



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**

**UNIDAD ACADÉMICA**

**FACULTAD DE BIOLOGÍA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Sexado molecular y Endogamia de la guacamaya verde (*Ara  
militaris*) en la UMA “Nuestra Señora”, con fines reproductivo**

**Tesis que presenta:  
Biol. Diego Sidú Chan Chon**

**Para obtener el grado de Maestría en Ciencias Biológicas**

**Directores:  
Dr. Hipólito Castillo Ureta  
Dr. Edith Hilario Torres Montoya**

**Asesores:  
M en C. Cesar Enrique Romero Higareda  
Dra. Gabriela Silva Hidalgo**

**Culiacán Rosales, Sinaloa a mayo del 2022**





Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



## DEDICATORIA

*Este proyecto se lo dedico a quien fue mi jefe y gran amigo el Dr. José Alfredo Leal Orduño, el abuelo guacamayo, descanse en paz y vuele alto.*

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero agradecer al equipo de la Reserva Ecológica el Mineral de Nuestra Señora de la Candelaria al Biólogo José David Jacobo González y al Médico Veterinaria Antonio Razo Pérez por todo su apoyo y consejos para el proyecto, no solo fuimos un gran equipo si no una gran familia.

Quiero agradecer a los Doctores Hipólito Castillo Ureta y Edith Hilario Torres Montoya por creer en el proyecto y acogerlo en su cuerpo académico, también a todos los que forma parte de este cuerpo académico, gracias por sus observaciones.

También quiero agradecer a la Dr. Patricia Escalante Pliego encargada del laboratorio de genética de la conservación del instituto de biología de la UNAM por recibirme y apoyarme en la obtención de los resultados y a los compañeros de laboratorio Diana Cortes Tenorio, Monserrat y Jonathan por el apoyo en el que hacer dentro del laboratorio.

A mis padres y familia por apoyarme siempre a seguir adelante en mi preparación académica y personal.

Quiero agradecer de manera muy particular a mi pareja y futura madre de mi hijo Cynthia Anahí Román Soto por ser mi fortaleza y apoyo en los momentos más difíciles.

Un agradecimiento muy especial a la familia Avalos Galicia, a doña Conchita, don Ramón y a su hijo José Ramón por abrirme la puerta de su casa y permitir que mi estadía en Ciudad de México sea más amena.

Por último y no menos importante quiero agradecer a todos aquellos que de alguna u otra forma estuvieron involucrados de manera directa o indirecta en la ejecución de este proyecto.

A todos ustedes gracias de todo corazón.

# ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| <b>RESUMEN</b> .....                                       | 1  |
| <b>ABSTRACT</b> .....                                      | 2  |
| <b>I.- INTRODUCCIÓN</b> .....                              | 3  |
| <b>II.- ANTECEDENTES</b> .....                             | 7  |
| 2.1.- Información Taxonómica de la Guacamaya verde .....   | 7  |
| 2.2.- Descripción de la especie .....                      | 7  |
| 2.3.- Distribución actual.....                             | 9  |
| 2.4.- Hábitat .....  | 11 |
| 2.5.- Características Reproductivas.....                   | 12 |
| 2.6.- Importancia ecológica de la Guacamaya verde .....    | 13 |
| 2.7.- Situación de la Guacamaya Verde en México.....       | 14 |
| 2.8.- Sexado de aves con fines de reproducción .....       | 17 |
| 2.8.1.- Técnicas de Sexado en Aves .....                   | 17 |
| 2.8.1.1.- Método Quirúrgico .....                          | 17 |
| 2.8.1.2.- Método por Determinación Hormonal .....          | 19 |
| 2.8.1.3.- Método Citogenético o Análisis Cromosómico ..... | 19 |
| 2.8.1.4.- Método de Citometría de Flujo .....              | 20 |
| 2.8.1.5.- Método Molecular .....                           | 21 |
| 2.9.- Pruebas de paternidad y Endogamia.....               | 24 |
| <b>III.- JUSTIFICACIÓN</b> .....                           | 29 |
| <b>IV.-HIPÓTESIS</b> .....                                 | 30 |
| <b>V.-OBJETIVOS</b> .....                                  | 31 |
| 5.1.- General .....  | 31 |
| 5.2.- Específicos.....                                     | 31 |
| <b>VI.- MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....                     | 32 |
| 6.1.- Lugar de obtención de la muestra.....                | 32 |
| 6.1.1.- Población en cautiverio .....                      | 32 |
| 6.1.2.- Población silvestre.....                           | 33 |
| 6.2.- Tipo de estudio .....                                | 34 |

|  |           |
|--|-----------|
| 6.3.- Muestra .....  | 34        |
| 6.3.1.- Tamaño de muestra .....  | 34        |
| 6.3.2.- Tipo de muestreo .....   | 34        |
| 6.3.3.- Criterios de inclusión.....  | 34        |
| 6.3.4.- Criterios de exclusión .....   | 34        |
| 6.4.- Metodología.....   | 35        |
| 6.4.1.- Toma de muestra de ejemplares en cautiverio .....                    | 35        |
| 6.4.2.- Toma de muestra de ejemplares de vida libre .....                    | 36        |
| 6.4.3.- Extracción del ADN a partir de muestras de sangre.....               | 37        |
| 6.4.4.- Extracción de ADN a partir de plumas.....                            | 38        |
| 6.4.5.- Cuantificación de ADN .....  | 39        |
| 6.4.6.- Sexado molecular de muestras sanguíneas y plumas .....               | 39        |
| 6.4.7.- Estudio de paternidad .....  | 40        |
| 6.5.- Lugar de realización .....   | 42        |
| 6.6.- Financiamiento .....   | 42        |
| <b>VII.- RESULTADOS.....</b>   | <b>43</b> |
| 7.1.- Sexado de ejemplares en cautiverio .....                               | 43        |
| 7.2.- Cambio en la relación hembra:macho con el reclutamiento de crías ..... | 44        |
| 7.3.- Sexado de individuos de vida libre.....                                | 47        |
| 7.4.- Amplificación de microsátélites .....                                  | 47        |
| 7.5.- Resultados de paternidad .....   | 48        |
| 7.6.- Endogamia.....   | 49        |
| <b>VIII.- DISCUSIÓN .....</b>  | <b>50</b> |
| 8.1.- Sexado del total de ejemplares .....                                   | 50        |
| 8.2.- Asignación de posibles candidatos a padres.....                        | 53        |
| 8.3.- Evaluación de la endogamia .....                                       | 54        |
| <b>IX.- CONCLUSIONES .....</b>   | <b>56</b> |
| <b>X.- PERSPECTIVAS .....</b>  | <b>57</b> |
| <b>XI.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                  | <b>58</b> |
| <b>XII.- ANEXOS .....</b>  | <b>64</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1: Características físicas de la guacamaya verde .....  | 9  |
| Figura 2: Mapa de la distribución de guacamaya verde en el continente americano .....  | 10 |
| Figura 3: Mapa de la distribución de guacamaya verde en México .....   | 11 |
| Figura 4: Guacamaya verde. Imagen tomada de ejemplar de guacamaya verde en la selva subcaducifolia de Cósala, Sinaloa .....                          | 12 |
| Figura 5: Número de ejemplares por especie decomisados por la PROFEPA entre los años 2010 al 2018 .....  | 15 |
| Figura 6: Tabla de decomisos de ejemplares de guacamaya verde por estado.....  | 16 |
| Figura 7: Equipamiento y técnica de laparotomía .....  | 18 |
| Figura 8. Cariotipo de dos especies del género Ara .....   | 20 |
| Figura 9. Citometría de flujo mediante el contenido de ADN; .....  | 21 |
| Figura 10: Estructura del gen CHD1 .....   | 22 |
| Figura 11. Representación esquemática de la amplificación de los genes CHD1-W y CHD1-Z.....  | 23 |
| Figura 12. Ubicación de la UMA “Nuestra Señora”. Esta UMA se encuentra ubicada dentro del predio que comprende.....                                  | 32 |
| Figura 13. Mapa de los puntos de colecta de ejemplares silvestres. Ubicación de colecta de plumas de la población silvestre de guacamaya verde ..... | 33 |
| Figura 14. Sistema de identificación de individuos. Anillo alfanumérico en ejemplar de guacamaya verde .....   | 35 |
| Figura 14. Extracción de muestra sanguínea. Se extrajo una muestra sanguínea de cada ejemplar de guacamaya verde.....                                | 36 |
| Figura 16. Toma de muestras de población silvestre. Se verifico y proceso cada pluma tomada de individuos silvestres.....                            | 37 |
| Figura 17. Sexado de ejemplares mediante amplificación por PCR .....   | 43 |
| Figura 18: Proporción acumulada de machos/hembras de los cinco años de crías de la UMA “Nuestra Señora” .....  | 46 |
| Figura 20.- Electroferograma del microsatélite UnaCT21. ....   | 48 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1: Secuencias nucleotídicas de los primers ligados a CDH1 .....  | 24 |
| Tabla 2: Descripción de primers para el estudio de paternidad.....   | 40 |
| Tabla 3: Relación del número de machos y hembras de guacamaya verde ( <i>A. militaris</i> ) pertenecientes a la UMA “Nuestra Señora” ..... | 44 |
| Tabla 4: Comparación entre la proporción entre hembras y machos del grupo de los reproductores y el total de crías .....                   | 44 |
| Tabla 5: Ajuste en la relación Hemabra:Macho de guacamaya verde con el reclutamiento de las crías .....                                    | 45 |
| Tabla 6: Relación del número de machos y hembras de una población de vida libre.....   | 47 |
| Tabla 7.- Posible macho reproductor y su descendencia, sexo y año de nacimiento .....  | 49 |
| Tabla 8.- Tabla de variabilidad genética .....   | 49 |

## RESUMEN

La pérdida y fragmentación del hábitat por la tala inmoderada y el cambio de uso de suelo ha provocado la disminución de muchas de las poblaciones de fauna silvestre en el mundo, aunado ha esto el tráfico ilegal de especies ha acelerado exponencialmente este decrecimiento. El orden de los Psitaciformes es uno de los grupos más afectados por esta problemática, ha raíz de esto, en México se prohíbe el aprovechamiento de las especies que se distribuyen de manera natural dentro del territorio nacional y se crean las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs). La guacamaya verde (*Ara militaris*) es una de las especies pertenecientes ha este orden, siendo de las más impactadas por estos problemas, por ello en este estudio se realizó una evaluación de la proporción sexual, así como también la asignación de los posibles candidatos ha parejas reproductoras y un análisis de la endogamia de los ejemplares de guacamaya verde pertenecientes ha la UMA “Nuestra Señora”. El grupo reproductor o fundador mostró una proporción sexual de 1:3 (7 machos: 20 hembras), mientras que las crías una proporción prácticamente de 1:1 (18 machos: 16 hembras). En cuanto ha la asignación de parejas reproductoras el ejemplar NS 14 (macho) fue el único candidato a posible padre de las crías NS 31, NS 46, NS 49 y UAS 7. Analizando la proporción sexual, los registros de la UMA y el microsatelite amplificado el grupo de guacamayas de la UMA “Nuestra Señora” tiene altos niveles de endogamia.

*Palabras claves: guacamaya verde, sexado molecular, pruebas de paternidad, endogamia, genética de la conservación.*

## **ABSTRACT**

The loss and fragmentation of habitat due to excessive logging and the use of land change has caused the decline of many of the world's wildlife populations, coupled with this, the illegal trafficking of species has accelerated this decline exponentially. The order of Psittaciformes is one of the groups most affected by this problem, as a result of which, in Mexico, the use of species that are naturally distributed within the national territory is prohibited and Conservation Management Units are created. of Wildlife (UMAs). The military macaw (*Ara militaris*) is one of the species belonging to this order, being one of the most impacted by these problems, for this reason in this study an evaluation of the sexual proportion was carried out, as well as the assignment of possible candidates to breeding pairs and an analysis of the inbreeding of the green macaw specimens belonging to the UMA "Nuestra Señora". The reproductive or founder group showed a sexual ratio of 1:3 (7 males: 20 females), while the pups showed a ratio of practically 1:1 (18 males: 16 females). Regarding the allocation of breeding pairs, the specimen NS 14 (male) was the only candidate for possible father of the offspring NS 31, NS 46, NS 49 and UAS 7. Analyzing the sexual ratio, the records of the UMA and the microsatellite amplified the group of macaws of the UMA "Nuestra Señora" has high levels of inbreeding

*Keywords: Military macaw, molecular sexing, paternity tests, genetic inbreeding, conservation genetics.*

## I.- INTRODUCCIÓN

La pérdida y la fragmentación de los ecosistemas son las principales amenazas para la persistencia de las especies, esto conlleva a la disminución de la diversidad biológica en todos sus niveles (Sutherland, 2008). Dentro del campo de la biología de la conservación esta problemática genera los efectos más catastróficos sobre la biodiversidad (Alcaide *et al.*, 2009).

La fragmentación y la interrupción en la continuidad del hábitat de los bosques, se considera como una de las principales causas del declive de la población para algunas especies de aves ya que la fragmentación reduce el éxito de la anidación (Robinson *et al.*, 1995).

El orden de los psitaciformes (loros, cacatúas, guacamayas y pericos) se encuentra entre los órdenes aviares más amenazados (IUCN, 2001) con cerca del 31% de las especies neotropicales en peligro de extinción (IUCN, 2013). La agricultura, la captura para el comercio de mascotas y la tala, son algunas de las variables que afecta a más del 55% de las poblaciones, lo que sugiere un mayor grado de riesgo del que se pensaba anteriormente (Berkunsky *et al.*, 2017).

Las aves del orden psitaciformes poseen una dieta que consiste principalmente en semillas, frutos, flores, néctar y polen (Collar, 1997; Kristosch y Marcondes, 2001). Por lo general las guacamayas tienden a ser muy especializada en su dieta, esta podría ser una de las causas de la pérdida de su especie, suelen utilizar solo entre el 10 y el 25% del recurso florístico que se encuentra disponible. Sin embargo, de este pequeño porcentaje, las especies arbóreas las cuales proporcionan recurso alimenticio para la guacamaya verde son casualmente las que

presentan un Índice de Valor de Importancia Ecológica (IVIE) más elevado (Loza *et al.*, 1997; Rivera *et al.*, 2007; Rubio y Medellín, 2015).

La familia Psittacidae en México presenta un elevado porcentaje de especies en riesgo, dicha familia se encuentra representada en el país por 21 especies de las cuales 10 se encuentran catalogadas en peligro de extinción (NOM-059-2010) gracias a que enfrentan explotación local y regional para el comercio de mascotas, además de altas tasas de deforestación tanto en bosques templados como en bosques tropicales (Cantú *et al.*, 2015; Escalante *et al.*, 1993).

Uno de los principales problemas para las poblaciones de guacamaya verde (*Ara militaris*) en el mundo es la pérdida de su hábitat aunado a su lenta tasa reproductiva y al poco éxito de eclosión que presentan los huevos (Bonilla *et al.*, 2007).

En México el saqueo de los nidos para el tráfico ilegal y la tala inmoderada de las selvas han potencializado la fragmentación de su hábitat derivando esto en el aislamiento de las poblaciones lo que trae como consecuencia una disminución en el intercambio de material genético, notoriamente esto se ve más reflejado en la separación de las poblaciones de las vertientes del golfo y pacífico (Rivera *et al.*, 2017).

La viabilidad de la población o las especies depende de factores demográficos, ambientales y genéticos. Las estimaciones de la diversidad genética pueden ser muy importantes en los programas para la conservación de la biodiversidad ya que esta es muy importante para que las poblaciones puedan enfrentar futuros cambios ambientales y garantizar su existencia a largo plazo (Frankham *et al.*, 2002; Haig, 1998).

Desde el año de 1970 se reconoce a la consanguinidad y pérdida de diversidad genética como una de las problemáticas más importantes para el correcto funcionamiento de los programas

de conservación *ex situ*, lo que ha llevado a zoológicos y criaderos a replantearse las técnicas en los programas reproductivos y la crianza en cautiverio (Ralls *et al.*, 1979; Bouman, 1977; Pelletier *et al.*, 2009).

Con la ayuda de diversas técnicas de biología molecular hoy en día es relativamente fácil dar respuesta, desde el punto de vista genético a interrogantes ecológicas, evolutivas y de conservación. En gran medida esto ha sido posible al desarrollo y creación de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) y a los marcadores moleculares (Mullis y Faloona, 1987). Dentro de los marcadores moleculares de mayor utilidad se encuentran los microsatélites los cuales se ubican en el ADN, se constituyen por secuencias cortas de 1 a 6 pares de bases nucleotídicas repetidas en “tándem” un elevado número de veces (SSRs, *Short Sequence Repeats*). Presentan herencia mendeliana simple y son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), y presentan un alto número de alelos para un mismo locus, lo que da lugar a la variación de los caracteres (altamente polimórficos). Son particularmente útiles, y en general, son los marcadores ideales en casos de asignación de un individuo a un grupo de origen probable (Allendorf y Leary, 1988; E. González, 2003; Zane *et al.*, 2002).

Una de las estrategias implementadas en México para la protección de las especies en peligro de extinción fue la creación de las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs) y Áreas Naturales Protegidas (ANP) en la cual se enlistan numerosos objetivos con la finalidad de proteger a dichas especies. Sin embargo, uno de los grandes problemas a los que se enfrentan este tipo de programas es 1) la deficiencia en los planes de manejo, 2) la capacitación inadecuada del personal, 3) la falta de confiabilidad en las

estimaciones poblacionales y los datos biológicos, 4) Escaso seguimiento de las UMA autorizadas, y evaluación de su impacto sobre la biodiversidad, 5) Manejo centrado en unas cuantas especies y basado esencialmente en incentivos económicos, 6) Escasa articulación entre UMA para mantener la biodiversidad regional y la viabilidad de las poblaciones locales (Gallina *et al*, 2009), aunado a estos problemas existe la poca o nula información sobre la salud genética que presentan los ejemplares en cautiverio ya que la mayoría de las personas a cargo solo observan rasgos fenotípicos y muy pocos evalúan los rasgos genotípicos (Hernández *et al*, 2018).

En el estado de Sinaloa existen varias UMAs autorizadas y en operación, la ANP Reserva Ecológica del Mineral de Nuestra Señora de la Candelaria en el municipio de Cósala, cuenta con una UMA dentro de su predio dirigida a la conservación de la guacamaya verde, esta al igual que muchas otras, carecen de datos moleculares para la implementación de un correcto plan de manejo, como por ejemplo, se desconoce el sexo del total de los ejemplares, dato de suma importancia ya que esta especie no presenta dimorfismo sexual por lo que no existe diferencia visual para el humano entre machos y hembras, así como también, se ignoran las parejas reproductivas que se encuentran en actividad, esto gracias a que todas convergen en un mismo aviario, de igual forma no se ha evaluado el nivel de endogamia ni la variabilidad genética de los individuos que se encuentran en cautiverio ni comparado contra una población silvestre, esto con la finalidad de saber si los ejemplares son viables genéticamente ya que la finalidad del programa de conservación de la guacamaya verde en la UMA “Nuestra Señora” es la liberación de ejemplares para repoblar los grupos silvestres que se encuentran en el municipio de Cósala aumentando el número de individuos de las poblaciones y a su vez incrementando la variabilidad genética.

## II.- ANTECEDENTES

### 2.1.- Información Taxonómica de la Guacamaya verde

Reino: ANIMALIA

Phylum: CHORDATA

Clase: AVES

Orden: PSITTACIFORMES

Familia: PSITTACIDAE

Género: Ara

Especie: *Militaris*

Nombre científico: *Ara Militaris* (Linnaeus, 1766)

Nombres Comunes: guacamaya verde, guacamaya militar, guacamaya soldado, papagayo, lapa verde, military macaw (ingles) (Monterrubio y Carreón, 2005)

Se describen tres subespecies de guacamaya verde: *Ara militaris mexicanus*, *Ara militaris militaris* y *Ara militaris bolivianus*, sin embargo esta hace más referencia a su distribución que a algún estudio filogenético (Linnaeus, 1766; Ridgway, 1915)

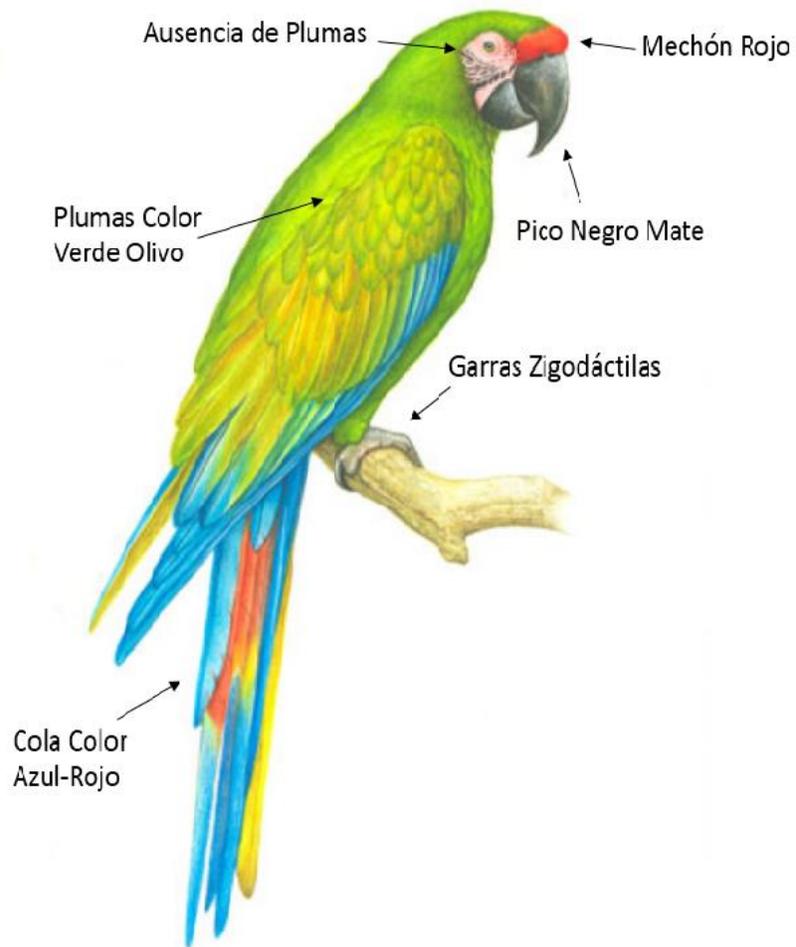
### 2.2.- Descripción de la especie

La guacamaya verde al igual que todas las especies pertenecientes al género *Ara* comparten ciertas características distintivas como por ejemplo; carecen de plumas en el rostro o bien presentan bandas de pequeñas plumas negras las cuales a su vez forman patrones únicos para cada individuo, lo que se asemejaría a una huella dactilar (Núñez y Arizmendi, 2014).

Es un ave relativamente grande con un peso promedio de 900 gr y 800 mm de longitud ocupando así el sexto puesto en tamaño del género *Ara* (Monterrubio y Carreón, 2005; Peterson y Chalif, 1989).

Presentan color verde, tono mate en la nuca, cuello y corona. Las plumas cobertoras y secundarias de las alas son de color verde olivo oscuro; frente y mejillas color rojo carmesí, la rabadilla y coberteras de la cola presentan color azul turquesa. El pico es negro mate y el iris es color amarillo, patas zigodáctilas y dedos color gris oscuro.

Los juveniles son similares, excepto por las plumas escapulares o cobertoras del ala con borde distal color verde pálido y las plumas de la garganta con tono café, el iris va de color amarillo pálido a café claro (J. Forshaw y Cooper, 1989) (Figura 1).



**Figura 1: Características físicas de la guacamaya verde (*A. militaris*)**

### 2.3.- Distribución actual

A nivel mundial, la distribución de la guacamaya verde (*A. militaris*) comprende los países latinoamericanos de México, Colombia, Venezuela, Ecuador, Bolivia, Perú y Argentina (Howell y Webb, 1995), sin embargo, sus poblaciones a lo largo de toda su distribución se encuentran distantes (Figura 2).



**Figura 2: Mapa de la distribución de guacamaya verde en el continente americano (BirdLifeInternational, 2019).**

En México, su distribución se divide principalmente en dos poblaciones, una por la vertiente del pacífico que comprenden los estados de Chihuahua, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Colima, Jalisco, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, mientras que en la vertiente del golfo su presencia está distribuida en los estados de Tamaulipas, San Luis Potosí, Querétaro y Michoacán (Iñigo, 2000) (Figura 3).

Frecuentemente la guacamaya verde se asocia a áreas de bosque bien conservadas preferentemente la selva mediana sub-caducifolia y baja caducifolia y en bosques de pino-

encino. Su rango altitudinal va desde el nivel del mar hasta los 2800 m.s.n.m. (Álvarez del Toro, 1980; De la Parra *et al.*,1995; Iñigo, 2000).



**Figura 3: Mapa de la distribución de guacamaya verde en México** (BirdLifeInternational, 2019)

#### 2.4.- Hábitat

La guacamaya verde tiene la característica de encontrarse en diferentes tipos de hábitat, sin embargo, se asocia principalmente a selvas bajas y medianas caducifolias, así como a selvas medianas subperennifolias (Figura 4), las cuales se extienden en parte por la planicie costera del golfo, las planicies y sierras del noroeste, la planicie costera del pacífico y la Sierra Madre del Sur. También se le observa en hábitats semiáridos y visita zonas de transición con vegetación templada de pino-encino en la vertiente del pacífico en México.

Actualmente con el uso y cambio de suelo, se han registrado avistamientos en zonas agrícolas y ganaderas al igual que en zonas perturbadas (Binford, 1989; Juárez *et al.*, 2012; Schaldach, 1963)



**Figura 4: Guacamaya verde.** Imagen tomada de ejemplar de guacamaya verde en la selva subcaducifolia de Cósala, Sinaloa

#### 2.5.- Características Reproductivas

La guacamaya verde al igual el 90% de las aves, presentan comportamientos monógamos (Lack, 1968), alcanzan su madurez sexual de los 4 a 5 años en promedio, es ahí cuando eligen a su pareja con la cual pasarán el resto de su vida. La nidada suele ser de 3 huevos ocasionalmente llegan a poner hasta 4, estos son de forma elíptica y color blanco con un peso promedio de 32 gr y dimensiones de 52.2 x 35.7 mm datos reportados por Carreón (1997).

Históricamente solían anidar en las cavidades de árboles con altura mayor a los 15 metros, Sin embargo, ahora solo se ven anidando en riscos de difícil acceso (Álvarez del Toro, 1980; Monterrubio y Carreón, 2005).

Su ciclo reproductivo consiste en el cortejo, la cópula, selección del nido, puesta de huevos, incubación, cuidado del polluelo hasta que sea volantón. Este ciclo no siempre se presenta igual en las poblaciones de guacamaya verde, como ejemplo algunos autores reportan el inicio del ciclo para el mes de marzo y finaliza en octubre (Rivera y Arizmendi, 2007) o bien con inicio en el mes de septiembre y finaliza en marzo (Gomez y Sanvicente, 2004), esto se debe a la diferencia en vegetación y clima ya que el inicio del ciclo depende de la disponibilidad de recursos

#### 2.6.- Importancia ecológica de la Guacamaya verde

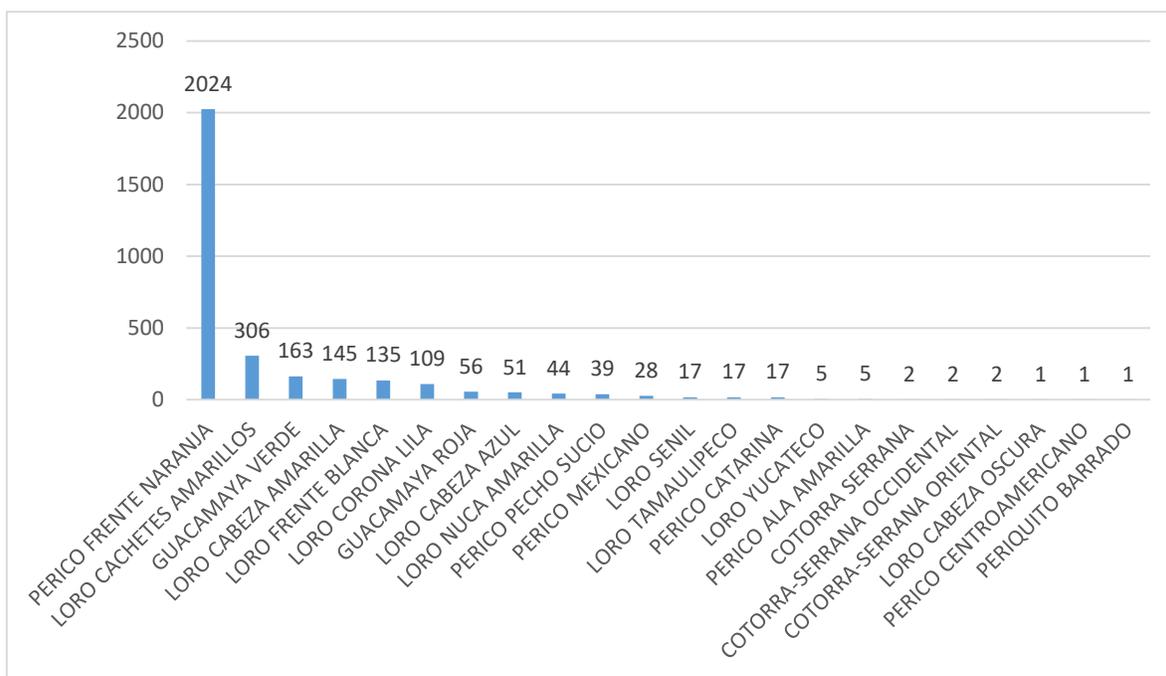
La subespecie de guacamaya verde que se localiza en México es endémica del país. Además, esta especie actúa como indicador de la salud del hábitat, pues en algunas regiones perturbadas es de las primeras especies que desaparecen. Es además la especie de guacamaya con distribución más norteña en el continente (Monterrubio y Carreón, 2005).

Además, la guacamaya verde tiende a seleccionar espacios conservados con mayor riqueza de especies, identifica también al bosque tropical subcaducifolio como de vital importancia para la especie pues en él se localizan los recursos alimenticios, de reproducción y refugio necesarios en esa localidad para la especie. Las guacamayas en general son selectivas en los hábitats que utilizan, especialmente en sitios de reproducción y sitios de alimentación (Rubio, 2001).

## 2.7.- Situación de la Guacamaya Verde en México

En México existen diferentes dependencias gubernamentales las cuales se encargan de la gestión, cuidado y aprovechamiento de los recursos naturales la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) es el principal órgano construido para regular dichos recursos.

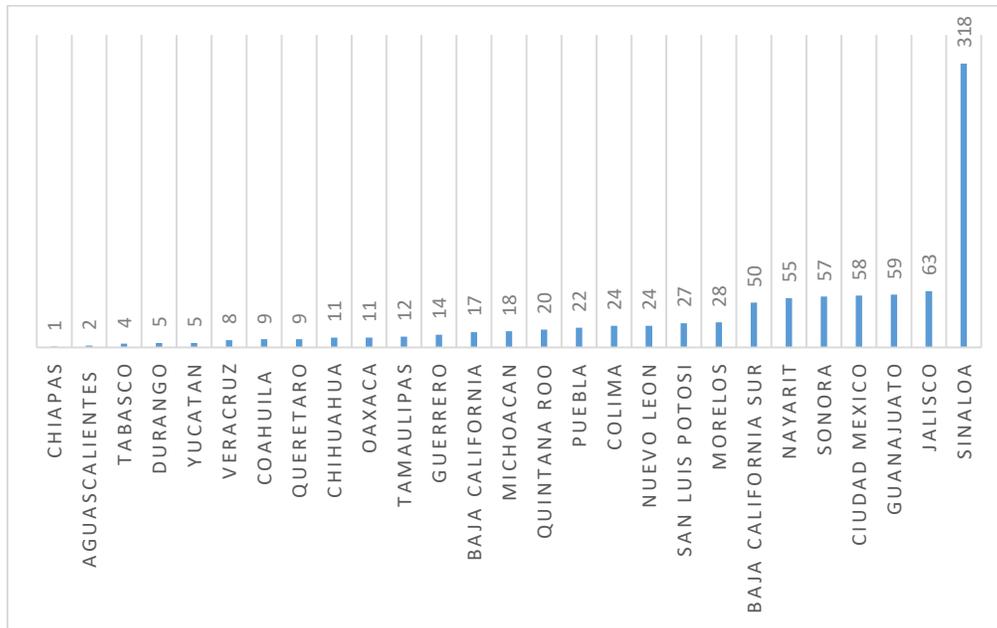
Muy en específico la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) es el organismo encargado del cuidado y preservación del ambiente en todo el país, al igual que la inspección y vigilancia del cumplimiento de leyes para la protección ambiental. En el 2008 se adiciona a la Ley General de Vida Silvestre (LGVS) el artículo 60 bis 2, el cual establece que, *“Ningún ejemplar de ave correspondiente a la familia Psittacidae o psitácido, cuya distribución natural sea dentro del territorio nacional, podrá ser sujeto de aprovechamiento extractivo con fines de subsistencia o comerciales”* (DOF, 2008), sin embargo, a pesar de las leyes creadas la PROFEPA realiza constantemente decomisos que corresponden a las especies enlistadas en dicha ley, muy en particular la guacamaya verde es una de las especies más llamativas y con el mayor número de decomisos (Gráfica 1).



**Figura 5:** Número de ejemplares por especie decomisados por la PROFEPA entre los años 2010 al 2018

Durante el periodo que comprenden los años del 2010 al 2018 la PROFEPA realizó un total de 3170 aseguramientos que corresponden a las especies de la familia de psitácidos que se encuentran enlistados en la LGVS las cuales está prohibido su aprovechamiento extractivo con fines de subsistencia o comerciales, siendo la guacamaya verde la tercera especie con el mayor número de decomisos, solo por debajo del perico frente naranja (*Eupsittula canicularis*) y el loro cachetes amarillos (*Amazona autumnalis*) (PROFEPA, 2019).

Por otro lado, durante el periodo de 1995 al 2018 la PROFEPA realizó un total de 931 decomisos solo de guacamaya verde enlistándose los siguientes estados: (Gráfica 2).



**Figura 6:** Tabla de decomisos de ejemplares de guacamaya verde por estado

Es Sinaloa el que por mucho se lleva el mayor número de aseguramientos de guacamaya verde con el 34% del total de ejemplares decomisados, siguiendo Jalisco con el 7%, Guanajuato y Ciudad de México con el 6% y Sonora y Nayarit con el 5%. Sin embargo, en un estudio realizado por Cantú *et al.*, (2007) se estima que anualmente se capturan entre 65,000 a 78,500 especies de psitácidos en México lo cual indica que el promedio de efectividad de aseguramientos por parte de la PROFEPA es de 1,33 especies por año, esto significa que solamente se asegura el 2% del total de capturas.

## 2.8.- Sexado de aves con fines de reproducción

En el grupo de las aves, alrededor del 60% de estas no presentan dimorfismo sexual por lo que a simple vista la identificación del sexo presenta grandes dificultades, dentro de este grupo, la familia Psittacidae cuenta con el mayor número de especies monomórficas (Bermudez *et al.*, 2002).

El dimorfismo sexual es definido como la diferencia de formas, coloración y tamaños entre machos y hembras de una misma especie. El conjunto de dichos caracteres es lo que permite distinguir las llamadas características sexuales primarias (genitales externos) y las características sexuales secundarias, las cuales no son estrictamente necesarias para la reproducción pero tienen alguna función durante la misma, ya que la expresión de caracteres como tamaño, fuerza y colorido son un conjunto de aspectos que juegan un papel fundamental al garantizar el éxito en los procesos de apareamiento (Owens y Bennett, 1994).

La guacamaya verde es una especie monomórfica, por lo que conocer el sexo de sus ejemplares tanto en vida libre como en cautiverio es de vital importancia para la toma de decisiones.

### 2.8.1.- Técnicas de Sexado en Aves

#### 2.8.1.1.- Método Quirúrgico

Esta técnica fue el primer método que se utilizó para la determinación del sexo en aves, siendo el más utilizado en la familia Psittacidae (Kirk, 1994). Existen dos métodos de sexado quirúrgico: laparotomía y laparoscopia (Cavallo *et al.*, 1997; Richner, 1989). En la laparotomía se realiza una incisión mayor para que permita la entrada de una sonda de metal la cual es usada para desplazar los intestinos y permitir la examinación de gónadas, las cuales

se encuentran cerca de la columna vertebral y por debajo de la costilla (Figura 5). Por otra parte, la laparoscopia es una técnica más refinada, se necesita de una incisión más pequeña a través de la cual se ingresa el gas CO<sub>2</sub> el cual ayuda a que los órganos se separen de la pared abdominal y sea más fácil la observación de las gónadas; a través de este corte se introduce un aparato compuesto por una fuente de luz fría para no quemar las vísceras y un sistema de lente llamado endoscopio por el cual se da una mejor visualización (Risser, 1971). Sin embargo, por ser técnicas quirúrgicas conllevan todos los riesgos propios de este tipo de procedimientos invasivos.

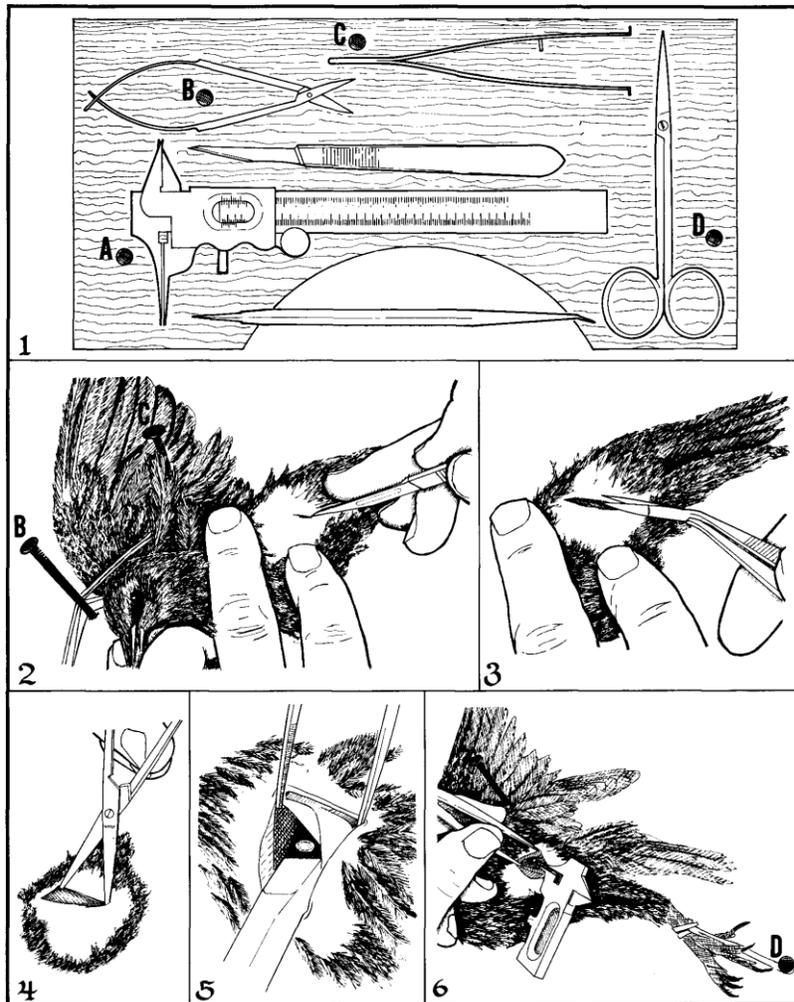


Figura 7: Equipamiento y técnica de laparotomía (Risser, 1971).

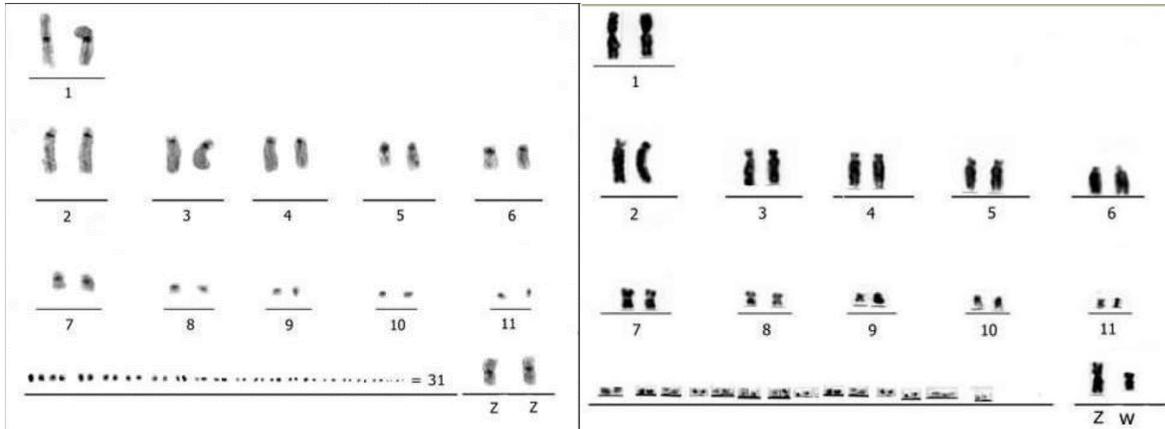
### 2.8.1.2.- Método por Determinación Hormonal

Entre las técnicas más empleadas se encuentra el análisis de esteroides fecales, este método mide la proporción entre estrógenos/testosterona en las heces de las aves; donde se espera encontrar proporciones más altas de estrógenos en aquellas muestras provenientes de las hembras. Para lograr un mayor grado de exactitud en los resultados obtenidos es necesario mantener las muestras en congelación desde el momento que se toman con el fin de garantizar la estabilidad de las hormonas, sin embargo, los resultados no son muy exactos ya que se ven afectados por la edad del animal y la época de cría (Cerit y Avanus, 2007; Miyaki *et al.*, 1998; Swengel *et al.*, 1996).

### 2.8.1.3.- Método Citogenético o Análisis Cromosómico

Es una técnica que permite identificar el sexo del ave mediante el análisis de los cromosomas (Figura 6). Esta metodología requiere de células provenientes de la pulpa de la pluma, las cuales sólo son disponibles después de su muda o en los polluelos o provenientes de sangre en cantidad de seis a ocho gotas que equivalen 0,4-0,5 µl suficiente para un cultivo celular. El procedimiento implica cultivo de células, posterior cosecha y tratamientos de tinción y ordenamiento de los cromosomas (Stefos y Arrighi, 1971).

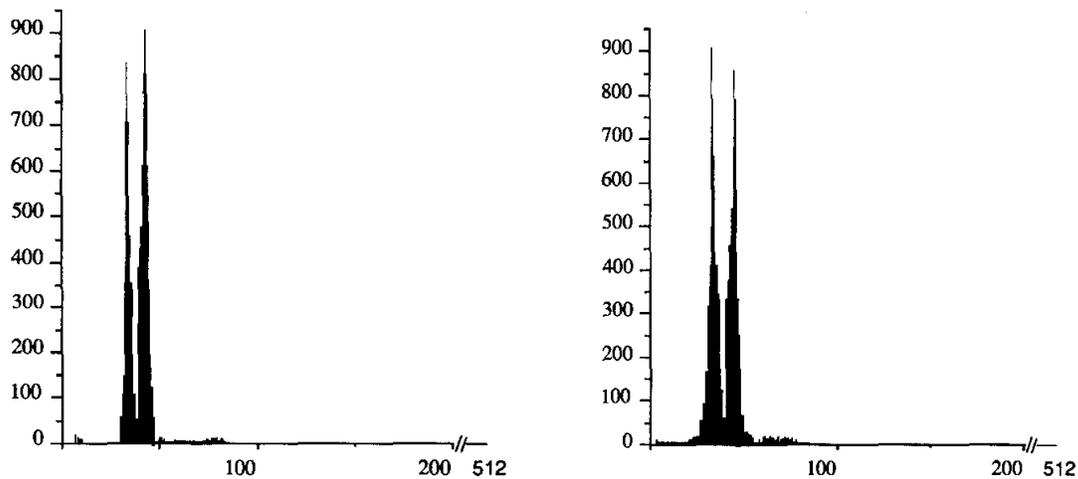
Este es un procedimiento que requiere tiempo para estandarización, las células que se manipulan para realizar el cultivo no son fáciles de conseguir y como todos los cultivos celulares son susceptibles de contaminación. Así mismo los distintos órdenes de aves poseen un cariotipo extenso y complejo, puesto que tienen entre 40 y 126 cromosomas, muchos de ellos del mismo tamaño y disposición del centrómero, algunas especies tienen microcromosomas y otras no tienen dimorfismo sexual cromosómico haciendo difícil su inspección y correcta identificación (Griffiths, 2000).



**Figura 8. Cariotipo de dos especies del género Ara;** a la izquierda la especie *Ara ararauna*, ejemplar macho con los cromosomas sexuales ZZ. A la derecha la especie *Ara militaris*, ejemplar hembra con los cromosomas sexuales ZW (Stelle *et al.*, 2005)

#### 2.8.1.4.- Método de Citometría de Flujo

Este es un método de reciente incursión, donde se pasa las células marcadas con fluorocromos por una corriente angosta de fluido. Los fluorocromos son excitados por un rayo láser, los sensores ópticos detectan las señales generadas. Con esta metodología es posible obtener información sobre el tamaño, complejidad intracelular y marcadores de membrana de la población celular analizada (Figura 7). Esta técnica permite realizar una estimación exacta, rápida y cuantitativa acerca del DNA contenido en las miles de interfaces celulares, permitiendo la asignación de sexo, pues el contenido total de DNA del macho es mayor que el de la hembra, debido a que el tamaño del cromosoma Z es superior comparado con el cromosoma W (Cavallo *et al.*, 1997). Es una técnica rápida, específica y utiliza como muestra, pequeñas cantidades de sangre.



**Figura 9. Citometría de flujo mediante el contenido de ADN; a la izquierda: hembra, derecha: macho (Cavallo *et al.*, 1997)**

Sin embargo, la mayoría de estos métodos suelen ser muy costosos, a su vez algunos son invasivos sometiendo al animal a altos niveles de estrés y algunos requieren periodos largos de tiempo para la obtención de resultados (Camacho, 2009)

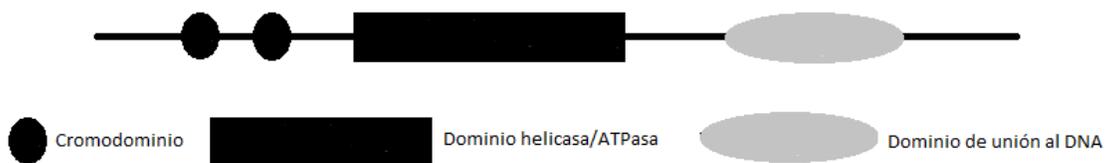
#### 2.8.1.5.- Método Molecular

A raíz de la creación de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) muchas de las técnicas y métodos para el estudio de organismos vivos sufrieron ciertas modificaciones que aceleraron y mejoraron el conocimiento de estos mismos (Mullis *et al.*, 1986). De tal manera que la determinación del sexo en las aves monomórficas no fue la excepción, la asignación del sexo ocurre en la fertilización por la herencia de los cromosomas sexuales.

La identificación citológica del sexo está basada en las diferencias morfológicas de los cromosomas sexuales (Smith, 2010). Las hembras son el sexo heterogamético, teniendo dos cromosomas sexuales diferentes (ZW), mientras que los machos son el sexo homogamético (ZZ). Los cromosomas sexuales Z y W de aves han evolucionado a partir de un par autosómico ancestral, de ahí que sean homólogos (Dubiec y Zagalska, 2006).

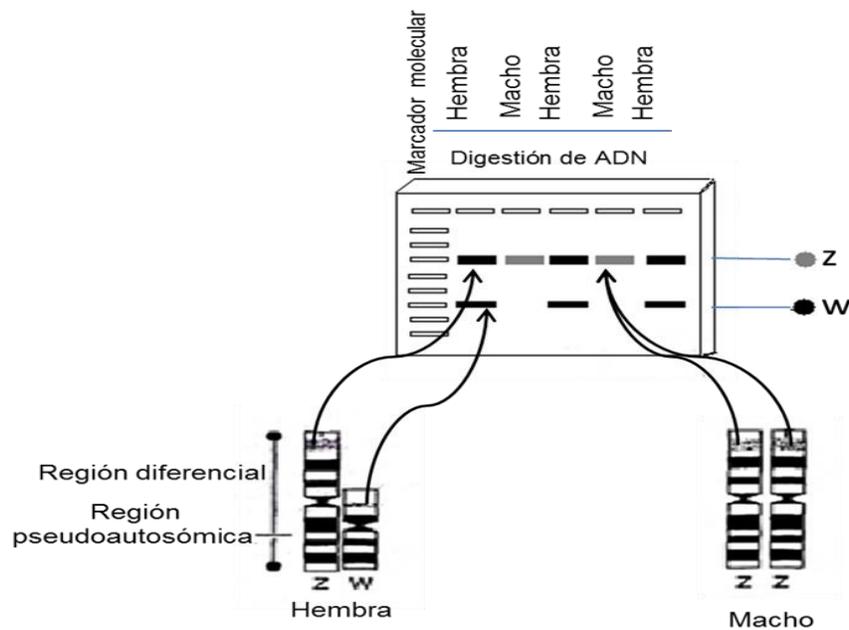
Durante este proceso evolutivo el cromosoma W perdió la mayoría de sus genes, de tal manera que redujo su tamaño, mientras que el cromosoma Z no cambió su contenido genético; por lo cual, el cromosoma W representa una versión degradada del Z. El cromosoma W es rico en DNA heterocromático repetitivo, de tipo satélite, y ambos cromosomas contienen una pequeña región pseudoautosómica. Los cromosomas sexuales son, por lo general, fácilmente distinguibles uno de otro, debido a su diferencia de tamaño. El cromosoma Z pertenece al grupo de los cromosomas grandes conocido como macrocromosomas, mientras que el cromosoma W es de los cromosomas pequeños, denominados microcromosomas (Dubiec y Zagalska, 2006; Smith, 2010).

Para la identificación del sexo, los genes son excelentes marcadores ya que están constituidos por DNA funcional, evolucionan a un ritmo muy lento y están presentes entre los diferentes taxones, es por ello, que el gen que codifica la proteína cromohelicasa de unión al ADN (CHD1) el cual presenta un cromodominio, cuya función es organizar la cromatina, la Helicasa/ATPasa se encarga de la replicación, recombinación y reparación del ADN y de la transcripción y traducción del RNA, el Dominio de Unión al ADN está involucrado en el proceso de compactación, organización de la cromatina y regulación genética (Figura 8). Este gen es el más utilizado para la determinación del sexo (Stokes y Perry, 1995; Woodage *et al.*, 1997).



**Figura 10: Estructura del gen CHD1 (Woodage *et al.*, 1997)**

Con base en esto, la identificación del sexo se basa en el análisis de las diferencias en el tamaño del intrón de los genes CHD1. El gen CHD1-W está localizado en el cromosoma W, por lo que es exclusivo de hembras. Mientras que el gen CHD1-Z se encuentra en el cromosoma Z y, por lo tanto, aparece en ambos sexos. Es por ello que al ser amplificados mediante la técnica de PCR y analizados por electroforesis produce una única banda CHD1-Z en machos, y en hembras aparece una segunda y distintiva banda CHD1-W (Griffiths *et al.*, 1998). De tal forma que, los machos son identificados por una banda en el gel y las hembras se distinguen por dos bandas (Figura 9).



**Figura 11. Representación esquemática de la amplificación de los genes CHD1-W y CHD1-Z.** Se observan los cromosomas heterogaméticos de las hembras (ZW) y los homogaméticos del macho (ZZ). Se aprecia al cromosoma W más pequeño, por lo que se le denomina microcromosoma (Millar *et al.*, 1996)

Para la realización de esta técnica existen 3 pares de primers basados en el gen CHD1 ya caracterizados y utilizados anteriormente. El primer par P2/P8 lo utilizó Griffiths *et al.* (1998) en la gallina doméstica, el segundo par fue desarrollado por Fridolfsson y Ellegren (1999) 2550F/2718R los cuales amplifican dos fragmentos para hembra que difieren en tamaño y un solo fragmento para machos. Y el último par de primers 1237L/1272H diseñados por Kahn *et al.*, 1998) (Tabla 1).

Tabla 1: Secuencias nucleotídicas de los primers ligados a CDH1 utilizados en la identificación del sexo de aves.

| <b>Primers</b> | <b>Secuencias</b>  | <b>Referencia</b>                |
|----------------|--|----------------------------------|
| P2/P8          | 5'-TCTGCATCGCTAAATCCTTT-3'<br>5'-CTCCCAAGGATGAGRAAYTG-3'   | (Griffiths <i>et al.</i> , 1998) |
| 1237L/1272H    | 5'-GAGAAACTGTGCAAAACAG-3'<br>5'-TCCAGAATATCTTCTGCTCC-3'    | (Kahn <i>et al.</i> , 1998)      |
| 2550F/2718R    | 5'-GTTACTGATTCGTCTACGAGA-3'<br>5'-ATTGAAATGATCCAGTGCTTG-3' | (Fridolfsson y Ellegren, 1999)   |

### 2.9.- Pruebas de paternidad y Endogamia

Son una herramienta útil y de gran apoyo en la gestión ante las entidades gubernamentales reguladoras de la fauna y flora, ya que permiten la genotipificación de diversas poblaciones que pueden estar en peligro de extinción, debido a su tenencia o tráfico ilegal dentro de una región o localidad (Saldarriaga, 2017). De igual forma, este tipo de pruebas son de gran ayuda

para los proyectos de manejos reproductivos en la asignación de parejas y de individuos para su reintroducción o repoblación según sea el caso.

El principio de las pruebas de paternidad utilizando marcadores genéticos consiste en la comparación del genotipo y/o fenotipo de la descendencia con el de sus progenitores. Como principio «mendeliano», uno de los alelos que presenta un individuo proviene del padre y el otro de la madre. En dicho análisis, al igual que la identificación individual, la identificación del (os) testigo (s), tanto a nivel fenotípico como genotípico debe ser perfectamente conocida y concordante con la información obtenida en los análisis realizados al individuo (Aranguren *et al.*, -2005)

Tanto para humanos como animales las regiones variables o polimórficas que se utilizan actualmente son secuencias cortas repetidas en tándem o STR (Short Tandem Repeats) por sus siglas en inglés. Las secuencias utilizadas se componen de unidades que contienen cada una de 4 a 5 pares de bases nucleotídicas (por ejemplo, ACAG) y lo que varía es el número de veces que estas unidades se repiten en cada individuo (Lagos *et al.*, 2011)

Los marcadores moleculares denominados microsatélites o secuencias simples repetidas (SSRs por sus siglas en inglés: *simple sequence repeats*) son secuencias de ADN constituidas por repeticiones nucleotídicas de 1 a 6 pares de bases, pueden estar compuestas por repeticiones del mismo nucleótido (mononucleótidos), por dos (dinucleótidos), por tres (trinucleótidos) y así hasta seis nucleótidos (hexanucleótidos). Son altamente polimórficos y presentan herencia mendeliana simple (Hancock, 1999). Debido a estas razones, los microsatélites pueden brindar información a diferentes niveles.

Los microsatélites mononucleótidos y dinucleótidos son más abundantes y tienen una tasa de mutación mayor que los demás, por lo que son apropiados para detectar diferencias entre individuos de una misma población. Mientras que los microsatélites con repeticiones de tres o más nucleótidos muestran menor variabilidad y permiten la determinación de paternidad y el análisis de variación entre poblaciones e incluso entre especies (Cornejo *et al.*, 2014).

La metodología para los *test* de paternidad consiste en seleccionar un grupo de microsatélites, que se distribuyen en distintos cromosomas. La cantidad de microsatélites utilizados para la asignación de parentesco varía según la especie.

Presti (2011) en Brasil utilizó 19 microsatélites caracterizados para la especie de guacamayo *Ara ararauna* aplicándolos a 5 especies pertenecientes a la familia Psittacidae, los cuales presentaron una amplificación cruzada y alta variabilidad, por lo que sugiere que la aplicación de estos marcadores moleculares en pruebas de paternidad puede ser una gran alternativa para la asignación de padres.

Por otro lado, Saldarriaga (2017) en Chile, implementó un test de paternidad el cual permitió genotipificar 31 individuos de la especie *Cyanoliseus patagonus* procedentes de dos criaderos y del Zoológico Nacional. Analizó 5 microsatélites descritos para esta especie, los cuales demostraron ser altamente polimórficos y apropiados para asignar parentesco, corroborando así la reproducción efectiva en el grupo control correspondiente a uno de los criaderos.

Otro de los trabajos en pruebas de paternidad para psitacidos lo realizaron M. Russello y Amato (2004) en la especie *Amazona gualdingii* donde utilizaron 8 microsatélites en 72 ejemplares en cautiverio. Sus resultados mostraron que la utilización de estimadores de

parentesco genera una amplia información genética para maximizar la diversidad genética y evitar la consanguinidad entre los individuos.

Rivera *et al.* (2017) utilizó 9 microsatélites para analizar la estructura y diversidad genética de guacamaya verde (*A. militaris*) en México, sus resultados arrojaron una separación genética de las poblaciones de la vertiente del pacífico con la población de la vertiente del golfo lo cual implica nuevos retos para la conservación de esta especie.

De los diversos marcadores moleculares existentes, es importante analizar cuáles de estos amplifican sin inconvenientes para el organismo en estudio, por ello, Cortés (2017) genotipificó guacamaya verde (*A. militaris*) empleando 11 primers, logrando amplificar con 7 de ellos, observándose un alto polimorfismo y número de alelos.

Mientras tanto, en México, S. González (2008) realizaron pruebas de paternidad utilizando únicamente 2 microsatélites, los cuales habían presentado amplificación cruzada en 47 ejemplares de guacamaya verde pertenecientes al zoológico African Safari, pudiendo asignar parentesco únicamente a los ejemplares que contaban con información previa al estudio, sugiriendo que es necesario el uso de 5 o más microsatélites.

Por otro lado, White *et al.* (2015). Utilizaron 25 microsatelites para evaluar el nivel de endogamia del Kakapo de Nueva Zelanda (*Strigops habroptilus*) en el cual detectaron que la hembra homocigota tiene una nidada más pequeña y menor éxito de eclosión demostrando que la endogamia contribuye a un éxito de eclosión relativamente más bajo lo que a su vez reduce el crecimiento de la población afectando a una especie en critico peligro de extinción.

Utilizando el análisis de viabilidad de poblaciones y datos genéticos Stojanovic *et al.*, (2022). Demostrarán resultados de mortalidad juvenil no aleatoria en una heterocigosidad observada más baja en el loro de vientre naranja (*Neophema chrysogaster*).

La asignación de parentesco y la evaluación de la endogamia mediante el uso de microsatélites ha tenido múltiples casos de éxito, es de suma importancia para la toma de decisiones en los planes de manejo reproductivos conocer las parejas reproductoras, esto con la finalidad de evitar la endogamia y por consiguiente la pérdida de la variabilidad genética, es por ello que la utilización de un método estandarizado para la prueba de paternidad en guacamaya verde acelerará los proyectos existentes para la recuperación de esta especie.

### **III.- JUSTIFICACIÓN**

A nivel mundial la guacamaya verde se enlista en el Apéndice 1 ante la Convención Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES). En México esta especie se enlista dentro de la NOM-059-SEMARNAT-2010. La disminución de sus poblaciones causada por el comercio ilegal, la pérdida del hábitat por el uso y cambio de suelo a zonas agrícolas ha puesto en peligro su permanencia en vida libre. Para mitigar este impacto en el caso de Sinaloa se creó la UMA “Nuestra Señora”, sin embargo, a pesar de que se encuentra en funcionamiento desde el año 2004, ésta UMA no ha cumplido con su objetivo final, la liberación de ejemplares al medio silvestre. En este sentido la viabilidad de un programa de liberación, dependerá de aspectos como el sexado y pruebas de paternidad para la asignación correcta de las parejas reproductoras, además de una evaluación del estado de endogamia por lo cual es necesario la realización de estas pruebas a fin de sentar las bases para un mejor manejo reproductivo que propicie la liberación de individuos que a la vez ayudará a incrementar las poblaciones de la region.

## **IV.-HIPÓTESIS**

Por el origen y tiempo en cautiverio existen altos niveles de endogamia en la población de guacamaya verde de la UMA “Nuestra Señora”

## V.-OBJETIVOS

### 5.1.- General

- Evaluar la proporción de sexos y endogamia de la guacamaya verde (*Ara militaris*) en la UMA “Nuestra Señora”.

### 5.2.- Específicos

- Determinar el sexo del total de ejemplares de guacamaya verde (*A. militaris*) pertenecientes a la UMA “Nuestra Señora”
- Asignar la paternidad de los individuos presentes en la UMA tomando como base las posibles parejas reproductoras actuales y su descendencia.
- Evaluar la endogamia en la población de guacamaya verde (*A. militaris*) pertenecientes a la UMA “Nuestra Señora”

## VI.- MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1.- Lugar de obtención de la muestra

#### 6.1.1.- Población en cautiverio

Las muestras se obtuvieron de los ejemplares de guacamaya verde que se encuentran en cautiverio dentro del aviario de la Reserva Ecológica del Mineral de Nuestra Señora de la Candelaria propiedad de la Universidad Autónoma de Sinaloa, la cual se encuentra a 12 km dirección sureste de la cabecera municipal de Cósala, Sinaloa en las coordenadas geográficas UTM zona 13 R 337044.15 mE y 2699565.25 mN. (Figura 10)



**Figura 12.** Ubicación de la UMA “Nuestra Señora”. Esta UMA se encuentra ubicada dentro del predio que comprende la Reserva Ecológica del Mineral de Nuestra Señora de la Candelaria.

### 6.1.2.- Población silvestre

La toma de muestras de la población silvestre se realizó en cuatro sitios conocidos del municipio de Cósala, la primer población silvestre que se encuentra dentro del predio que corresponde a la reserva con las coordenadas UTM 13R 336619 y 2699351, la segunda población se localiza en el poblado de San José de las Bocas en dirección norte de la cabecera municipal con las siguientes coordenadas UTM13R 329604 y 2710314, la tercera población que se localiza al oeste de la cabecera municipal en el poblado del Realito con las coordenadas UTM 13R 320529 y 2703687 y por último en el poblado de Comoa con las coordenadas UTM 13R 328182 y 2692073, cada punto se encuentra separado uno del otro por más de 10 kilómetros lineales (Figura 11).



**Figura 13. Mapa de los puntos de colecta de ejemplares silvestres.** Ubicación de colecta de plumas de la población silvestre de guacamaya verde

## 6.2.- Tipo de estudio

Cuantitativo, transversal y descriptivo

## 6.3.- Muestra

Colecta de 0.5 mL de sangre de guacamaya verde y plumas

### 6.3.1.- Tamaño de muestra

77 ejemplares de guacamaya verde (*A. militaris*), 27 del aviario reproductor y 34 de crías de los años 2015, 2016, 2017, 2019 y 2020 y 16 ejemplares de vida libre

### 6.3.2.- Tipo de muestreo

Muestreo no aleatorio o no probabilístico (intencional o de conveniencia)

### 6.3.3.- Criterios de inclusión

Todos aquellos ejemplares de guacamaya verde (*A. militaris*) pertenecientes a la población fundadora de la UMA “Nuestra Señora” y aquellas plumas encontradas en buen estado.

### 6.3.4.- Criterios de exclusión

Todos aquellos ejemplares de guacamaya verde (*A. militaris*) que no provengan de la población fundadora y aquellas plumas que se encuentren maltratadas.

## 6.4.- Metodología

### 6.4.1.- Toma de muestra de ejemplares en cautiverio

El manejo se realizó en el aviario de la UMA “Nuestra Señora”, los ejemplares se capturaron utilizando una red con tela de manta, esto para evitar dañar a los individuos, una vez capturados se inmovilizaron con la ayuda de una toalla gruesa para proteger tanto la integridad del ejemplar como el de la persona que la manipuló, posteriormente se procedió a colocarles un anillo en la pata derecha con una clave alfanumérica única para cada ejemplar (Figura 12). Para una mejor comprensión de los resultados el total de ejemplares de guacamaya verde se dividieron en 6 grupos: reproductores, crías del 2015, 2016, 2017, 2019 y 2020.



**Figura 14. Sistema de identificación de individuos.** Anillo alfanumérico en ejemplar de guacamaya verde de la UMA “Nuestra Señora.

Para la toma de muestra sanguínea se utilizó una jeringa (25 G. x 16 Mm), la cual se insertó en la vena yugular, se extrajo la cantidad de 0.5 ml de sangre, paso siguiente, se depositó en un tubo Microtainer que contiene anticoagulante EDTA, posteriormente se refrigeró para ser transportadas al laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Biología para su procesamiento (Figura 13).



**Figura 14. Extracción de muestra sanguínea.** Se extrajo una muestra sanguínea de cada ejemplar de guacamaya verde perteneciente a la UMA “Nuestra Señora”

#### 6.4.2.- Toma de muestra de ejemplares de vida libre

Una vez localizados los sitios en donde las poblaciones silvestres de guacamaya verde visitan con mayor frecuencia ya sean de anidación, alimentación o dormitorios se accedió a ellos en los cuales se realizó un recorrido a pie donde se buscaban plumas en el suelo que desprenden por motivo de la muda, se procuró que las plumas estuvieran 100 metros de distancia alejadas

una de otra, esto para evitar tomar dos o más plumas del mismo individuo, cuando se encontraba una se analizaba y verificaba que estuviera en buen estado al corroborar esto, con la ayuda de un atomizador se bañaban en alcohol etílico, esto para evitar que la muestra se contaminara con alguna bacteria u hongo que pudiera causar la pérdida del material genético (Figura 14), se guardaban individualmente en una bolsa hermética en la cual se registraban los datos del nombre, fecha, hora, lugar y coordenadas, posteriormente las muestras se congelaban para después ser transportadas al Laboratorio de Biología Molecular para su procesamiento.



**Figura 16. Toma de muestras de población silvestre.** Se verifico y proceso cada pluma tomada de individuos silvestres.

#### 6.4.3.- Extracción del ADN a partir de muestras de sangre

Se realizó con el Kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit de la casa comercial PROMEGA, USA, con las siguientes instrucciones: en un tubo Eppendorf se agregó 0.5 ml

de sangre al cual se adicionó 1.5 ml de solución de lisis celular, se mezcló por inversión y se dejó reposar 10 min a temperatura ambiente, pasado ese tiempo se centrifugó a 2,000xg por 10 min, posteriormente se agregó 0.5 ml de solución de lisis nuclear y se mezcló por inversión, después se añadió 165 µl de solución de precipitación de proteínas mezclando en un vórtex durante 20 s para posteriormente centrifugar a 2,000xg por 10 min, paso siguiente se transfirió el sobrenadante a otro tubo Eppendorf que contenía 0.5 ml de isopropanol, se centrifugó a 2,000xg por 10 min y se desechó el sobrenadante, se añadió 0.5 ml de etanol al 70% centrifugando nuevamente a 2,000xg por 10 min, se aspiró el etanol y se dejó reposando de 10 a 15 min, para finalizar se agregó 75 µl de solución de rehidratación de ADN y se dejó reposando toda la noche a una temperatura promedio de 4° C.

#### 6.4.4.- Extracción de ADN a partir de plumas

Se realizó utilizando el kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit de la casa comercial PROMEGA, USA, con las siguientes instrucciones: con la utilización de un bisturí se realizó un corte horizontal del cañón de la pluma de aproximadamente 2 cm posteriormente se hizo otro corte pero ahora vertical exponiendo todo el tejido conectivo que se encontraba dentro del cañón, con la ayuda del mismo bisturí se raspo este tejido desprendiéndolo de las paredes y se depositó en un tubo Eppendorf de 1.5 ml al cual se agregó 275 µl de mezcla maestra de solución de digestión la cual contiene: 200 µl de solución de lisis nuclear, 50 µl de EDTA, 20 µl de proteinasa K y 5 µl de solución de RNase, esta mezcla con el tejido se dejó en un bloque de calor de 16 a 18 h a una temperatura de 55° C, transcurridas el tiempo se agregó 250 µl de buffer de lisis y se mezcló en un vortex, el lisado se transfirió a un montaje de un tubo de 1.5 ml con una minicolumna, se centrifugó a 13,000xg por 3 min, se retiró la minicolumna y se desechó el líquido del tubo, se volvió a

colocar la minicolumna y se agregó 650 µl de solución de lavado de columnas, se centrifugó a 13.000xg durante 1 min, este paso se repitió al menos 4 veces, después del último lavado se desecha el líquido y se vuelve a centrifugar sin agregar solución de lavado de columnas para secar la matriz de unión, se transfirió la minicolumna a un nuevo tubo Eppendorf de 1.5 ml al cual se le agregó 250 µl de agua libre de nucleasa, se dejó incubar durante 2 min a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó todo el complejo de minicolumna/tubo a 13,000xg durante 1 min, en esta ocasión el líquido no se desechó, se agregó nuevamente 250 ml de agua libre de nucleasa y se centrifugo hasta que todo el líquido pasara de la minicolumna al tubo, para finalizar se retiró la minicolumna y el ADN extraído se almacenó.

#### 6.4.5.- Cuantificación de ADN

El ADN extraído de muestra sanguínea y de plumas se cuantificó mediante el uso de un espectrofotómetro para ácidos nucleicos (Nanodrop<sup>®</sup> Thermo, Wilmington, DE, EE. UU.) con la finalidad de valorar la concentración de ADN y la pureza de la extracción.

#### 6.4.6.- Sexado molecular de muestras sanguíneas y plumas

Se realizó la prueba de sexado molecular propuesta por Fridolfsson y Ellegren (1999) utilizando los primers 2550F (5'-GTTACTGATTCGTCTACGAGA-3') y 2718R (5'-ATTGAAATGATCCAGTGCTTG-3'). Para la reacción de PCR se utilizó el kit comercial GoTaq Green Master Mix de la casa comercial Preomega, USA, con las siguientes especificaciones: en un tubo Eppendorf se agregaron 6.25 µl de Mix PCR, 0.5 µl de Primer Mix, 50 ng (1 µl) de ADN y 4.75 µl de H<sub>2</sub>O para un volumen final de 12.5 µl. Posteriormente se colocaron las muestras en un termociclador T100 de la marca BioRad con las siguientes condiciones: 94°C por 4 min; 35 ciclos de 94°C por 40 s 52°C por 40 s, 72°C por 50 s, después del ciclo final se adicionó un paso a 72°C por 7 min. Los amplicones previamente

teñidos con colorante GelRed se analizó por electroforesis en un gel de agarosa al 1%, primero fueron corridos por 10 min a 60V después se subó el voltaje a 100V por 45 min. Para finalizar, las bandas se visualizaron en un transluminador de luz UV (High Performance UV Translluminator).

#### 6.4.7.- Estudio de paternidad

En cuando a la asignación de paternidad para este estudio se eligió el microsatelite UnaCT21, el cual se amplificó mediante el uso de los siguientes oligonucleótidos (Tabla 2):

Tabla 2: Descripción del primer para el estudio de paternidad.

| <b>Primers</b> | <b>Secuencias</b>                                   | <b>Referencias</b>                 |
|----------------|---|------------------------------------|
| UnaCT21        | F: CTTTCCCATACTTAGCCATA<br>R: AGACATTTC AAGACCGTGCC | (R. Caparroz <i>et al.</i> , 2003) |

El primer se marcó con un colorante fluorescente universal CAG FAM (azul) para su visualización. La amplificación por PCR se llevó a cabo con una reacción final de 10 µ que contenía buffer 10X (1 µl), MgCl<sub>2</sub> (0.15), BSA (0.25 µl), dNTPs (0.15 µl), CAG FAM (0.25 µl), UnaCT21 F (0.03 µl), UnaCT21 R (0.3 µl), Amplificasa (0.2 µl), H<sub>2</sub>O (6.17 µl) y ADN (1.5 µl). La amplificación se realizó en el laboratorio de genética de la conservación en el Instituto de biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en un termociclador eppendorf vapo.protect ® bajo las siguientes condiciones: activación inicial a 95°C por 15 min, desnaturalización a 94°C por 30 s, alineamiento a 58°C por 90 s, extensión a 72°C por 90 s en 35 ciclos y una extensión final a 72°C por 15 min. Los amplicones previamente teñidos con colorante GelRed se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2% durante 60 min a 100 V. Para finalizar, las bandas se visualizaron en un

transluminador de luz UV (High Performance UV Translluminator). Una vez obtenida la visualización óptima de los productos de PCR en el gel de agarosa se enviaron al laboratorio de secuenciación de la biodiversidad y la salud del Instituto de Biología de la UNAM en el cual se realizó una electroforesis capilar con un secuenciador Life technology 3500x1 (24 capilares). Los electroferogramas resultantes de la electroforesis capilar se analizaron mediante el software GeneMarker (V2.6.3) con el que se obtuvieron los rangos de alelos y a partir de ellos se creó una matriz de datos. Con estos resultados se utilizó el programa CERVUS el cual asigna las relaciones de paternidad mediante dos formas: el método de exclusión y el uso de ecuaciones de máxima verosimilitud (Kalinowski *et al.*, 2007; Marshall *et al.*, 1998), el cual asigna las paternidades de los individuos en diversas modalidades: puede asignar 1) la pareja de padres, 2) la maternidad (con o sin padres conocidos) y 3) la paternidad (con o sin madres conocidas), si a esto añades el sexo de los ejemplares los resultados son aún más confiables puesto que el programa evita asignar padres del mismo sexo. El primer método que realiza este programa para la asignación de padres es el de exclusión que consiste en la comparación de los genotipos de los hijos contra los supuestos padres, estos son excluidos si uno o más loci no corresponden. El segundo método distingue estadísticamente posibles candidatos a padres mediante el logaritmo natural de proporción de la máxima verosimilitud (LOD score) los valores más altos de este método indican que el candidato pueda ser el verdadero padre.

Para la evaluación del nivel de endogamia se utilizó el estadístico  $F_{IS}$  propuesto por Wright (1922) con la ayuda del software GENALEX v.6.5. Si el coeficiente de endogamia resultante es  $F_{IS} > 0$  significa que hay un exceso de homocigotos, por el contrario, si resulta  $F_{IS} < 0$  existe un exceso de heterocigotos.

#### 6.5.- Lugar de realización

La extracción de ADN a partir de muestras sanguíneas y de plumas, así como el sexado del total de ejemplares se realizó en los laboratorios del Cuerpo Académico “Vida Silvestre y Biología Molecular” pertenecientes a la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Sinaloa. La amplificación y secuenciación se realizaron en el laboratorio de Genética de la Conservación del Instituto de Biología de la UNAM y en el laboratorio de Secuenciación de la Biodiversidad y la Salud de la misma institución.

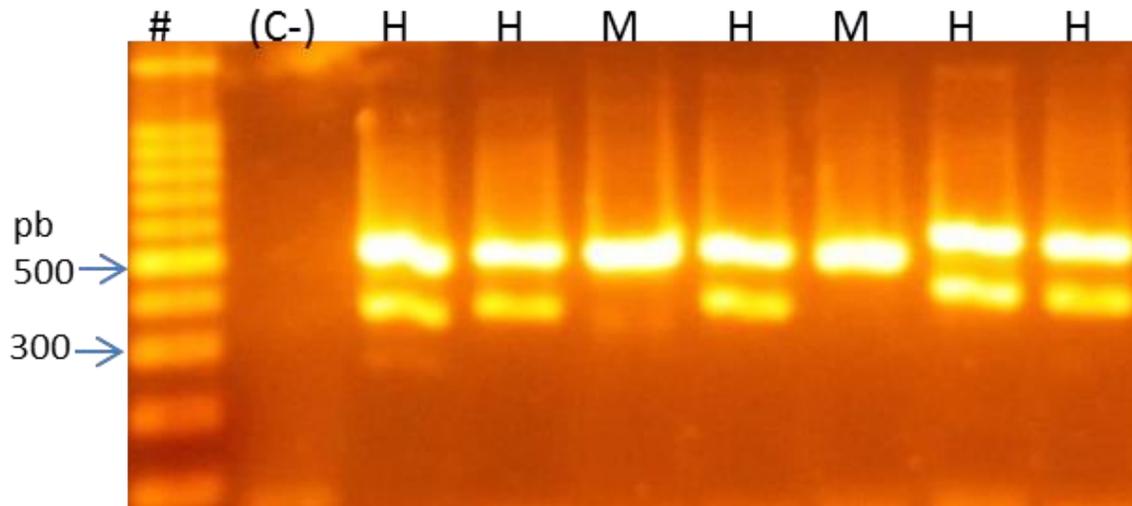
#### 6.6.- Financiamiento

Recursos de la Reserva Ecológica del Mineral de Nuestra Señora de la Candelaria

## VII.- RESULTADOS

### 7.1.- Sexado de ejemplares en cautiverio

Al realizar el sexado de las 61 guacamayas verdes en cautiverio se obtuvieron los productos amplificados esperados, observándose dos bandas con tamaño de 350 y 500 pb en el caso de las hembras y una banda de 500 pb para los machos (Figura 15).



**Figura 17. Sexado de ejemplares mediante amplificación por PCR.** En donde: #: corresponde al marcador de peso molecular DNA Lader de 100pb, (C-): control negativo, H: se corresponden a ejemplares hembras y los marcados con M corresponden a ejemplares machos.

Al analizar la relación de sexos en el grupo de los reproductores se observó que es muy heterogénea con mayor cantidad de individuos hembras (20) que de ejemplares machos (7) (Tabla 3).

Por el contrario, la proporción de machos y hembras en los cinco grupos de crías en comparación con el grupo de reproductores fue más homogénea, en el caso del grupo de crías nacidas en el año 2015 fue de 2 machos y 4 hembras, crías nacidas en el 2016 el número es de 5 machos y 4 hembras, en cuanto a las crías nacidas en el 2017 su proporción es de 5

machos y 3 hembras, para el 2019 fueron 3 machos y 1 hembra y el 2020 se conformó por 3 machos y 4 hembras (Tabla 3).

Tabla 3: Relación del número de machos y hembras de guacamaya verde (*A. militaris*) pertenecientes a la UMA “Nuestra Señora”

| <b>GRUPO</b>  | <b>No.# de individuos</b> | <b>Hembras</b> | <b>Machos</b> |
|---------------|---------------------------|----------------|---------------|
| Reproductores | 27                        | 20             | 7             |
| Crías 2015    | 6                         | 4              | 2             |
| Crías 2016    | 9                         | 4              | 5             |
| Crías 2017    | 8                         | 3              | 5             |
| Crías 2019    | 4                         | 1              | 3             |
| Crías 2020    | 7                         | 4              | 3             |

La relación hembra:macho del grupo de reproductores (27 individuos) presenta una relación de 2.8:1. Mientras que el total de los cinco grupos de crías (34 individuos) presenta una relación de 1:1.1 de los cuales 18 son machos y 16 hembras (Tabla 4).

Tabla 4: Comparación entre la proporción entre hembras y machos del grupo de los reproductores y el total de crías

| <b>Grupo</b>  | <b>Hembras</b> | <b>Machos</b> | <b>Relación</b> |
|---------------|----------------|---------------|-----------------|
| Reproductores | 20             | 7             | 2.8:1           |
| Crías         | 16             | 18            | 1:1.1           |

#### 7.2.- Cambio en la relación hembra:macho con el reclutamiento de crías

En la población fundadora (grupo de reproductores) tenemos una relación de 3:1, sin embargo, al incorporar gradualmente las crías nacidas por año que corresponde a cada temporada se observa que con respecto a la población fundadora ahora con el total de

individuos la relación es de prácticamente 1:1 la cual se fue ajustando gradualmente (Tabla 5).

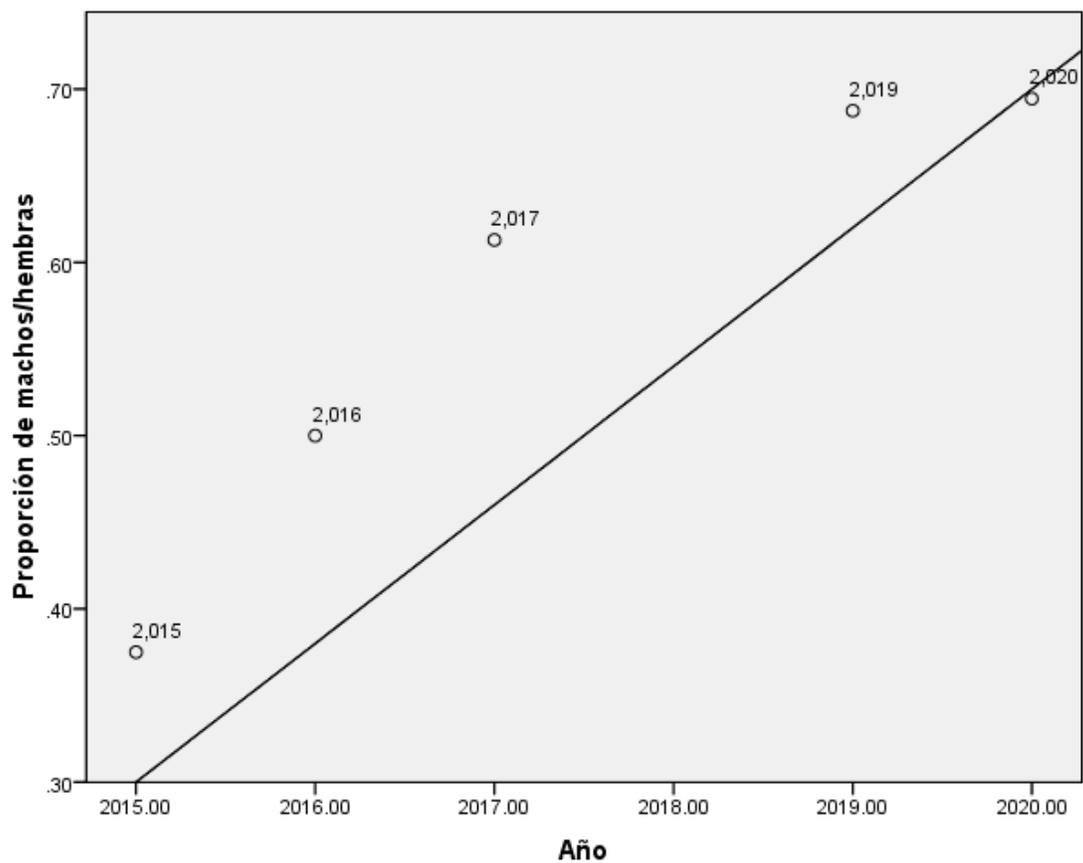
Tabla 5: Ajuste en la relación Hemabra:Macho de guacamaya verde con el reclutamiento de las crías nacidas en las temporadas 2015, 2016, 2017, 2019 y 2020 en la UMA “Nuestra Señora”

| <b>Grupos</b>         | <b>Hembras</b> | <b>Machos</b> | <b>Relación</b> |
|-----------------------|----------------|---------------|-----------------|
| <b>Grupo fundador</b> | 20             | 7             | 2.8:1           |
| <b>Crías 2015</b>     | 24             | 9             | 2.6:1           |
| <b>Crías 2016</b>     | 28             | 14            | 2:1             |
| <b>Crías 2017</b>     | 31             | 19            | 1.6:1           |
| <b>Crías 2019</b>     | 32             | 22            | 1.4:1           |
| <b>Crías 2020</b>     | 36             | 25            | 1.4:1           |

Sin embargo, al aplicar una prueba estadística de  $\chi^2$  para el acumulado de machos y hembras de cada grupo en el caso de las crías del 2015 se obtuvo un valor de  $\chi^2=3.14$  en el cual no hay desviación, para el grupo de las crías del 2016 el valor fue de  $\chi^2=4.66$  en el cual si hay desviación, en cuanto a las crías del 2017 se obtuvo un valor de  $\chi^2=2.88$ , para las crías del 2019 una  $\chi^2=1.84$  y para las crías del 2020 un valor de  $\chi^2=1.84$  en estos últimos tres caso tampoco se encontró desviación. Al someter el total de machos y hembras de los 5 grupos de crías a esta prueba obtuvimos un valor de  $\chi^2=.116$  donde tampoco podemos observar desviación.

Se realizó una correlación de Pearson ( $p<0.05$ ) para comprobar si la tendencia al equilibrio que se observa en la proporción de machos y hembras era significativa, encontrando un valor

positivo (.986) lo cual rechaza la hipótesis de que existe una tendencia al equilibrio ya que el total de nacimiento de machos (18) es proporcional al total de nacimiento de hembras (16) (Gráfica 3).



**Figura 18:** Proporción acumulada de machos/hembras de los cinco años de crías de la UMA "Nuestra Señora"

### 7.3.- Sexado de individuos de vida libre

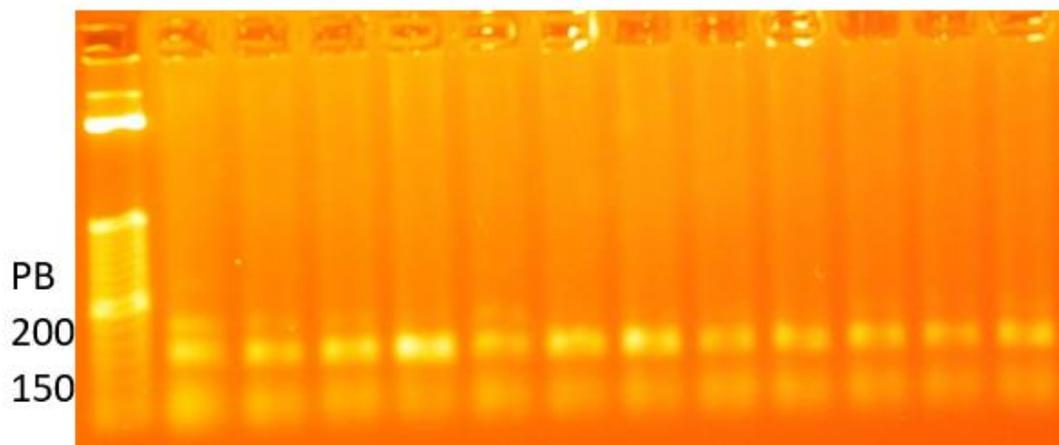
En cuanto al sexado de 16 individuos de vida libre 9 fueron hembras y 7 machos, una proporción de 1:1.2 (tabla 6).

Tabla 6: Relación del número de machos y hembras de la población de vida libre

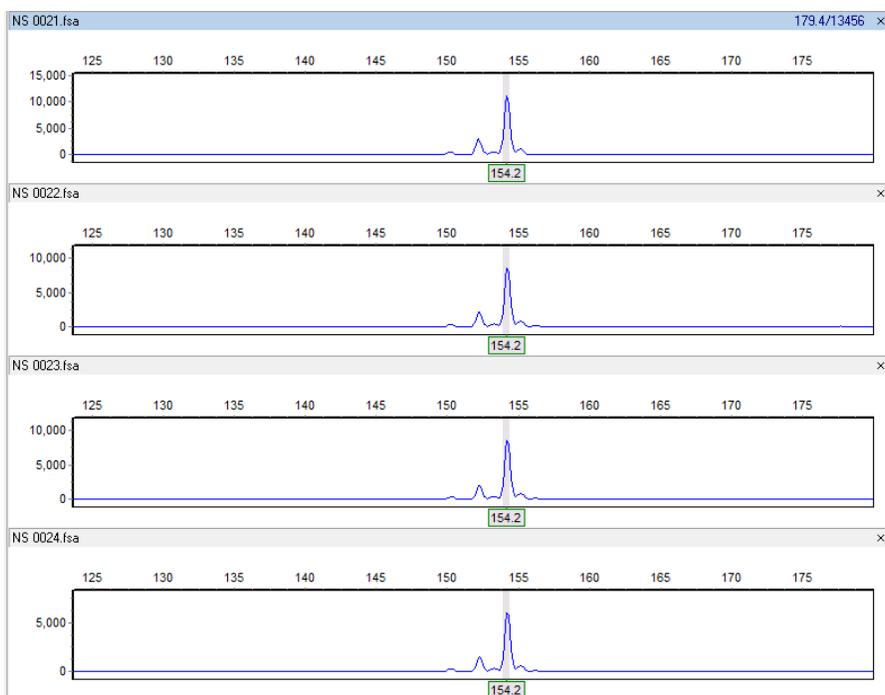
| Grupo                    | No.# de individuos | Hembras | Machos | Relación |
|--------------------------|--------------------|---------|--------|----------|
| Individuos de vida libre | 16                 | 9       | 7      | 1:1.2    |

### 7.4.- Amplificación de microsatélites

Se logró la amplificación del microsatélite (UnaCT 21) el cual presentó 4 alelos, el tamaño de los fragmentos fue de 152, 154, 163 y 170 pb (Figura 16). Estos fragmentos se visualizaron de forma individual con la ayuda del software GeneMarker HID (Figura 17) y se creó una matriz de datos para cada individuo (Anexo 1).



**Figura 19.- Visualización en electroforesis del producto de PCR para el microsatélite UnaCT21.** En el cual podemos observar fragmentos en un tamaño entre 150 y 200 pb.



**Figura 20.- Electroferograma del microsatélite UnaCT21.** Visualizando el alelo homocigoto que corresponde a un tamaño de 154 pb.

### 7.5.- Resultados de paternidad

Para el caso del padre reproductor el software CERVUS arrojó un posible candidato, el individuo marcado con el anillo NS 14, esto fue posible ya que este ejemplar fue el único de los 7 machos que están en el grupo reproductor que presentó un alelo heterocigoto para UnaCT21 (152-154) y su probable descendencia son las crías NS 31 (ejemplar macho nacido en el año 2015), NS 46 y NS 49 (ambos ejemplares hembras nacidas en el año 2016) y UAS 7 (ejemplar macho nacido en el año 2017), estos datos coinciden con los registros y datos de observación a lo largo de 4 años de trabajo (Tabla 7).

Tabla 7.- Posible macho reproductor y su descendencia, sexo y año de nacimiento

| <b>Posible Macho Reproductor</b> | <b>Descendencia</b> | <b>Sexo</b> | <b>Año de nacimiento</b> |
|----------------------------------|---------------------|-------------|--------------------------|
| NS 14                            | NS 31               | Macho       | 2015                     |
|                                  | NS 46               | Hembra      | 2016                     |
|                                  | NS 49               | Hembra      | 2016                     |
|                                  | UAS 7               | Macho       | 2017                     |

#### 7.6.- Endogamia

Como se mencionó anteriormente, el bajo número de individuos heterocigotos (1) y de alelos (4) impactan en los resultados para la heterocigocidad observada y esperada, los cuales son relativamente bajos comparados con estudios realizados en guacamaya verde (*A. militaris*) y utilizando UnaCT21 (Cortés, 2017; Rivera *et al.*, 2017) sin embargo el número de alelos y el tamaño del fragmento coinciden con dichos estudios (Tabla 8). Otro de los factores que afecta la baja variabilidad genética es la frecuencia con que los alelos se presentan en la población, ya que el alelo 154 se presenta en el 91.3% de la población, el alelo 152 en el 6% y los alelos 163 y 170 en el 1.3% (anexo). Aunado a esto, un alto valor positivo obtenido por el coeficiente de endogamia ( $F_{IS} = 0.943$ ) indican un exceso de individuos homocigotos por lo tanto un alto nivel de endogamia.

Tabla 8.- Tabla de evaluación de la endogamia donde N= tamaño de la muestra, K= número de alelos, Ho= heterocigocidad observada, He= heterocigocidad esperada, PIC= índice de contenido polimórfico, F(Null)= alelos nulos y  $F_{IS}$ = Coeficiente de endogamia.

| <b>Locus</b> | <b>N</b> | <b>K</b> | <b>Tamaño del fragmento(pb)</b> | <b>Ho</b> | <b>He</b> | <b>PIC</b> | <b>F(Null)</b> | <b><math>F_{IS}</math></b> |
|--------------|----------|----------|---------------------------------|-----------|-----------|------------|----------------|----------------------------|
| UnaCT21      | 75       | 4        | 152-170                         | 0.013     | 0.163     | 0.155      | 0.766          | 0.943                      |

## VIII.- DISCUSIÓN

### 8.1.- Sexado del total de ejemplares

El grupo de reproductores presenta una relación muy heterogénea (3:1) el cual se conforma de 20 hembras y 7 machos. Un estudio similar realizado por Cáceres y Williams de Castro (2006) en el cual describieron la proporción sexual de 39 ejemplares silvestres del guacamayo cabeziazul (*Primolius couloni*) provenientes de un decomiso en Perú, encontrando datos similares en cuanto a una relación heterogénea (9:1) del grupo decomisado, sin embargo obtuvo un mayor número de machos (35) y una menor cantidad de hembras (4), este autor propone 3 hipótesis para explicar sus resultados: La primera hipótesis postula que en vida silvestre la población de hembras es mucho menor que la de machos, esto contrasta los datos encontrados en este estudio donde se realizó el sexado de ejemplares de vida silvestre obteniendo un grupo más homogéneo con 5 hembras y 6 machos lo que indica una proporción saludable ya que la guacamaya verde (*A. militaris*) al igual que otras especies pertenecientes a la misma familia poseen una conducta reproductiva monógama (Monterrubio y Carreón, 2005) por lo tanto lo esperado en vida libre es una relación de 1:1. La segunda hipótesis plantea que el método de captura provoca que sean más machos los atrapados, esto tiene sentido si se toma en cuenta la temporada reproductiva, una vez que la hembra puso los huevos es el macho el que sale a conseguir el alimento mientras que la hembra se queda al cuidado de estos, sin embargo esto solo ocurre en un periodo de entre 30 a 40 días aproximadamente ya que en cuanto nace el polluelo ambos padres salen en busca del alimento. La tercera hipótesis postula que son capturados similar cantidad de hembras y machos, pero las hembras mueren durante la manipulación y transporte producto del estrés y enfermedades, no obstante diversos estudios realizados con especies pertenecientes a la

misma familia y de ejemplares tanto de vida silvestre como en cautiverio han demostrado que no existen diferencias en cuanto al sexo del individuo al inducirles eventos estresantes (de Almeida *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2016; Fujihara *et al.*, 2014; Romero y Remage-Healey, 2000; Vidal *et al.*, 2019).

Con base a toda la evidencia anterior y conocimiento de la formación de la UMA “Nuestra Señora” podemos deducir que la alta diferencia existente en cuanto a la relación de hembras y machos (3:1) del grupo fundador obedece al tiempo, temporalidad y comportamiento propio de la especie.

Por otro parte, para el grupo conformado por las crías de los años 2015, 2016, 2017, 2019 y 2020 se tiene una relación más homogénea (1:1.1) con un total de 18 machos y 16 hembras, datos similares a los reportado por Caparroz *et al.* (2001) en los cuales analizó la relación entre las crías silvestres de machos y hembras de dos especies de guacamaya en Brasil, 9 ejemplares de guacamayo azul y amarillo (*Ara ararauna*) y 16 ejemplares de guacamayo aliverde (*Ara chloropterus*) encontrando en ambos casos un relación de 1:1 lo cual indica que las parejas reproductoras del grupo fundador de la UMA “Nuestra Señora” están presentando una tendencia hacia una relación homogénea de crías, semejante a lo que ocurre en vida silvestre con proporción esperada de 1:1

Al analizar el número de machos y hembras en cautiverio del grupo reproductor (27) se observa que por cada macho (7) corresponden tres hembras (20) una relación 1:3, sin embargo, por su historia de vida sabemos que cada macho elegirá a una hembra para formar una pareja y reproducirse ya que esta especie al pertenecer al grupo de los psitaciformes es socialmente monógama (J. M. Forshaw y Cooper, 1973), por lo tanto existen, en teoría, 7

parejas reproductivas (7 machos y 7 hembras) teniendo un excedente de 13 hembras en este grupo. Al separar a todos los ejemplares de la UMA “Nuestra Señora” en grupos la relación de hembras y machos al inicio (grupo reproductor), como lo mencionamos anteriormente es de 3:1, pero al agregar el total de las crías nacidas de este mismo grupo esta relación cambio a 1.4:1, al observar esta relación más homogénea se sometieron los resultados a una prueba estadística para comprobar si estaba ocurriendo un ajuste en la proporción del sexo ya que como sugieren Trivers y Willard (1973) los padres deberían de ajustar el sexo de su descendencia en respuesta a las condiciones ambientales y con el metanálisis realizado por Oddie (1998) en el cual encontró pruebas contundentes donde las hembras en las aves tienen la capacidad de reconocer el sexo de la descendencia antes de la puesta del huevo el total de crías nacidas y el grupo de los reproductores de la UMA “Nuestra Señora” fueron un escenario idóneo para comprobar si estas hipótesis podrían cumplirse en condiciones de cautiverio con ejemplares extraídos de vida silvestre. Sin embargo, los resultados obtenidos rechazan que al menos en estas condiciones (cautiverio) los padres no han ajustado la proporción de hembras y machos, basándonos en el manejo que se les aplica a los ejemplares en el cual se les proporciona una dieta que cubre con sus necesidades nutricionales, cuentan con un amplio aviario para volar, en donde hay especies arbóreas para la percha, sombrea y muerden. Las instalaciones se encuentran en medio de la sierra madre occidental ayudando a disminuir el estrés, por ello los padres no tienen la necesidad de elevar el esfuerzo de sacar más machos si el costo será mayor y el beneficio menor, como lo sugiere West y Sheldon (2002) donde el ajuste en la proporción de sexos solo será facultativo si el beneficio será mayor que su costo.

En cuanto a la población silvestre se sexaron 16 ejemplares de los cuales 9 son hembras y 7 machos, encontrando una relación de 1:1.2, datos similares encontrados por Miyan *et al.*, (1995; 1998) y Caparroz *et al.*, (2001) en poblaciones silvestres reportando un relación 1:1, lo que indica que en cuanto a proporción sexual la población silvestre de Cósala se encuentra en equilibrio.

#### 8.2.- Asignación de posibles candidatos a padres

Al realizar el sexado del grupo de los reproductores y encontrar que de los 27 ejemplares solamente 7 son machos se redujo el margen para la asignación de los candidatos a padres, aunado a esto, uno de esos machos (ejemplar NS 14) fue el único que presentó heterocigocidad (alelos 152-154) para el microsatelite amplificado (UnaCT21) asignándole la paternidad de las crías: NS 31, NS 46, NS 49 Y UAS 7, las cuales heredaron el alelo 152 y como ninguna de las posibles madres presenta este alelo es muy probable que lo haya heredado del padre, sumando estos datos a los registros de la UMA “Nuestra Señora” se tiene que el ejemplar NS 14 pudiera ser viable como padre de la descendencia mencionada puesto que la cría NS 31 (macho) nace en el año 2015, las crías NS 46 y NS 49 (ambas hembras) nacen en el año 2016 y la cría UAS 7 (macho) nace en el año 2017, y se corresponden al ciclo reproductivo de la especie (Carreón, 1997). Para el caso de las crías NS 46 y NS 49 ambas nacidas el mismo año (2016) y del mismo padre, y por lo tanto se asume que de la misma madre gracias a su comportamiento monógamo, probablemente sean hermanas ya que ambas son hembras lo cual se asemeja a los resultados encontrados por Heinsohn *et al.*, (1997) los cuales analizaron la proporción sexual de 209 pollos del loro de eclectus (*Eclectus roratus*) encontrando que cuando dos crías empluman juntas en la misma nidada es muy probable que ambas sean del mismo sexo, escenario similar que se registró más tarde (2020) en el grupo

reproductor de la UMA “Nuestra Señora” en el cual las crías con el anillo UAS 19, UAS 20 y UAS 21 que pertenecían al mismo nido al sexarlas las tres resultaron hembras, sin embargo no se pudo comprobar una relación genética con ninguno de los posibles padres reproductores.

En un análisis realizado por Witzemberger y Hochkirch (2011) de la conservación genética *ex situ*, revisaron los estudios moleculares sobre las consecuencias genéticas de los programas de cría en cautiverio para especies animales en peligro de extinción y recomiendan que el número mínimo del grupo fundador debe ser de 15 ejemplares, la UMA “Nuestra Señora” comenzó con un grupo fundador 27 ejemplares pero el análisis del sexado molecular demostró un desequilibrio entre machos y hembras por lo tanto el tamaño efectivo del grupo fundador es de al menos 13 individuos que está por debajo de lo que recomiendan los autores ya mencionados, esto podría tener graves repercusiones en la variabilidad genética de la descendencia.

### 8.3.- Evaluación de la endogamia

La baja variabilidad genética y el alto índice de endogamia reportados es producto del número reducido de parejas reproductoras encontradas mediante el sexado molecular (7) así como también, por el uso de un solo microsatélite para su evaluación obteniendo valores muy bajos para la heterocigocidad esperada (0.163) y observada (0.013), sin embargo, se obtuvieron el mismo número de alelos (4) en estudios realizados por Cortés (2017) y S. González (2008) para la misma especie. Por otro lado, un estudio realizado por Rivera *et al.*, (2017) en el cual analizó la diversidad y estructura genética en múltiples poblaciones de guacamaya verde (*A. militaris*) en toda su distribución dentro del territorio nacional encontrando un total de 29 alelos para el microsatélite UnaCT21. En este mismo estudio

analizó la diversidad genética de un grupo de guacamayas que nombró Nuestra Señora del Mineral, Sinaloa. En el cual reporta un valor positivo para el coeficiente de endogamia ( $F_{IS}=0.15$ ) resultados similares a los reportados en este estudio ( $F_{IS}=0.943$ ), sin embargo, se desconoce si el grupo estudiado fue de los individuos que conforma la UMA “Nuestra Señora” o de ejemplares de vida libre, en ambos casos estos altos niveles de consanguinidad representan un reto para la conservación de esta especie y aún más para la población de ejemplares de la UMA ya que con ella se pretende realizar liberaciones que aumenten las poblaciones silvestres.

## **IX.- CONCLUSIONES**

El grupo reproductor se conformó de 7 machos y 20 hembras una proporción de 1:3, en cuanto al total de crías estas se conformaron de 18 machos y 16 hembras una relación prácticamente 1:1, el grupo silvestre está conformado de 7 machos y 9 hembras de igual forma una relación prácticamente 1:1.

El resultado del sexado, comportamientos reproductivos de la especie, los registros de la UMA “Nuestra Señora” y la amplificación de un microsatelite proponen al ejemplar marcado con el anillo NS 14 como un posible candidato a padre de las crías NS 31, NS 46, NS 49 y UAS 7.

Se reportan altos niveles de endogamia para el grupo de guacamayas verde de la UMA “Nuestra Señora”.

## **X.- PERSPECTIVAS**

Se recomienda continuar con el marcaje de anillos siguiendo con las combinaciones alfanuméricas para las futuras crías, así como también con el sexado molecular de estas mismas una vez que hayan emplumado y alcancen un peso mayor a los 500 gramos para no comprometer la salud del ejemplar.

De igual forma se recomienda la amplificación de al menos otros cuatro microsatélites, sobre todo aquellos que son más polimórficos para la especie, esto con la finalidad de obtener datos más robustos sobre el nivel de endogamia que presenta esta población, así como también crear un genotipo para cada individuo perteneciente a la UMA “Nuestra Señora” lo cual permitirá la correcta asignación de las parejas reproductoras y una evaluación más profunda del bagaje genético que presentan.

Todo lo anterior sentará las bases para un correcto manejo de la población de guacamaya verde y las propuestas para la liberación de algunos ejemplares ya que la UMA que se localiza dentro de la Reserva Ecológica cuenta con las condiciones óptimas para alcanzar un proyecto de conservación de tal magnitud.

## XI.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaide, M., Serrano, D., Negro, J., Tella, J., Laaksonen, T., Muller, C., . . . Korpimaki, E. (2009). Population fragmentation leads to isolation by distance but not genetic impoverishment in the philopatric Lesser Kestrel: a comparison with the widespread and sympatric Eurasian Kestrel. *Heredity (Edinb)*, 102(2), 190-198. doi: 10.1038/hdy.2008.107
- Álvarez del Toro, M. (1980). Las aves de Chiapas.
- Allendorf, F., & Leary, R. (1988). Conservation and distribution of genetic variation in a polytypic species, the cutthroat trout. *Conservation Biology*, 2(2), 170-184.
- Aranguren, J., Román, R., Isea, W., Villasmil, Y., & Jordana, J. (2005). Los microsatélites (STR´ s), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión (Microsatellites (STR´s), ADN Molecular Markers for Excellency for conservation programs: A review).
- Berkunsky, I., Quillfeldt, P., Brightsmith, J., Abbud, C., Ruiz, J., Alemán, U., . . . Masello, J. (2017). *Current threats faced by Neotropical parrot populations* (Vol. 214).
- Bermudez, L., Garcia, A., Leal, C., Riojas, V., Jaramillo, G., & Montes, R. (2002). Molecular sexing of monomorphic endangered Ara birds. *Journal of Experimental Zoology*, 292(7), 677-680. doi: 10.1002/jez.10070
- Binford, L. (1989). *A distributional survey of the birds of the Mexican state of Oaxaca*.
- BirdLifeInternational. (2019). Species factsheet: Ara militaris. Downloaded from <http://www.birdlife.org> consulta 25/01/2019. .
- Bonilla, C., Reyes, G., & Garcia, R. (2007). Observations of the military macaw (Ara militaris) in northern Oaxaca, Mexico. *Wilson Journal of Ornithology*, 119(4), 729-732. doi: 10.1676/06-116.1
- Bouman, J. (1977). The future of Przewalski horses *Equus przewalskii* [Plate 10] in captivity. *International zoo yearbook*, 17(1), 62-68.
- Cáceres, A., & Williams de Castro, M. (2006). Porcentaje de hembras del Guacamayo Cabeciazul *Primolius couloni* (Sclater, 1876) mantenidos en cautiverio en cuatro centros de manejo de fauna silvestre en el Perú. *Ecología Aplicada*, 5, 137-140.
- Camacho, N. (2009). Determinación de sexo en aves mediante herramientas moleculares. *Acta Biológica Colombiana*, 14(1), 25-38.
- Cantú, J., Sánchez, M., Grosselet, M., & Silva, J. (2007). Tráfico ilegal de pericos en México, una evaluación detallada. *Washington DC: Defenders of Wildlife*.
- Cantú, J., Sánchez, M., Grosselete, M., & Silva, J. (2015). Tráfico ilegal de pericos en México. Una evaluación detallada. *Defenders of Wildlife*. México.
- Caparroz, R., Guedes, N. M. R., Bianchi, C. A., & Wajntal, A. (2001). Analysis of the genetic variability and breeding behaviour of wild populations of two macaw species (Psittaciformes: Aves) by DNA fingerprinting. *Ararajuba*, 9(1), 42-49p.
- Caparroz, R., Miyaki, C., & Baker, A. (2003). *Characterization of microsatellite loci in the Blue-and-Gold Macaw, Ara ararauna (Psittaciformes: Aves)* (Vol. 3).
- Carreón, A. (1997). Estimación poblacional, biología reproductiva y ecología de la nidificación de la guacamaya verde (Ara militaris) en una selva estacional del oeste del estado de Jalisco. *Bachelor of Science Thesis*). México DF, México: Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

- Cavallo, D., De Vita, R., Eleuteri, P., Belterman, R., & Dell'Omo, G. (1997). Sex identification in the Egyptian vulture by flow cytometry and cytogenetics. *The Condor*, 99(3), 829-832.
- Cerit, H., & Avanus, K. (2007). Sex identification in avian species using DNA typing methods. *World's Poultry Science Journal*, 63(1), 91-100.
- Collar, N. (1997). Family psittacidae (parrots). *Sandgrouse to Cuckoos*, 280-477.
- Cornejo, R., Serrato, D., Rendón, A., & Rocha, M. (2014). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. *SEMARNAT, INECC, UAM-I*, 256.
- Cortés, D. (2017). *Genotipificación de guacamayas verdes (Ara militaris) en cautiverio*.
- de Almeida, A. C., Palme, R., & Moreira, N. (2018). How environmental enrichment affects behavioral and glucocorticoid responses in captive blue-and-yellow macaws (*Ara ararauna*). *Applied Animal Behaviour Science*, 201, 125-135. doi: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.12.019>
- De la Parra, S., De Labra, M., & Renton, K. Requerimientos ecológicos en las aves: un enfoque en psitácidos.
- DOF. (2008). Artículo adicionado DOF 14-10-2008. En: Ley General de Vida Silvestre, Ley Pub. Núm. X Estatuto (Julio, 3, 2000). México.
- Dubiec, A., & Zagalska, M. (2006). Molecular techniques for sex identification in birds. *Biological Letters*, 43(1), 3.12.
- Escalante, P., Navarro, A., & Peterson, A. (1993). A geographic, ecological and historical analysis of land bird diversity in Mexico. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. Oxford University Press, New York, 281-307.
- Ferreira, J. C. P., Fujihara, C. J., Fruhvald, E., Trevisol, E., Destro, F. C., Teixeira, C. R., . . . Palme, R. (2016). Non-Invasive Measurement of Adrenocortical Activity in Blue-Fronted Parrots (*Amazona aestiva*, Linnaeus, 1758). *Plos One*, 10(12), e0145909. doi: 10.1371/journal.pone.0145909
- Forshaw, J., & Cooper, W. (1989). *Parrots of the world*: Blandford London.
- Forshaw, J. M., & Cooper, W. T. (1973). *Parrots of the world*.
- Frankham, R., Briscoe, D., & Ballou, J. (2002). *Introduction to conservation genetics*: Cambridge university press.
- Fridolfsson, A., & Ellegren, H. (1999). A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of avian biology*, 116-121.
- Fujihara, C. J., Marques Filho, W. C., Monteiro, A. L. R., Bittencourt, R. F., Queiroz, C. M., Pereira, R. J. G., & Ferreira, J. C. P. (2014). Dosagem de metabólitos de glucocorticoides e progesterona em fezes de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*). *Ciência Animal Brasileira*, 15, 277-288.
- Gallina, S., Hernández, A., Delfín, C., & González, A. (2009). Unidades para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de la vida silvestre en México (UMA). Retos para su correcto funcionamiento. *Investigación ambiental Ciencia y política pública* 1(2).
- Gomez, J., & Sanvicente, L. (2004). *Ecología reproductiva y abundancia relativa de la guacamaya verde (Aramilitaris) en Jojotlan Jalisco, Mexico*.
- González, E. (2003). Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Graellsia*, 59(2-3), 377-388.

- González, S. (2008). *Conservación de la guacamaya verde (Ara militaris) : análisis genéticos*.
- Griffiths, R. (2000). *Sex identification in birds*. Paper presented at the Seminars in avian and exotic pet medicine.
- Griffiths, R., Double, M., Orr, K., & Dawson, R. (1998). A DNA test to sex most birds. *Molecular ecology*, 7(8), 1071-1075.
- Haig, S. (1998). Molecular contributions to conservation. *Ecology*, 79(2), 413-425.
- Hancock, J. (1999). Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. *Microsatellites: Evolution and applications*.
- Heinsohn, R., Legge, S., & Barry, S. (1997). Extreme bias in sex allocation in Eclectus parrots. *Proceedings of the Royal Society B*, 264. doi: 10.1098/rspb.1997.0183
- Hernández, D., Pulido, M., Zuria, I., Gallina, S., & Sánchez, G. (2018). El manejo como herramienta para la conservación y aprovechamiento de la fauna silvestre: acceso a la sustentabilidad en México. *Acta Universitaria*, 28 (Online First), 1-11. doi: 10.15174/au.2018.2171
- Howell, S., & Webb, S. (1995). *A guide to the birds of Mexico and northern Central America*: Oxford University Press.
- Iñigo, E. (2000). Estado de conservación de las Guacamayas verde (*Ara militaris*) y escarlata (*Ara macao*) en México. *Audubon Latin Americana*, 3, 1-3.
- IUCN. (2001). IUCN red list categories and criteria: version 3.1. *Prepared by the IUCN Species Survival Commission*.
- IUCN. (2013). Documentation standards and consistency checks for IUCN red list assessments and species accounts. Version 2: Adopted by the IUCN Red List Committee and IUCN SSC Steering Committee.
- Juárez, M., Marateo, G., Grilli, P., Pagano, L., Rumi, M., & Croome, M. (2012). *Estado del conocimiento y nuevos aportes sobre la historia natural del guacamayo verde (Ara militaris)*. Revista de Ornitología Neotropical; Aves Argentinas.
- Kahn, N., St. John, J., & Quinn, T. (1998). Chromosome-specific intron size differences in the avian CHD gene provide an efficient method for sex identification in birds. *The Auk*, 1074-1078.
- Kalinowski, S., Taper, M., & Marshall, T. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular ecology*, 16(5), 1099-1106.
- Kirk, R. (1994). *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*.
- Kristosch, G., & Marcondes, L. (2001). Diet and feeding behavior of the Reddish-bellied Parakeet (*Pyrrhura frontalis*) in an Araucaria forest in southeastern Brazil. *Ornitologia Neotropical*, 12, 215-223.
- Lack, D. (1968). Ecological adaptations for breeding in birds.
- Lagos, M., Poggi, H., & Mellado, C. (2011). Conceptos básicos sobre el estudio de paternidad. *Revista médica de Chile*, 139, 542-547.
- Linnaeus. (1766). *Caroli a Linné... systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*.
- Loza, C., Ceballos, G., & Medellín, R. (1997). *Patrones de abundancia, uso de habitat y alimentacion de la guacamaya verde (Ara militaris), en la Presa Cajon de Peña, Jalisco, Mexico*.

- Marshall, T., Slate, J., Kruuk, L., & Pemberton, J. (1998). Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular ecology*, 7(5), 639-655.
- Millar, C., Lambert, D., Anderson, S., & Halverson, J. (1996). Molecular sexing of the communally breeding pukeko: an important ecological tool. *Molecular ecology*, 5(2), 289-293.
- Miyaki, C., Griffiths, R., Orr, K., Nahum, L., Pereira, S., & Wajntal, A. (1998). Sex identification of parrots, toucans, and curassows by PCR: perspectives for wild and captive population studies. *Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association*, 17(5), 415-423.
- Miyan, C., Guedes, N. M. R., Herrera, R., & Wajntal, A. (1995). *Estudo da variabilidade genética e da razão sexual de uma população silvestre de arara azul do Pantanal*. Paper presented at the Congresso Nacional de Genética.
- Monterrubio, T., & Carreón, K. (2005). Ficha técnica de Ara militar. *Escalante, P.(compilador). "Fichas sobre las especies de Aves incluidas en el Proyecto de Norma Oficial Mexicana proy-noM-ecol-2000. Parte, 2.*
- Mullis, K., & Faloona, F. (1987). [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction *Methods in enzymology* (Vol. 155, pp. 335-350): Elsevier.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., & Erlich, H. (1986). *Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction*. Paper presented at the Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology.
- Núñez, B., & Arizmendi, M. (2014). *Diferenciación de individuos en cautiverio de la guacamaya verde (ara militar) por medio de la foto-identificación*.
- Oddie, K. (1998). Sex discrimination before birth. *Trends in ecology & evolution*, 13(4), 130-131. doi: 10.1016/s0169-5347(97)01320-7
- Owens, I., & Bennett, P. (1994). Mortality costs of parental care and sexual dimorphism in birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 257(1348), 1-8.
- Pelletier, F., Réale, D., Watters, J., Boakes, E. H., & Garant, D. (2009). Value of captive populations for quantitative genetics research. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(5), 263-270.
- Peterson, R., & Chalif, E. (1989). Aves de México. *Guía de campo*. Editorial Diana. México, DF.
- Presti, F. (2011). Comparative analysis of microsatellite variability in five macaw species (Psittaciformes, Psittacidae): application for conservation. *Genetics and Molecular Biology*, 34, 348-352.
- PROFEPA. (2019). Respuesta a la solicitud de informacion a traves de la Plataforma Nacional de Transparencia, <http://www.plataformadetransparencia.org.mx>, Num. de Folio 1613100013919, solicitado el 4 de febero del 2019.
- Ralls, K., Brugger, K., & Ballou, J. (1979). Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates. *Science*, 206(4422), 1101-1103.
- Richner, H. (1989). Avian Laparoscopy as a Field Technique for Sexing Birds and an Assessment of Its Effects on Wild Birds (Laparoscopia en el Campo como Técnica para Determinar el Sexo de Aves). *Journal of Field Ornithology*, 137-142.
- Ridgway, R. (1915). Descriptions of some new forms of American cuckoos, parrots, and pigeons. *Biol. Soc. Wash. Proc*, 28, 107.

- Risser, A. (1971). A technique for performing laparotomy on small birds. *The Condor*, 73(3), 376-379.
- Rivera, F., & Arizmendi, M. (2007). *Distribución y abundancia de Ara militaris en la reserva de la biósfera Tehuacan-Cuicatlan*.
- Rivera, F., Contreras, A., & Arizmendi, M. (2007). *DIETA Y DISPONIBILIDAD DE ALIMENTO DE ARA MILITARIS EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA TEHUACAN-CUICATLAN, MEXICO* (Vol. 11).
- Rivera, F., Solorzano, S., Arizmendi, M., Davila, P., & Oyama, K. (2017). Genetic Diversity and Structure of the Military Macaw (*Ara militaris*) in Mexico: Implications for Conservation. *Tropical Conservation Science*, 10, 1-12. doi: 10.1177/1940082916684346
- Robinson, S., Thompson, F., Donovan, T., Whitehead, D., & Faaborg, J. (1995). Regional forest fragmentation and the nesting success of migratory birds. *Science*, 267(5206), 1987-1990.
- Romero, L. M., & Ramage-Healey, L. (2000). Daily and Seasonal Variation in Response to Stress in Captive Starlings (*Sturnus vulgaris*): Corticosterone. *General and Comparative Endocrinology*, 119(1), 52-59. doi: <https://doi.org/10.1006/gcen.2000.7491>
- Rubio, Y. (2001). Caracterización del hábitat de la guacamaya verde (*Ara militaris*) en Cosalá Sinaloa, México. Informe Técnico Final. Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza. Clave del proyecto C-1-97/4. Peterson, RT y E. L Chalif. 1989. Aves de México. Guía de campo. *Diana. México, DF*.
- Rubio, Y., & Medellín, R. (2015). *Preferencia de hábitat de la guacamaya verde (Ara militaris linné) en el Municipio de Cosalá, Sinaloa*.
- Russello, M., & Amato, G. (2004). Ex situ population management in the absence of pedigree information. *Molecular ecology*, 13(9), 2829-2840.
- Russello, M., Calcagnotto, D., DeSalle, R., & Amato, G. (2001). Characterization of microsatellite loci in the endangered St. Vincent Parrot, *Amazona guildingii*. *Molecular Ecology Notes*, 1(3), 162-164. doi: 10.1046/j.1471-8278.2001.00061.x
- Russello, M., Lin, K., Amato, G., & Caccone, A. (2005). Additional microsatellite loci for the endangered St. Vincent Parrot, *Amazona guildingii*. *Conservation Genetics*, 6(4), 643. doi: 10.1007/s10592-005-9019-3
- Saldarriaga, M. (2017). Genotipificación de individuos de la especie *Cyanoliseus patagonus* mediante marcadores moleculares tipo microsatélites y su uso en análisis de paternidad. *DE SUSTENTABILIDAD*.
- Schaldach, W. (1963). *The avifauna of Colima and adjacent Jalisco, Mexico*.
- Smith, C. (2010). Rowley review. Sex determination in birds: A review. *Emu*, 110(4), 364-377.
- Stefos, K., & Arrighi, F. (1971). Heterochromatic nature of W chromosome in birds. *Experimental cell research*, 68(1), 228-231.
- Stelle, C., Jiménez, L., & Sánchez, C. (2005). La Citogenética como Herramienta en el Sexaje de Aves. *Revista de la Asociación de Veterinarios de Vida Silvestre*, 1(2), 3-10.
- Stojanovic, D., Neeman, T., Lacy, R., Farquharson, K. A., Hogg, C. J., & Heinsohn, R. (2022). Effects of non-random juvenile mortality on small, inbred populations. *Biological Conservation*, 268, 109504.
- Stokes, D., & Perry, R. (1995). DNA-binding and chromatin localization properties of CHD1. *Molecular and cellular biology*, 15(5), 2745-2753.

- Sutherland, W. (2008). *The conservation handbook: research, management and policy*: John Wiley & Sons.
- Swengel, S., Ellis, D., Gee, G., & Mirande, C. (1996). Special techniques, C: Sex determination In: *Cranes: Their Biology, Husbandry, and Conservation*: Eds.
- Trivers, R. L., & Willard, D. E. (1973). Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science*, *179*(4068), 90-92.
- Vidal, A. C., Roldan, M., Christofolletti, M. D., Tanaka, Y., Galindo, D. J., & Duarte, J. M. B. (2019). Stress in captive Blue-fronted parrots (*Amazona aestiva*): the animalists' tale. *Conservation Physiology*, *7*(1). doi: 10.1093/conphys/coz097
- West, S. A., & Sheldon, B. C. (2002). Constraints in the evolution of sex ratio adjustment. *Science*, *295*(5560), 1685-1688.
- White, K. L., Eason, D. K., Jamieson, I. G., & Robertson, B. C. (2015). Evidence of inbreeding depression in the critically endangered parrot, the kakapo. *Animal Conservation*, *18*(4), 341-347.
- Witzenberger, K. A., & Hochkirch, A. (2011). Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. *Biodiversity and Conservation*, *20*(9), 1843-1861. doi: 10.1007/s10531-011-0074-4
- Woodage, T., Basrai, M., Baxevanis, A., Hieter, P., & Collins, F. (1997). Characterization of the CHD family of proteins. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, *94*(21), 11472-11477.
- Wright, S. (1922). Coefficients of inbreeding and relationship. *The American Naturalist*, *56*(645), 330-338.
- Zane, L., Bargelloni, L., & Patarnello, T. (2002). Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular ecology*, *11*(1), 1-16.

## XII.- ANEXOS

### Cuantificación de ADN

| ID   | Concentración de ADN ng/μl | 260/280 | ID    | Concentración de ADN ng/μl | 260/280 |
|------|----------------------------|---------|-------|----------------------------|---------|
| NS1  | 6.3                        | 1.59    | NS49  | 0.6                        | 3.89    |
| NS2  | 0.5                        | 0.83    | UAS1  | 4.1                        | 1.77    |
| NS3  | 1.9                        | 1.54    | UAS2  | 3.1                        | 2.09    |
| NS4  | 4.8                        | 1.69    | UAS3  | 1.3                        | 2.81    |
| NS5  | 3.1                        | 1.92    | UAS4  | 6.4                        | 1.93    |
| NS6  | 4.5                        | 2.01    | UAS5  | 2.5                        | 3.83    |
| NS7  | 3.9                        | 2.09    | UAS6  | 1.8                        | 1.99    |
| NS8  | 1.5                        | 1.54    | UAS7  | 1.7                        | 1.47    |
| NS9  | 3                          | 2.44    | UAS8  | 1                          | 4.5     |
| NS10 | 1.8                        | 2.17    | UAS9  | 3.4                        | 2.2     |
| NS11 | 8.2                        | 2.25    | UAS10 | 1.1                        | 9.43    |
| NS12 | 1.7                        | 2.28    | UAS11 | 0.1                        | -3.04   |
| NS13 | 3.5                        | 1.88    | UAS12 | 0.2                        | -1.02   |
| NS14 | 2.7                        | 2.58    | UAS13 | 0.6                        | 2.92    |
| NS15 | 2.5                        | 1.83    | UAS14 | -0.3                       | 0.5     |
| NS16 | 3.8                        | 1.57    | UAS15 | -0.1                       | 0.56    |
| NS17 | 4.9                        | 1.8     | UAS16 | -0.7                       | 1.03    |
| NS18 | 1.5                        | 2.41    | UAS19 | 1                          | 1.39    |
| NS19 | 2.1                        | 1.86    | UAS20 | 1                          | 1.95    |
| NS20 | 3.9                        | 1.72    | UAS21 | 1.7                        | 2.85    |
| NS21 | 2.2                        | 2.24    | UAS22 | 0.3                        | -7.33   |
| NS22 | 1.9                        | 1.64    | P1    | 5.2                        | 1.8     |
| NS23 | 1.3                        | 1.67    | P2    | 22.4                       | 1.21    |
| NS24 | 1                          | 2.29    | P3    | 2.1                        | 1.5     |
| NS25 | 3.5                        | 1.82    | P4    | 1.8                        | 1.76    |
| NS26 | 2.3                        | 1.83    | P5    | 2.7                        | 1.41    |
| NS27 | 5.5                        | 2.02    | P6    | 13.7                       | 1.26    |
| NS28 | 6.3                        | 1.96    | P7    | 0.5                        | -3.47   |
| NS29 | 6.1                        | 1.72    | P8    | 2.2                        | 1.09    |
| NS30 | 5                          | 1.68    | P9    | 19.1                       | 1.21    |
| NS31 | 9.7                        | 1.83    | P10   | 3.2                        | 1.36    |
| NS32 | 3                          | 1.75    | P11   | 2                          | 1.07    |
| NS33 | 7.6                        | 1.83    | P12   | 2.2                        | 2.38    |
| NS41 | 9.4                        | 1.75    | P13   | 1.7                        | 2.26    |
| NS42 | 0.8                        | 1.57    | P14   | 0.2                        | 1.5     |
| NS43 | 3                          | 1.77    | P15   | 2.1                        | 1.74    |
| NS44 | 0.4                        | 14.82   | P16   | 4.7                        | 1.65    |
| NS45 | 0.5                        | 1.42    |       |                            |         |
| NS46 | 3.2                        | 2.12    |       |                            |         |
| NS47 | 1                          | 4.76    |       |                            |         |
| NS48 | 2                          | 1.84    |       |                            |         |

Permiso de colecta de muestras sanguíneas de la UMA "Nuestra Señora"



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**RESERVA ECOLÓGICA DEL MINERAL DE NUESTRA SEÑORA**  
**DE LA CANDELARIA "MUNDO NATURAL"**



Culiacán, Sinaloa a 1 de Diciembre del 2018

**Biol. Diego Sidú Chan Con**  
Estudiante del Posgrado en Ciencias Biológicas  
De la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Sinaloa

Por medio de la presente y de la manera más atenta le envié un cordial saludo y aprovecho la ocasión para informarle que su solicitud para la obtención de muestras de tejido sanguíneo del total de ejemplares de la UMA "Nuestra Señora" (clave de registro.- DGVS-CR-IN-0945-SIN/07) para la realización del proyecto de maestría "*Endogamia y variabilidad genética de guacamaya verde (Ara militaris) en la UMA Nuestra Señora, con fines reproductivos*" es:

**APROBADA**

Ya que los resultados obtenidos de dicho estudio serán benéficos para realizar el correcto manejo de los ejemplares que pertenecen a esta unidad de manejo.

Sin más por el momento me despido y envié un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Dr. JOSÉ ALFREDO LEAL ORDUÑO  
COORDINADOR DE LA RESERVA ECOLÓGICA  
DEL MINERAL DE NUESTRA SEÑORA DE LA  
CANDELARIA.

Matriz de dato

| GRUPO         | ANILLO (ID) | SEXO   | UnaCT21 |     | GRUPO      | ANILLO   | SEXO   | UnaCT21 |         | GRUPO      | ANILLO   | SEXO   | UnaCT21 |     |
|---------------|-------------|--------|---------|-----|------------|----------|--------|---------|---------|------------|----------|--------|---------|-----|
| REPRODUCTORES | NS 0001     | MACHO  | 154     | 154 | CRIAS 2015 | NS 0028  | HEMBRA | 154     | 154     | CRIAS 2019 | UAS 0010 | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0002     | HEMBRA | 154     | 154 |            | NS 0029  | MACHO  | 154     | 154     |            | UAS 0011 | MACHO  | 154     | 154 |
|               | NS 0003     | HEMBRA | 154     | 154 |            | NS 0030  | HEMBRA | 154     | 154     |            | UAS 0012 | MACHO  | 154     | 154 |
|               | NS 0004     | HEMBRA | 154     | 154 |            | NS 0031  | MACHO  | 152     | 152     |            | UAS 0013 | MACHO  | 154     | 154 |
|               | NS 0005     | HEMBRA | 154     | 154 |            | NS 0032  | HEMBRA | 154     | 154     | GRUPO      | ANILLO   | SEXO   | UnaCT21 |     |
|               | NS 0006     | HEMBRA | 154     | 154 |            | NS 0033  | HEMBRA | 154     | 154     | CRIAS 2020 | UAS 0014 | MACHO  | 0       | 0   |
|               | NS 0007     | MACHO  | 154     | 154 |            | GRUPO    | ANILLO | SEXO    | UnaCT21 |            | UAS 0015 | MACHO  | 0       | 0   |
|               | NS 0008     | HEMBRA | 154     | 154 | CRIAS 2016 | NS 0041  | MACHO  | 154     | 154     |            | UAS 0016 | MACHO  | 0       | 0   |
|               | NS 0009     | HEMBRA | 154     | 154 |            | NS 0042  | MACHO  | 154     | 154     |            | UAS 0019 | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0010     | HEMBRA | 154     | 154 |            | NS 0043  | MACHO  | 154     | 154     |            | UAS 0020 | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0011     | MACHO  | 154     | 154 |            | NS 0044  | HEMBRA | 154     | 154     |            | UAS 0021 | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0012     | HEMBRA | 163     | 163 |            | NS 0045  | MACHO  | 154     | 154     |            | UAS 0022 | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0013     | MACHO  | 154     | 154 |            | NS 0046  | HEMBRA | 152     | 152     | GRUPO      | ID       | SEXO   | UnaCT21 |     |
|               | NS 0014     | MACHO  | 152     | 154 |            | NS 0047  | HEMBRA | 154     | 154     | SILVESTRES | P1       | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0015     | HEMBRA | 154     | 154 | NS 0048    | MACHO    | 154    | 154     | P2      |            | MACHO    | 154    | 154     |     |
|               | NS 0016     | HEMBRA | 154     | 154 | NS 0049    | HEMBRA   | 152    | 152     | P3      |            | HEMBRA   | 154    | 154     |     |
|               | NS 0017     | HEMBRA | 154     | 154 | GRUPO      | ANILLO   | SEXO   | UnaCT21 |         |            | P4       | MACHO  | 154     | 154 |
|               | NS 0018     | HEMBRA | 154     | 154 | CRIAS 2017 | UAS 0001 | MACHO  | 154     | 154     |            | P5       | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0019     | HEMBRA | 154     | 154 |            | UAS 0002 | HEMBRA | 154     | 154     |            | P6       | MACHO  | 154     | 154 |
|               | NS 0020     | HEMBRA | 154     | 154 |            | UAS 0003 | MACHO  | 154     | 154     |            | P7       | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0021     | HEMBRA | 154     | 154 |            | UAS 0004 | HEMBRA | 154     | 154     |            | P8       | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0022     | HEMBRA | 154     | 154 |            | UAS 0005 | MACHO  | 154     | 154     |            | P9       | MACHO  | 154     | 154 |
|               | NS 0023     | MACHO  | 154     | 154 |            | UAS 0006 | HEMBRA | 154     | 154     |            | P10      | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0024     | HEMBRA | 154     | 154 |            | UAS 0007 | MACHO  | 152     | 152     |            | P11      | MACHO  | 154     | 154 |
|               | NS 0025     | MACHO  | 154     | 154 |            | UAS 0008 | MACHO  | 154     | 154     |            | P12      | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0026     | HEMBRA | 154     | 154 |            | UAS 0009 | HEMBRA | 154     | 154     |            | P13      | HEMBRA | 154     | 154 |
|               | NS 0027     | HEMBRA | 154     | 154 |            |          |        |         |         |            | P14      | HEMBRA | 170     | 170 |
|               |             |        |         |     |            |          |        | P15     | MACHO   |            | 154      | 154    |         |     |
|               |             |        |         |     |            |          |        | P16     | MACHO   |            | 154      | 154    |         |     |

