	N30-M
*N32-H	*N38-M	N03-M	N34-M
N01-M	N05-M	N03-M	N36-M
N01-M	N18-M	N06-H	N11-H
N02-M	N30-M	N07-H	N09-H
N02-M	N36-M	N07-H	N10-H
N02-M	N39-M	N07-H	N12-H
N04-M	N16-M	N07-H	N22-H
N05-M	N31-M	N08-M	N39-M
N06-H	N33-H	N09-H	N33-H
N08-M	N23-M	N10-H	N11-H
N09-H	N12-H	N10-H	N21-H
N10-H	N22-H	N10-H	N33-H
N10-H	N24-H	N11-H	N21-H
N12-H	N14-H	N11-H	N37-H
N12-H	N15-H	N12-H	N27-H
N12-H	N22-H	N14-H	N27-H
N12-H	N40-H	N16-M	N28-M
N15-H	N25-H	N18-M	N35-M
N16-M	N36-M	N18-M	N36-M
N18-M	N31-M	N21-H	N33-H
N18-M	N34-M	N22-H	N33-H
N20-H	N21-H	N25-H	N37-H
N20-H	N25-H	N27-H	N33-H
N20-H	N27-H	N28-M	N34-M
N20-H	N40-H	N33-H	N37-H
N22-H	N38-M	N35-M	N36-M
N23-M	N30-M	N35-M	N38-M
N23-M	N35-M	N36-M	N38-M
N26-M	N36-M	N05-M	N08-M
N27-H	N32-H		
N29-M	N34-M		
N29-M	N35-M		
N31-M	N36-M		
N31-M	N38-M		
N34-M	N36-M		