



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**“Caracterización génica de subespecies de Aguililla Cola Roja (*Buteo
jamaicensis spp*) en cautiverio, provenientes del CIVS “Los Reyes”, de la
SEMARNAT ”**

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias presenta:

Antonio Yoná Solís Ceja

Tutores:

Marcela Vergara Onofre.

Tutor Principal.

Carlos González-Rebeles Islas.

Tutor.

Raúl Ulloa Arvizu.

Tutor.

Ciudad Universitaria. México, Distrito Federal. Mayo 2009.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN.

El área dedicada a la ganadería y agricultura, ha aumentado desproporcionadamente y de manera incontrolable en el Neotrópico. En consecuencia, se han destruido, alterado y fragmentado de manera progresiva los diferentes ecosistemas. Esto ha generado una disminución en la población de diferentes especies de aves rapaces. Por este motivo, un 45% del total de aves rapaces existentes, ha sufrido una reducción en número de individuos a causa de la pérdida de los bosques tropicales en donde residen, este es el caso del Aguililla Cola Roja (*Buteo jamaicensis spp.*). En pocas décadas, se han intensificado por todo el mundo diversas iniciativas en materia de conservación y recuperación de las rapaces. Los Sistemas de Visión por Computadora (SVC), son una buena herramienta para la identificación de las subespecies de Aguilillas Cola Roja por la coloración del frente y el análisis de imágenes con los programas ImageJ y Photoshop. Las metodologías moleculares han revolucionado el análisis genético. Polimorfismos basados en DNA se han usado para construcción de mapas de ligamiento, estrategias de selección asistida por marcadores, pruebas de parentesco, identificación de especies y estudios de genética de poblaciones. Lo RAPD's, comparado con otras técnicas de análisis molecular, fueron las que arrojaron mejores resultados para la identificación y agrupación de las subespecies de Aguilillas Cola Roja de nuestro estudio.

Palabras clave: *Buteo jamaicensis*, ImageJ, SVC, RAPD's, rapaces.

ABSTRACT.

The area dedicated to the cattle ranch and agriculture, has increased very out of proportion and of uncontrollable way in Neotrópico. Consequently, they have been destroyed, altered and fragmented of progressive way the different ecosystems. This has generated a diminution in the population of different species from raptors. For this reason, a 45% of the total of birds existing raptors, have undergone a reduction in number of individuals because of the loss of the tropical forests in where they reside, this it is the case of the Red Tailed Hawk (*Buteo jamaicensis spp.*). In few decades, conservation and recovery of raptors have intensified by everybody diverse initiatives in the matter of. The Systems of Vision by Computer (SVC), are a good tool for the identification of the subspecies of Red Tailed Hawk by the coloration of the front and the analysis of images with the software ImageJ and Photoshop. The molecular methodologies have revolutionized the genetic analysis. Polymorphisms based on DNA have been used for construction of linkage maps, strategies of selection attended by markers, tests of kinship, identification of species and studies of genetics of populations. RAPD' s, compared with other techniques of molecular analysis, was those that threw better results for the identification and grouping of the subspecies of Red Tailed Hawk of our study.

Key words. *Buteo jamaicensis*, ImageJ, SVC, RAPD's, raptors.

ÍNDICE GENERAL.

Introducción.

Biodiversidad.

Fragmentación y Pérdida de Hábitat.

Diversidad Genética y de Especies.

Centros para la Conservación e Investigación de la Vida Silvestre (CIVS).

El Aguililla Cola Roja.

Imagen.

Teoría del Color.

Técnicas Moleculares en Ecología y Biología de la Conservación.

Material y Métodos.

Resultados.

Discusión.

Conclusiones.

Literatura Consultada.

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Estadísticas descriptivas Morfometría.	51
Tabla 2. Estadísticas descriptivas del ACP de Coloración Espalda.	55
Tabla 3. Matriz de correlación de Pearson del ACP Coloración Espalda.	55
Tabla 4. Tabla de valores propios y variabilidad para el ACP de las variables de Coloración Espalda.	56
Tabla 5. Estadísticas descriptivas de la distribución de Coloración Espalda.	58
Tabla 6. Estadísticas descriptivas Coloración Frente.	59
Tabla 7. Matriz de correlación de Pearson del ACP Coloración Frente.	59
Tabla 8. Tabla de valores propios y variabilidad para el ACP de las variables de Coloración Frente.	60
Tabla 9. Estadísticas Descriptivas de la prueba de Normalidad de Coloración frente.	62

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Grafico 1. Distribución de la variable Perímetro del Tarso.	53
Grafico 2. Distribución de la variable Largo del Tarso.	54
Grafico 3. Valores Propios y variabilidad del ACP de Coloración Espalda.	56
Grafico 4. Coordenadas de las observaciones (muestras) del ACP de Coloración Espalda.	57
Grafico 5. Coordenadas de las variables y las observaciones (muestras) del ACP de Coloración Espalda.	57
Grafico 6. Valores Propios y variabilidad del ACP de Coloración Frente.	60
Grafico 7. Coordenadas de las observaciones (muestras) del ACP de Coloración frente.	61
Grafico 8. Coordenadas de las variables y las observaciones (muestras) del ACP de Coloración frente.	61

ÍNDICE DE IMÁGENES.

Imagen 1. Espacio de color CIE L*a*b*	33
Imagen 2. Gel de agarosa 2% sin productos de amplificación.	63
Imagen 3. Gel de agarosa 2%, productos de la amplificación con ITS1-2.	64
Imagen 4. Gel de agarosa 1.8%, productos de la amplificación con la enzima EcoRI.	65
Imagen 5. Gel de agarosa 1.5%, productos de amplificación con la enzima HinfI.	66
Imagen 6. Gel de agarosa 2% sin productos de amplificación con la enzima HindIII.	67
Imagen 7. Gel de agarosa 2%, productos de amplificación con las enzimas HindIII, BamHI, AluI.	68
Imagen 8. Gel de agarosa 2%, productos de amplificación con las enzimas EcoRV, XhoI, XbaI.	69
Imagen 9. Gel de agarosa 1.5% con los productos de la amplificación por PCR del Primer 7.	70
Imagen 10. Gel de agarosa 1.5% con los productos de la amplificación por PCR del Primer 7.	71

JUSTIFICACIÓN.

El principal objetivo que se persigue en un programa de conservación de animales vivos “in situ”, es el mantenimiento de la máxima cantidad de diversidad genética con el mínimo incremento posible de consanguinidad por generación.

Para ello una de las primeras etapas de un programa de conservación de razas, consiste en la evaluación de su variabilidad genética y la distribución de ésta entre sus poblaciones, así como la posible detección de alelos raros que nos indiquen la presencia de variantes genéticas únicas (17).

Uno de los principales problemas que afectan a las poblaciones minoritarias, son los inevitables apareamientos entre individuos emparentados, que se traduce genéticamente en un incremento de la consanguinidad (homocigosis) con la consiguiente depresión consanguínea; una reducción de los valores medios fenotípicos de los caracteres productivos y reproductivos, y por último, y como consecuencia de esos problemas reproductivos, la inevitable disminución y/o extinción de la población (18).

En resumen, con la información disponible podríamos entonces llevar a cabo un programa de conservación, maximizando el tamaño efectivo de población. Sin embargo, cuando los registros genealógicos no son fiables o simplemente no existen, se deberían buscar otras estrategias, que nos permitieran prevenir ese riesgo de pérdidas. En la actualidad, muchos de estos estudios sobre conservación de razas se basan en los análisis genéticos, a través del uso marcadores moleculares de ADN (17, 19).

Una de las principales utilidades de este tipo de marcador, es la posibilidad de estimar los niveles de variabilidad genética dentro de las poblaciones y analizar las relaciones genéticas existentes entre las mismas. Este tipo de estudio, son de gran importancia para realizar estimaciones de la diversidad genética y de la consanguinidad existente en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción. Durante los últimos años se han realizado muchos estudios que han utilizado los microsatélites para análisis filogenéticos, concluyendo que, con un buen número de loci investigados y con apropiadas tasas de mutación, los microsatélites pueden dar una muy buena aproximación de la filogenia (20, 21). Probablemente este es el campo en el cual han sido más extensamente utilizados,

mientras que su otro gran campo de acción ha sido para la construcción de mapas genéticos (proyecto del genoma humano y diferentes proyectos de mapas en animales domésticos).

OBJETIVO GENERAL.-

- Realizar la caracterización del DNA de subespecies de aguililla de Cola Roja (*Buteo jamaicensis* spp.) en cautiverio, que se encuentran dentro del CIVS “Los Reyes”, de la SEMARNAT.

OBJETIVO ESPECÍFICO.-

- Clasificar las subespecies que se encuentran dentro del CIVS “Los Reyes”, de acuerdo a su patrón Morfométrico y distribución de color.
- Identificar el patrón génico de DNA de las subespecies que se encuentran dentro del CIVS “Los Reyes”.
- Establecer la correlación que existe entre los patrones morfológico, génico y distribución color de éstas subespecies.

HIPÓTESIS.

Debido a la problemática existente en la identificación de subespecies de Aguilillas Cola Roja para la formación de grupos o parejas, estableceremos las bases para su identificación genética, comparando los patrones genéticos, con la morfometría y los patrones decoloración de los diferentes ejemplares que se encuentran dentro del CIVS “Los Reyes” de la SEMARNAT.

INTRODUCCIÓN.

Nuestro ambiente se encuentra gravemente amenazado en la actualidad por el calentamiento global, el deterioro de la capa de ozono, la erosión, la acumulación de desperdicios tóxicos y la contaminación. Sin embargo, existe un problema ambiental que, a largo plazo, sobrepasa en importancia a todos los demás: la pérdida de la diversidad biológica de nuestro planeta; esa riqueza de especies, ecosistemas y procesos ecológicos que convierten a la Tierra en el único lugar del universo donde sabemos con certeza que existe vida. Esta diversidad biológica es nuestro principal recurso natural, nuestro capital biológico en el banco del mundo, un capital cuya pérdida sería irreversible. (SEMARNAP, 2000).

La biodiversidad es la propiedad de los sistemas vivos de ser distintos, es decir, diferentes entre sí; no es una entidad, sino una propiedad, un elemento fundamental de todos los sistemas biológicos. También es una característica de las múltiples formas de adaptación e integración de la especie humana a los ecosistemas de la Tierra, y no un recurso (Núñez, et al 2003).

La biodiversidad es el resultado del proceso evolutivo que se manifiesta en la existencia de diferentes modos de ser para la vida. Mutación y selección determinan las características y la cantidad de diversidad que existen en un lugar y momento dados. Diferencias a nivel genético, diferencias en las repuestas morfológicas, fisiológicas y etológicas de los fenotipos, diferencias en las formas de desarrollo, en la demografía y en las historias de vida. La diversidad biológica abarca toda la escala de organización de los seres vivos. . (Halffter, 1992)

Todos los organismos poseen una variedad de material genético que pasan de generación en generación, incluyendo las diferencias por efecto de las influencias del medio ambiente que es ejercido sobre cada individuo. Esas variaciones heredables son las responsables de que exista biodiversidad sobre el planeta, y se puede decir que la evolución y selección natural tienen su fundamento en la utilización de ese material genético.

Con la extinción de una especie se pierde, de manera irreversible, el genoma completo. Pero la diversidad genética puede perderse de maneras mucho más difíciles de evaluar, a través de la pérdida de algunos alelos por medio de la endocría o deriva génica. Cualquier población de plantas o animales que pase por un periodo de número de individuos

excepcionalmente bajo perderá variación genética en algunos de sus alelos. Aunque los niveles poblacionales se recuperen posteriormente, la población no será ya la misma, habrá perdido parte de la variación para que puedan operar sobre ella las fuerzas de la selección natural. (Halffter, 1992)

La pérdida y fragmentación de hábitat se han convertido en las más importantes amenazas para el mantenimiento de la biodiversidad en todos los ecosistemas terrestres. La fragmentación es la pérdida de continuidad de un ecosistema y produce cambios importantes en la estructura de las poblaciones y comunidades de plantas y animales y en el ambiente físico, afectando su funcionamiento (Murcia, 1995).

La pérdida y la fragmentación del hábitat son reconocidas ampliamente como la causa más importante de la pérdida de biodiversidad. En la actualidad las discusiones teóricas acerca de los efectos de la pérdida de hábitat sobre la riqueza y diversidad de especies se han basado en el paradigma de las metapoblaciones: mientras los fragmentos de hábitat remanentes se vuelven más pequeños y más separados, existen mayores posibilidades de extinción y menores tasas de recolonización (Villatoro, 2004).

La diversidad genética se refiere a la presencia de variantes genéticas en una población. Esencialmente, son las diferencias que existen entre los individuos de dicha población, para un determinado carácter, morfológico o fisiológico. Dichas variantes pueden atribuirse, en general, a diferencias en ciertas regiones del genoma que son las que codifican los caracteres en cuestión, y que presentan valores asociados de aptitud. La variabilidad genética es una propiedad deseable en las poblaciones, ya que ésta es la materia prima necesaria para que los mecanismos evolutivos (selección natural) operen sobre las mismas en un ambiente fluctuante. La reducción de diversidad genética se ve positivamente correlacionada con efectos nocivos en las poblaciones portadoras, como lo es la depresión por endogamia. La diversidad genética permite el mantenimiento de la aptitud reproductiva en el corto plazo, y del potencial evolutivo en el largo plazo.

El aporte de la genética ha sido crucial en los últimos años, a la hora de delinear estrategias de conservación y manejo de los recursos naturales. La genética aplicada a la conservación estudia los factores genéticos que tienen influencia sobre la probabilidad de extinción de las especies y sus poblaciones. Por ello, esta disciplina permite identificar grupos de organismos evolutivamente diferenciados que son prioridad en los esfuerzos de

conservación; definir sitios geográficos portadores de endemismos genéticos para su protección o monitoreo; delimitar unidades de conservación con el fin de optimizar el uso de recursos económicos en la protección de recursos naturales; y planear estrategias de manejo de poblaciones silvestres y en cautiverio (Méndez, 2003).

El área dedicada a la ganadería y agricultura ha aumentado desproporcionadamente y de manera incontrolable en el Neotrópico. En consecuencia se han destruido, alterado y fragmentado progresivamente diferentes ecosistemas. Esto ha generado una disminución en la población de diferentes especies de aves rapaces. Por este motivo, un 45% del total de aves rapaces existentes, ha sufrido una reducción en número de individuos a causa de la pérdida de los bosques tropicales en donde residen. Así mismo, al alterar los ecosistemas, no solamente se altera el hábitat de las aves rapaces sino el de sus presas, y como resultado se ven afectadas en forma indirecta por este factor. (García, 2004)

Las aves de presa, son especies claves dentro de las cadenas tróficas a las que pertenecen, debido a que están ubicadas al final esta. Las acciones del hombre son la principal causa de los cambios en la población de estas aves, ya que destruye sus hábitats, las caza y uso de pesticidas que indirectamente las afecta. (García, 2004)

Las Aguilillas Cola Roja son nativas solo de la región Neártica. Están distribuidas desde Canadá, Estados Unidos, México y América Central. Algunas de estas aves migran hacia tierras bajas por el oeste (Pacífico) durante el invierno (Dewey, 2006).

Las Aguilillas Cola Roja habitan un amplio rango de hábitats y un amplio rango de altitudes. Estos hábitats son típicamente áreas abiertas con cobertura, perchas elevadas, incluyendo matorrales desérticos, planicies y pastizales montañosos, campos agrícolas, pasturas, parques urbanos, parches de coníferas y zonas madereras caducas y bosque tropical. Las Aguilillas Cola Roja prefieren construir sus nidos en bordes de bosque, en cercas de madera o en árboles altos alrededor de áreas abiertas (Preston and Beane, 1993).

Las metodologías moleculares han revolucionado el análisis genético. Polimorfismos basados en DNA se han usado para construcción de mapas de ligamiento, estrategias de selección asistida por marcadores, pruebas de parentesco, identificación de especies y estudios de genética de poblaciones. Los principales marcadores moleculares son, la mayoría de ellos, derivados de la aplicación de la Reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Un marcador

molecular o de ADN que debe presentar un patrón de herencia conocido y mostrar polimorfismo, es decir, deben existir distintas variantes o “alelos” del marcador dentro de la población bajo estudio. (Becerra, 2000).

La importancia del plumaje y su color en la vida de las aves es grande pues son animales cuyo sentido de la vista es altamente desarrollado. Los colores tienen importancia fundamental para distinguir a los individuos de la misma especie, los depredadores, las presas o a la pareja. (Podulka, et. al., 2004)

Los AFLP´s, combinan la amplificación por PCR de una secuencia conocida de DNA (un locus) usando primarios específicos, seguido de la digestión del amplificado con enzimas de restricción que permiten cortar el fragmento amplificado en algunos individuos y no en otros, detectando el polimorfismo. Éste revelado en electroforesis en gel de agarosa al ser teñido con bromuro de etidio.

BIODIVERSIDAD.

La biodiversidad es la propiedad de los sistemas vivos de ser distintos, es decir, diferentes entre sí; no es una entidad, sino una propiedad, un elemento fundamental de todos los sistemas biológicos. También es una característica de las múltiples formas de adaptación e integración de la especie humana a los ecosistemas de la Tierra, y no un recurso (Núñez, et al 2003).

El término biodiversidad, acuñado por el biólogo norteamericano Edward O. Wilson en 1988 para denominar la variedad biológica de una determinada zona del planeta, puede parecer un poco lejano y poco importante para la vida cotidiana de los ciudadanos. Sin embargo, se trata de un concepto esencial para la evolución de la vida y la supervivencia de los seres que pueblan la Tierra. A nivel genético una especie con pocos individuos o poca diversidad, tiene poca variedad de genes y por lo tanto es más limitada ante posibles cambios en su entorno, y más proclive a transmitir un posible gen adverso o defectuoso (Muerza, 2005).

En la actualidad se define a la biodiversidad como toda variación de la base hereditaria en todos los niveles de organización, desde los genes en una población local o especie, hasta las especies que componen toda o una parte de una comunidad local, y finalmente en las mismas comunidades que componen la parte viviente de los múltiples ecosistemas del mundo. Abarca, por tanto, todos los tipos y niveles de variación biológica (Núñez, et al, 2003).

La biodiversidad resulta de procesos y patrones ecológicos y evolutivos irrepetibles. Por lo mismo, la configuración actual de la diversidad biológica puede explicarse históricamente mediante el análisis de los procesos que han dado origen, han mantenido y han alterado la biodiversidad, tales como la diversificación genética y de especies, las extinciones y la dinámica de las comunidades y los ecosistemas. La propia evolución humana debe verse como un proceso vinculado al origen y mantenimiento de la diversidad biológica en su conjunto (Solís et al., 1998).

Se ha hecho habitual, por funcionalidad, considerar tres niveles jerárquicos de biodiversidad: *genes, especies y ecosistemas*. Pero es importante ser consciente de que ésta no es sino una de las varias formas de evaluar la biodiversidad y que no hay una definición exacta del término ni, por tanto, acuerdo universal sobre el modo de medir la biodiversidad.

El mundo biológico puede considerarse estructurado en una serie de niveles de organización de complejidad creciente; en un extremo se sitúan las moléculas más importantes para la vida (DNA y RNA) y en el otro las comunidades de especies que viven dentro de los ecosistemas. Se encuentran manifestaciones de diversidad biológica a todos los niveles. Como la biodiversidad abarca una gama amplia de conceptos y puede considerarse a distintos niveles y escalas, no es posible reducirla a una medida única. En la práctica, la diversidad de especies es un aspecto central para evaluar la diversidad a los demás niveles y constituye el punto de referencia constante de todos los estudios de biodiversidad. (Cárdenas, 2006)

La biodiversidad provee ciertos servicios ambientales; es decir, proporciona las condiciones y procesos naturales de los ecosistemas (incluyendo las especies y los genes) por medio de los cuales los seres humanos obtienen variados beneficios. Algunos de los servicios proporcionados por la biodiversidad son la degradación de desechos orgánicos, la formación de suelo y el control de la erosión, la fijación del nitrógeno, el incremento de los recursos alimenticios de cosechas y su producción, el control biológico de plagas, la polinización de plantas, la regulación del clima, los productos farmacéuticos y naturistas, el secuestro de dióxido de carbono y muchos más. Los seres humanos se benefician de todos estos servicios y bienes, muchos de los cuales se encuentran profundamente asociados a valores religiosos, culturales, éticos y estéticos (Núñez, et al 2003).

Dentro de los múltiples factores que ofrece la conservación de la diversidad biológica podemos destacar los siguientes: (Muerza, 2005).

1. *Valor ecológico.* Manteniendo la diversidad biológica y el paisaje garantizamos que se mantengan las adaptaciones y especializaciones que se han seleccionado durante millones de años a un medio ambiente cambiante.
2. *Valor utilitario.* Entre los múltiples usos que el ser humano obtiene de la biodiversidad destacan el consumo de especies animales y plantas para la alimentación, las sustancias químicas extraíbles de las plantas y microorganismos para medicina, productos forestales para la industria, etc.
3. *Valor recreativo y estético.* El contacto directo con la naturaleza produce bienestar a los seres humanos. El mantenimiento de los recursos naturales puede y debe ser utilizado para impulsar el desarrollo económico de muchas áreas rurales y turísticas.

4. *Valor patrimonial.* La biodiversidad presenta un valor cultural, a través de las especies, razas y variedades asociadas con la historia de un país, las propias de la agricultura y la ganadería tradicionales, las que forman parte de la cultura gastronómica local, etc. En cuanto al paisaje, tiene importantes valores de identidad, culturales, simbólicos, religiosos e históricos.
5. *Valor científico.* Todas las especies tienen un valor real o potencial para hacer avanzar el conocimiento que tenemos de la vida y del mundo.

El interés creciente por la biodiversidad se debe, en primer lugar, a la riqueza en plantas y animales, la cual tiene un valor incalculable: es el patrimonio natural, resultado de la evolución, es decir, de un proceso histórico que ha ocurrido en el tiempo y es irrepetible. Pero además, la pérdida de biodiversidad por simplificación de los ecosistemas y en los últimos años por introducción de subproductos tóxicos, es el más importante e irreversible, efecto directo o indirecto de las actividades humanas. Los ecosistemas modificados por el hombre, no pierden necesariamente productividad en biomasa, pero prácticamente en todas las ocasiones pierden biodiversidad (Halffter, 1992).

El interés por la diversidad biológica en la gestión del medio ambiente se debe, especialmente por la intensificación de la agricultura y otros usos del suelo que lleva a su creciente empobrecimiento. La manera en que los ecosistemas naturales y seminaturales (sistemas manejados para la agricultura, ganadería y silvicultura) se distribuyen en el territorio nacional, es fundamental para la regulación de los flujos, dispersión de las especies y mantenimiento del conjunto de funciones del ecosistema y por lo tanto para la conservación de la biodiversidad.

El interés por la conservación de la biodiversidad ha llevado a un esfuerzo por definirla y averiguar por qué existe y cómo se pierde. En general las expresiones ecologistas y conservacionistas se refieren a la riqueza en especies (diversidad alfa). Pero la diversidad existe dentro de lo que denominamos especies. Justamente la presencia de distintos alelos para cada gen (variación) es la fuente primordial de materia prima para el proceso evolutivo. Además la biodiversidad se manifiesta en la heterogeneidad a nivel dentro de un ecosistema (diversidad beta) y en la heterogeneidad a nivel geográfico (diversidad gamma). (Halffter, 1992)

La biodiversidad es el resultado del proceso evolutivo que se manifiesta en la existencia de diferentes modos de ser para la vida. Mutación y selección determinan las características y la cantidad de diversidad que existen en un lugar y momento dados. Diferencias a nivel genético, diferencias en las repuestas morfológicas, fisiológicas y etológicas de los fenotipos, diferencias en las formas de desarrollo, en la demografía y en las historias de vida. La diversidad biológica abarca toda la escala de organización de los seres vivos. Sin embargo, cuando nos referimos a ella en un contexto conservacionista, estamos hablando de diversidad de especies, de variación intraespecífica e intrapoblacional, y en última instancia de variación genética. (Halffter, 1992)

Los cambios en los usos del suelo pueden afectar en gran medida a la capacidad de dispersión de las especies, dando lugar a procesos de fragmentación de las poblaciones y los consiguientes problemas para su conservación. Esto es debido a que las especies no solo dependen de las condiciones ambientales de los ecosistemas en las que viven, sino también de la extensión del área en que se dan dichas condiciones. Fenómenos como la fragmentación del área y la sustitución de bosques naturales por plantaciones de otras especies de árboles y de especies caducifolias por perennifolias pueden afectar negativamente a la diversidad.

No obstante, el panorama actual muestra una creciente degradación y agotamiento de los sistemas biológicos y de su diversidad. Los seres humanos han impulsado estrategias acordes con los patrones económicos imperantes para convertir ecosistemas complejos en ecosistemas simples, poniendo en peligro la estabilidad de los procesos biofísicos de la vida y desencadenando lo que se ha dado en llamar "la crisis de la biodiversidad" (Toledo, 1994). Esto ha implicado la extinción de un creciente conjunto de especies de plantas y animales. Ante esta situación, disciplinas como la economía y la ecología se empeñan en cuantificar y asignar valor a la biodiversidad, aunque para algunos autores esto es algo imposible teórica y metodológicamente de realizar (Toledo, 1998).

Escala Genética de la Biodiversidad.

Todos los organismos poseen una variedad de material genético que pasan de generación en generación, incluyendo las diferencias por efecto de las influencias del medio ambiente que es ejercido sobre cada individuo. Esas variaciones heredables son las

responsables de que exista biodiversidad sobre el planeta, y se puede decir que la evolución y selección natural tienen su fundamento en la utilización de ese material genético.

Existe un componente genético, o intraespecífico, de la heterogeneidad biológica. A nivel de una sola especie, puede existir mucha o poca variabilidad genética, dada por la cantidad de alelos diferentes que tenga la especie (variabilidad genotípica), y los caracteres que estos diferentes alelos codifiquen en el organismo (variabilidad fenotípica). La diversidad genética depende de la historia evolutiva de la especie, del nivel de endogamia de la población, de su aislamiento reproductivo y de la selección natural a favor o en contra de la heterosis, entre varias otras causas. La diversidad genética es un componente muy importante de la biodiversidad, su trascendencia es bien conocida en el caso de las plantas cultivadas y de los animales domésticos, donde se realizan desde hace muchas épocas grandes esfuerzos para conservar la biodiversidad del germoplasma original, sobre la cual operan los procesos de selección genética que realizan los criadores de razas y variedades. Sin variación genética, la transformación de la especie a través de la selección no es posible. Este nivel de la biodiversidad es también de gran importancia en las poblaciones silvestres, para las cuales supervivencia y adaptación están frecuentemente condicionadas al mantenimiento de un número poblacional mínimo que asegure un cierto nivel de exogamia y heterosis. Por debajo de este número las poblaciones se ven con frecuencia amenazadas con la extinción, sencillamente porque no pueden adaptarse por medio de la selección natural a los cambios que ocurren en su medio (Halffter, 1992).

La biodiversidad no depende sólo de la riqueza de especies sino también de la dominancia relativa de cada una de ellas. Las especies, en general, se distribuyen según jerarquías de abundancias, desde algunas especies muy abundantes hasta algunas muy raras. Cuanto mayor es el grado de dominancia de algunas especies y de rareza de las demás, menor es la biodiversidad de la comunidad. Entender el problema de la biodiversidad implica, entonces, discutir el problema de la rareza biológica. Por especies raras entendemos todas aquellas que se encuentran en número suficientemente bajo como para representar un problema de conservación, y en algunos casos, como para encontrarse amenazadas de extinción (Halffter, 1992).

La diversidad demográfica y genética ha sido definida por Ledig como constituida por:

- La diversidad de alelos del mismo gen dentro de una misma especie.

- El conjunto de diferencias genéticas que caracterizan a diferentes poblaciones.
- Las enormes bibliotecas de información genética que caracterizan a cada una de las especies.

Según planteó Ledig, la diversidad genética puede conceptuarse de manera jerárquica en tres niveles: a nivel de un alelo, a nivel de un grupo de alelos que tienden a variar en conjunto y a nivel de genoma completo de una especie (Halffter, 1992).

Con la extinción de una especie se pierde, de manera irreversible, el genoma completo. Pero la diversidad genética puede perderse de maneras mucho más difíciles de evaluar, a través de la pérdida de algunos alelos por medio de la endocría o deriva génica. Cualquier población de plantas o animales que pase por un periodo de número de individuos excepcionalmente bajo perderá variación genética en algunos de sus alelos. Aunque los niveles poblacionales se recuperen posteriormente, la población no será ya la misma, habrá perdido parte de la variación para que pueden operar sobre ella las fuerzas de la selección natural. (Halffter, 1992)

La diversidad genética puede perderse también a través de la extinción de ecotipos y poblaciones locales. Aunque la especie, como un todo, no enfrente un riesgo concreto de extinción, con la pérdida de ecotipos locales habrá perdido parte de su variación genética. Será una especie más pobre, con menos variabilidad. (Halffter, 1992)

Los métodos disponibles para medir la diversidad genética en los tres niveles descritos por Ledig, incluyen las siguientes técnicas (Halffter, 1992):

- Secuenciación del ADN para algunos loci específicos.
- Secuenciación de aminoácidos en ciertas proteínas de interés.
- Análisis de diferencias en constitución proteica por medio de electroforesis (análisis de isoenzimas).
- Métodos inmunológicos.
- Análisis de diferencias cromosómicas.
- Morfometría.
- Pruebas de entrecruzamiento y análisis de progenie.

Hay especies claves dentro de los ecosistemas a los que pertenecen, cuya desaparición arrastra la de muchas otras o el aumento de otras convirtiéndose en plagas. En este sentido, la conservación de las especies silvestres es primordial para mantener el patrimonio genético que dichas especies atesoran y que las especies domesticas están perdiendo. La diversidad biológica de nuestro planeta está perdiéndose como consecuencia directa o indirecta de las actividades humanas. Los tamaños de las poblaciones de animales y plantas disminuye y la consecuente pérdida en la diversidad genética reduce la posibilidad de las poblaciones remanentes de adaptarse a los cambios en el ambiente. (Muerza, 2005)

Además de la diversidad descrita como la cuantía de especies, otro componente importante de la biodiversidad se contempla a nivel de la diversidad o riqueza de ecosistemas. En cierto sentido, esto sería lo que podríamos llamar diversidad ecológica. En lo referente a comunidades naturales, la diversidad biológica de México sobresale por el hecho de que incluye la mayoría de los ecosistemas reconocidos en el planeta. Esta diversidad de ecosistemas incluye comunidades que van desde los desiertos, a las comunidades alpinas y las exuberantes selvas tropicales (Muerza, 2005).

FRAGMENTACIÓN Y PÉRDIDA DE HÁBITAT.

La pérdida y fragmentación de hábitat se han convertido en las más importantes amenazas para el mantenimiento de la biodiversidad en todos los ecosistemas terrestres. La fragmentación es la pérdida de continuidad de un ecosistema y produce cambios importantes en la estructura de las poblaciones y comunidades de plantas y animales y en el ambiente físico, afectando su funcionamiento. La fragmentación implica la creación de bordes, que son el área más alterada de un fragmento; los efectos de borde pueden propagarse varios cientos de metros hacia el interior del bosque remanente. Este efecto se puede definir como la interacción entre dos ecosistemas adyacentes separados por una transición abrupta (Murcia, 1995).

La fragmentación es un proceso en el que, el hábitat natural continuo, es reducido a pequeños remanentes. Los efectos primarios de este fenómeno son la alteración del microclima y el aislamiento, es decir, los cambios físicos y fisonómicos tanto al interior como a los alrededores del fragmento. Los principales cambios climáticos se reflejan en el flujo de

radiación, la incidencia del viento, la frecuencia de fuegos, y en el ciclo hidrológico del fragmento. Las modificaciones micro-ambientales pueden tener un impacto significativo sobre el establecimiento y composición de especies de plantas y animales afectando también las interacciones bióticas (Herrerías, 2004).

Existen varias causas que determinan la fragmentación del hábitat, y entre las más importantes tenemos:

- *Introducción de especies.* La introducción de especies provoca muchas de las extinciones de especies registradas, especialmente en las islas. En esos ecosistemas aislados, un nuevo depredador competidor, o agente patógeno, puede poner en peligro rápidamente a especies que no pueden desarrollarse conjuntamente con los intrusos.
- *Explotación excesiva de especies de arbóreas y animales.* Numerosos bosques, peces y recursos de vida silvestre han sido explotados en exceso, en algunos casos hasta que se han extinguido.
- *Contaminación de suelo, el agua y la atmósfera.* Los productos contaminantes deterioran los ecosistemas y pueden reducir o eliminar la población de especies sensibles.
- *Modificación del clima mundial.* En las próximas décadas un subefecto de la contaminación del aire - el recalentamiento mundial de la atmósfera - podría causar estragos en los organismos vivientes del mundo.
- *Agroindustrias y forestación.*

Tanto la pérdida como la fragmentación de los hábitats pueden causar impactos negativos a las poblaciones de especies al influenciar el uso de los hábitats, la reproducción y la supervivencia. Algunas especies de plantas no nativas o exóticas han invadido los hábitats, causando cambios profundos en la estructura de los mismos, lo cual los puede convertir en hábitats no adecuados para ciertas especies. (Andrén, 1994)

La fragmentación del hábitat puede tener efectos abióticos, bióticos directos o indirectos. Estos efectos pueden ser respuesta a cualquiera de las variables de fragmentación en conjunto o por separado (Murcia, 1995).

Efectos abióticos. Son cambios en las condiciones ambientales en los bordes por proximidad de matriz estructuralmente distinta constituida por pastizales, cultivos, o campos sucesionales secundarios jóvenes (Murcia, 1995).

Algunos cambios notorios son (Murcia, 1995):

- *Cambios en la temperatura y humedad, luminosidad.* Se produce un gradiente microclimático de temperatura y humedad que corre perpendicular al borde. En el borde se generan mayores temperaturas, mayores cambios térmicos día-noche, menor humedad y mayor luminosidad.
- *Mayor exposición a los vientos.* Lo que genera mayor caída de árboles en la periferia del fragmento, a una disminución en la humedad, el acarreo de semillas, insectos, enfermedades y otros productos desde la matriz, aumento de la erosión.
- *Mayor difusión de compuestos químicos que provienen de la matriz.* (ej. fertilizantes, insecticidas). Esto es modulado por la pendiente o la dirección de los vientos o corrientes de agua.

Efectos bióticos directos. Se refiere a los cambios en la abundancia, distribución y/o riqueza de especies (Murcia, 1995).

- *Efecto del tamaño y aislamiento* del fragmento sobre la persistencia de las poblaciones.
- *Tamaño.* Fragmentos más pequeños soportan poblaciones más pequeñas, más propensas a la extinción. Esto por:
 - ✓ Estocasticidad demográfica: eventos aleatorios de supervivencia y reproducción de individuos y distribución de sexos.
 - ✓ Estocasticidad ambiental: eventos impredecibles tales como cambios en el clima, oferta de alimentos, presencia de depredadores o competidores, catástrofes naturales.
 - ✓ Estocasticidad genética: ej. retrocruza y pérdida de diversidad genética.

Aislamiento: El intercambio de individuos entre fragmentos se dificulta lo que aumenta aún más la probabilidad de extinción de las poblaciones. Por un lado, la colonización está inversamente relacionada a la distancia entre parches por la mayor dificultad para encontrarlos y además por el aumento de los riesgos de mortalidad en la búsqueda de nuevos fragmentos. Por otro lado, la extinción está inversamente relacionada con el tamaño del parche debido al menor tamaño de las poblaciones y a la mayor incidencia de factores de mortalidad externa (Murcia, 1995).

Efecto del tamaño y aislamiento del fragmento sobre la riqueza de especies. La Teoría de Biogeografía de Islas (MacArthur & Wilson 1967) predice lo que ocurre con la riqueza de especies en parches de hábitat que varían en tamaño y aislamiento (véase apunte de Comunidades). La fragmentación del hábitat disminuye el tamaño de los parches y los aleja unos de otros, aumenta la probabilidad de extinción de las especies presentes en los fragmentos y disminuye la probabilidad de inmigración de especies. Lo que se obtiene finalmente son fragmentos empobrecidos de especies en relación a la biota original. Aún cuando podemos también obtener fragmentos enriquecidos de especies pero con especies invasoras (Murcia, 1995).

Efectos bióticos indirectos. Se refiere a cambios en las interacciones ecológicas producto de la fragmentación (cambios funcionales). Los cambios en la naturaleza o intensidad de las interacciones son producto de cambios en la abundancia de las especies residentes o por la incorporación de nuevas especies que invaden desde la matriz (Murcia, 1995).

Los efectos demográficos. La fragmentación ocasiona alteraciones en los parámetros de nacimiento, mortalidad y crecimiento de las poblaciones naturales, y su efecto puede ser variable en diferentes categorías de edades (cuadro 1). Los primeros cambios posteriores a la fragmentación que se han registrado en las poblaciones de plantas en bosques templados y tropicales han sido una diferenciación en la mortalidad y en el crecimiento de los individuos previamente establecidos, así como patrones contrastantes en el reclutamiento de nuevos individuos (Herrerías, 2004).

Los efectos genéticos. La reducción en el tamaño de la población a causa de la fragmentación crea barreras genéticas, ya que los individuos remanentes son sólo una muestra del total de los genes que había en la población. Las poblaciones pequeñas pueden presentar

un incremento en la deriva génica, endogámica o depresión exogámica y una reducción del flujo génico (Herrerías, 2004).

La pérdida en la variación genética a causa de la fragmentación del hábitat puede tener consecuencias evolutivas a largo plazo, e inclusive puede tener efectos a corto plazo con cambios a nivel genético que alteren la adecuación y la viabilidad de las poblaciones remanentes. La extinción local o regional pudiera ser el resultado de esta clase de escenario (Herrerías, 2004):

- La población se reduce a un tamaño pequeño por la fragmentación del hábitat
- La deriva génica tiene un gran efecto en la diversidad genética de poblaciones pequeñas
- La proporción de sexos puede no mantenerse en una población pequeña
- El tamaño efectivo de la población se acerca a cero
- Los efectos de la endogamia alteran la adecuación.

Especies Vulnerables a la Fragmentación.

Los efectos de la fragmentación dependerán en gran medida de las características de las especies. ¿Cuáles son las especies más vulnerables?

- Especies naturalmente raras.
- Especies que necesitan moverse mucho para sus actividades diarias o estacionales.
- Especies no vágiles.
- Especies con baja fecundidad.
- Especies dependientes de recursos parchados o impredecibles o especies con tamaños poblacionales muy variables.
- Especies que anidan en el suelo.
- Especies de interior.
- Especies vulnerables a persecución o explotación humana.

La subdivisión del hábitat puede alterar la estabilidad de las poblaciones. El ejemplo más claro, y al mismo tiempo extremo, son las extinciones locales y regionales de algunas

especies. Las características de las especies que las pueden hacer vulnerables a extinciones son: fragilidad de su historia de vida, tamaño corporal, hábitat o dieta específica, longevidad, capacidad de dispersión, variabilidad de la población, rareza y nivel trófico. Se pueden distinguir dos tipos de características de las poblaciones que son afectadas por la fragmentación del hábitat, las demográficas y las genéticas. La fragmentación ocasiona alteraciones en los parámetros de nacimiento, mortalidad y crecimiento de las poblaciones naturales, y su efecto puede ser variable en diferentes categorías de edades. (Herrerías, 2004)

Debido a que la fragmentación ocasiona alteraciones tanto a nivel de la comunidad vegetal como de la comunidad animal, las interacciones existentes entre ambos grupos también son afectadas. Una alta riqueza de especies puede incrementar la elasticidad de los ecosistemas después de una perturbación, por lo que es mayor el número de alternativas para el flujo de los recursos (Herrerías, 2004). En las áreas perturbadas por lo general las temperaturas diurnas son más altas y las temperaturas nocturnas más bajas que las presentes en las áreas sin alterar. Estas modificaciones de temperaturas pueden cambiar los procesos de reciclaje de nutrientes entre otros procesos y puede tener efectos desestabilizadores en interacciones como la competencia, la depredación y el parasitismo (Saunders et al., 1991). Los grandes depredadores dependen de áreas extensas para su desarrollo, por lo que ante la fragmentación resultan muy vulnerables. Su persistencia dentro de los remanentes de vegetación puede estar dada por la habilidad de desplazarse a través de los fragmentos (Herrerías, 2004).

DIVERSIDAD GENÉTICA Y DE ESPECIES.

La diversidad genética se refiere a la presencia de variantes genéticas en una población. Esencialmente, son las diferencias que existen entre los individuos de dicha población, para un determinado carácter, morfológico o fisiológico. Dichas variantes pueden atribuirse, en general, a diferencias en ciertas regiones del genoma que son las que codifican los caracteres en cuestión, y que presentan valores asociados de aptitud. La reducción de diversidad genética se ve positivamente correlacionada con efectos nocivos en las poblaciones portadoras, como lo son la depresión por endogamia y la reducción en el fitness medio. La diversidad genética permite el mantenimiento de la aptitud reproductiva en el corto plazo, y del potencial evolutivo en el largo plazo.

La diversidad genética es el resultado de las diferencias que existen entre las distintas versiones (alelos) de las unidades de herencia (genes) de los individuos de una especie. Los genes son segmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN) que se encuentran distribuidos en grupos de unidades denominadas cromosomas, cuyo número y forma varía entre especies; es en el ADN donde se encuentra codificada la información a partir de la cual se construyen los seres vivos. Las diferencias heredables constituyen la materia prima sobre la que actúan las fuerzas evolutivas y moldean la variada complejidad de los seres vivos. Por tanto, una de las razones más importantes para conservar la diversidad genética es el mantenimiento del potencial evolutivo de las especies (CONABIO, 1998).

La variabilidad genética de las especies silvestres es muy poco conocida. El número de especies estudiadas es muy pequeño, sobre todo si consideramos la enorme diversidad de especies que alberga nuestro territorio. Dado que este tipo de diversidad es el resultado de las variantes que existen en los genes de los individuos de una especie, su importancia radica en el potencial evolutivo de las especies al constituirse en el reservorio de las posibles respuestas al medio (físico y biológico), posibilitando con ello su adaptación a los cambios del mismo (CONABIO, 1998).

La reducción en el tamaño de la población a causa de la fragmentación crea barreras genéticas, ya que los individuos remanentes son sólo una muestra del total de los genes que había en la población. Las poblaciones pequeñas pueden presentar un incremento en la deriva génica, endogámica o depresión exogámica y una reducción del flujo génico (Herrerías, 2004). La pérdida en la variación genética a causa de la fragmentación del hábitat puede tener consecuencias evolutivas a largo plazo, e inclusive puede tener efectos a corto plazo con cambios a nivel genético que alteren la adecuación y la viabilidad de las poblaciones remanentes. La extinción local o regional pudiera ser el resultado de esta clase de escenario (Herrerías, 2004):

1. La población se reduce a un tamaño pequeño por la fragmentación del hábitat.
2. La deriva génica tiene un gran efecto en la diversidad genética de poblaciones pequeñas.
3. La proporción de sexos puede no mantenerse en una población pequeña.
4. El tamaño efectivo de la población se acerca a cero.
5. Los efectos de la endogamia alteran la adecuación.

Especies que tienen distribuciones geográficas restringidas pueden ser más vulnerables a las extinciones locales si se reduce en la población la variación genética debido a la perturbación del hábitat. En las especies raras o que se encuentran en densidades bajas una disminución sustancial en la población a causa de la fragmentación puede acelerar la pérdida de diversidad genética e incrementar los niveles de endogamia. En estos casos, para que sea posible la conservación de una especie es necesario que se maximice el tamaño de la población; un número grande de individuos debe tener una diversidad mayor de fenotipos que un grupo pequeño (Herrerías, 2004).

CENTROS PARA LA CONSERVACIÓN E INVESTIGACIÓN DE LA VIDA SILVESTRE (CIVS).

Los Centros para la Conservación e Investigación de la Vida Silvestre (CIVS) comienzan a funcionar como tales a partir de la entrada en vigor de la Ley General de Vida Silvestre (4 de julio de 2000), donde en el artículo 38 se le señalan sus funciones: actividades de difusión, capacitación, rescate, rehabilitación, evaluación, muestreo, seguimiento permanente, manejo y cualesquiera otras que contribuyan a la conservación y al desarrollo del conocimiento sobre la vida silvestre y su hábitat. A partir de la entrada en vigor del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre el 30 de Diciembre de 2006 se refuerza la idea de estos centros a través de los artículos 18, 19, 20, 21 y 22.

Funciones principales de los CIVS.

- Recepción, acopio, albergue y rehabilitación física, clínica y etológica de fauna silvestre.
- Desarrollo de programas de reproducción de fauna silvestre para, repoblación y pie de cría.
- Evaluación del hábitat previo a la liberación de fauna silvestre rehabilitada y el seguimiento a los ejemplares liberados.
- Desarrollo y participación en programas de capacitación para la conservación de la vida silvestre.
- Fomento a UMA's.

- Promoción y participación en el desarrollo de investigación científica para la conservación de la vida silvestre y su hábitat.

Se han liberado diferentes especies de mamíferos, aves, reptiles e invertebrados. Los estados donde se han llevado a cabo mayor número de liberaciones son: Jalisco, Veracruz, Hidalgo, Nayarit, Yucatán, Oaxaca, Campeche, D. F., Michoacán, Quintana Roo, Tlaxcala y Estado de México, siendo Cocodrilo de Río (*Crocodylus acutus*), Iguana verde (*Iguana iguana*), Coyote (*Canis latrans*), Zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), Lince (*Linx rufus*), Tortuga jicotea (*Trachemys scripta venusta*), Aguililla Cola Roja (*Buteo jamaicensis*), Aguililla de Harris (*Parabuteo unicinctus*), Búho Virginiano (*Bubo virginianus*), Serpiente de Cascabel (*Crotalus basiliscus*), Coatí (*Nassua narica*), Oso Hormiguero (*Tamandua mexicana*), Lechuza de Campanario (*Tyto alba*), Boa, (*Boa constrictor*), Guacamaya Roja (*Ara macao*), Guacamaya Verde (*Ara militaris*), las más representativas de estos eventos.

A través de los años se han canalizado ejemplares a diferentes Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre UMA's, como pie de cría, desarrollar programas de reproducción e investigación, siendo ejemplares de Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus*), Pecarí de Collar (*Pecari tajacu*), Mono Araña (*Ateles geoffroyi*), Cocodrilo de Río (*Crocodylus acutus*) y Cocodrilo de Pantano (*C. moreletii*) las más representativas.

Actualmente existen ocho centros en todo el país, algunos administrados directamente por la Dirección General de Vida Silvestre, otros a través de convenios con ONG's, y/o particulares.

CIVS "David Montes Cuevas".

Ubicación.

Se localiza en el poblado de Chacahua, municipio de San Pedro Tututepec, en el estado de Oaxaca.

Superficie: La Unidad se encuentra instalada en una superficie de 2 965 m² de los cuales 60 m² los ocupan oficinas y el resto de la superficie está destinada a instalaciones de animales.

CIVS “Los Reyes”.

Ubicación.

Calle Circuito Emiliano Zapata Norte esq. Con Circuito Emiliano Zapata Sur, Col. El Pino, Los Reyes la Paz Estado de México.

Superficie: Las instalaciones del CIVS “Los Reyes”, consta de una superficie total de 3.8 Has. Con un área construida de aprox. 660 m².

CIVS “El Fénix”.

Ubicación.

Isla del Carmen a 12.2 km. de la Carretera Federal 190 entre Cd. del Carmen-Puerto Real, Municipio de Ciudad del Carmen, Campeche.

Superficie: 4 hectáreas aproximadamente de las cuales aproximadamente 1.5 has. Están destinadas a infraestructura formada de acuaterrarios

CIVS “Guadalajara”.

Ubicación.

Este Centro se encuentra localizado en la Calle Monte Colli No. 406 esquina con Normalistas, Col Santa Elena Estadio, en el Municipio de Guadalajara, Jalisco.

Superficie: El Centro se encuentra ubicado en un predio urbano en la zona norte de Guadalajara, En el Bosque “El Centinela” se encuentran especies producto de decomisos de PROFEPA y PGR.

CIVS “La Palma”.

Ubicación.

El Centro reproductor se encuentra ubicado en el nacimiento del arroyo “ La Camalota”, en el paraje denominado el Tanque, perteneciente al Ejido de la Palma, Municipio de San Blas, Nayarit.

Este Centro se encuentra en convenio con la Asociación Ecológica Ambiental A.C. quienes se encargan de la operación y administración del CIVS bajo proyectos de reproducción y conservación de Cocodrilos.

CIVS “San Cayetano”.

Ubicación.

Se localiza en el km. 60 sobre la carretera Toluca-Valle de Bravo en el Municipio de San José de Allende, Estado de México.

Superficie: Asentada en terrenos considerados de propiedad federal producto de la donación del predio por parte de la Compañía Loreto y Peña Pobre,

Cuenta con una superficie de 536 ha., totales de las cuales 422 son bosque de pino encino y el resto es pastizal.

CIVS “San Felipe Bacalar”.

Ubicación.

Km. 27+ 500 carretera Federal 307 tramo Bacalar- Felipe Carrillo Puerto, Municipio de Othon P. Blanco.

Superficie: Este Centro se encuentra asentado en terrenos considerados como propiedad federal, producto de la cesión de derechos mediante la donación del predio por parte del ejido San Felipe Bacalar,

CIVS “San Bartolomé Tekax”.

Ubicación.

Este Centro se encuentra ubicado en el Km. 3.5 de la Carretera Tekax-Tixmehuac, en el Municipio de Tekax.

Superficie: El predio tiene un área de 276 has, 9 de ellas preparadas para albergar animales en semicautiverio, 2 has., utilizadas para jardines y frutales y 2 has., ocupadas por un vivero forestal. El resto conserva una vegetación silvestre de más de 30 años de antigüedad.

EL AGUILILLA COLA ROJA.

Taxonomía (Newton, 2000; Johnsgard, 1990; IUCN. 2004; Grossman, 1984; Parry-Jones, J. 2000; Urbina 1996)

Reino. *Animalia*

Phylum. *Chordata*

Subphylum. *Vertebrata*

Clase. *Aves*

Orden. *Falconiformes*

Familia. *Accipitridae*

Género. *Buteo*

Especie. *Buteo jamaicensis*

Subespecies:

Buteo jamaicensis alascensis

Buteo jamaicensis borealis.

Buteo jamaicensis calurus.

Buteo jamaicensis fuertesi.

Buteo jamaicensis harlani.

Buteo jamaicensis kirderii.

Buteo jamaicensis umbrinus.

Buteo jamaicensis costaricensis

Buteo jamaicensis guadalupensis

Buteo jamaicensis jamaicensis

Buteo jamaicensis hadropus

Buteo jamaicensis fumosus

Buteo jamaicensis suttoni

Buteo jamaicensis kemsiesi

Buteo jamaicensis socorrensis

RANGO GEOGRÁFICO.

Las Aguillitas Cola Roja son nativas solo de la región Neártica. Están distribuidas desde Canadá, Estados Unidos, México y América Central. Algunas de estas aves migran hacia tierras bajas por el oeste (Pacífico) durante el invierno (Dewey, 2006).

REGIONES BIOGEOGRÁFICAS.

Hábitats.

Las Aguilillas Cola Roja habitan un amplio rango de hábitats y un amplio rango de altitudes. Estos hábitats son típicamente áreas abiertas con cobertura, perchas elevadas, incluyendo matorrales desérticos, planicies y pastizales montañosos, campos agrícolas, pasturas, parques urbanos, parches de coníferas y zonas madereras caducas y bosque tropical. Las Aguilillas Cola Roja prefieren construir sus nidos en bordes de bosque, en cercas de madera o en árboles altos alrededor de áreas abiertas (Preston and Beane, 1993).

Templado.

Ésta región de la Tierra se encuentra entre los 23.5° y los 60° Norte (entre el Trópico de Cáncer y el Círculo Polar Ártico) y entre los 23.5° y los 60° Sur (entre el Trópico de Capricornio y el Círculo Polar Antártico). (Dewey, 2006)

Tropical.

Ésta región de la Tierra se encuentra alrededor del Ecuador, desde los 23.5° Norte hasta los 23.5° Sur. (Dewey, 2006)

Estos animales se encuentran en los siguientes tipos de hábitat:

Biomás Terrestres.

Dunas o Desierto.

Sabana Tropical y Pastizales.

Sabana.

Pastizal Templado.

Bosque.

Bosque tropical.

Bosque lluvioso.

Bosque de Matorral.

Urbano.

Suburbano.

Campos de Cultivo.

Hábitats reparados con cuerpos de agua.

DESCRIPCIÓN FÍSICA. (Dewey, 2006)

Masa. 690 - 1460 g (24.29 - 51.39 oz.)

Altura. 45 - 65 cm. (17.72 - 25.59 in)

Envergadura. 122 cm. (promedio) (48.03 in)

Las Aguilillas Cola Roja miden en promedio de 48 a 65 cm. de altura. La envergadura es de aproximadamente 122 cm. El dimorfismo sexual se caracteriza porque las hembras son unos 25% más grandes que los machos. El dimorfismo sexual de ésta clase, donde las hembras son más grandes que los machos, es común en las Aves de Presa. Los rangos de plumaje de las Aguilillas Cola Roja se encuentran desde el blanco-castaño claro hasta el café oscuro. El bajo abdomen es más claro que el resto del cuerpo con una banda oscura alrededor del abdomen. La cera, las piernas y las patas son amarillas la cola es de un color uniforme rojo quemado, de aquí su nombre. (Dewey, 2006)

Las Aguilillas Cola Roja juveniles, a la vista son similares que los adultos, los juveniles tienen los ojos de color amarillo grisáceo que al madurar cambian a café oscuro. (Dewey, 2006)

Se han reportado 15 subespecies del *Buteo jamaicensis*. Estas subespecies son separadas y basadas en diferencias en la coloración del plumaje, hábitat e hibernación. (Preston and Beane, 1993)

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS.

- *Endotérmico.* Generan calor por medio de su metabolismo, regulando su temperatura corporal independiente de la temperatura ambiental.
- *Simetría Bilateral.* En corte transversal, ambos lados del animal son iguales.
- *Polimórficos.* Tienen muchas formas en coloración y plumaje dependiendo de la subespecie y hábitat.
- *Dimorfismo Sexual.* Se pueden distinguir entre hembras y machos.
- *Monógamos.* Tienen una pareja para toda su vida.

- El albinismo es común en esta especie.

REPRODUCCIÓN. (Dewey, 2006)

Gonochoric/gonochoristic/dioecious (sexos separados).

- *Sexual*. La reproducción incluye la contribución genética de dos individuos, hembra y macho.
- *Fertilización*. Unión de óvulo y espermatozoide.
- *Ovíparos*. Nacen de un huevo puesto por la hembra y el desarrollo se lleva a cabo fuera del cuerpo de la madre.
- *Intervalo de Crianza*. Los Cola Roja crían cada primavera.
- *Estación de Crianza*. Primavera.
- *Huevos por estación*. 1 a 5
- *Tiempo de incubación*. 28 a 35 días. (30 días promedio)
- *Tiempo de Crianza*. 42 a 46 días.
- *Tiempo de Independencia*. 10 semanas (alta)
- *Edad de maduración sexual (hembra)*. 3 años (promedio)
- *Edad de maduración sexual (macho)*. 3 años (promedio)

Las Aguilillas Cola Roja usualmente buscan pareja y comienzan a criar a los tres años de edad. Son monógamos y viven con su pareja por muchos años. Los Cola Roja solo cambian de pareja cuando ésta muere. Durante el cortejo, los machos y las hembras vuelan en círculos con las alas abiertas por alrededor de 10 min. o más. Normalmente las parejas toman ciertas posiciones durante estos vuelos, entrelazan las garras y se dejan caer dando círculos en el aire. La hembra y el macho se perchan y comienzan a mostrarse uno al otro (pavonearse). Después de esto, la hembra se inclina y el macho la monta. La copulación dura de 5 a 10 segundos. (Preston and Beane, 1993)

SISTEMA DE CRIANZA.

Los nidos de los Cola Roja, usualmente son de 70 a 95 cm. (28 a 38 pulg.) de diámetro. Algunas veces usan el mismo nido por varios años. El macho y la hembra construyen el nido en lo alto de un árbol (4 a 21 m. de altura). Donde estos árboles son escasos, construyen el nido en riscos o estructuras artificiales tales como edificios o cercas. Los nidos son construidos con ramas, hojas, piñas, cortezas, cáscaras, vainas, tallos, troncos, amentos y otros subproductos vegetales. Las cortezas frescas, ramas y piñas son depositadas dentro del nido a lo largo de la estación de crianza para mantener el nido limpio. Los búhos (*Bubo virginianus*) compiten con los Cola Roja por los sitios de nido. Es conocido que estos búhos matan a los pollos u destruyen los huevos y los nidos por la competencia del sitio de anidación. (Preston and Beane, 1993)

La hembra pone de 1 a 5 huevos durante la primera semana de abril. Los huevos eclosionan después de 28 a 35 días de incubación. Ambos padres incuban los huevos los machos emplean menos tiempo que las hembras para incubar, pero lleva la comida para la hembra cuando ésta se encuentra en el nido. Durante la estación de anidamiento la hembra cuida de los pollos y el macho provee el alimento para la hembra y los pollos. La hembra alimenta a los pollos dándoles pequeños pedazos de comida. Los pollos empiezan a alejarse del nido después de 42-46 días. El periodo de crianza dura 10 semanas, durante este periodo los pollos aprenden a volar y cazar. Los pollos inician ejercicios de vuelo a las 3 semanas de edad y comienzan a cazar para su propia alimentación a después de 6-7 semanas de edad, la independencia total de los padres se realiza a las 10 semanas de edad. (Preston and Beane, 1993)

LONGEVIDAD.

En vida libre. 21.50 años (alta).

En cautividad. 29.50 años (alta)

Los Cola Roja son aves relativamente longevas. Muchas de estas aves mueren jóvenes (antes de los dos años de vida), esto debido al periodo de adaptación y sobrevivencia durante los primeros años de vida, pero pueden llegar a vivir muchos años. Los Cola Roja conocidos, que han llegado a vivir más tiempo en cautividad fueron de 29.5 años y en vida libre de 21.5 años. (Preston and Beane, 1993)

COMPORTAMIENTO.

Aves de Presa Diurnas.

Extensión de Territorio. 1.3 a 5.2 Km².

Las parejas de Cola Roja viven por muchos años en el mismo territorio. Estas aves son muy territoriales y defiende su territorio en un rango de 0.85 a 3.9 Km² dependiendo de la cantidad de alimento, perchas y sitios de anidación dentro del territorio. La hembra es usualmente más agresiva alrededor del nido, y el macho al defender los alrededores del territorio. Estas aves planean por encima de su territorio para poder detectar intrusos. El rango de extensión de territorio varía según la temporada, si es pareja y el sexo. (Preston and Beane, 1993)

HÁBITOS ALIMENTICIOS.

Los Cola Roja tienen una gran variedad de presas, usando el poder de sus garras como un arma. El 80-85% de la dieta consiste en roedores. El resto lo componen conejos, liebres, reptiles y aves. Los Cola Roja cazan desde una percha esperando su presa, para solo dejarse caer. (Preston and Beane, 1993)

PREDADOR NATURAL.

Búho Virginiano (*Bubo virginianus*) y Córvidos. Huevos y Pollos. (Preston and Beane, 1993)

ROL EN EL ECOSISTEMA.

Los Cola Roja tienen un rol muy importante en todos los ecosistemas donde habitan, ya que al ser predadores, son controladores de plagas de pequeños mamíferos (roedores y conejos). Esto provee al ecosistema gran parte de su equilibrio. (Preston and Beane, 1993)

Importancia Económica Humana Negativa.

No se conocen efectos negativos de los Cola Roja en las actividades humanas.

Importancia Económica Humana Positiva.

Son controladores naturales de plagas en los cultivos y los ecosistemas.

ESTATUS DE CONSERVACIÓN.

IUCN Red List. Not evaluated.

CITES. Appendix II.

NOM-059-SEMARNAT-2001. Protegida.

Los Cola Roja han ido extendiendo su rango geográfico a través de los últimos 100 años. Ésta expansión es, en mucho, el resultado en el incremento de parches, fragmentación y pérdida de hábitat y la formación de áreas. Debido a estos cambios en el paisaje de los ecosistemas que habitan los Cola Roja, la cacería, la colisión con vehículos, el tráfico ilegal, la interferencia de las actividades humanas con los hábitos de reproducción y alimentación, la pérdida o disminución de presas, así como la muerte por envenenamiento al ingerir presas contaminadas, sus poblaciones han ido en decremento. (Dewey, 2006)

IMAGEN

La definición de una imagen vendrá dada por la resolución espacial. La resolución se define como el número de píxeles que componen la imagen y se mide en píxeles por pulgada (ppi, pixels per inch), o puntos por pulgada (dpi, dots per inch), cuando se refiere a dispositivos de salida (pantalla o monitor, impresoras, etc.). A mayor resolución, mayor detalle

de imagen y, por lo tanto, mayor calidad. Por consiguiente, los archivos tendrán mayores dimensiones lo cual significa que requerirán un mayor espacio de memoria y serán menos manejables.

Tonalidad de una Imagen.

Principalmente vendrá determinada por la resolución y la luminosidad o profundidad de color. La luminosidad hace referencia a la información, el número de bits, que representa cada píxel. 1 bit representa 2 tonos, 8 bits 256 tonos, 24 bits 16 millones de tonos y 32 bits 4.000 millones de tonos. El número de bits estará condicionado al modo de color, es decir, al tipo de información. Entonces la escala de grises se puede representar en un solo canal, mientras que para la representación del color se utilizan tres canales de 8 bits (24 bits), el modo RGB, apto para la visualización en pantalla, o bien, cuatro canales para el modo CMYK, para la impresión en cuatricomía. Lógicamente, una mayor profundidad de color implica un archivo de mayor tamaño. También influirá en la tonalidad el rango dinámico, que se refiere a los niveles de luz. Con un rango dinámico bajo, las sombras perderán detalle y las áreas saturadas quedarán descoloridas.

La profundidad y el modo de color serán los elementos claves a controlar. 8 bits por color pueden ser suficientes para una representación visual, pero no permiten capturar todas las sutilidades del original. Si se desea reproducir el color con la máxima fidelidad será necesaria una mayor profundidad.

Finalmente, el ruido consiste en las pequeñas alteraciones aleatorias a la luminosidad del color, todos estos parámetros expuestos se pueden considerar como medidas físicas de la calidad de la imagen. James Reilly y Franziska Frey en la valoración de la calidad de la imagen digital que hacen en su estudio *Digital Imaging for Photographic Collections: Foundations for Technical Standards*, publicado por el IPI (Image Permanence Institut) en 1999, le dan el nombre de "valores objetivos de la calidad de imagen", que los diferencian de los "valores subjetivos", en los cuales la calidad de imagen es evaluada mediante la observación visual. Los valores subjetivos son igualmente importantes en la valoración de las imágenes, ya que el ojo humano es un excelente juez del color en las comparaciones directas, porque puede captar diferencias que a veces resultan difíciles de medir.

Digitalización o Manejo de una Imagen Digital.

Digitalizar una imagen consiste en reducir a números la información bidimensional que contiene. Se seccionan las posiciones o coordenadas bidimensionales, de manera que aunque la imagen venga inicialmente descrita como una función de puntos continua, su registro y manipulación se realizan de forma matricial, como una función que toma valores en un conjunto finito de puntos llamados píxeles. Por otra parte, la digitalización implica la expresión numérica de la información contenida en cada punto, digitalización propiamente dicha. Para una imagen en blanco y negro esto supone que la intensidad de cada píxel se expresa con un número. Frecuentemente, este número se registra con 8 bits, lo que permite $2^8 = 256$ niveles de gris lo cual es mayor de los que es capaz de distinguir el ojo humano.

La digitalización permite, por ejemplo, el envío de imágenes mediante un código binario, la alteración artificial del brillo o el contraste, etc., para conseguir fines muy variados como la mejora de la calidad de imagen, el reconocimiento de objetos, el conteo de objetos, la identificación automatizada de formas, etc.

Histograma de una Imagen.

El histograma de una imagen es un gráfico de barras donde los 256 niveles de gris se distribuyen en intervalos iguales indicando cuántos píxeles hay en la imagen con el nivel de gris dentro de cada intervalo.

Adquisición de la imagen.

Una imagen digital del objeto es capturada y almacenada. Cuando se adquieren imágenes, es importante considerar los efectos de la intensidad luminosa y la orientación relativa del objeto para la fuente de iluminación, porque los niveles de grises de los píxeles están determinados no solo por las características físicas de la superficie si no también por estos dos parámetros (Peleg, 1993; Chantler, 1995; Sun et al., 2004 y Shahin et al., 2001). Típicamente, una cámara de color digital provee de tres imágenes digitales llamadas, imágenes digitales rojas, verdes, y azules; cada una con 256 niveles de intensidad, que al estar

combinadas (256 x 256 x 256) pueden representar 16.7 millones de posibles colores o niveles de intensidad (Coviella et al., 2006).

La información que se percibe en una imagen es de dos tipos: espacial, tal como la forma, el tamaño o la distribución de los objetos; y espectral, relacionada con la intensidad con la que se reciben los tres colores básicos (rojo, verde y azul) de las imágenes cromáticas (RGB por sus siglas en inglés red, green and blue). Esta información, se puede vincular a los puntos de un sistema cartesiano de cinco coordenadas, dos espaciales, correspondientes a la proyección plana de los objetos (X y Y), y tres cromáticos (R, G y B) (Acuña, 2002).

TEORÍA DEL COLOR.

En un sentido físico el color es la distribución de la energía, un haz de luz, reflejada o transmitida por un objeto. La forma en que es percibido e interpretado por el ser humano el color depende de que la longitud de onda de la luz reflejada o transmitida se encuentre comprendida en el intervalo de 380 a 770nm (Jiménez et al., 2001).

El color como tal no es una propiedad física, debido a que diferentes distribuciones espectrales pueden producir la misma sensación de color. Ello hace posible que utilizando mezclas de tres colores se pueda simular una amplia variedad de ellos, a estos tres colores se les conoce como colores primarios.

Existen dos conjuntos de colores primarios. Los primarios aditivos generan otros colores por medio de la combinación de luces o de puntos en una pantalla. Éstos son el rojo, el verde y el azul, que corresponden aproximadamente con los tres picos de sensibilidad de los tres sensores de color en el ojo humano según la teoría de Young-Helmholtz propuesta en 1891, (Jiménez et al., 2001 y Echávarri, 2006), y que por estas razones son emulados en los dispositivos de visualización de medios digitales (monitores de PC, displays de cámaras digitales, calculadoras, etc.)

Por otro lado los colores primarios sustractivos, cian, magenta y amarillo, generan otros colores cuando se mezclan pinturas o tintas.

Tras una sinuosa evolución conceptual debida a la complejidad de la percepción y medición del color, no fue sino hasta el 1931 cuando la CIE (Commission Internationale de L'eclairage) definió el espacio físico del color con base en la teoría de la percepción tricromática de Young-Helmholtz, fuentes estándar de iluminación, condiciones exactas de observación, unidades apropiadas y curvas estándar para el observador (Jiménez et al., 2001 y Echávarri, 2006).

Desde que se estableció el Observador patrón CIE 1931, con sus valores triestímulo X, Y, Z se han ido introduciendo muchas coordenadas colorimétricas a partir de ellos por expresiones más o menos complicadas. Tales coordenadas sitúan cada color en un espacio determinado, que tendrá tantas dimensiones como número de coordenadas se necesiten (Echávarri, 2006 y Stokes et al., 1996). Aparecen así los denominados espacios de color, como:

Espacio RGB. Espacio tricromático que permite aportaciones negativas de color, hecho que parece sin sentido físico pero que matemáticamente contribuye al manejo de la información del color. Comúnmente utilizado por los dispositivos CCD (del inglés Charge-Coupled Device, "dispositivo de carga (eléctrica) acoplada")

Espacio XYZ. Introducido por la CIE, es una aproximación matemática sin sentido físico real, creado con la finalidad de eliminar el problema de las aportaciones negativas del espacio RGB.

Espacio YUV–YIQ. Surgidos a partir de la difusión de la señal de televisión. Son una recodificación del espacio RGB, que está basada en la mayor sensibilidad de la visión humana a los cambios de la iluminación que a los cambios de matiz y saturación.

Espacio C-Y, CMY, CMYK. Son espacios basados en los colores sustractivos empleados en codificación de señales televisión e impresiones comerciales.

Espacio HSI. Espacio basado en los atributos de la visión humana matiz, saturación e intensidad (por sus siglas en inglés Hue Saturation and Intensity). Es representado en una pirámide hexagonal invertida y la información de la intensidad esta desacoplada de la información de color.

Espacios uniformes de color CIE LUV, CIE L*a*b*. Espacios concebidos tras más de veinte transformaciones matemáticas diferentes de los valores triestímulo CIE, a fin de que cada vez se puede calcular una diferencia de color ΔE más fiable que la distancia lineal entre dos muestras en el espacio X, Y, Z (Stokes et al., 1996; Reinoso, 2003 y Echávarri, 2006)

Dentro del amplio intervalo de modelos que existen, las coordenadas CIE L* a* b*, de la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE; Commission Internationale de L'eclairage), son las más aceptadas en la evaluación de color como indicador de la calidad de los alimentos (Sun et al., 2004).

El espacio CIE L*a*b* Permite especificar estímulos de color en un espacio tridimensional (Imagen 6). El eje *L es el de luminosidad (lightness) y va de 0 (negro) a 100 (blanco). Los otros dos ejes de coordenadas son a* y b*, y representan variación entre rojizo-verdoso, y amarillento-azulado, respectivamente. Aquellos casos en los que $a^* = b^* = 0$ son acromáticos; por eso el eje *L representa la escala acromática de grises que va de blanco a negro. (Jiménez et al., 2001; Martínez, 2005; Sun et al., 2004)

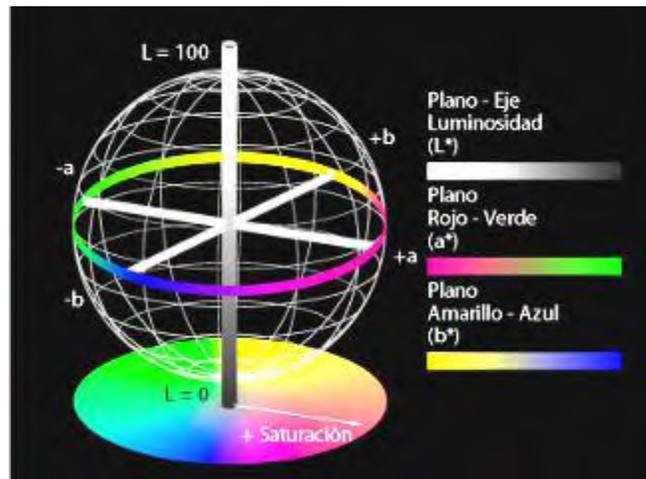


Imagen 1. Espacio de color CIE L*a*b*

Las metodologías moleculares han revolucionado el análisis genético. Polimorfismos basados en DNA se han usado para construcción de mapas de ligamiento, estrategias de selección asistida por marcadores, pruebas de parentesco, identificación de especies y estudios de genética de poblaciones. Los principales marcadores moleculares son, la mayoría de ellos, derivados de la aplicación de la Reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Un marcador molecular o de ADN que debe presentar un patrón de herencia conocido y mostrar polimorfismo, es decir, deben existir distintas variantes o “alelos” del marcador dentro de la población bajo estudio.

Marcadores Moleculares.

Son todas aquellas moléculas (proteínas o ADN) que se pueden identificar y caracterizar para definir un genotipo determinado. Muchos de ellos permiten la asociación de genotipos con fenotipos específicos. Es cualquier fenotipo molecular, oriundo de la expresión de un gen, como es el caso de las isoenzimas o de segmentos específicos de DNA (correspondiente a regiones expresadas o no del genoma), que puede ser detectado y su herencia monitoreada (Ferreira y Gattapaglia, 1998).

Polimorfismos de DNA.

- Variaciones, más o menos complejas en la secuencia de ADN.
- Varios eventos pueden producir polimorfismo.
- Mutaciones puntuales.
- Inserciones o deleciones.
- Nuevos arreglos.

Un marcador es polimórfico cuando existen distintas variantes o “alelos” del marcador dentro de la población bajo estudio.

Estos marcadores Moleculares pueden ser:

Proteínas

- Isoenzimas

ADN.

- RFLP (Random Fragments Length Polymorphism)
- PCR-RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA)
- AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphism)
- Minisatélites o VNTR
- Microsatélites o SSR (Simple Sequence Repeats)

Clasificación de los Marcadores Moleculares.

- Basados en electroforesis de proteínas (Alozimas).
- Basados en hibridación de sondas “Southern Blot” (RFLP y Minisatélites o VNTR).
- Basados en PCR (PCR-RFLP, RAPD, AFLP, SSR o Microsatélites).

Marcadores Moleculares con base en electroforesis de proteínas.

Isoenzimas.

Grupo de múltiples formas moleculares de la misma enzima presentes en una especie, como resultado de la presencia de más de un gen codificado para cada una de las enzimas (Moss, 1982)

Desempeñan la misma actividad catalítica pero pueden tener diferentes propiedades cinéticas. Su diferente estructura y carga eléctrica hace que presenten distinta movilidad electroforética en geles de almidón. Modo de herencia codominante.

Ventajas de las isoenzimas.

- Simplicidad.
- Mínima cantidad de material en estudio
- Altamente reproducible.
- Bajo costo.

- Codominante, lo que permite hacer comparaciones entre especies, poblaciones de una misma especie y detectar la presencia de híbridos.

Desventajas de las isoenzimas.

- No es capaz de detectar suficiente polimorfismo al presentar pocos alelos por locus, especialmente cuando la base genética es estrecha (entre variedades o especies próximas).
- Pueden no reflejar los cambios genéticos que ocurren en el DNA, además sólo un set de genes estructurales están representados en estas proteínas, es decir, sólo parte del genoma se puede evaluar.

Marcadores basados en hibridación de sondas VNTR.

VNTRS (Número Variable de Repeticiones en Tandem). Existen dos tipos de VNTRs los llamados Minisatélites y los Microsatélites (SSR. Secuencias únicas repetidas o STR. Repetidos en Tandem simples). Estos marcadores difieren en el tamaño de la secuencia que se repite (entre 15 y 100pb en los minisatélites o entre 1 y 4pb en los microsatélites). Los VNTRs se encuentran presentes en todos los genomas de los animales y plantas, aunque son menos frecuentes en los microorganismos.

MINISATÉLITES.

Estos marcadores fueron los primeros VNTR estudiados en ellos, la secuencia repetida no siempre es idéntico y su uso fue inicialmente para pruebas de paternidad por DNA fingerprinting. Esta es una metodología multilocus, es decir se detectan muchos loci que poseen el minisatélite a la vez, pero no se sabe en qué región del genoma se encuentran. La muestra de DNA genómico de cada individuo es digerida con enzimas de restricción, nuevamente los fragmentos son separados por tamaño en una electroforesis, transferidos a una membrana e hibridados con sondas, que en este caso, corresponden al motivo del minisatélite (southern blot). El producto final del DNA fingerprint es un patrón de bandas que es específico de un individuo (normalmente entre el 15 al 20% de las bandas son compartidas

por dos individuos debido al azar). Las bandas reveladas por esta técnica tienen un patrón de herencia mendeliana, pues en promedio la mitad de las bandas son derivadas de cada progenitor. Al igual que el RFLP los minisatélites han perdido popularidad respecto de los microsátélites debido a las dificultades técnicas en desarrollarlos.

- Secuencias de DNA repetidas una al lado de la otra (motivo repetido de 15 a 100 pb).
- Técnicamente es muy similar a los marcadores RFLP, sin embargo, difiere en la naturaleza de la sonda.
- En este caso se hibrida una sonda que es homóloga a la secuencia del motivo central del minisatélite.
- El polimorfismo detectado se debe a diferencias en el número de repeticiones.
- Es una metodología multi-locus (DNA fingerprint).

Ventajas

- Muchas de las sondas son “universales” y se pueden utilizar en una amplia gama de organismos.
- Se puede lograr amplia cobertura del genoma.
- Se puede desarrollar un número ilimitado de marcadores.
- Es posible reutilizar las membranas de hibridación abaratando los costos.

Desventajas

- Es una metodología laboriosa de desarrollar.
- Debe tenerse algún conocimiento previo del genoma del organismo bajo estudio para la construcción de sondas.
- Requiere personal altamente entrenado.
- Instalaciones adecuadas para manipular y disponer del material radioactivo.

MICROSATÉLITES.

Este tipo de marcadores son más polimórficos que los minisatélites y poseen la ventaja que pueden ser analizados por PCR. En la amplificación por PCR de los microsátélites, los

partidores utilizados se ubican en las regiones genómicas que rodean el microsatélite propiamente dicho. Por lo tanto, estos marcadores son especie específicos puesto que las secuencias flanqueantes varían de una especie a otra. La metodología consiste en utilizar partidores específicos (obtenidos de otros estudios o desarrollados por uno mismo) para amplificar el microsatélite por PCR, hacer electroforesis en geles de poliacrilamida de las muestras amplificadas y teñir los fragmentos con una técnica con plata. Actualmente, el análisis de los microsatélites se puede realizar en un secuenciador automático marcado uno de los partidores con un fluoróforo que emite una coloración específica que permite identificar los alelo del microsatélite con precisión. Los marcadores microsatélites muestran un patrón de herencia codominante, es decir siempre se puede identificar los individuos heterocigotos.

- Son secuencias repetidas en tandem en la que le motivo repetido fluctúa entre 1 y 4 nucleótidos.
- Para el PCR se utilizan partidores específicos que son complementarios a las secuencias que flanquean el microsatélite, normalmente son especie específicos.
- El polimorfismo detectado se debe a diferencias en el número de repeticiones.
- Los marcadores son de tipo codominante y la técnica es de locus único.
- Las regiones repetidas son variables entre las muestras, mientras que las regiones flanqueantes donde los primer de la PCR se unen, son constantes.

Por qué se prefieren los STRs como marcadores genéticos:

- Son altamente variables dentro de varias poblaciones.
- Son los que contienen el más elevado contenido de información polimórfica.
- Son muy frecuentes y están distribuidos al azar, lo que permite la cobertura total de cualquier genoma.
- El PCR permite el uso de pequeñas cantidades de ADN (1ng de ADN total).
- Son codominantes.

Marcadores basados en PCR.

Atributos de los marcadores basados en PCR.

- Para la PCR se puede usar bajas cantidades de ADN (incluso se puede usar ADN degradado) y se pueden seleccionar regiones específicas de ADN.
- Los primer usados para la PCR que amplifican regiones homólogas sobre un amplio rango taxonómico generan datos comparables directamente, facilitando de este modo el análisis
- El DNA se puede extraer desde material viejo, se pueden coleccionar y almacenar las muestras.

AFLP. Amplified Fragment Length Polymorphism.

(Polimorfismo de Longitud de Fragmentos Amplificados)

- Marcadores moleculares basados en la amplificación arbitraria (o semi-arbitraria) del ADN.
- Etapas para la obtención de marcadores AFLP.
- Digestión con MseI (4pb) y Eco RI (6pb).
- Ligación de adaptadores.
- Preamplificación con oligos complementarios.
- Amplificación con oligos selectivos.
- Detección (Electroforesis).

Origen del Polimorfismo de los AFLP's.

Resulta de mutaciones de punto, inversiones, deleciones e inserciones que llevan a:

- Pérdida o ganancia de un sitio de restricción.
- Alteración de la secuencia reconocida por los iniciadores.

Son marcadores dominantes. No es posible distinguir si una banda en un gel es el resultado de la amplificación de uno o dos alelos.

Ventajas de los AFLP's.

- Anónimos: No requieren conocimiento previo del genoma.
- Número ilimitado de marcadores.
- Polimorfismo elevado.
- Analizan todo el genoma.
- Altamente reproducibles.
- Versátiles, distintas enzimas e iniciadores selectivos.

Desventajas de los AFLP's.

- Herencia dominante (algunos investigadores hacen lectura cuantitativa por densitometría).
- Bajo contenido de información genética por locus.
- Medianamente laborioso.
- Costo medio.

RFLP. Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción.

Idealmente la detección de polimorfismos a nivel del DNA requiere determinar la secuencia exacta de nucleótidos, pero aun la secuenciación de segmentos de DNA de varios kilobases es laboriosa y costosa, aunque el costo está decayendo exponencialmente con la aparición de nuevos equipos cada vez más eficientes. Sin embargo, a un nivel de resolución más grueso se pueden usar clones de las regiones génicas de interés como sondas para Southern Blot luego de digerir el DNA blanco con endonucleasas de restricción. De modo que, el DNA genómico es aislado, cortado con enzimas de restricción, posteriormente los fragmentos separados por tamaño en una electroforesis, transferidos a una membrana e hibridados con sondas (normalmente radioactivas) de la región genómica de interés (Southern Blot). La mayoría de los estudios de RFLP usan endonucleasas de restricción que reconocen secuencias de seis nucleótidos, estas enzimas cortan en promedio una vez cada 4096 pb, produciendo fragmentos de DNA que son fácilmente resueltos en electroforesis en gel de agarosa. Para revelar polimorfismos en una escala más fina se debe cortar el DNA con enzimas de restricción que reconocen secuencias de cuatro nucleótidos. Actualmente este tipo

de marcadores tiene un uso limitado debido a su complejo nivel de desarrollo en relación con los marcadores basados en PCR.

PCR-RFLP.

Esta metodología combina la amplificación por PCR de una secuencia conocida de DNA (un locus) usando partidores específicos, seguido de la digestión del amplificado con enzimas de restricción que permiten cortar el fragmento amplificado en algunos individuos y no en otros, detectando el polimorfismo. Éste revelado en electroforesis en gel de agarosa al ser teñido con bromuro de etidio.

RAPD. Amplificación Aleatoria de Fragmentos Polimórficos de DNA.

En un ensayo de RAPD se utiliza un sólo partidador de secuencia arbitraria (típicamente de 10 bases o 10-mer) para realizar un PCR (en un PCR ordinario se usan dos partidores). Los partidores son diseñados para contener un porcentaje de G+C de 50 a 70%. Estos partidores se unen a sitios complementarios presentes en el DNA genómico bajo estudio, si dos partidores se unen en sitios presentes en hebras opuestas, dentro de una distancia amplificable (normalmente de 2500 bases) se amplifica un fragmento discreto. El número de fragmentos amplificados varía entre 1 y 10 por partidador, cada fragmento corresponde a un locus donde en algunos individuos hay amplificación y en otros no la hay, no se puede distinguir el homocigoto del heterocigoto por lo tanto se detectan como marcadores dominantes.

Ventajas

- No hay sesgo en la parte del genoma usado.
- Muchos loci (lugares).
- No se requiere mucho AND.
- Puede usar primers en cualquier organismo.
- Potencial de aplicabilidad en un rango grande de preguntas.

Desventajas

- Suponemos codominancia pero se observa herencia no Mendeliana.
- No detectamos heterocigotos.
- Dificultad en repetir.
- No entendemos la fuente de diferencias en intensidad de bandas.

MATERIAL Y MÉTODOS.

MORFOMETRÍA.

Las medidas morfométricas se realizaron al momento de tomar las imágenes para el análisis de coloración, utilizando una cinta métrica fija sobre una mesa y un vernier. Las medidas que se realizaron son las siguientes:

Cabeza.

Corona.

Ancho del Cráneo.

Alto del Cráneo.

Largo del Pico.

Ancho de la Cera.

Cuerpo.

Altura.

Largo a la base del Timón.

Alas.

Envergadura.

Largo de Ala.

Patas.

Perímetro del Tarso.

Largo del Tarso.

Largo del Halux.

PATRÓN DE COLORACIÓN.

Adquisición de Imágenes.

Se utilizó una Cámara Digital a Color (CDC) Nikon ColdPix L2, (3X de zoom óptico y 8X de zoom digital) estuvo localizada verticalmente frente a las aves. Las imágenes de dos lados del ave fueron tomadas en un fondo blanco mate manteniendo constante los parámetros de captura de la cámara (zoom, brillo, contraste, nivel de exposición, resolución etc.). Las imágenes fueron almacenadas en formato de mapa de bits (JPEG) tipo RGB de 24 bits, con una resolución de 2816 x 2112 píxeles. Las imágenes fueron transferidas posteriormente a través de un puerto serial a una Laptop (Compaq Presario 5363) con un procesador AMD-K6 a 450 MHz y 312 MB en RAM.

Procesamiento de Imágenes.

De las imágenes obtenidas, se separaron los píxeles correspondientes al ave del resto de la imagen, utilizando la herramienta de selección “varita mágica” del programa Corel Photo Paint 10 de Corel Corporation y Corel Corporation Limited, guardando las imágenes en formato de mapa de bits (BMP) tipo RGB de 24 bits con la misma resolución.

Para la obtención del porcentaje de entropía y dimensión fractal, las imágenes se transformaron a escala de grises (0 – 255) de 8 bits utilizando el programa ImageJ v1.34s (National Institutes of Health, USA/), mientras que por otra parte se separaron en sus respectivos canales RGB, tras la utilización del comando “Type RGB Stack de ImageJ, donde se extrajeron parámetros solo del canal verde. Lo anterior con la finalidad de hacer una comparación entra las mediciones obtenidas en los dos espacios, de luz monocromática y RGB, respectivamente.

En el caso de la obtención de color digital se transformaron las coordenadas espaciales RGB de 24 bits a coordenadas CIE L*a*b* (Papadakis S. y col., 2000) utilizando el programa Adobe Photoshop v6.0 (1989-2000 Adobe Systems Incorporated).

Para la etapa de segmentación se utilizaron métodos basados en umbral (Thresholding) (Sun y Du, 2004), cabe mencionar que solo el porcentaje de área oscurecida y el color digital necesitan de esta etapa, ya que la entropía y la dimensión fractal por ser parámetros texturales, son medidos de forma matricial en toda la imagen y no en un objeto seleccionado o extraído de ella (Haralick y col. 1973).

Entropía y Dimensión Fractal.

A partir de las imágenes en escala de grises y canal verde obtenidas anteriormente, se midió la entropía de la imagen en dirección 0°, aplicando el plug-in “GLCM Texture” (Cabrera J., 2005) de ImageJ.

Para el cálculo de la dimensión fractal se empleó el plug-in “MapFractalCount” (Henden P., 2004) con la opción “include subgraph” seleccionada, de ImageJ. Este plug-in está basado en el Método de Conteo de Cajas (MCC) propuesto por Chen Wen y col. (2003), donde la imagen es dividida en volúmenes (cajas) virtuales de tamaño r , en tanto el programa realiza el conteo del número de cajas interceptadas (N_r), el algoritmo es iterado disminuyendo el tamaño de caja. La dimensión fractal obtenida a través de este método se determina a partir de la pendiente obtenida de la regresión lineal por mínimos cuadrados del gráfico logarítmico de N_r vs. $1/r$.

Color Digital.

Siguiendo la metodología empleada por Papadakis S. y col. (2000), se utilizó el comando “Histograma” de Adobe Photoshop v6.0 para el cálculo de los valores de L, a y b (Coordenadas de color). Debido a la dificultad de transportación de grandes cantidades de datos, de Adobe a cualquier otro software, para su análisis, se propusieron 2 formas alternativas de medición del color digital, en ImageJ, cuya interfaz de exportación de datos es más sencilla:

- Plug-in “Color Space Converter” (Schwartzwald, 2006), que convierte y separa (en imágenes diferentes), imágenes entre varios espacios de color.
- Plug-in “RGB to CIE L*a*b* Stack” (Sacha, 2004), convierte una imagen RGB en CIE L*a*b* y además la separa en sus correspondientes stacks.

Tras estas operaciones, las imágenes resultantes aparecen en escala de grises, con valores de intensidad de luz monocromática equivalentes a los valores de la coordenada deseada. Subsecuentemente se midieron estos valores con el comando “Measure”, que proporciona, entre otras cosas, un valor promedio de la intensidad de luz monocromática (0 – 255) de un área seleccionada.

ANÁLISIS GENÉTICO.

Se utilizaron 200 μ l de sangre de las subespecies disponibles de aguililla de Cola Roja (*Buteo jamaicensis spp*) en cautiverio, provenientes del CIVS “Los Reyes”, de la SEMARNAT. La procedencia de los ejemplares utilizados en este estudio, es desconocida, debido a que en su mayoría son *entregas voluntarias* de particulares o decomisos realizados por PROFEPA (Procuraduría Federal de Protección al Ambiente) y PGR (Procuraduría General de la República).

Aislamiento de DNA.

Se aisló el ADN utilizando 200 μ L de sangre, con el kit para extracción de DNA QiAmp DNA Mini and Blood kit de Qiagen Sample & Assay Technologies (Cat. #51104), obteniendo 200 μ L (50 ng/ μ L de DNA) por muestra, según el protocolo del kit.

Los 200 μ L de DNA extraído, se purificaron con el kit Wizard SV Gel and PCR Clean-up System de Promega (Cat. #A9281).

AFLP's

La metodología de AFLP se realizó mediante al protocolo de Vos et al. (1995), adaptado para trabajo no radioactivo. Se utilizaron seis combinaciones de partidores de AFLP: EcoRI-AGC/MseI-CTG; EcoRI-ACA/MseI-CAG; EcoRI-ACC/MseI-CAA; EcoRI-ACC/MseI-CAT; EcoRI-ACT/MseI-CAC y EcoRI-AGG/MseI-CTT., esto permite detectar equivalentes (en torno al 30%) de bandas polimórficas, lo que puede permitir realizar una selección de los partidores más informativos, aumentando así la eficiencia del método de una forma arbitraria. Esta elevada heterogeneidad genética entre especies y específicamente subespecies de aves podría explicarse, en parte, por los orígenes muy diversos de los progenitores.

Digestión de ADN genómico. La digestión de ADN se realizó en un volumen de reacción de 25 μ L con una concentración de ADN de 250 h g, 5x de tampón de reacción; 1 unidad (u) de cada enzima de restricción (EcoRI y MseI) y agua destilada. La reacción se incubó a 37° C por 2 h.

Ligación de los adaptadores. La reacción de ligación de adaptadores se realizó con los 25 μ L de ADN digerido, 24 μ L de solución de ligamiento de adaptadores y 1 μ L de ADN ligasa T4, se incubó a 20 °C por 2 h.

Reacción de Pre-amplificación (ADN+1). Se diluyó la mezcla digerida con los adaptadores ligados en una proporción de 1:10 con el tampón TE pH. 8,0. La reacción de pre-amplificación se realizó con 5 μ L (ADN 1:10), 40 μ L de partidores de pre-amplificación, 5x de tampón de PCR para AFLPs y 1 U de Taq ADN polimerasa. Esta reacción se amplificó bajo las siguientes condiciones: 20 ciclos de 94° C por 30 s, 56° C por 60 s y 72° C por 60 s. El producto de amplificación se verificó en un gel de agarosa 1.5%. El ADN+1 amplificado se diluyó en una proporción 1:50 en el tampón TE pH 8,0 (Vos y col., 1995).

Amplificación selectiva. Se prepararon dos mezclas, la primera mezcla con 0,5 μ L del partidador EcoRI (+3) y 4,5 μ L del partidador MseI (+3), lo que dio un volumen de 5 μ L. La segunda mezcla con 1x tampón de PCR, 1 μ L de Taq ADN polimerasa y se complementó con un volumen de 10 μ L de agua estéril. Ambas se mezclarán con 5 μ L de ADN+1 (diluído). Esta reacción se amplificó bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo de 94° C por 30 s, 65° C por 30 s y 72° C por 60 s, y 25 ciclos a 94° C por 30 s, 56° C por 60 s y 72° C por 60 s. Al producto

amplificado se le agregó tampón de carga y se desnaturalizó a 90° C por 3 min., manteniéndose las muestras en hielo hasta cargar el gel (Vos y col., 1995).

Los fragmentos se separaron por electroforesis en gel de Agarosa 2%, utilizando un marcador de peso molecular Ladder 100 y búfer de carga Blue/Orange (Promega Corp.), teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20. Los fragmentos de restricción se compararon por la distancia de migración en el gel.

Amplificación por PCR.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en volúmenes de 25 µl. Se utilizó un termociclador marca Nyxtechnik Inc. ATC201, 2.0 µl de DNA, 5.0 µl de buffer PCR, 2.0 µl de una mezcla de dNTP's (desoxinucleótidos trifosfatados) (10 mM cada uno), 0.3 µl de cada oligo (10 ng), 0.2 µl de enzima Taq DNA polimerasa (5 unidades/ µl), y 8.8 µl de agua miliQ (España et al. 2008). La región ITS I 5'-CAAGGTTTCCGTAGGTG-3' localizado en la región 5.8S y y para la región ITS II 5'-CGCTTATTGATATGCTT-3' localizado en la región 28S. El programa térmico usado fue de 3 min. a 95°C seguidos por 33 ciclos de 45 s a 92°C, 45 s a 53°C, y 45 s a 72°C con 3 min. a 72°C después del último ciclo. Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa 1.5%, con un marcador de peso molecular DNA Ladder 100 (Promega Corp. Cat. # G210A). Los geles fueron teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20 (Panasonic Corporation).

Análisis de restricción.

Análisis 1. El análisis se realizó con la enzima EcoRI (Promega Corp.). Las digestiones se realizaron en volúmenes de 20 µl conteniendo 15 µl de producto de PCR, 2 µl de bufer de restricción, 0.1 mg/ml de albúmina de suero de bovino (BSA) y 1 µl de enzima. Las reacciones se incubaron a 37°C durante 4 hr. Los fragmentos se separaron por electroforesis en gel de Agarosa 1.8%, utilizando un marcador de peso molecular Ladder 100 y búfer de carga Blue/Orange (Promega Corp.), teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un

transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20. Los fragmentos de restricción se compararon por la distancia de migración en el gel.

Análisis 2. Se realizó otro análisis con la enzima Hinf I (Promega Corp.). Las digestiones se realizaron en volúmenes de 20 μ l conteniendo 15 μ l de producto de PCR, 2 μ l de bufer de restricción, 0.1 mg/ml de albúmina de suero de bovino (BSA) y 1 μ l de enzima. Las reacciones se incubaron a 37°C durante 4 hr. Los fragmentos se separaron por electroforesis en gel de Agarosa 1.5%, utilizando un marcador de peso molecular Ladder 100 y búfer de carga Blue/Orange (Promega Corp.), teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20. Los fragmentos de restricción se compararon por la distancia de migración en el gel.

Análisis 3. Se realizó otro análisis con la enzima Hind III (Promega Corp.). Las digestiones se realizaron en volúmenes de 20 μ l conteniendo 15 μ l de producto de PCR, 2 μ l de bufer de restricción, 0.1 mg/ml de albúmina de suero de bovino (BSA) y 1 μ l de enzima. Las reacciones se incubaron a 37°C durante 4 hr. Los fragmentos se separaron por electroforesis en gel de Agarosa 2%, utilizando un marcador de peso molecular Ladder 100 y búfer de carga Blue/Orange (Promega Corp.), teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20. Los fragmentos de restricción se compararon por la distancia de migración en el gel.

Análisis 4. Se realizó otro análisis con las enzimas Hind III, BamH I, Alu I (Promega Corp.). Las digestiones se realizaron en volúmenes de 20 μ l conteniendo 15 μ l de producto de PCR, 2 μ l de bufer de restricción, 0.1 mg/ml de albúmina de suero de bovino (BSA) y 1 μ l de cada enzima. Las reacciones se incubaron a 37°C durante 4 hr. Los fragmentos se separaron por electroforesis en gel de Agarosa 2%, utilizando un marcador de peso molecular Ladder 100 y búfer de carga Blue/Orange (Promega Corp.), teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20. Los fragmentos de restricción se compararon por la distancia de migración en el gel.

Análisis 5. Se realizó otro análisis con las enzimas EcoR V, Xho I, Xba I (Promega Corp.). Las digestiones se realizaron en volúmenes de 20 μ l conteniendo 15 μ l de producto de PCR, 2 μ l de bufer de restricción, 0.1 mg/ml de albúmina de suero de bovino (BSA) y 1 μ l de cada enzima. Las reacciones se incubaron a 37°C durante 4 hr. Los fragmentos se separaron

por electroforesis en gel de Agarosa 2%, utilizando un marcador de peso molecular Ladder 100 y búfer de carga Blue/Orange (Promega Corp.), teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20. Los fragmentos de restricción se compararon por la distancia de migración en el gel.

RAPD'S.

La reacción se realizó en volúmenes de 25 μ l. Se utilizó un termociclador marca Nyxtechnik Inc., 4.0 μ l de DNA, 5.0 μ l de buffer PCR, 2.0 μ l de una mezcla de dNTP's (desoxinucleótidos trifosfatados, 10 mM cada uno, 0.3 μ l de cada oligo 10 ng), 0.2 μ l de enzima Taq DNA polimerasa (5 unidades/ μ l), 2.0 μ l de Primer 7 B-11 (Promega Corp.) y 9.8 μ l de agua miliQ. El programa térmico usado fue de 3:50 min. a 94°C seguidos por 40 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 35°C, y 1:30 min. a 72°C con 5 min. a 72°C después del último ciclo. Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa 1.5%, con un marcador de peso molecular DNA Ladder 100 (Promega Corp), y búfer de carga Blue/Orange (Promega Corp.). Los geles fueron teñidos con bromuro de etidio, visualizados en un transiluminador de luz UV y fotografiados con una cámara Lumix FS20(Panasonic Corporation).

Análisis de los datos. El análisis de imágenes se realizó con un Analizador de imágenes EpiChem Darkroom, Biochem System, BioImagen. La evaluación de la distancia de migración de las bandas desde el origen y el análisis densitométrico de las bandas, se realizó un análisis cualitativo, mediante la presencia o ausencia de bandas, con el programa de computación NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate System), versión 1.70 (Rohlf F., 1992).

RESULTADOS

Para los análisis estadísticos se utilizaron, Análisis de Componentes Principales (ACP), pruebas de Normalidad y las estadísticas descriptivas con el Programa XLSTAT V. 9.0.

Para el Análisis de Normalidad, se utilizaron las pruebas Shapiro-Wilk y Anderson-Darling. En estas pruebas, las variables muestran una distribución Normal, excepto en: Perímetro del tarso y Largo del tarso. Estas variaciones, son atribuibles, a que tanto el largo como el perímetro (grosor) del tarso, es mayor en las hembras, ya que éstas son de mayor tamaño que los machos, aunque en muchos casos, existan hembras pequeñas y machos grandes, el tarso es la principal característica de diferenciación en éstas aves.

Análisis Morfométrico.

Estadísticas Descriptivas.

Variable	Observaciones	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
Corona	16	58.000	65.000	60.708	2.053
An_Crán	16	42.000	59.000	50.083	3.450
Al_Crán	16	34.000	50.000	41.667	4.040
Lar_Pico	16	16.000	41.000	32.458	7.846
An_Cera	16	9.000	20.000	15.250	3.745
Altura	16	400.000	530.000	471.250	37.569
L_b_Tim	16	200.000	370.000	261.250	34.429
Enverg	16	980.000	1300.000	1146.667	84.476
La_Ala	16	130.000	210.000	166.667	24.077
Pe_Tarso	16	9.000	18.000	11.708	2.493
La_Tarso	16	54.000	89.000	76.792	8.465
La_Halux	16	22.000	32.000	28.208	2.978

Tabla 1. Estadísticas descriptivas Morfometría.

Perímetro del Tarso.

Prueba de Shapiro-Wilk.

W	0.842
p-valor	0.010
alfa	0.05

H0: La muestra sigue una ley Normal.

Ha: La muestra no sigue una ley Normal.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación $\alpha=0.05$, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es menor que 1.03%.

Prueba de Anderson-Darling.

A ²	0.986
p-valor	0.010
alfa	0.05

H0: La muestra sigue una ley Normal.

Ha: La muestra no sigue una ley Normal.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación $\alpha=0.05$, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es menor que 0.98%.

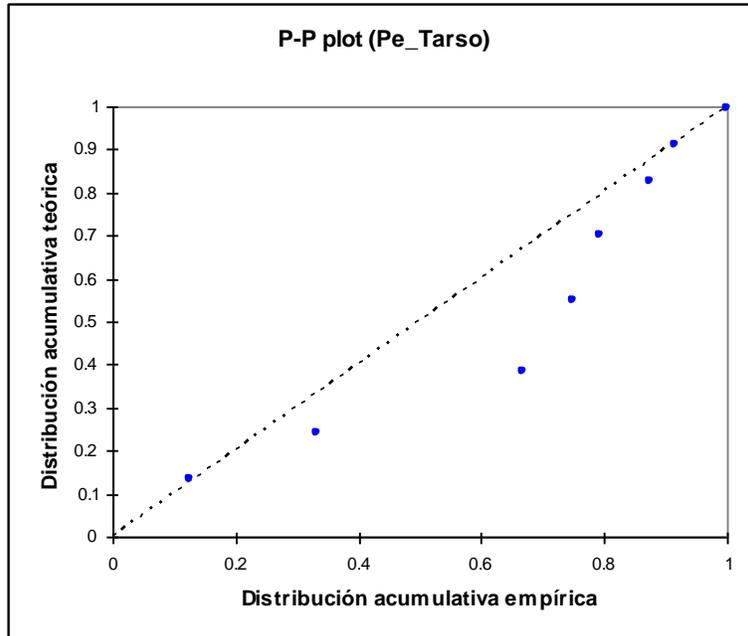


Grafico 1. Distribución de la variable Perímetro del Tarso.

Largo del Tarso.

Prueba de Shapiro-Wilk.

W	0.862
p-valor	0.021
alfa	0.05

H0: La muestra sigue una ley Normal.

Ha: La muestra no sigue una ley Normal.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación $\alpha=0.05$, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es menor que 2.08%.

Prueba de Anderson-Darling.

A ²	0.668
p-valor	0.066
alfa	0.05

H₀: La muestra sigue una ley Normal.

H_a: La muestra no sigue una ley Normal.

Como el p-valor calculado es mayor que el nivel de significación $\alpha=0.05$, se puede aceptar la hipótesis nula H₀.

El riesgo de rechazar la hipótesis nula H₀ cuando es verdadera es de 6.55%.

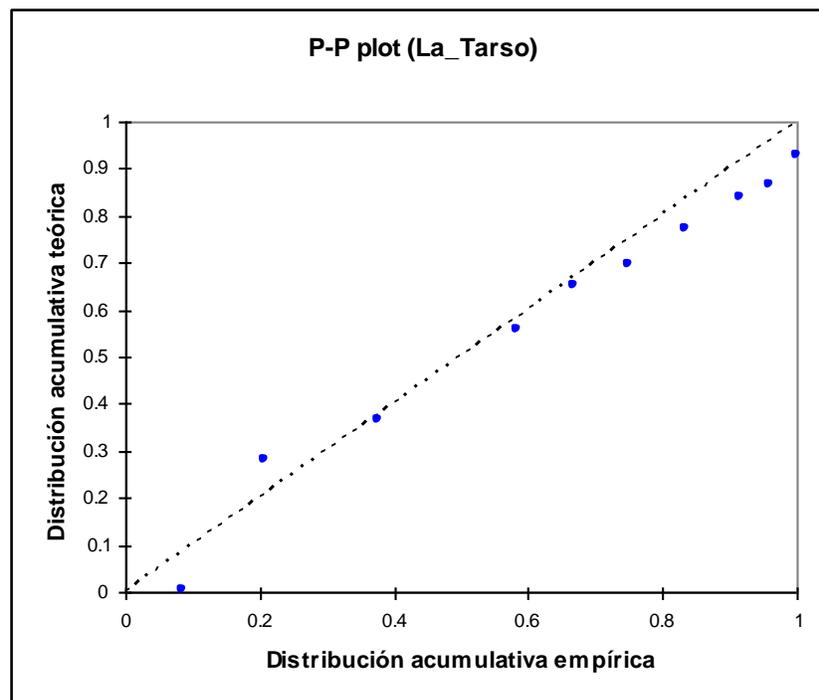


Grafico 2. Distribución de la variable Largo del Tarso.

Análisis de Coloración.

COLORACIÓN ESPALDA.

Análisis de Componentes Principales (ACP). XLSTAT 2009.1.02.

Tipo de ACP: Pearson (n).

Tipo de biplot: Biplot de correlación / Coeficiente = Automático

Estadísticas descriptivas.

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
Red_Md	15	0	15	42.193	189.110	131.901	38.958
Green_Md	15	0	15	39.687	162.612	113.321	32.599
Blue_Md	15	0	15	49.382	172.414	120.656	33.326
RGB_Md	15	0	15	43.647	171.774	121.932	34.145
Entropía	15	0	15	5.974	8.239	6.831	0.691

Tabla 2. Estadísticas descriptivas del ACP de Coloración Espalda.

Matriz de correlación (Pearson (n)).

Variables	Red_Md	Green_Md	Blue_Md	RGB_Md	Entropía	Dif_Frac	*L	*a	*b
Red_Md	1	0.976	0.843	0.969	0.097	0.271	0.348	0.005	-0.125
Green_Md	0.976	1	0.938	0.999	0.140	0.263	0.286	-0.091	-0.041
Blue_Md	0.843	0.938	1	0.950	0.233	0.238	0.140	-0.225	0.141
RGB_Md	0.969	0.999	0.950	1	0.159	0.265	0.269	-0.103	-0.013
Entropía	0.097	0.140	0.233	0.159	1	0.784	0.384	-0.096	0.697
Dif_Frac	0.271	0.263	0.238	0.265	0.784	1	0.744	0.075	0.290
*L	0.348	0.286	0.140	0.269	0.384	0.744	1	0.107	0.084
*a	0.005	-0.091	-0.225	-0.103	-0.096	0.075	0.107	1	-0.290
*b	-0.125	-0.041	0.141	-0.013	0.697	0.290	0.084	-0.290	1

Los valores en negrita son diferentes de 0 con un nivel de significación alfa=0.05

Tabla 3. Matriz de correlación de Pearson del ACP Coloración Espalda.

Análisis de Componentes Principales.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Valor propio	4.197	2.269	1.410	0.688	0.308	0.089	0.039	0.001	0.000
Variabilidad (%)	46.633	25.211	15.671	7.640	3.419	0.990	0.429	0.007	0.000
% acumulado	46.633	71.844	87.515	95.155	98.574	99.564	99.993	100.000	100.000

Tabla 4. Tabla de valores propios y variabilidad para el ACP de las variables de Coloración Espalda.

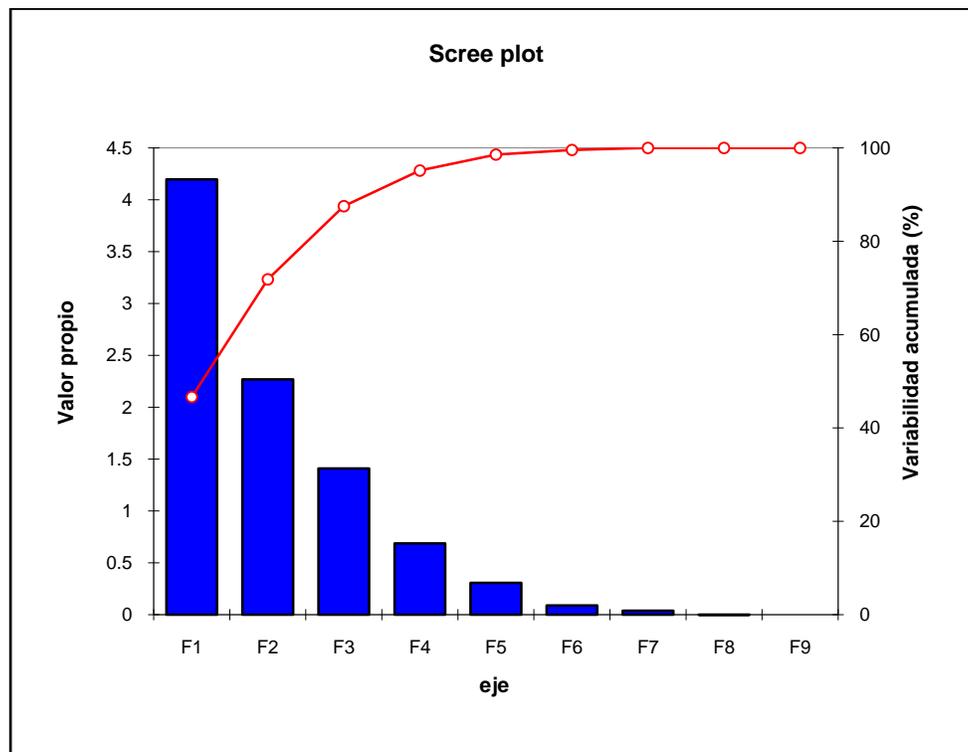


Gráfico 3. Valores Propios y variabilidad del ACP de Coloración Espalda.

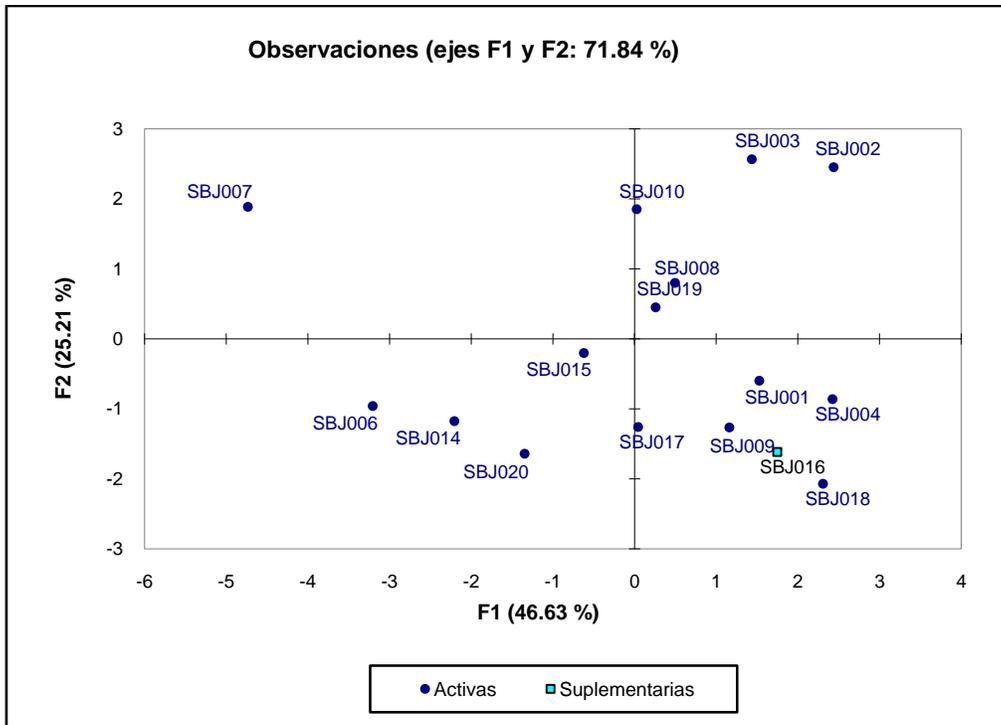


Gráfico 4. Coordenadas de las observaciones (muestras) del ACP de Coloración Espalda.

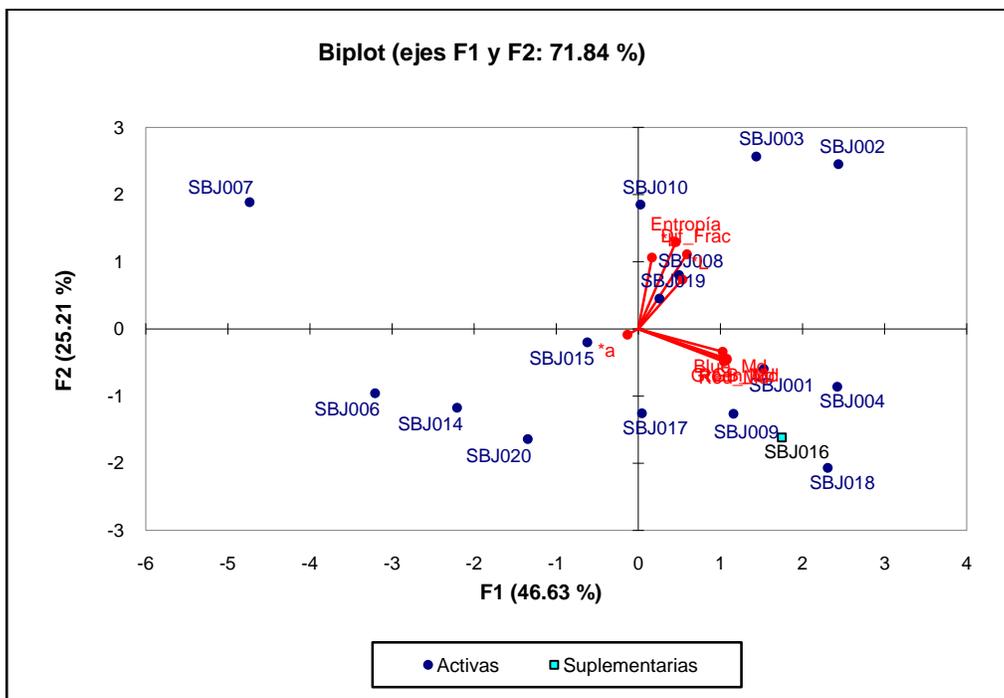


Gráfico 5. Coordenadas de las variables y las observaciones (muestras) del ACP de Coloración Espalda.

Pruebas de normalidad. XLSTAT 2009.1.02.

Nivel de significación (%): 5.

Estadísticas descriptivas.

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
<i>Red_Md</i>	16	0	16	42.193	189.110	132.715	38.310
<i>Green_Md</i>	16	0	16	39.687	162.612	113.607	31.913
<i>Blue_Md</i>	16	0	16	49.382	172.414	120.400	32.618
<i>RGB_Md</i>	16	0	16	43.647	171.774	122.213	33.423
<i>Entropía</i>	16	0	16	5.974	8.239	6.844	0.679

Tabla 5. Estadísticas descriptivas de la distribución de Coloración Espalda.

Coloración Frente.

Análisis de Componentes Principales (ACP). XLSTAT 2009.1.02

Tipo de ACP: Pearson (n)

Rotación: Varimax (Normalización de Kaiser) / Número de factores = 2

Tipo de biplot: Biplot de correlación / Coeficiente = Automático

Estadísticas descriptivas.

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
Red_Md	15	0	15	144.286	233.823	205.277	26.645
Green_Md	15	0	15	130.367	210.114	179.869	22.396
Blue_Md	15	0	15	132.145	214.104	171.479	23.971
RGB_Md	15	0	15	135.605	216.960	185.527	22.228
Entropía	15	0	15	5.416	9.071	6.882	0.771

Tabla 6. Estadísticas descriptivas Coloración Frente.

Matriz de correlación (Pearson (n)).

Variables	Red_Md	Green_Md	Blue_Md	RGB_Md	Entropía	Dim_Frac	*L	*a	*b
Red_Md	1	0.933	0.742	0.931	0.126	0.545	0.920	-0.385	0.077
Green_Md	0.933	1	0.929	0.999	0.357	0.720	0.944	-0.555	-0.049
Blue_Md	0.742	0.929	1	0.935	0.503	0.757	0.850	-0.581	-0.204
RGB_Md	0.931	0.999	0.935	1	0.348	0.707	0.947	-0.532	-0.063
Entropía	0.126	0.357	0.503	0.348	1	0.543	0.207	-0.235	0.011
Dif_Frac	0.545	0.720	0.757	0.707	0.543	1	0.668	-0.645	0.023
*L	0.920	0.944	0.850	0.947	0.207	0.668	1	-0.504	-0.028
*a	-0.385	-0.555	-0.581	-0.532	-0.235	-0.645	-0.504	1	0.273
*b	0.077	-0.049	-0.204	-0.063	0.011	0.023	-0.028	0.273	1

Los valores en negrita son diferentes de 0 con un nivel de significación alfa=0.05

Tabla 7. Matriz de correlación de Pearson del ACP Coloración Frente.

Análisis de Componentes Principales.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Valor propio	5.743	1.201	1.072	0.612	0.207	0.103	0.063	0.001	0.000
Variabilidad (%)	63.807	13.343	11.907	6.800	2.297	1.141	0.697	0.007	0.000
% acumulado	63.807	77.150	89.057	95.858	98.155	99.296	99.993	100.000	100.000

Tabla 8. Tabla de valores propios y variabilidad para el ACP de las variables de Coloración Frente.

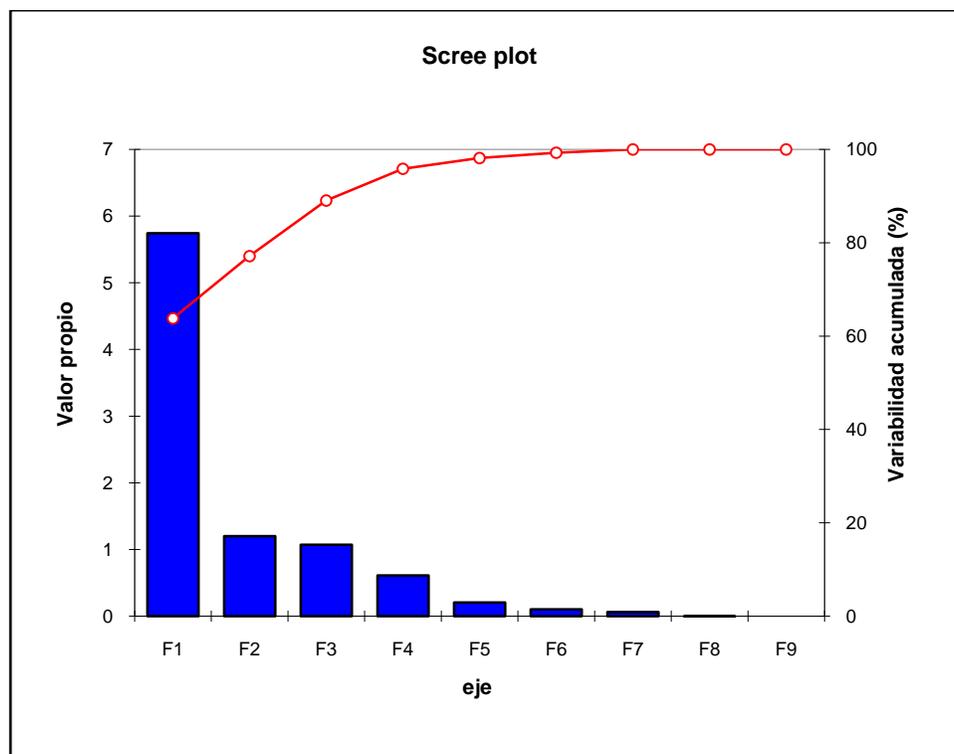


Gráfico 6. Valores Propios y variabilidad del ACP de Coloración Frente.

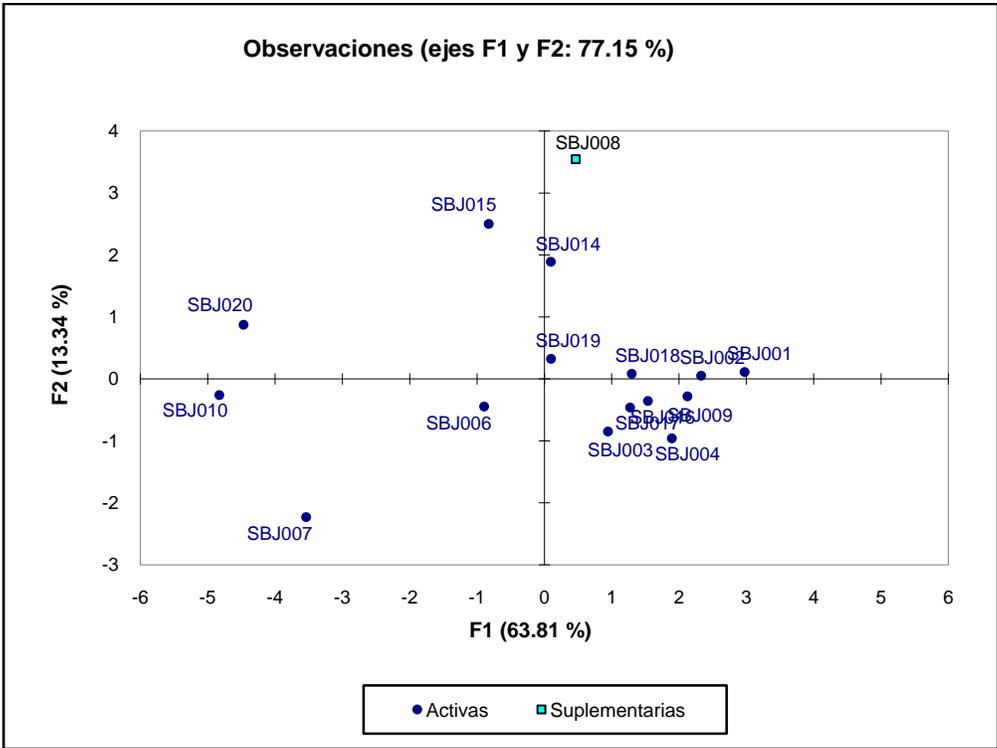


Grafico 7. Coordenadas de las observaciones (muestras) del ACP de Coloración frente.

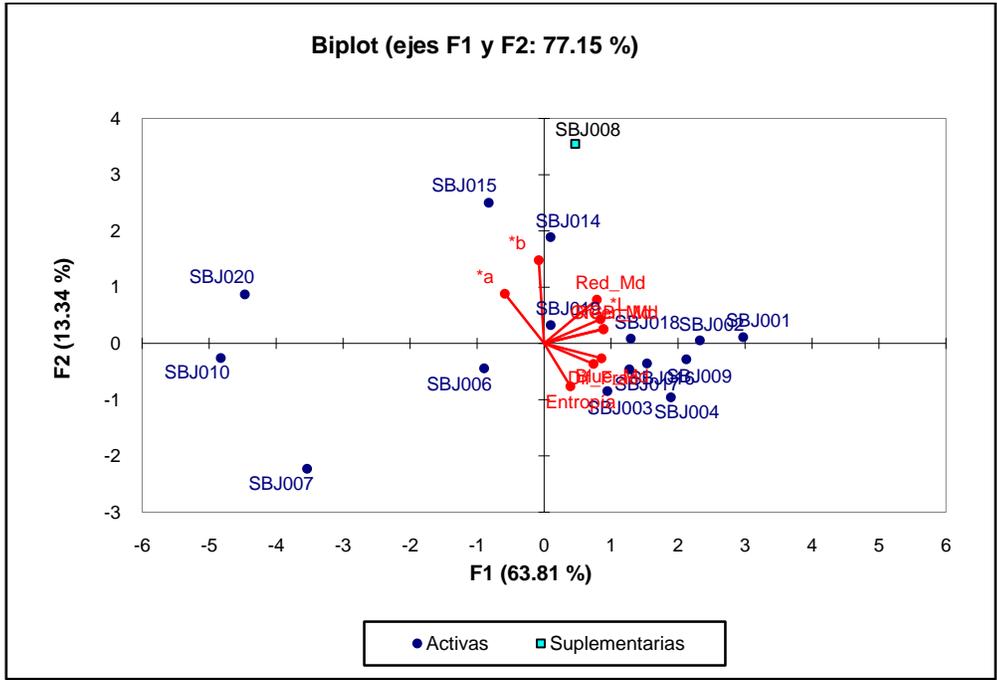


Grafico 8. Coordenadas de las variables y las observaciones (muestras) del ACP de Coloración frente.

Pruebas de normalidad_ XLSTAT 2009.1.02.

Nivel de significación (%): 5.

Estadísticas descriptivas.

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica
<i>Red_Md</i>	16	0	16	144.286	233.823	201.148	29.050
<i>Green_Md</i>	16	0	16	124.179	210.114	175.228	26.555
<i>Blue_Md</i>	16	0	16	119.062	214.104	167.111	27.270
<i>RGB_Md</i>	16	0	16	132.950	216.960	181.146	25.913
<i>Entropía</i>	16	0	16	5.416	9.071	6.849	0.746

Tabla 9. Estadísticas Descriptivas de la prueba de Normalidad de Coloración frente.

Análisis Genético.

AFLP'S.

Se realizó el análisis de AFLP'S, según el protocolo de Vos y col. (1995), sin obtener resultados. (Imagen 7)

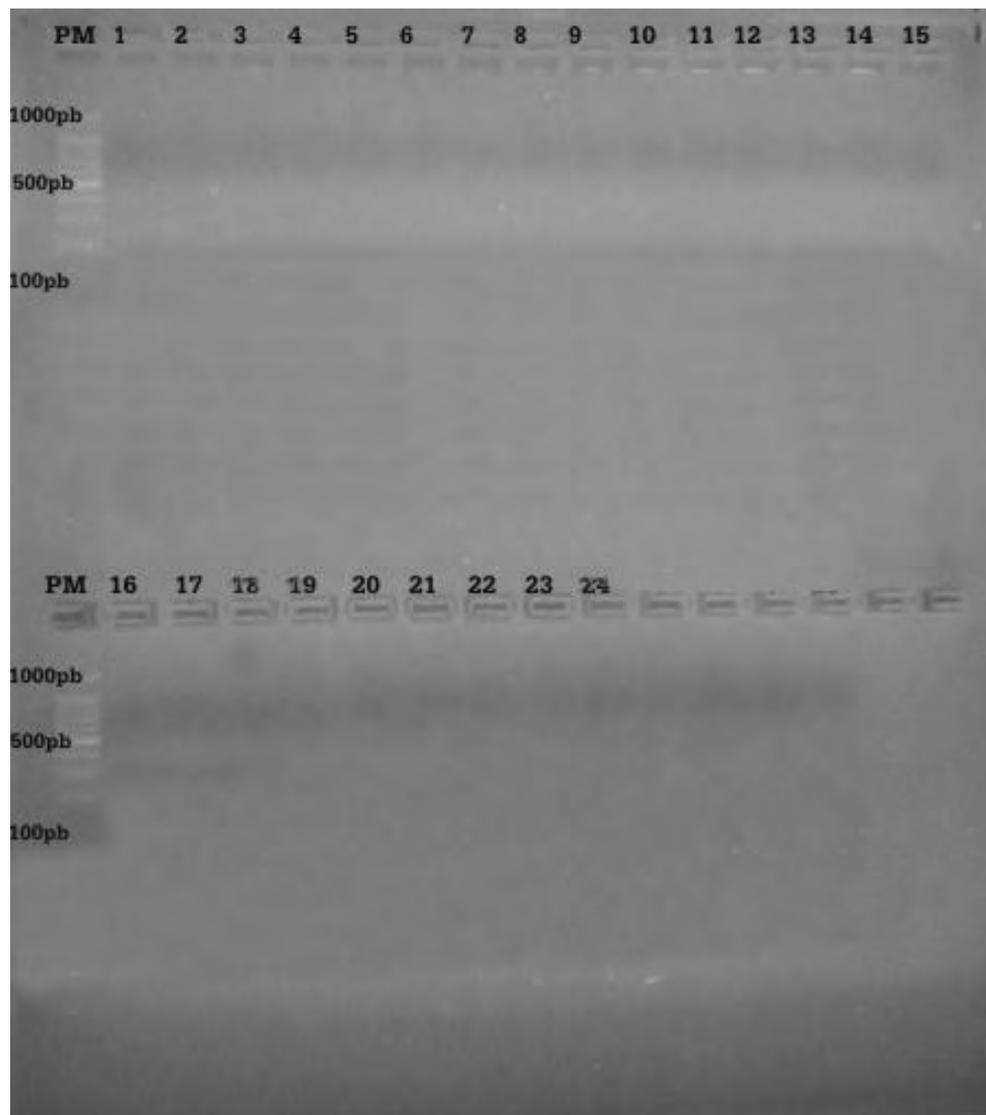


Imagen 2. Gel de agarosa 2% sin productos de amplificación. (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

Amplificación por PCR.

En la amplificación por PCR con las secuencias ITS1 e ITS2 se obtuvieron productos amplificados con un tamaño de 570 y 107pb. (Imagen 8)

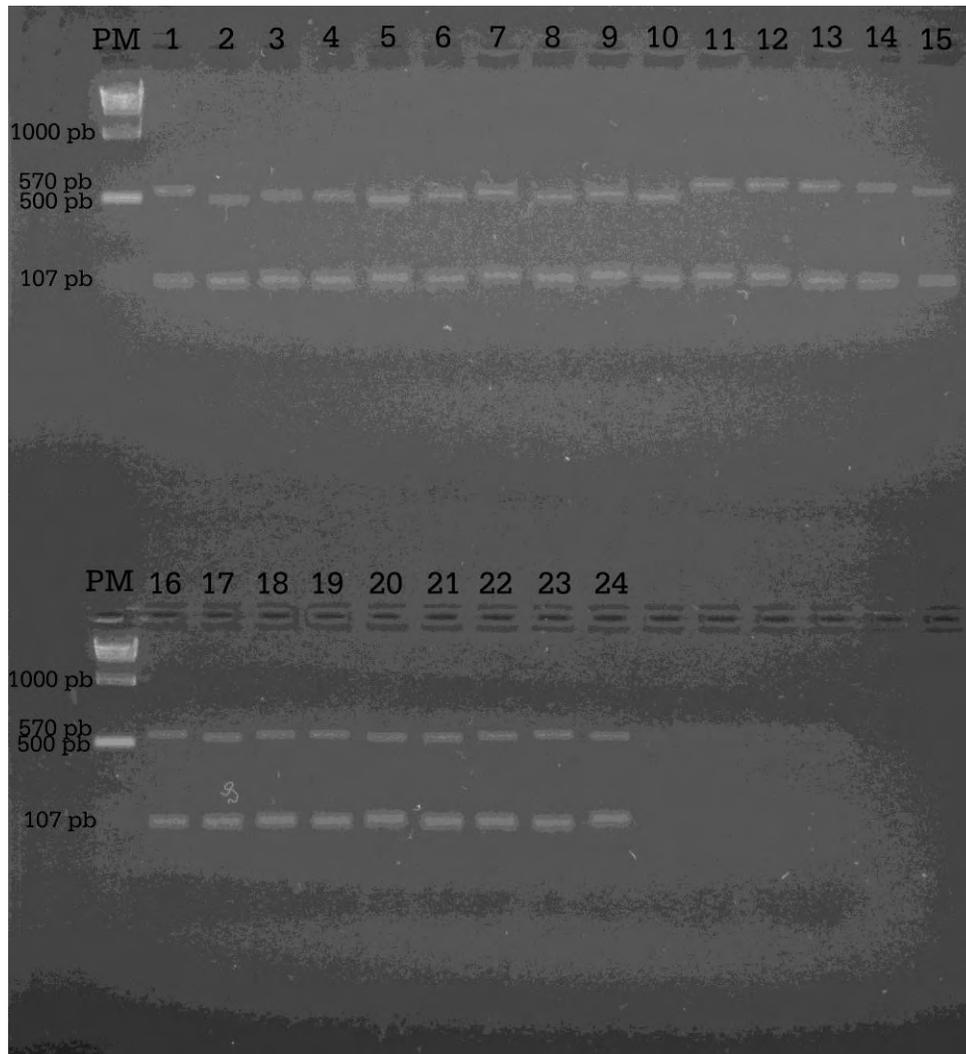


Imagen 3. Gel de agarosa 2%, productos de amplificación con ITS 1-2. Los productos tienen un tamaño de 570 y 107pb. (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

Análisis de Restricción.

En el primer análisis de restricción, con la enzima EcoRI, se obtuvieron productos amplificados con un tamaño de 107pb. (Imagen 9)

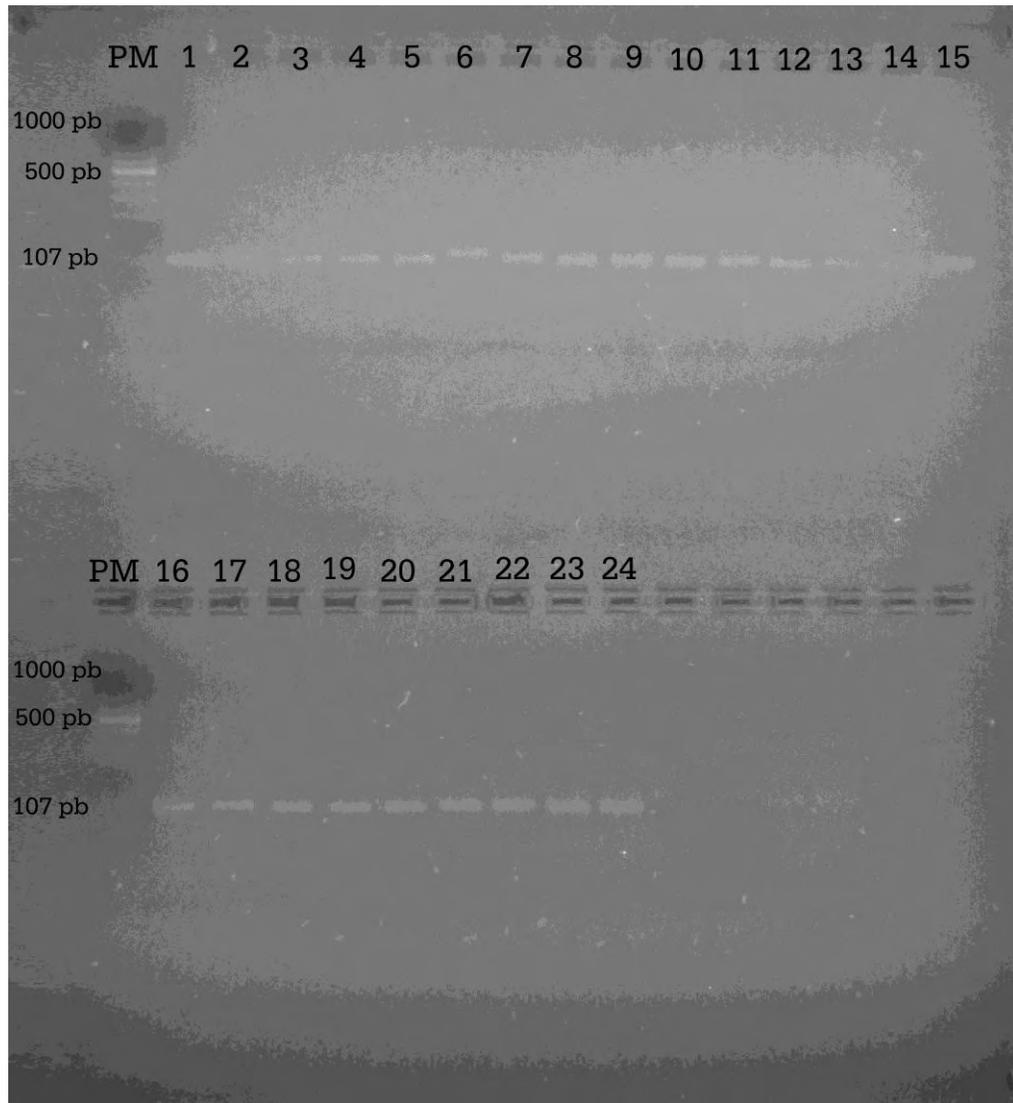


Imagen 4. Gel de agarosa 1.8%, productos de amplificación obtenidos con el corte de la enzima EcoRI. Los productos tienen un tamaño de 107pb. (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

En el segundo análisis de restricción, con la enzima HinfI, se obtuvieron productos amplificados con un tamaño de 360pb. (Imagen 10)

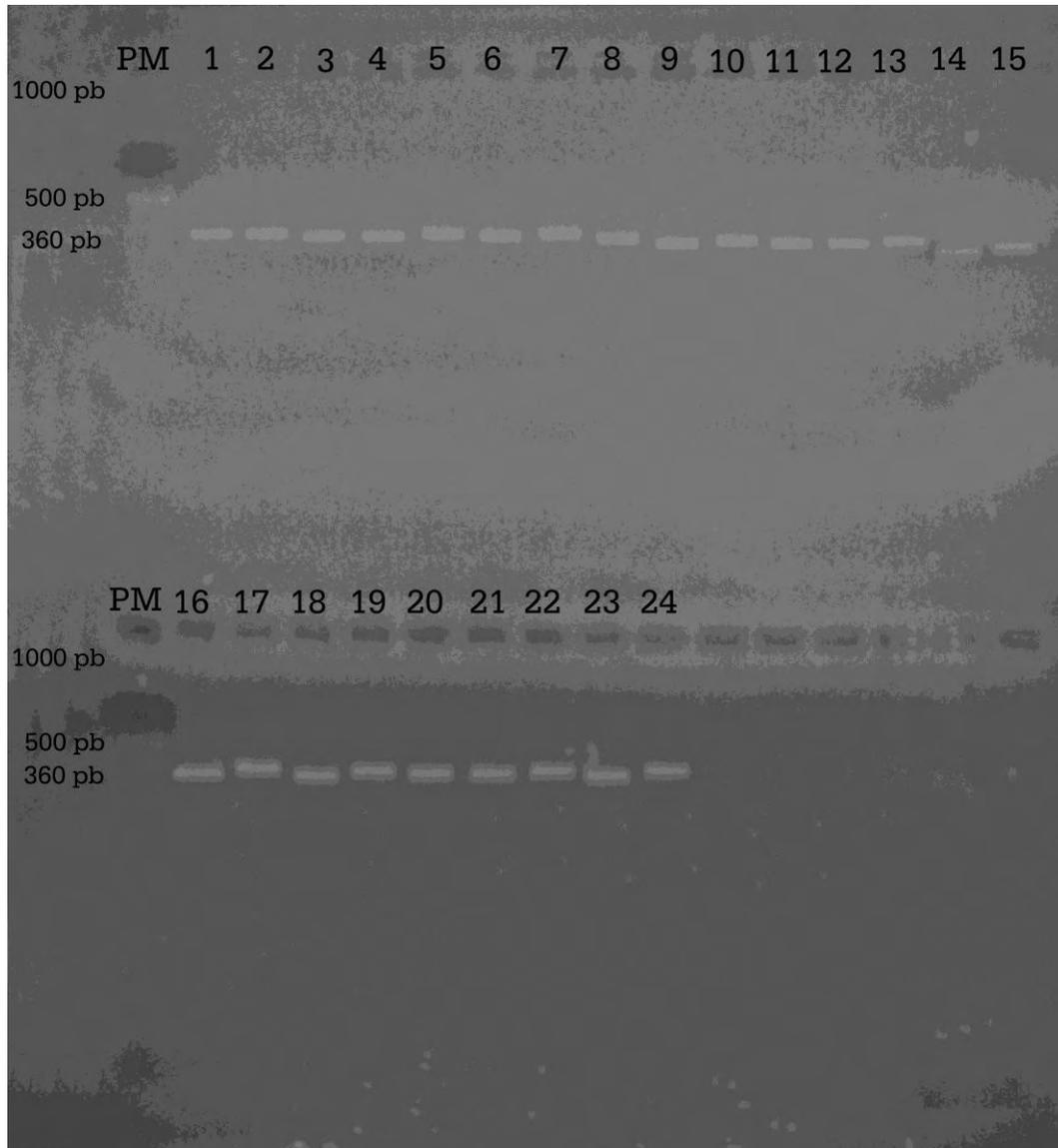


Imagen 5. Gel de agarosa 1.5%, productos de amplificación con la enzima HinfI. Los productos tienen un tamaño de 360pb. (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

En el tercer análisis de restricción, con la enzima HindIII, sin obtener ningún producto.
(Imagen 11)

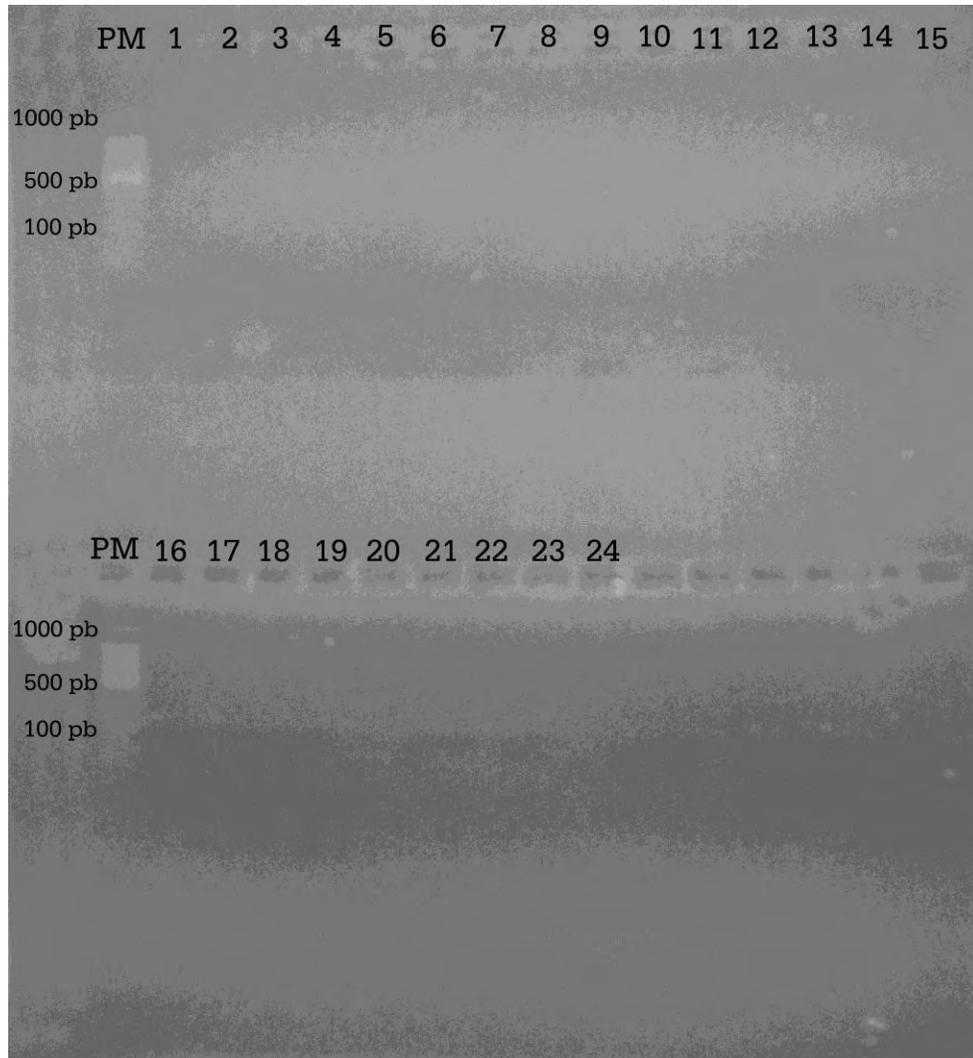


Imagen 6. Gel de agarosa 2% sin productos de amplificación con la enzima HindIII. (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

En el cuarto análisis de restricción, con la enzima HindIII, BamHI, AluI, obteniendo algunos productos amplificados con un tamaño de 2000pb. (Imagen 12)

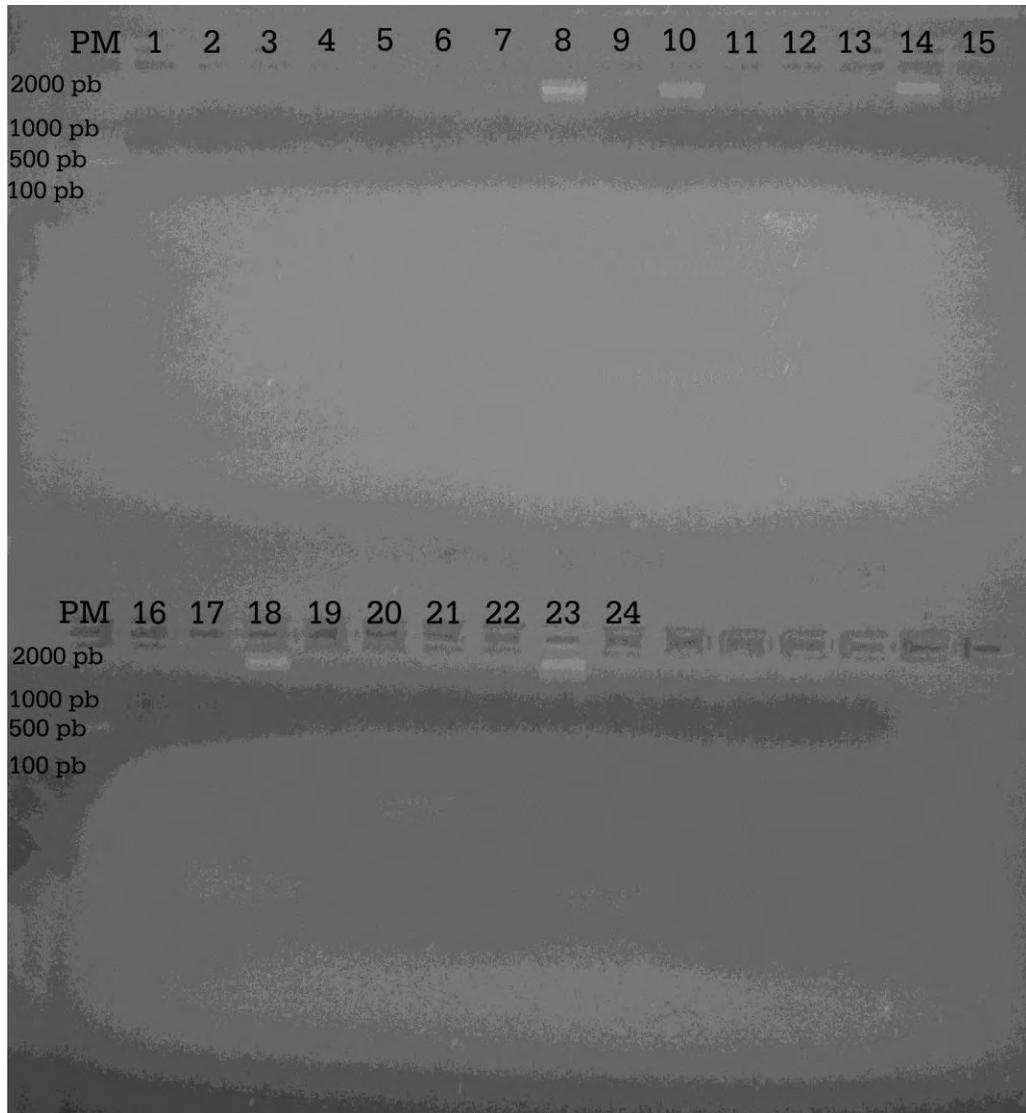


Imagen 7. Gel de agarosa 2%, productos de amplificación con las enzimas HindIII, BamHI, AluI. Los productos tienen un tamaño de 2000pb. (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

En el quinto análisis de restricción, con la enzima EcoRV, XhoI, XbaI, se obtuvieron productos amplificados con un tamaño 74pb. (Imagen 13)

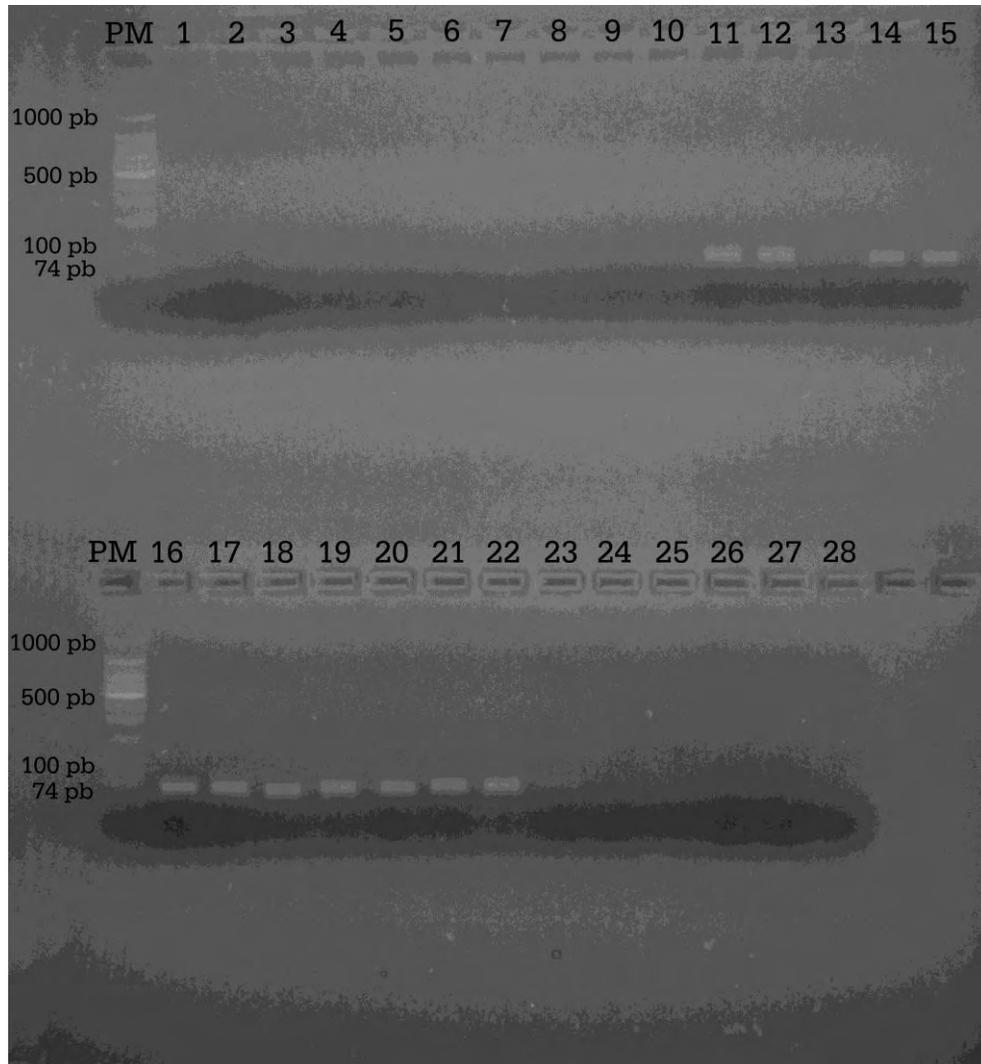


Imagen 8. Gel de agarosa 2%, productos de amplificación con las enzimas EcoRV, XhoI, XbaI. Los productos tienen un tamaño de 74pb (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

RAPD'S.

En el análisis con RAPD'S, se obtuvieron productos amplificados con un tamaño de 435 pb, 1069 pb, 1500 pb, 1650 pb y 1935 pb.

El género y la especie fueron identificadas por la longitud de los productos amplificados por PCR del DNA y la comparación con los productos amplificados que no pertenecen a la especie de este estudio.

El género presentó un producto amplificado con un tamaño de 435 pb, mientras que para la especie, el producto amplificado fue de 1500 pb. Las subespecies presentaron productos de PCR de 1650 y 1935 pb. El producto amplificado de 1069 pb, corresponde a para la muestra #24 que pertenece a *Polyborus plancus* (Caracara crestudo) y que pertenece al género *Falconidae*. (Fig. 8, 9).

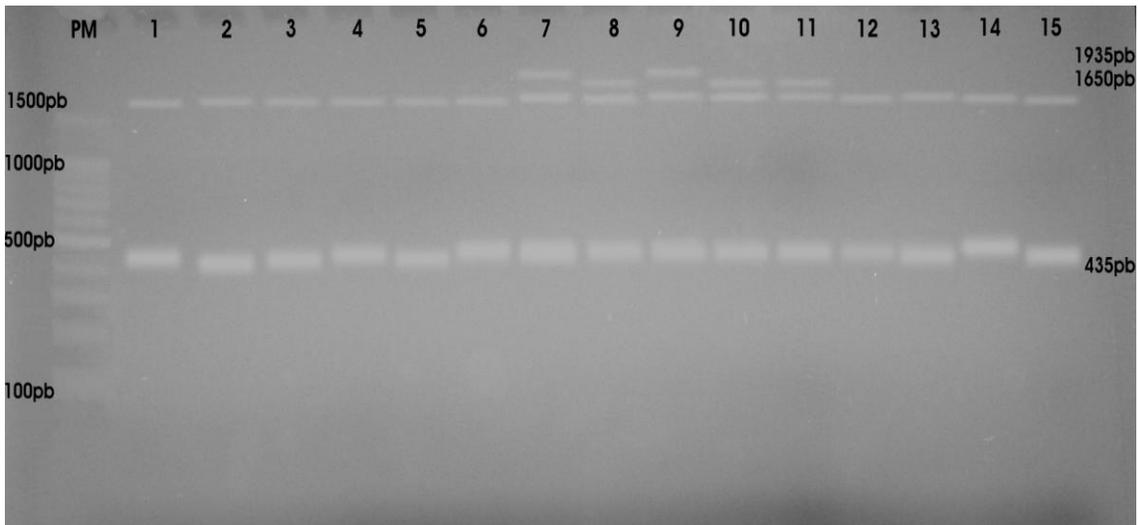


Imagen 9. Gel de agarosa 1.5% con los productos de la amplificación por PCR del Primer 7. (PM) Marcador de Peso Molecular, (1-15) ejemplares de *Buteo jamaicensis*.

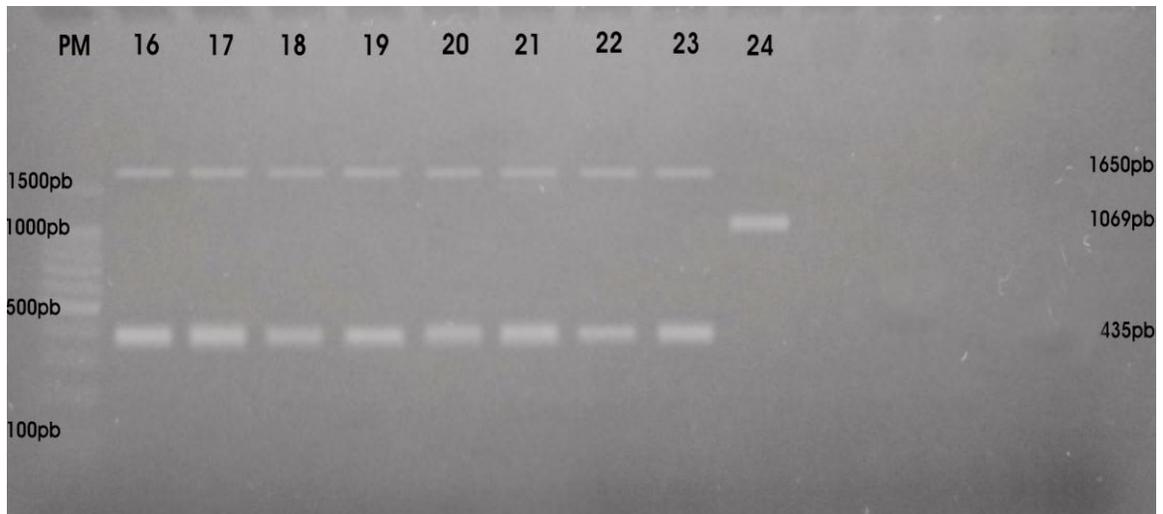


Imagen 10. Gel de agarosa 1.5% con los productos de la amplificación por PCR del Primer 7. (PM) Marcador de Peso Molecular, (16-23) ejemplares de *Buteo jamaicensis*, (24) *Polyborus plancus*.

DISCUSIÓN.

El área dedicada a la ganadería y agricultura, ha aumentado desproporcionadamente y de manera incontrolable en el Neotrópico. En consecuencia, se han destruido, alterado y fragmentado de manera progresiva los diferentes ecosistemas. Esto ha generado una disminución en la población de diferentes especies de aves rapaces. Por este motivo, un 45% del total de aves rapaces existentes, ha sufrido una reducción en número de individuos a causa de la pérdida de los bosques tropicales en donde residen. Así mismo, al alterar los ecosistemas, no solamente se altera el hábitat de las aves rapaces sino el de sus presas, y como resultado, se ven afectadas en forma indirecta por este factor. (García, 2004)

Estas aves, son especies claves dentro de las cadenas alimenticias a las que pertenecen, debido a que están ubicadas al final de ésta. Las acciones del hombre son la principal causa de los cambios en la población de estas aves, ya que destruye sus hábitats, entre las que tenemos, la caza y el uso de pesticidas que indirectamente las afectan. De manera significativa (García, 2004).

Los avances para la conservación de aves rapaces migratorias que se trasladan al Neotrópico, han sido realizados en regiones donde es posible presenciar anualmente la migración; esto permite hacer censos de las poblaciones de distintas especies y establecer conclusiones sobre el estatus de las mismas. Estos estudios se han hecho principalmente en Estados Unidos y Canadá, donde los recursos para investigación son numerosos y accesibles. (García, 2004)

En relación con las rapaces que migran en el Neotrópico Zalles y Bildstein (2000), concluyeron que cinco especies migratorias, de acuerdo a parámetros mundiales, se encuentran en riesgo, 2 de estas tienen movimientos intratropicales, otras 2 son migrantes australes y la otra presenta ambos tipos de migración. Alrededor de 38 especies de aves rapaces neotropicales, incluidas ocho especies migratorias, dependen en mayor o menor medida de los hábitats de bosques de dosel cerrado que actualmente sufren un deterioro progresivo en la región. Las especies que se encuentran en peligro de extinción dependen de los ecosistemas de bosque y selva, donde la deforestación y modificación del hábitat es considerable. No es claro aún si las poblaciones de aves rapaces que buscan campos abiertos se ven afectadas por la condición en que se encuentran estas zonas. Es tan poca la información que se tiene sobre las aves rapaces en el Neotrópico que no es posible determinar

si actualmente existan competencias inter-específicas que produzcan extinciones locales, ya que no hay un conocimiento de la composición de aves rapaces previo a la modificación del los ecosistemas en la región (García, 2004). En pocas décadas, se han intensificado por todo el mundo diversas iniciativas en materia de conservación y recuperación de las rapaces. Actualmente van cobrando cada vez más fuerza los criterios de desarrollo y uso sostenible. En México, la investigación de este tipo de aves apenas está comenzando, principalmente se han realizado estudios de migración y hábitos, sin llegar a ser trascendentes, debido a la falta de interés hacia estas especies, que como ya se mencionó anteriormente, son claves dentro de un ecosistema. Estudios como el que se realizó en ésta investigación, son pioneros en la investigación científica de nuestro país.

Análisis Morfométrico.

Con base en los resultados obtenidos, las medidas morfométricas, no indican ninguna diferencia para identificar y agrupar las subespecies de las Aguilillas Cola Roja. La diferencia más significativa, la encontramos en el largo y perímetro del tarso (Gráficos 1 y 2), éstas medidas, nos pueden ayudar para identificar y diferenciar sexos en éstas aves, pero no las subespecies; ya que en el caso de las hembras, el tarso es más grueso (mayor perímetro) y más largo, lo cual es un factor que nos indica que, aunque existan hembras pequeñas y machos grandes, ya que la literatura dice que las hembras son más grandes que los machos, lo cual no es cierto en todos los casos, pero las medidas antes mencionadas, marcan de manera constante esta diferencia, sin importar el tamaño del ejemplar.

Análisis de Coloración Espalda.

Las pruebas de normalidad realizadas, indican que las muestras en cada variable se distribuyen de una forma normal, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas. Los análisis realizados y el ACP a la coloración de la espalda, no indican diferencias significativas para la identificación y agrupamiento de las subespecies de las Aguilillas Cola Roja (Tablas 8, 9, 10) Gráficos (3, 4, 5).

Análisis de Coloración Frente.

Las pruebas de normalidad realizadas, indican que las muestras en cada variable se distribuyen de una forma normal, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas. Con base en la dirección, la magnitud de los vectores y su posición en cada cuadrante, de los resultados obtenidos del ACP de la coloración del frente, se muestra la formación de 4 grupos diferentes de las subespecies analizadas en este estudio (Gráfico 6, 7, 8). Los análisis realizados, muestran que la coloración del frente, es una buena herramienta para la identificación de las subespecies de las aguilillas Cola Roja, estandarizando la toma de imágenes con SVC y eliminando los errores en la toma de imágenes (iluminación, posicionamiento, distancia focal), se puede obtener una mejor calidad de imágenes y por consiguiente, un mejor análisis de éstas.

Análisis Genético.

En los análisis realizados a las muestras de ADN genómico de los ejemplares estudiados, encontramos que los RAPD's en este caso, fue la mejor prueba para identificar el género, especie y subespecie de las Aguilillas Cola Roja. En la figura 8 y 9 se muestran los patrones de las bandas generados a partir de los RAPD's, en la banda a 435pb, carriles 1-23 (100% de las muestras), encontramos el corte que nos indica el género (*Buteo*); en la banda a 1500pb, carriles 1-23 (100% de las muestras) encontramos el corte que nos indica la especie (*Buteo jamaicensis*); en la banda a 1650pb, encontramos 3 cortes de los ejemplares 8, 10 y 11 que representan el 13.04% del total de los ejemplares; en la banda a 1935pb, encontramos 2 cortes de los ejemplares 7 y 9, los cortes antes mencionados (1650 y 1935pb) indican las subespecies; en la banda a 1069pb de la figura 9 en el carril 24, encontramos una banda que nos da la referencia del corte de la especie, ya que el ejemplar de ésta muestra, corresponde al género Falco, tratándose un Caracara Crestado (*Polyborus plancus*).

CONCLUSIONES.

Los análisis morfométricos son una buena herramienta para la identificación de sexos entre las especies de aves de presa, pero no así, para la identificación y agrupamiento de subespecies.

Los análisis de la coloración de la espalda, no son un buen parámetro para la identificación de las especies de Aguilillas Cola Roja, sin embargo, los análisis de la coloración del frente, son un buen parámetro para la identificación de las especies de Aguilillas Cola Roja. Mediante el diseñando adecuado, y creando un buen SVC y estandarizando la técnica, se puede obtener una mejor calidad en las imágenes, haciendo más fiable el análisis, la interpretación y la agrupación de las subespecies.

El análisis genético es la mejor herramienta para la identificación y agrupamiento de las subespecies de Aguilillas Cola Roja, así como para la separación de especies que hoy en día, se encuentran dentro de un taxón al que no pertenecen. Es necesario llevar a cabo la secuenciación de las bandas obtenidas, así como realizar más análisis para el rastreo e identificación de genes o alelos específicos de cada familia, género y especie en estudio.

Se debe hacer hincapié, en que hace falta realizar más investigaciones sobre estos ejemplares, resaltar la importancia que tienen estos en los ecosistemas y su función biológica dentro de estos, la obtención de las bandas que se encontraron en este estudio, son un avance en este tipo de trabajos, ya que siendo un estudio pionero en esta área en México, se obtuvieron resultados importantes, tanto en los estudios génicos como en los análisis de colorimetría, fractales y sus correlaciones, ya que no se han realizado este tipo de estudios en aves silvestres, en nuestro país y el mundo.

LITERATURA CONSULTADA.

Acuña J. D. 2002. Análisis de Imagen. (Apoyo Didáctico en la Web). [En línea]. Universidad de Valencia, España. Capítulo 2. Conceptos Básicos de Análisis de Imagen. Disponible en: http://www.uv.es/~acuna/tema_1.htm#34

Ali, S., **Azfer**, M. A., **Bashamboo**, A., **Mathur**, P.K., **Malik**, P.K., **Mathur**, V.B., **Raha**, A.K., and **Ansari**, S. 1999. Characterization of a species-specific repetitive DNA from a highly endangered wild animal, Rhinoceros unicornis, and assessment of genetic polymorphism by microsatellite associated sequence amplification (MASA). *Gene* 228(1-2) 33-42.

Andrén, H. 1994. Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. *Oikos* 71: 355-366.

Bacon, J. R.. 2001. Conceptos Genéticos y Evolución. Apuntes en el Tema de Ecología.

Becerra, V., **Paredes**, M. 2000. Use of biochemical and molecular markers in genetic diversity studies. *Agric. Téc.*, July, vol.60, no.3, p.270-281. ISSN 0365-2807.

Cabrera, J. E. 2005. Texture Analyzer v0.1. Research Services Branch (RSB) of the National Institute of Mental Health (NIMH), part of the National Institutes of Health (NIH). USA. <http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/texture.html>

Cárdenas, H. C. G. 2006. Conservación Biológica. Departamento de ecología y recursos naturales. Universidad de Guadalajara. Pág. 1-2.

Chantler M. J. 1995. Why Illuminant direction is fundamental to textural analysis. Institution of Electrical Engineers proceedings. Vision, image and signal processing, 142 (4): 199 – 206

Chen W. S., **Yuan** S. Y., **Hsieh** Ch. M. 2003. Two algorithms to estimate fractal dimension of gray level images. *Optical Engineering*. 42(8): 2452 – 2464

CONABIO. 1998. La diversidad biológica de México: estudio de país. SEMARNAT. México, 1998.

CONAM. 2003. Diversidad de Especies. Estrategia Nacional de Diversidad Biológica. Lima, Perú. http://www.minag.gob.pe/rnnd_d_diverd.shtml

Coviella J. M.; **Coviella** M. A. 2006. Fotografía Digital y Photoshop. 1ra Ed., Alfaomega-Ra-Ma, España, pp. 4 – 8

Cornell, Ornithology Laboratory. 2003. www.birds.cornell.edu/

Crnokrak P, **Roff** DA. 1999. Inbreeding depression in the wild. *Heredity*. Sep;83 (Pt 3):260-70.

Dewey, T. and D. **Arnold**. 2002. Buteo jamaicensis. (On-line). *Animal Diversity Web*. Accessed October 09, 2006 at http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Buteo_jamaicensis.html.

Echávarri, G. J. F. 2006. Color del Vino. [En línea], Capítulo 1. Historia Atlas de color, Universidad de la Rioja, Departamento de Química, España. Disponible en: http://www.unirioja.es/cu/fede/color_de_vino/capitulo01.pdf

FAO. 1995. World watch list for Domestic Animal Diversity. 2nd , Ed. FAO, Rome.

FAO, 1992. Recommendations of the FAO expert consultation. In: The management of global animal genetic resources. (Hodges, J. ed.) Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp 1-24.

Ferreira, M. E. **Gattapaglia**, D. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. EMBRAPA–CENARGEN Documento 20. EMBRAPA–CENARGEN, Brasilia, Brasil.

García, C. X.; **Márquez**, R. C. 2004. Conservacion de las Aves Rapaces del Neotrópico y de Colombia. Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia.

Gascon C. y T.E. **Lovejoy**. 1998. Ecological impacts of forest fragmentation in Central Amazonia. *Zoology* 101: 273-279.

Gascon C., T.E. **Lovejoy**, R.O. **Bierregaard**, J.R. **Malcom**, P.C. **Stouffer**, H.L. **Vasconcelos**, W.F. **Laurance**, B. **Zimmerman**, M. **Tocher** y S. **Borges**. 1999. Matrix-habitat and species richness in tropical forest remnants. *Biological Conservation* 90: 1-7.

Grossman, M. L.; **Hamlet**, J. 1964. Birds of Prey of the World. Bonanza Books. New York, E. U. A. pp. 262-265.

Halfpter, G. and **Ezcurra**, E. 1992. La Diversidad Biológica de Iberoamérica. ¿Qué es la biodiversidad?. Instituto de Recursos Mundiales (WRI). 1709 New York Avenue, NW, Washington, DC. 2006. <http://www.geocities.com/CollegePark/Classroom/7370/pagina5.htm>

Haralick R. M., **Shanmugam** K. Y **Dinstein** I. 1973. Textural Features for Image Classification. IEEE Transaction on Systems, Man, and Cybernetics SMC 3 (6): 610 - 621.

Henden, P. **Christian**, B. J. 2004. Measurements on microtomographic images of fibrous structures. Department of Computer and Information Science, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Noruega. <http://www.pvv.org/~perchrh/papers/>

Herrerías, D. Y.; **Benítez-Malvido**, J. 2004. Las consecuencias de la fragmentación de los ecosistemas. Centro de Investigaciones en Ecosistemas. UNAM. Morelia, Michoacán. México.

Howell, S. N. G.; **Webb**, S. 1995. The Birds of Mexico and Northern Central America. Oxford University Press. New York City, U.S.A. pp. 1-85; 174-219.

IUCN. 2004. 2004 IUCN Red List of Threatened Species. www.iucnredlist.org

Jiménez, A.; **Gutiérrez** G. F., 2001. Métodos para Medir Propiedades Físicas en Industrias de Alimentos. Juan de Dios Alvarado y Jose Miguel Aguilera Editorial Acribia. Zaragoza España. pp. 325 – 336

Johnsgard, P. A. 1990. Hawks, Eagles and Falcons of North America. Smithsonian Institution Press. E.U.A. pp. 237-245.

Martínez J. 2005. Color Digital. [En línea], España. Disponible en: http://www.juanval.net/color_digital.htm

Méndez, M. 2003. Estructuración poblacional y filogeográfica de la boa Curiyú (Eunectes notaeus) en el noreste argentino. Tesis de Licenciatura. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Méndez, M. 2004. Genética y Reintroducción. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Morrone, J J.; **Espinosa**, D.; **Llorente**, J. 1996. Manual de biogeografía histórica. UNAM, México.

Morrone, J J.; **Luna**, V. I.; **Contreras**, M. R.. 2001. Conceptos Biogeográficos. Elementos 41, pp. 33-37.

Morrone, J J. 2004. Panbiogeografía, componentes bióticos y zonas de transición. Revista Brasileira de Entomologia 48(2): 149-162.

Muerza, F, A. 2005. Conservación de la Biodiversidad. Textos de la Conferencia Internacional “Biodiversidad, Ciencia y Gobernabilidad”. http://www.consumer.es/web/es/medio_ambiente/naturaleza/2005/11/28/147328.php

Murcia, C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. Trends in Ecology and Evolution 10: 58-62.

Newton, I. 2000. Birds of Prey. Second Edition. Fog City Press. San Francisco Ca. U.S.A.

Núñez, I.; **González-Gaudiano**, E.; **Barahona**, A. 2003 La Biodiversidad: historia y contexto de un concepto. INCI, Jul. 2003, vol.28, no.7, p.387-393. ISSN 0378-1844.

Papadakis S. E.; **Abdul-Malek**, S.; **Kamdem**, R. E. Y.; **Yam**, K. L. 2000. A Versatile and inexpensive Technique for Measuring Color of Foods. Food Technology 54 (12): 48 - 51.

Parry-Jones, J. 2000. Eagles & Birds of Prey. This Eyewitness Books. Dorling Kindersley. New York, USA.

Peleg M., 1993. Fractal and Foods. Critical Review Food Science Nutritional, 33: 49-65

Podulka, S.; **Rohrbaugh**, R. W. Jr.; **Bonney**, R. 2004. Handbook of Bird Biology. The Cornell Lab Ornithology. Ithaca, N Y, USA. 3/2-3/68, 4/10-4/163.

Ponsuksili, S.; **Wimmers**, K.; **Schmoll**, F., **Horst** P., and **Schellander**, K. 1999. Comparison of Multilocus DNA fingerprints and Microsatellites in an Estimate of Genetic Distance in Chicken. J. Hered. 90(6) 656-659.

Preston, C., R. Beane. 1993. Red-tailed hawk (*Buteo jamaicensis*). Pp. 1-24 in A. Poole, F. Gill, eds. The Birds of North America, Vol. 52. Washington DC and Philadelphia, PA: The Academy of Natural Sciences and The American Ornithologists Union.

Ramírez, M. J. 2005. Principios de Biogeografía. Copyright ©. Revista 360°. <http://cremc.ponce.inter.edu/360/index.htm>

Reinoso O. 2003. Color en Imágenes Digitales. [En línea]. Universidad Miguel Hernández. División Ingeniería de Sistemas y Automática. España. Disponible en: <http://isa.umh.es/doct/pava/ColorImágenesDigitales.pdf>

Rohlf, F. 1992. NTSYS pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.70. Exeter Publications, New York, USA.

Sacha, J. 2004. Color and Multiband Processing. Ij-plugins. Project of SourceForge.net. <http://ij-plugins.sourceforge.net/plugins/color/index.html>

Santamaría, J. 2002. La crisis de la biodiversidad. La pérdida de la diversidad genética, de especies y de ecosistemas es uno de los mayores peligros para el futuro de la humanidad. World Watch. http://www.ecosistemas.cl/1776/articles-72041_documento_pdf.pdf

Saunders, D.A., R.J. Hobbs y C.R. Margules. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. Conservation Biology 5: 118-32.

Schwartzwald, D. 2006. Color Space Converter. Research Services Branch (RSB) of the National Institute of Mental Health (NIMH), part of the National Institutes of Health (NIH). USA. <http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/color-space-converter.html>

SEMARNAP. 1996. Reservas de la Biosfera y otras Áreas Naturales Protegidas de México. CONANP. México, D. F.

SEMARNAP. 2000. El ordenamiento ecológico del territorio. Logros y Retos par a el Desarrollo Sustentable 1995-2000. Instituto Nacional de Ecología. Dirección General de Ordenamiento Ecológico e Impacto Ambiental. México, D. F.

Shahin, M. A.; Symons S. J. 2001. A machine vision system for grading lentils. Canadian Biosystems Engineering 43: 7.7 - 7.14

Sociedad Española de Genética (SEG). 2005. Constitución Genética de una Población, Frecuencias Génicas y Genotípicas. Memorias del Congreso. INDALCONGRESS, S. L. 5-7 de Octubre. Almería, España.

Solís, V. Madrigal, P. Ayales, I. 1998. Convenio sobre la diversidad biológica. Un texto para todos. Convention on Biological Diversity Secretariat. UICN, FES, FAO, FARBEN. San José, Costa Rica. 49 pp.

Solís, C. A. Y. 2004. Manual de Aves de Presa. Guía Básica de Manejo, Alimentación y Salud para Cetreros y Médicos Veterinarios. Sin Publicar.

Stokes, M.; Anderson M.; Chandrasekar S.; Motta R. 1996 A Standard Default Color Space for the Internet-sRGB. Versión 1.10. [En línea]. Estados Unidos de América. Disponible en: <http://www.w3.org/Graphics/Color/sRGB.html>

Sun, D., Du, C. 2004. Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation. Trends in Food Science & Technology 15: 230-249.

Takezaki, N. and Nei, M. 1996. Genetic distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. Genetics, 144, 389-399.

Toledo V. 1994. La diversidad biológica de México. Ciencias 34: 43-59.

Toledo A. 1998. Economía de la biodiversidad. PNUMA. México. 48 pp.

Urbina, T. F. 1996. Aves Rapaces de México. Centro de Investigaciones Biológicas, UAEM. CONABIO. Pag. 64.

Villatoro, F. P.; Sáenz, J. C. 2004. La fragmentación del hábitat. Impactos sobre la dinámica huésped-parásito de la avifauna en paisajes agropecuarios de Esparza, Costa Rica. Programa Regional en Manejo de Vida Silvestre para Mesoamérica y el Caribe, Universidad Nacional. Costa Rica.

Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van De Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kupier, and M. Zabeau. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23:4407-4414.

Zamudio, T. 2005. Diversidad genética. Biotech Technologies.
<http://www.biotech.bioetica.org/clase3-7.htm>