

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ÁREA DE VIDA, USO DE HÁBITAT Y CICLO
REPRODUCTIVO DE *Caiman latirostris* (CROCODYLIA,
ALLIGATORIDAE) EN LA PROVINCIA DE SANTA FE,
ARGENTINA**

por

MSc. Ing. Thiago Costa Gonçalves Portelina

Director: Dr. Carlos Ignacio Piña

**Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción
(CICyTTP/CONICET)**



**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

Córdoba, Argentina

2016

COMISIÓN ASESORA

Dra. Laura Bellis, Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA) CONICET y Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.

Dra. Nora Ibarzüengoytía, Instituto de Investigación en Biodiversidad y Medio Ambiente (INIBIOMA/CONICET). Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue.

Dr. Carlos Ignacio Piña, Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción (CICyTTP/CONICET). Universidad Autónoma de Entre Ríos - Facultad de Ciencia y Tecnología (FCyT).

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma:

Aclaración:

Firma:

Aclaración:

Firma:

Aclaración:

DEDICATORIA

A mi familia por todo amor, cariño y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A mi director Dr. Carlos Piña por la confianza, amistad y conocimiento compartido. Soy muy grato por las incansables charlas sobre la idea y ejecución de mi proyecto doctoral, por las inúmeras correcciones en las versiones del manuscrito y papers, por ayudarme siempre (aunque distante, en los fines de semana y feriados) y por todo el soporte y ayuda en mis viajes de campo.

A mi codirector PhD. Luciano Martins Verdade, por la amistad de siempre y conocimiento compartido. Por la idea y confianza en desarrollar mi trabajo en otro país y por la posibilidad de utilizar los equipos de telemetría en mis estudios.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca doctoral otorgada (proceso #3609/2011).

A la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba y al Doctorado en Ciencias Biológicas por la oportunidad en obtener el Título de Doctor.

Al Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción (CICyTTP/CONICET) de Diamante (Entre Ríos), por el apoyo e incentivo, por recibirme tan bien y posibilitar el uso de todas las instalaciones y vehículos para desarrollar mis trabajos de campo y laboratorio. Soy muy grato a todos los investigadores, técnicos, personal de apoyo y becarios del CICyTTP por los años y conocimientos compartidos. En especial, quisiera agradecer a l@s amig@s del Laboratorio de Ecología Animal del CICyTTP/CONICET: Antonio Frutos, Cesar Cedillo, Gonzalo Quiroga, Josefina Iungman, Melina Simoncini, Noelia Nuñez-Otaño, Virginia Parachú-Marcó, en especial a mi director Dr. Carlos Piña.

A CONICET y a la Agencia por la financiación a través de los proyectos aprobados por el Dr. Carlos Piña (PICT 2008 N220 y PICT 2008 N404), sin los cuales sería imposible desarrollar mis trabajos doctorales.

A la “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo” (FAPESP) por la compra de los equipos de telemetría utilizados en mis estudios (proceso #2006/60954-4).

Al grupo de especialistas en cocodrilianos (*Crocodile Specialist Group*, CSG/IUCN) por la beca otorgada (*Student Research Assistance Scheme*, proceso #01/2012), la cual financió parte de mis actividades de campo.

A la Universidad Autónoma de Entre Ríos, por la oportunidad de aprender y desempeñar una profesión tan noble y valiosa a través de mi cargo de profesor en la carrera del Profesorado en Biología, en especial a la amiga y profesora Margarita Grippo que tanto me ayudó y me recibió en las instalaciones de la Facultad.

A l@s amig@s y compañer@s del Proyecto Yacaré, Yacarés Santafesinos (Gobierno de Santa Fe/MUPCN): Agustina Latorre, Alba Imhof, Carlos Piña, Evelyn Gonzalez, Felipe Adjad, Gisela Poletta, Gisela Schamburg, Guillermo Principe, Hernán Ciocán, Jazmín Bauso, Josefina Iungman, Josefina Boned, Laura Romito, Lucia Fernández, Melina Simoncini, Noelia Nuñez-Otaño, Pablo Siroski, Pamela Leiva, Patricia Amavet, Soledad Moleón y Virginia Parachú-Marcó, en especial a Alejandro Larriera por la oportunidad de trabajar y aprender más sobre los yacarés.

Al LARLAC/IMBECU/CONICET de Mendoza, en especial a las Dras. Graciela Jahn y Belén Hapón por la ayuda con los análisis hormonales, el conocimiento compartido y por recibirme con tanto cariño y buena voluntad en sus laboratorios.

Al Medico Veterinario Javier Rafaelli “Colo” por la ayuda en campo y con la instalación de los equipos de telemetría. A Fabiana Tomatis por la disponibilidad y colaboración en enseñarme a interpretar las imágenes de ecografía.

A los propietarios de las estancias donde pude desarrollar mis trabajos de campo: Francisco Caminos y Capossolo. Agradezco mucho por la autorización de ingresar en sus propiedades y desarrollar mis trabajos. No puedo dejar de agradecer los “gauchos” que además de enseñarme mucho sobre los trabajos de campo en Argentina, pudimos compartir los mates y los asados, y me hicieron recordar que las cosas importantes de la vida están en las pequeñas actitudes. Este trabajo es dedicado también a Ustedes: Aldo, Cáceres, Diego, Emilio, Noriega y Sergio.

A los amigos que hice durante los cursos de posgrado en muchas provincias de Argentina y en otros países, gracias por recibirme en sus casas, por las charlas y los mates, en especial a: Cristian Marte, Gonzalo Quiroga, Melquiades, Miryam Venegas-Anaya, Monica Borrás-Ulloa, Patricia Puechagut, Raúl Vezzosi, Robinson Suarez, Sergio Balaguera-Reina, Willington Martínez y Yanina Prieto.

A la familia Simoncini, mi familia Argentina. Soy eternamente grato a Rubén, Elsa, Natalia, Pablo y Valeria, por recibirme en su casa, con todo amor y cariño de un hijo/hermano. Especialmente a Melina Simoncini por la ayuda, paciencia, dedicación y cariño no solamente en mi vida como en mis trabajos de campo. Tu ayuda, señora, fue fundamental para lograr todo esto.

Al “equipo cocodrilianos” Thiago Marques y Luís Bassetti, mis grandes amigos de Brasil, por la ayuda con las pruebas de los equipos de telemetría, los trabajos de campo y las incansables charlas sobre compra y configuración de los mismos.

A mi familia (Antonio, Glaucia y Neto) por siempre apoyar mis decisiones, incluso la de vivir tantos años lejos y en otro país. A mis abuelos paternos Aulita y Antonio (*in memoriam*) que no pudieron presenciar este importante logro de mi vida, y a mis abuelos maternos (Marta y Grimaldo) por el cariño y apoyo de siempre. Agradezco infinitamente a todas las personas que siempre estuvieron presentes en todos los momentos de esta jornada que empezó en mis estudios de grado.

A la naturaleza y todas las fuerzas que posibilitaron la realización de este trabajo y esta nueva etapa de mi vida.

LISTADO DE PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

Artículos en periódicos científicos

1. Portelinha, T.C.G.; Jahn, G.A.; Hapon, M.B.; Verdade, L.M.; Piña, C.I. 2015. Hormone levels and ultrasound evaluation of *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) ovulation. South American Journal of Herpetology, v.10, n.1, p.23-31.

Resúmenes en reuniones científicas

1. Portelinha, T.C.G.; Verdade, L.M.; Larriera, A.; Piña, C.I. Home range of *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) in the Pampas of Argentina. In: 23rd Working Meeting of IUCN-SSC Crocodile Specialist Group, 2014, Lake Charles.

2. Portelinha, T.C.G.; Jahn, G.A.; Hapon, M.B.; Verdade, L.M.; Piña, C.I. Development of follicles and eggs and hormone levels in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) in Argentina. In: 23rd Working Meeting of IUCN-SSC Crocodile Specialist Group, 2014, Lake Charles.

3. Portelinha, T.C.G.; Verdade, L.M.; Piña, C.I. Detectability of *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) during night count surveys in Argentina. In: 21st IUCN -SSC Crocodile Specialist Group Working Meeting, 2012, Manila - Filipinas.

ÍNDICE

COMISIÓN ASESORA	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTADO DE PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS	V
ÍNDICE DE TABLAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS	2
RESUMEN	5
SUMMARY	7
Capítulo 1	9
Introducción General	9
1.1. El orden Crocodylia.....	9
1.2. Uso y conservación de los caimanes en Argentina.....	11
1.2.1. El yacaré overo (<i>Caiman latirostris</i>).....	13
1.3. Uso del espacio por cocodrilianos.....	15
1.4. Ecografía y ciclo hormonal en cocodrilianos	17
1.5. Objetivos y estructura de la tesis.....	18
1.5.1. <i>Objetivo general</i>	18
1.5.2. <i>Objetivos específicos</i>	18
1.6. Área de estudio.....	19
1.6.1. <i>El Fisco</i>	20
1.6.2. <i>Caminos</i>	21
1.6.3. <i>Lucero y Espín</i>	21
1.7. Captura, biometría, sexado y marcación.....	22
1.8. Telemetría.....	22
Capítulo 2	25
Área de vida, uso de hábitat y patrón de movimiento de <i>Caiman latirostris</i> (Crocodylia, Alligatoridae) en la Provincia de Santa Fe, Argentina	25
2.1. Introducción	25
2.2. Materiales y Métodos	28
2.2.1. <i>Área de estudio</i>	28
2.2.2. <i>Uso del espacio</i>	28
2.3. Resultados.....	31
2.3.1. <i>Área de vida</i>	31
2.3.2. <i>Patrón de movimiento</i>	41
2.3.3. <i>Uso del hábitat</i>	44
2.4. Discusión.....	46
Capítulo 3	53
Detectabilidad del <i>Caiman latirostris</i> (Crocodylia, Alligatoridae) durante conteos nocturnos en Argentina.....	53
3.1. Introducción	53
3.2. Materiales y Métodos	55

3.2.1. <i>Área de estudio</i>	55
3.2.2. <i>Colecta y análisis de los datos</i>	55
3.3. Resultados	57
3.4. Discusión	66
Capítulo 4	71
Desarrollo de folículos y huevos y niveles hormonales en hembras de <i>Caiman latirostris</i> (Crocodylia, Alligatoridae)*	71
4.1. Introducción	71
4.2. Materiales y Métodos	73
4.2.1. <i>Área de estudio y método de captura</i>	73
4.2.2. <i>Muestras de sangre y ecografía</i>	73
4.2.3. <i>Análisis hormonales</i>	75
4.2.4. <i>Análisis de los datos</i>	76
4.3. Resultados	76
4.3.1. <i>Niveles hormonales y estructuras reproductivas</i>	79
4.3.2. <i>Niveles hormonales durante los meses</i>	81
4.4. Discusión	83
Capítulo 5	88
Discusión General	88
Bibliografía	92
COPIA DE PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS	121

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 2.1 - Hembras de *C. latirostris* monitoreadas en el estudio de telemetría. Frec. = Frecuencia en MHz para cada animal monitoreado; (S) = hembra silvestre, nacida en la naturaleza; (R) = hembra reintroducida por el programa de *ranching*; LHC = largo hocico-cloaca; MPC = Área en hectáreas del Mínimo Polígono Convexo; Kernel = Área en hectáreas del Kernel 95%; N° CA = Cantidad de centros de actividad y área en hectáreas del mayor Kernel 50%; MDR = mayor distancia recorrida total. 31
- Tabla 2.2 - Uso esperado y observado del hábitat por hembras de *C. latirostris* en Argentina. DE = Desvío estandar; Esp. = esperado; Obs. = observado; \bar{x} = promedio de la cantidad de puntos de las hembras evaluadas para cada situación (total, silvestres y reintroducidas) y hábitats estudiados; *n* = cantidad de observaciones. 45
- Tabla 2.3 - Uso de los ambientes por las hembras de *C. latirostris*. Pi – Puntos observados en el hábitat/total de puntos observados; * = indica diferencia a un nivel de 0,05 de significancia. 46
- Tabla 4.1 - Hembras de *C. latirostris* examinadas mediante ecografía. Captura: día/mes/año; LT: longitud total; LHC: largo hocico-cloaca; MC: masa corpórea; Folículos: estructuras reproductivas; VT–Folículos vitelogénicos; HV–Huevos; NR–ninguna estructura reproductiva observada; AT-Folículos atrésicos; *Capturadas en el nido. 77
- Tabla 4.2 - Valores promedios de estradiol, progesterona y testosterona para hembras adultas de *Caiman latirostris* en diferentes condiciones reproductivas. Los valores fueron analizados por un test de Kruskal-Wallis seguido de un test a posteriori de comparaciones múltiples y están expresados como promedio \pm error estándar. Los grupos identificados con las mismas letras superíndice poseen valores similares para la hormona ($P > 0,05$). VT = folículos vitelogénicos; HV = huevos; AT = folículos atrésicos; NR = ninguna estructura reproductiva observada. 79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - <i>Caiman latirostris</i> (yacaré overo) en su hábitat natural. Foto: P. Siroski.	14
Figura 1.2 - Hembra de <i>Caiman latirostris</i> (yacaré overo) en su nido. Foto: P. Siroski.....	15
Figura 1.3 - Área de estudio. Adaptado de Simoncini (2011).	19
Figura 1.4 - Hábitats estudiados de <i>Caiman latirostris</i> . A - Fisco (laguna superior y canal inferior); B - Caminos (savana inundada); C - Lucero (río Salado), Foto: P. Siroski; D - Espín (arroyo), Foto: M. Simoncini.	20
Figura 1.5 - Área de estudio en la Reserva Natural “El Fisco”, Santa Fe (Argentina). A – Laguna; B – Canal.	21
Figura 1.6 - Instalación de los equipamientos de telemetría en <i>C. latirostris</i> . A – Anestesia con inyecciones subcutáneas de lidocaína (2-3mg/kg por peso vivo); B – Asepsia de la región de la nuca con iodopovidona; C – Cables de acero inoxidable flexibles introducidos subcutáneamente; D – Ubicación del equipo de telemetría en la nuca del animal; E – Cables sujetos con grapas de acero inoxidable; F – Hembra liberada en el sitio de estudio después de la instalación del equipo.....	24
Figura 2.1 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> silvestre (148.020). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	33
Figura 2.2 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> silvestre (148.060). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	34
Figura 2.3 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> silvestre (148.100). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	35
Figura 2.4 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> silvestre (148.120). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	36
Figura 2.5 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> reintroducida (148.040). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	37
Figura 2.6 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> reintroducida (148.080). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	38
Figura 2.7 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> reintroducida (148.140). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	39
Figura 2.8 - Área de vida para hembra de <i>Caiman latirostris</i> reintroducida (148.160). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.	40
Figura 2.9 - Promedio de la temperatura del aire y del movimiento diario (m/día) correspondiente a cada hembra de <i>Caiman latirostris</i> (identificada por su respectiva frecuencia) monitoreada por radiotelemetría en Argentina. Las barras representan el desvío estándar. (R) – hembra reintroducida; (S) – hembra silvestre; * – más en que el radiotransmisor dejó de funcionar.	42
Figura 2.10 - Promedio de la temperatura del aire y del movimiento diario (m/día) correspondiente a cada hembra de <i>Caiman latirostris</i> (identificada por su respectiva frecuencia) monitoreada por radiotelemetría en Argentina. Las barras representan el desvío estándar. (R) – hembra reintroducida; (S) – hembra silvestre; * – más en que el radiotransmisor dejó de funcionar.	43
Figura 2.11 - Promedio de la temperatura del aire y del movimiento diario (m/día) correspondiente a cada hembra de <i>Caiman latirostris</i> (identificada por su respectiva frecuencia) monitoreada por radiotelemetría en Argentina. Las barras representan el desvío estándar. (R) – hembra reintroducida; (S) – hembra silvestre; * – más en que el radiotransmisor dejó de funcionar.	44
Figura 3.1 - Ejemplo de localizaciones consideradas como visible (cuadrados negros) y no visible (triángulo blanco) durante un conteo nocturno.	56

- Figura 3.2 - Porcentaje de yacarés en una localización visible por hora en la laguna. El error estándar está presentado sobre las barras..... 57
- Figura 3.3 - Hembra 148.020 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido. 59
- Figura 3.4 - Hembra 148.040 (R). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido. 60
- Figura 3.5 - Hembra 148.060 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido. 61
- Figura 3.6 - Hembra 148.080 (R). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido. 62
- Figura 3.7 - Hembra 148.100 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido. 63
- Figura 3.8 - Hembra 148.120 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido. 64
- Figura 3.9 - Hembra 148.160 (R). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido. 65
- Figura 4.1 - Imágenes ecográficas de la estructura reproductiva de *Caiman latirostris*. A – folículos vitelogénicos; B y C – huevos; y D – folículos atrésicos (flechas). 78
- Figura 4.2 - Condición corporal (A) y tamaño de la hembra (B) relacionados a la condición reproductiva de hembras adultas de *Caiman latirostris*. Rep = reproductiva; NRep = no-reproductiva. Puntos blancos: hembras reproductivas; y puntos negros: hembras no reproductivas en (C).. 78

Figura 4.3 - Niveles hormonales de estradiol (A), progesterona (B) y testosterona (C) y la condición reproductiva de hembras adultas de <i>C. latirostris</i> . VT = folículos vitelogénicos; HV = huevos; AT = folículos atrésicos; NR = ninguna estructura reproductiva observada.....	80
Figura 4.4 - Niveles hormonales de estradiol (A), progesterona (B) y testosterona (C) durante la estación reproductiva (2010-2012) para hembras adultas de <i>C. latirostris</i> . Círculos = hembras reproductivas; Cuadrados = folículos atrésicos; Cruces = hembras no reproductivas.	82
Figura 5.1 - Modelo basado en los resultados de este estudio sobre aspectos del uso del espacio y de la biología reproductiva de hembras adultas de <i>C. latirostris</i>	88

RESUMEN

Caiman latirostris (yacaré overo) es un cocodriliano que se destaca en Argentina debido su importancia económica, relacionada al uso de su cuero y carne, motivando el desarrollo de varios proyectos basados en el sistema de manejo semiintensivo (*ranching*). Las actividades de conservación de estos programas generaron importantes informaciones respecto a la biología reproductiva del *C. latirostris*, así como una exitosa recuperación de sus poblaciones naturales. Sin embargo, se conoce muy poco acerca de la conducta de los individuos reintroducidos y tampoco existen informaciones respecto al uso del espacio y sobre el desarrollo de folículos y huevos, no solo para animales que hayan completado su ciclo en la naturaleza como para aquellos que fueron reintroducidos años atrás en Argentina, lo que dificulta el conocimiento sobre algunos procesos básicos de la población - como área de vida, patrón de movimiento, uso de hábitat y ciclo reproductivo. La presente tesis tuvo como objetivo ampliar los conocimientos acerca de la ecología poblacional y del ciclo reproductivo de la especie *Caiman latirostris*, comparando hembras adultas silvestres y reintroducidas en la naturaleza por un programa de manejo. El estudio fue realizado en el Norte de la Provincia de Santa Fe (Argentina), en las mismas zonas de trabajo del Proyecto Yacaré, entre los años 2010 y 2012. En el Capítulo 1 de la tesis se presenta una introducción general de los principales tópicos abordados. En el Capítulo 2 se detalla el estudio de los aspectos del uso del espacio a partir de técnicas de telemetría utilizando equipos con tecnología VHF/GPS. Para esta parte del trabajo fueron monitoreadas ocho hembras adultas (cuatro silvestres y cuatro reintroducidas) entre 19 y 455 días. Durante el desarrollo del estudio, no se encontró diferencia entre el área de vida de las hembras silvestres y las reintroducidas, resultando que los ambientes más utilizados por las hembras fueron la vegetación acuática en la laguna y el canal. Sin embargo, las hembras silvestres usaron predominantemente la vegetación acuática en la laguna mientras que las hembras reintroducidas utilizaron el canal como ambiente preferido. Los resultados sugieren que el área de vida es similar entre las hembras silvestres y las hembras reintroducidas, pero con uso del hábitat diferente. Cabe mencionar que algunas localizaciones fueron colectadas mientras las hembras se trasladaban a través del monte y de los pastizales, demostrando la importancia de conservación de las áreas aledañas a los cuerpos hídricos habitados por estos cocodrilianos. En el Capítulo 3 se estudió la posibilidad de visualizar un individuo durante un censo nocturno, basado en datos

colectados por el equipo de telemetría. Para esta parte de la tesis se tuvieron en cuenta las posiciones adquiridas en el periodo nocturno (entre 1800h y 0500h), siendo que aquellas coordenadas ubicadas adentro de la vegetación fueron consideradas como no visibles, en el caso de un censo nocturno. Ambientes densamente vegetados, como la laguna estudiada (juncos y totoras) pueden ofrecer refugios encontrándose más del 70% (100-30%) de los yacarés escondidos o no disponibles para ser visualizados durante los muestreos. Por otro lado, en el canal el 100% de las hembras estaban ubicadas en un área donde podrían ser observadas. No se encontró relación entre el tamaño de la hembra y la posibilidad de ser visualizada, tampoco entre hembras reintroducidas o silvestres. Aparentemente, el mejor horario para realizar un conteo nocturno sería entre las 2200h y 0300h. En el Capítulo 4 se estudió el desarrollo de folículos y huevos, y la relación de las estructuras reproductivas con los niveles hormonales (estradiol, progesterona y testosterona) de las hembras. Para esta parte del estudio fue utilizado un ecógrafo portátil para evaluar y obtener imágenes de las estructuras reproductivas de las hembras, observándose folículos vitelogénicos ($n = 5$), huevos ($n = 4$), folículos atrésicos ($n = 11$) y ausencia de estructura reproductiva ($n = 12$). No fueron capturadas hembras reproductivas menores de 65 cm de LHC (longitud hocico-cloaca). Los mayores niveles de estradiol fueron observados durante la ovulación (noviembre) de las hembras reproductivas. No se hallaron diferencias en los niveles de progesterona entre hembras reproductivas durante el período estudiado (noviembre–enero), a pesar de presentar valores mayores durante la nidificación (diciembre) respecto a las hembras no reproductivas. Tampoco se observaron diferencias en los niveles de progesterona entre hembras reproductivas y hembras con folículos atrésicos al final del período de nidificación (enero). Hembras reintroducidas por el programa de uso sustentable (rancheo) presentaron el mismo comportamiento reproductivo que hembras silvestres. La ecografía puede ser considerada como una técnica eficiente para el estudio de las estructuras reproductivas en el comienzo del ciclo reproductivo del yacaré overo. Solamente los análisis de los niveles hormonales no son suficientes para determinar la condición reproductiva de hembras de *C. latirostris*. En el Capítulo 5, se presenta una integración de todos los capítulos de la tesis.

SUMMARY

Caiman latirostris (the broad-snouted caiman) is a crocodylian that stands out in Argentina because of its economic importance, related to use of leather and meat, and the development of sustainable use programs with semi-intensive management systems (ranching). The conservation activities of these programs produced important information related to reproductive biology of *C. latirostris* and successful recovery of their wild populations. However, the lack of knowledge concerning the behavior of released individuals and information regarding habitat use and the development of follicles and eggs for wild and reintroduced animals in Argentina hinders the understanding of some basic processes of the population - such as home range, movement patterns, habitat use, and reproductive cycle. This thesis aimed to expand knowledge about population ecology and the reproductive cycle of *Caiman latirostris*, comparing wild and reintroduced adult females in nature by a sustainable use management program. Fieldwork was carried out in the northern region of Santa Fe Province (Argentina), at the same working areas of the “Proyecto Yacaré”, between 2010 and 2012. In Chapter 1 of the thesis, a general introduction to the main topics is addressed. In Chapter 2, some aspects of the use of space using telemetry techniques with VHF/GPS technology are studied. Eight adult females (four wild and four reintroduced) were monitored during 19 days to 455 days. There was no difference in home range between wild and reintroduced females. Wild females predominantly used the lagoon environments with aquatic vegetation, while reintroduced females used natural stream as a preferred habitat. Results suggest that reintroduced females have similar home range as wild ones, but with distinctly different habitat use. Some geographic locations were registered while females moved through the forest, showing the importance of conserving bodies of water surrounding those areas inhabited by crocodylians. In Chapter 3, the possibility of detecting caiman during night counts based on data collected by telemetry equipment was determined. Only locations acquired during night (between 18:00h and 05:00h) were considered for analysis, and those acquired in highly vegetated areas were considered undetectable. Lagoons with greater availability of vegetation (eg. cattail) can offer refuge and therefore more than 70% (100-30%) of the animals were hidden and not able to be visualized during surveys. In contrast, 100% of the caiman at the stream habitat were located in an area where they could be observed. A relationship between female body size and the possibility to be visualized was not observed for either reintroduced or wild females. The best hours to conduct a survey

seemed to be between 22:00h and 03:00h. In Chapter 4, the development of follicles and eggs, and a comparison these reproductive structures with the female hormone levels (estradiol, progesterone and testosterone) was studied. Using an ultrasound device to obtain images of the reproductive structures of adult females, individuals with vitellogenic follicles ($n = 5$), eggs ($n = 4$), atretic follicles ($n = 11$), and inactive reproductive structures ($n = 12$) were studied. No reproductive females with a snout–vent length of smaller than 65 cm were found. High levels of estradiol were found during the ovulation period (November) only in reproductive females. Reproductive females showed no differences in progesterone levels during the study period (November–January) compared to non-reproductive females; however, reproductive females showed higher progesterone levels during nesting (December). No differences in progesterone levels between reproductive females and females with atretic follicles at the end of the nesting period (January) were found. Females that were reintroduced by the sustainable use program (*ranching*) showed the same reproductive behavior as wild females. Ultrasound imaging was found to be an efficient technique to study reproductive structures at the beginning of reproductive cycle of the broad-snouted caiman. Isolated analyses of hormonal levels are not sufficient to determine the reproductive condition of *C. latirostris* females. In Chapter 5, a summary and some recommendations based on the main conclusions found was presented.

Capítulo 1

Introducción General

1.1. El orden Crocodylia

Este grupo de reptiles que posee más de 200 millones de años, actualmente se encuentra representado por tres familias (Crocodylidae, Alligatoridae y Gavialidae), comprendiendo ocho géneros y 23 especies (Manolis y Stevenson, 2010). Estos animales habitan la mayor parte de los ambientes acuáticos (estuarios, ríos, lagos y pantanos) de las zonas tropicales y subtropicales de los continentes, e incluso la zona templada, como es el caso de la especie *Caiman latirostris* (yacaré overo) en el Sur de América del Sur (Groombridge, 1987; Martin, 2008).

Los cocodrilianos son animales ectotérmicos, por lo cual dependen de la temperatura del medio ambiente para mantener las condiciones óptimas para su metabolismo. Sin embargo, algunas especies pueden estar o permanecer en una condición semi-aletargada e incluso existen registros de casos de hibernación; lo que evidencia la capacidad adaptativa que este grupo de reptiles posee ante las condiciones críticas de temperatura (Bellairs, 1987; Campos *et al.*, 2006a).

Los representantes de este grupo comparten una morfología similar: cuerpo alargado con un cráneo robusto, hocico largo y mandíbula fuerte, cuello corto, cuerpo cilíndrico que se extiende a una cola comprimida lateralmente y miembros cortos, pero fuertemente desarrollados. Además, se caracterizan por poseer una cubierta ósea conformada por pequeñas placas u osteodermos dentro de la piel, los cuales se engrosan a medida que el animal crece y cuya función es protegerlos de los ataques de predadores. Otra característica en estos animales es que gran parte de los órganos de los sentidos (ojos, oídos y narinas) se encuentran en el plano superior de la cabeza, siendo altamente adaptados para la vida acuática, utilizando los ambientes terrestres para algunas actividades como regular su temperatura corporal y construir sus nidos. Los cocodrilianos son

animales de gran porte, donde los adultos pueden presentar desde 1,5m hasta 7m de largo total (Vitt y Caldwell, 2013).

Los Crocodylia son ovíparos y sus nidos pueden tener entre 10 a 80 huevos, y el tamaño de camada está directamente relacionado con el tamaño de la hembra. Los huevos son generalmente depositados en huecos en la tierra/arena o en montículos de vegetación en proximidades del cuerpo hídrico, o en vegetación flotante en áreas de poca profundidad. El periodo de incubación puede variar en función de la especie y del clima (Lang y Andrews, 1994). El sexo es determinado a partir de la mitad del estadio de desarrollo del embrión en función de la temperatura que son incubados los huevos (Valenzuela y Lance, 2004). El cuidado parental del nido y de los neonatos está presente en la mayoría de las especies de cocodrilianos (Shine, 1988; Campos *et al.*, 2012). Estos reptiles poseen complejas interacciones sociales por vivir en grupos, estableciendo jerarquías, territorialidad y comunicación entre sí, mediante sonidos, movimientos, posturas de cuerpo, olores y contacto físico (Garrick y Lang, 1977).

Estos animales son longevos, pueden vivir más de 50 años, y su actividad reproductora puede tener una duración de más de 30 años (Garnett, 1989). El dimorfismo sexual en los cocodrilianos es muy marcado, siendo una vez adultos los machos más grandes que las hembras, en todas las especies. Son animales polígenos, donde una hembra recibe varias cópulas en cada período reproductivo (generando alta multipartenidad), y la maduración sexual depende del tamaño del individuo que se ve afectado por la disponibilidad de comida y de algunas variables ambientales como la temperatura (Rueda-Almonacid *et al.*, 2007; Amavet *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2014). Las especies de este grupo son predatoras oportunistas, de hábito nocturno, y su dieta varía desde invertebrados cuando son jóvenes, hasta grandes vertebrados en su edad adulta. Sus presas pueden ser: pequeños insectos, crustáceos, moluscos, peces, aves, ranas, tortugas y mamíferos (Magnusson *et al.*, 1987; Thorbjarnarson, 1993; Melo, 2002; Borteiro *et al.*, 2009; Platt *et al.*, 2013).

Ubicados en el tope de la cadena trófica, los cocodrilianos desempeñan un importante papel para el equilibrio del medio, además de ser un eslabón en las cadenas tróficas tanto acuáticas y terrestres (Magnusson, 1995; Palmer y Mazzotti, 2004; Nifong *et al.*, 2014). Al seleccionar sus presas habituales eliminan los individuos más viejos o débiles de las poblaciones, auxiliando el ciclo de transformación de nutrientes y ejercen un papel crucial en el control biológico indirecto de plagas y parásitos que pueden atacar las

poblaciones humanas, como es el caso de los caracoles del género *Biomphalaria* que hospedan *Schistosoma mansoni* (Rueda-Almonacid *et al.*, 2007).

Los Crocodylia fueron explotados por la población humana durante siglos (Brazaitis, 1989; Ross, 1998; Da Silveira y Thorbjarnarson, 1999). La intensa presión de caza por el alto valor de la piel para la confección de artículos de lujo como cintos, carteras, zapatos; fue uno de los principales motivos que llevaron a las drásticas reducciones poblacionales en algunas especies de cocodrilianos (Cott, 1961; Da Silveira *et al.*, 1997; Hutton y Webb, 2003). Además de la cacería, la presión humana por la explotación agrícola y ganadera generó la pérdida, modificación y contaminación de los hábitats ocupados por esos animales (Verdade y Lavorenti, 1990; Larriera e Imhof, 2006). Por esos motivos, y a pesar de los esfuerzos en la recuperación de algunas poblaciones, de las 23 especies actuales de cocodrilianos, siete están categorizadas como críticamente amenazadas y cuatro en estado vulnerable (IUCN, 2014).

1.2. Uso y conservación de los caimanes en Argentina

En Latinoamérica se encuentran diez especies de cocodrilianos, correspondientes a cuatro géneros (*Caiman*, *Crocodylus*, *Melanosuchus* y *Paleosuchus*), de los cuales en Argentina están presentes *Caiman latirostris* (yacaré overo) y el *Caiman yacare* (yacaré negro). Estas especies se distribuyen en las Provincias del Norte Argentino, aunque el yacaré overo, por poseer una mayor tolerancia climática habita zonas más al sur (32°S), como es el caso de la Provincia de Santa Fe (Waller y Micucci, 1992; Larriera e Imhof, 2000; Piña *et al.*, 2004).

La vida de los Crocodylia está asociada al agua, sin embargo las dos especies que habitan Argentina poseen una marcada diferencia en cuanto a los ambientes donde predominan. *Caiman yacare* ocupa aguas abiertas y corrientes con poca vegetación, mientras que *C. latirostris* puede ser encontrado más frecuentemente en ambientes acuáticos de poca profundidad y fuertemente vegetados (Verdade y Piña, 2007). Las poblaciones más numerosas de *C. latirostris* en Argentina pueden ser encontradas en los grandes esteros asociados a las planicies de inundación de los ríos de llanura, como el Paraná, el Salado y el Uruguay (Larriera e Imhof, 2006).

Actualmente los caimanes en Argentina presentan poblaciones abundantes que permiten la explotación sustentable, sin embargo esa situación era bastante diferente en el

pasado (Larriera *et al.*, 2008). De la misma forma que en el resto del mundo, la presión de caza ejercida sobre los caimanes en este país fue grande, en especial para *C. latirostris*, ya que su piel posee mayor valor comercial en función de la menor osificación de sus osteodermos (Larriera e Imhof, 2006). Las poblaciones de *C. latirostris* en Argentina, desde el año 1997, están listadas en el Apéndice II de CITES (Convención Internacional del Tráfico de Especies Amenazadas), permitiendo la comercialización de animales provenientes de programas de uso y manejo (Piña *et al.*, 2004).

El uso sustentable de los recursos naturales es la alternativa encontrada para frenar la destrucción masiva y consecuente extinción de especies (Hilborn *et al.*, 1995; Verdade, 2004). Lo mismo ocurre con los cocodrilianos, existiendo tres técnicas o formas de manejo (Hutton y Webb, 1992): 1) caza de adultos (*crooping*), 2) producción y reproducción de la especie en ciclo cerrado (*farming*), y 3) cosecha de huevos en la naturaleza para cría en granjas (*ranching*). Las tres técnicas se diferencian por: la intensidad del manejo, el grado de intervención en la población natural, la permanencia o no de animales en condiciones cautivas y la cantidad de recursos económicos necesarios para garantizar la colecta y procesamiento de los productos (Verdade, 2004).

La técnica de rancheo (*ranching*) es la utilizada en Argentina con los caimanes (Larriera, 2011). Esa técnica es del tipo semi-intensivo, donde los huevos producidos en la naturaleza, son colectados e incubados artificialmente y de las crías nacidas un porcentaje es destinado a ser liberado en las zonas de cosecha, mientras que la otra parte es destinada al uso comercial (uso de carne y cuero). Todo esto, se realiza de manera ambientalmente sustentable y sin colocar en riesgo las poblaciones manejadas (Piña *et al.*, 2004).

La técnica de *ranching* se fundamenta en el hecho que en la naturaleza, la tasa de nacimiento y supervivencia en el primer año del *C. latirostris* (así como otros cocodrilianos) es muy baja. La elevada mortandad embrionaria es causada por factores ambientales, como inundaciones y sequías extremas, así como la predación de huevos y neonatos (Larriera y Piña, 2000; Larriera e Imhof, 2006; Simoncini *et al.*, 2014); resultando en que raramente el 10% de los animales nacidos lleguen a un año de edad. Por lo tanto, la técnica de rancheo se basa en utilizar comercialmente la parte de la población que naturalmente no sobreviviría y liberar en la naturaleza más individuos de los que hubiese superado el período de incubación natural (Larriera, 1991, 2011).

Un ejemplo de estos programas de manejo y conservación de *Caiman latirostris* en Argentina es el Proyecto Yacaré, creado en el año 1990 en Santa Fe (Larriera, 1990), el que basado en la técnica de *ranching* maneja las poblaciones del yacaré overo, con el

objetivo de conservar tanto a la especie como a los ambientes que esta habita (Larriera, 1990). Esta técnica de manejo es viable debido a que la incubación artificial aumenta la tasa de eclosión y luego la cría comercial disminuye la mortalidad de los animales. Sin embargo existen algunas controversias al respecto del potencial de adaptación al ambiente, y de la tasa real de individuos que debería ser reintroducida en la naturaleza (Kleiman *et al.*, 1994; Caro, 1999; Wang *et al.*, 2011).

En respuesta a estas inquietudes, recientemente han sido capturadas hembras adultas de *C. latirostris* reintroducidas en años previos por el Proyecto Yacaré, próximo a los sitios donde fueron liberadas (no mayor a 1km), defendiendo sus nidos (Piña *et al.*, 2004; Larriera *et al.*, 2006). Con esto se evidenció el potencial de supervivencia y adaptación de estos animales, desde su reintroducción o liberación hasta su etapa adulta. Sin embargo, aún no se sabe si existe alguna influencia del período de confinamiento sobre algunos aspectos de su vida.

1.2.1. El yacaré overo (*Caiman latirostris*)

Caiman latirostris es una especie de porte mediano llegando a medir hasta 3,5m de largo total y 80kg de masa corpórea, a pesar de ser difícil encontrar individuos de este tamaño en la naturaleza (Larriera y del Barco, 1992; Verdade, 1998). Su cabeza es proporcionalmente más ancha que la de cualquier otro cocodriliano, lo que evidencia la razón de algunos de sus nombres populares, como yacaré de hocico ancho o yacaré ñato (Fig.1.1). Esta especie presenta un patrón de coloración verde oscuro para el cuerpo, con manchas negras en la cabeza y en el cuello (Verdade y Piña, 2007). En el dorso, posee osteodermos bastante osificados (Brazaitis, 1973). Presenta hábitos generalistas en su dieta, variando desde invertebrados (por ejemplo *Ampullaria caniculata*) hasta mamíferos (por ejemplo *Myocastor coypus*; Melo, 2002; Borteiro *et al.*, 2009).



Figura 1.1 - *Caiman latirostris* (yacaré overo) en su hábitat natural. Foto: P. Siroski.

El yacaré overo posee una de las más amplias distribuciones geográficas entre los cocodrilianos, abarcando el noreste, sureste y sur de Brasil, norte de Uruguay, noreste de Argentina, sur de Paraguay y suroeste de Bolivia. Habita diversos tipos de ambientes acuáticos (Piña y Larriera, 2003; Verdade y Piña, 2007) y en Argentina se encuentra en las Provincias de Corrientes, Chaco, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta y Santa Fe (Piña *et al.*, 2004). Los ambientes que habitan y en los que nidifica esta especie en Argentina pueden ser caracterizados fisonómicamente como albardones de cuerpos de agua, embalsados (vegetación flotante), lomadas de esteros, cuerpos de aguas artificiales, savanas y montes, conforme descripto por Larriera (1995) y Montini *et al.* (2006).

El período reproductivo de la especie se inicia en octubre, momento en que ocurren las cópulas, y finaliza en diciembre/enero, cuando las hembras culminan al construir sus nidos hechos de montículos vegetales (ramas, hojas y tierra; Fig.1.2) y oviponen un promedio de 36 huevos (rango: 16-45, Larriera, 1994; Piña *et al.*, 2002; Simoncini *et al.*, 2009). El sexo de los embriones de esta especie es determinado por la temperatura de incubación, por lo que los huevos incubados entre 29 y 31°C producen exclusivamente hembras, de 33 a 34°C exclusivamente machos y a 34,5°C son producidos tanto machos como hembras (Piña *et al.*, 2003). El tiempo de incubación de los huevos depende de la temperatura y varía entre 65 y 85 días (Verdade, 1995; Piña *et al.*, 2003).



Figura 1.2 - Hembra de *Caiman latirostris* (yacaré overo) en su nido. Foto: P. Siroski.

De los trabajos de investigación realizados con *C. latirostris* en la Argentina, la mayoría está relacionado a aspectos reproductivos en cautiverio o en la naturaleza (Larriera, 1993, 1995; Simoncini *et al.*, 2011; Portelinha *et al.*, 2015), incubación de huevos en condiciones controladas (Piña *et al.*, 2005; Iungman y Piña, 2013), determinación sexual termodependiente (Piña *et al.*, 2003; Piña *et al.*, 2007, Simoncini *et al.*, 2014), multipaternidad y genética poblacional (Amavet *et al.*, 2008; Amavet *et al.*, 2012), ecotoxicología (Poletta *et al.*, 2011; López González *et al.*, 2013), fisiología (Siroski *et al.*, 2012, 2013), y predación natural (Larriera y Piña, 2000; Parachú-Marcó *et al.*, 2012; Simoncini *et al.*, 2014), para una revisión de los estudios ver Verdade y Piña (2006). Sin embargo, el yacaré overo continúa siendo una especie poco conocida en la naturaleza, en algunos aspectos como uso del espacio (área de vida, uso del hábitat, patrón de movimiento), desarrollo folicular y ciclo hormonal. También se desconoce si el manejo de estos animales en los programas basados en la técnica de *ranching*, afectan la conducta de los individuos reintroducidos.

1.3. Uso del espacio por cocodrilianos

El área de vida y el patrón de movimiento de un animal deben ser conocidos para comprender los procesos básicos de la población, e incluso pueden ser considerados

importantes parámetros demográficos, además de substanciales para el manejo de cualquier especie, principalmente los de tope de cadena (cocodrilianos) por su influencia sobre los niveles tróficos más bajos (Hutton, 1989; Donovan *et al.*, 2011; Campbell *et al.*, 2013). Los movimientos de los cocodrilianos pueden estar relacionados con comportamientos reproductivos, de alimentación, cambios estacionales en el nivel del agua o para evitar predadores (Lang, 1987; Coutinho *et al.*, 2000; Campos, 2003; Rosenblat y Heithaus, 2011). Dichos movimientos son presumiblemente realizados para maximizar el *fitness* de los individuos sobre las condiciones naturales (Campos *et al.*, 2006). El área de vida (*home range*), es definido como el área utilizada repetidamente por un animal para sus actividades (Kenward, 2001), mientras que patrón de movimiento, es el movimiento realizado dentro de su área de vida (Pyle, 1984), ambos son importantes parámetros a ser considerados en los estudios de uso del espacio. El uso del hábitat por cocodrilianos puede ser atribuido a la territorialidad durante el período reproductivo (Rootes y Chabreck, 1993), adaptación (Wang *et al.*, 2011), diferentes modos de forrajeo (Magnusson *et al.*, 1987; Subalusky *et al.*, 2009; Nifong *et al.*, 2014), para reducir la competencia inter-específica (Webb *et al.*, 1983) y además, en el período reproductivo las hembras modifican su comportamiento permaneciendo en pozos de agua próximas a los nidos y en agujeros acompañando sus crías (Larriera, com. pers.; Campos *et al.*, 2012).

Estudios en cocodrilianos, abordando aspectos de movimiento y uso de hábitat fueron realizados en diversos países usando radiotelemetría (Muñoz y Thorbjarnarson, 2000; Kay, 2004; Campos *et al.*, 2006; Da Silveira *et al.*, 2011; Balaguera-Reina *et al.*, 2016). Debido a algunas características del comportamiento de estos animales (habitar locales de difícil acceso, evitar la presencia humana), se observaron algunas limitaciones al utilizar la radiotelemetría convencional en cocodrilianos (Read *et al.*, 2007). Por lo tanto, un sistema con tecnologías diferentes, como la radiotelemetría con GPS incorporado, sería viable para coleccionar datos de manera continua para individuos que habitan áreas de difícil acceso, como *C. latirostris*. En estos equipos, el GPS es responsable por coleccionar y almacenar la información geográfica en momentos predeterminados, y otro sistema (por ejemplo, el UHF) sería responsable por establecer una conexión remota al equipo, donde posibilitaría la descarga de las informaciones almacenadas.

Hasta el momento, todas las informaciones sobre área de vida y los movimientos de *C. latirostris* están basados en un trabajo que fue llevado a cabo en un área de silvicultura en Brasil (Marques, 2013). La ausencia de datos relacionados al uso del espacio dificulta las acciones que deben ser tomadas por los programas de manejo y organismos

ambientales durante sus actividades y planificaciones para la conservación de la especie. Además, cabe aclarar que no existen registros que comparen el uso del espacio entre animales de esta especie que fueron reintroducidos por programas de manejo y aquellos que hayan completado su ciclo en la naturaleza, lo que imposibilita conocer los efectos de esta actividad en algunos procesos básicos de sus poblaciones, como: área de vida, uso de hábitat y patrón de movimiento.

1.4. Ecografía y ciclo hormonal en cocodrilianos

En los últimos años algunos métodos no invasivos como la palpación, radiografía y ecografías fueron utilizados para evaluar aspectos de la dinámica reproductiva en hembras de reptiles (Palacios y Beltrán, 2005; Martínez-Torres *et al.*, 2006; Gilman y Wolf, 2007; Lance *et al.*, 2009), incluyendo el desarrollo de los folículos ováricos (Uribe *et al.*, 1996). La evaluación del desarrollo folicular a través de la ecografía permite la observación directa de órganos reproductivos, aportando información sobre el estado de una hembra en un determinado momento, sin la necesidad de utilizar procedimientos invasivos (Hildebrandt *et al.*, 2000).

Estudios en cocodrilianos (y otros reptiles) demostraron una relación directa entre el ciclo folicular y el desarrollo del oviducto con las hormonas sexuales, donde el estradiol (17- β) desempeña un papel importante como estimulante de la vitelogénesis y la progesterona por estimular la maduración de los folículos y preparar el oviducto para la reproducción (Ho *et al.*, 1985; Kofron, 1990; Wibbels *et al.*, 1992; Coutinho, 2000). Además, los mayores niveles de estradiol y progesterona son encontrados en el comienzo de la temporada reproductiva, en hembras con folículos vitelogénicos y huevos, y los mayores valores de testosterona antes de la temporada reproductiva (durante el cortejo y cópula) o después de la oviposición (Lance, 1989; Kofron, 1990). Lance *et al.* (2009) compararon el desarrollo de los folículos de hembras de *Alligator mississippiensis* a través de la ecografía con los niveles hormonales y evidenciaron que el uso de esas dos técnicas en conjunto puede propiciar una mayor precisión en el diagnóstico del estadio reproductivo de estos animales.

El único trabajo que utilizó técnicas ecográficas para estudios reproductivos en *C. latirostris* fue el de Vac *et al.* (1992). En este trabajo, los autores evaluaron el desarrollo folicular de hembras cautivas de esta especie durante el período reproductivo y pre-

reproductivo, donde pudieron acompañar la ovulación e identificar estructuras como folículos vitelogénicos (1,0-3,8cm de diámetro) y huevos. Sorprendentemente, a pesar de su amplia distribución geográfica, no hay registros en la literatura sobre estudios en la naturaleza, respecto al desarrollo folicular, ciclo hormonal y porcentaje de hembras activamente reproductivas en cada temporada para la especie, tanto en hembras que hayan completado su ciclo en la naturaleza, así como para aquellas que fueron reintroducidas.

1.5. Objetivos y estructura de la tesis

1.5.1. Objetivo general

Ampliar los conocimientos acerca de la ecología poblacional y el ciclo reproductivo de la especie *Caiman latirostris* en la Provincia de Santa Fe (Argentina), comparando hembras adultas silvestres y reintroducidas en la naturaleza por el “Proyecto Yacaré” a fin de observar si existen efectos del tiempo que los individuos permanecen en cautiverio en la biología de la especie.

1.5.2. Objetivos específicos

- Determinar el área de vida;
- Identificar los patrones de movimiento;
- Analizar el uso del hábitat;
- Determinar la detectabilidad durante un censo nocturno basados en datos colectados por equipos de telemetría;
- Identificar las estructuras reproductivas y describir el desarrollo de los folículos y huevos;
- Relacionar los tamaños de los folículos y huevos con las concentraciones hormonales;
- Estimar el porcentaje de hembras activamente reproductivas en una temporada.

La estructura de la tesis está dividida en una serie de capítulos, iniciando por una introducción general de los principales tópicos abordados (Capítulo 1). En los Capítulos 2 y 3 se estudió los aspectos del uso del espacio a partir de técnicas de telemetría utilizando equipos con tecnología VHF/GPS para conocer el área de vida, uso del hábitat, patrón de movimiento y posible detectabilidad durante un censo nocturno para *C. latirostris* en una

reserva natural (El Fisco). En el Capítulo 4, utilizando un ecógrafo portátil y técnicas de determinación de hormonas sexuales (estradiol, progesterona y testosterona) a través de Radioinmunoanálisis (RIA), se estudió el desarrollo de folículos y huevos y se relacionaron estas estructuras reproductivas con los niveles hormonales de las hembras, además de comprender y estimar el porcentaje de hembras activamente reproductivas para cada temporada estudiada. Finalmente, en el Capítulo 5, se presentó una integración de todos los capítulos de las tesis.

1.6. Área de estudio

El estudio fue realizado en el Norte de la Provincia de Santa Fe (Argentina; Fig.1.3), en las mismas zonas de trabajo del Proyecto Yacaré, más específicamente en las localidades de Fisco ($30^{\circ}11'40''S$ $61^{\circ}0'50''W$; Fig.1.4A), Caminos ($30^{\circ}2'46''S$ $59^{\circ}58'30''W$; Fig.1.4B), Lucero ($29^{\circ}54'25''S$ $60^{\circ}50'23''W$; Fig.1.4C) y Espín ($29^{\circ}58'04''S$ $60^{\circ}4'55''W$; Fig.1.4D). Estos sitios son representados por ambientes como albardones de cuerpos de agua, embalsados y montes (Larriera, 1995). El clima de la zona es subtropical templado con una temperatura promedio anual mínima de $14,9^{\circ}C$ y máxima de $25,6^{\circ}C$ y precipitación anual aproximada de 1.380mm (Servicio Meteorológico Nacional: www.smn.gov.ar).

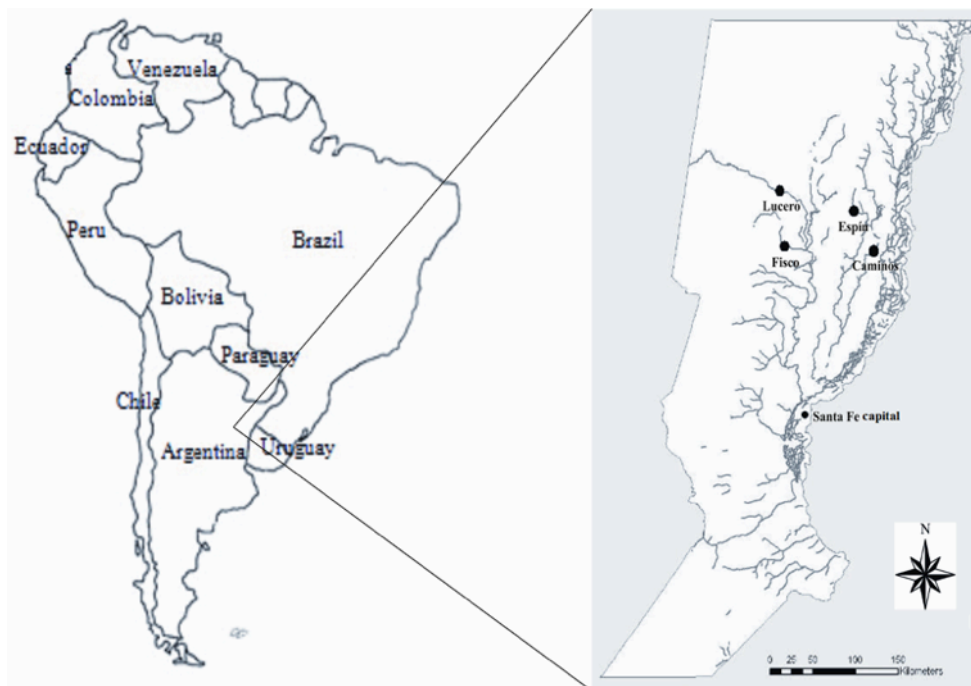


Figura 1.3 - Área de estudio. Adaptado de Simoncini (2011).



Figura 1.4 - Hábitats estudiados de *Caiman latirostris*. A - Fisco (laguna superior y canal inferior); B - Caminos (savana inundada); C - Lucero (río Salado), Foto: P. Siroski; D - Espín (arroyo), Foto: M. Simoncini.

1.6.1. El Fisco

Uno de los sitios de estudio es la Reserva Natural Manejada “El Fisco” (Estancias El Caranday y Algarrobo), ubicada en el Departamento de San Cristóbal. La reserva es un área natural protegida (Ley 12.930/08), formada por sectores de campo alto y bajo, bañados y lagunas temporarias y permanentes, cubierto en gran parte por monte natural. El principal cuerpo hídrico asociado a la reserva es el arroyo Las Conchas (perteneciente a la cuenca del río Salado), al que desemboca a través de la división del cauce en una serie de bañados. Por tratarse de una reserva manejada, en el área son desarrolladas actividades de agricultura y pecuaria, si bien en algunos sectores, como la laguna, no se permite intervenciones humanas. En este sitio los ambientes muestreados fueron la laguna (Fig.1.5A) y un canal natural (Fig.1.5B).



Figura 1.5 - Área de estudio en la Reserva Natural “El Fisco”, Santa Fe (Argentina). A – Laguna; B – Canal.

Las formaciones vegetales que predominan alrededor de estos dos ambientes son del tipo albardones de cuerpo de agua y montes (Larriera, 1995). La laguna es poco profunda ($\approx 1,5\text{m}$) y posee una distancia de aproximadamente 1.700m entre sus extremidades más lejanas, cubriendo un área aproximada de 300 hectáreas. Este cuerpo de agua se encuentra rodeado por una vegetación acuática densa que está formada predominantemente por juncos, totoras y cola de zorro (*Typha spp.*, *Juncus spp.* y *Scirpus spp.*, *Ceratophyllum demersum*; Peña, 1997). El canal presenta poca o ninguna vegetación acuática, posee entre 10 y 20m de ancho y está ubicado paralelo a la laguna. El área estudiada en este ambiente fue de aproximadamente 3,4km lineales.

1.6.2. Caminos

El sitio de estudio Caminos (Estancia El Estero), es una reserva de uso múltiple de acuerdo con la resolución n°104/92 (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Industria y Comercio de la Provincia de Santa Fe). Los ambientes de estudio en el área están caracterizados como esteros, savana inundada y un arroyo.

1.6.3. Lucero y Espín

El caso del Lucero y Espín, ambos son campos privados con explotación agrícola-ganadera, presentando ambientes caracterizados por planicies de inundación con presencia de monte y la vegetación asociada a este tipo de ambiente. En el Lucero, los ambientes de estudios fueron un estero (Los Molles) y el río Salado, siendo el principal curso hídrico de

la zona y cuyos pulsos de inundación proveen de agua a los esteros asociados; y para el Espín un arroyo de poca profundidad y poco caudaloso con vegetación marginal característica de la savana.

1.7. Captura, biometría, sexado y marcación

La captura de los individuos fue realizada a través de la utilización de lazos de acero. Posterior a la captura, los individuos fueron inmovilizados mecánicamente, sin el uso de anestésicos (Verdade, 1997), sus miembros fueron sujetados con soga de nylon y su boca y ojos vendados con cinta adhesiva, para evitar el stress de los animales y accidentes durante el manejo. Los individuos capturados fueron sexados mediante inspección de la genitalia en la cloaca, según describe Brazaitis (1969) y Yanosky (1990).

Los datos biométricos fueron obtenidos con una cinta métrica ($\pm 1\text{mm}$) midiendo la longitud total (LT) y la longitud hocico-cloaca (LHC). La masa corpórea (MC) fue determinada con una balanza de 0,1kg de precisión. La marcación de los animales fue realizada mediante cortes de las crestas simples y dobles (Bolton, 1994) siguiendo una combinación previamente establecida. Luego de la toma de todos los datos necesarios los animales fueron liberados en el mismo lugar de captura.

1.8. Telemetría

En los Capítulos 2 y 3 de esta tesis fueron utilizados equipos de telemetría para estudiar el uso del espacio (área de vida, patrón de movimiento, uso del hábitat y detectabilidad). Los transmisores utilizados pertenecen al modelo Quantum 4000 Enhanced EXT memory LS26500 SIRF III (Telemetry Solutions Ltda., Concord, California, USA) con dimensiones de 8,5cm largo x 5,0cm ancho x 5,4cm alto y 257g de peso, siendo revestidos con resina a prueba de agua y dos antenas externas para las transmisiones VHF y UHF. Los equipamientos están compuestos de tres sistemas:

1) VHF: para la ubicación del animal a partir de las ondas de radio. Cada equipamiento posee una frecuencia única y con distancia de 20KHz de los otros transmisores que están operando en el área. Las señales de radio son emitidas en forma de pulsos por el transmisor y captadas en un receptor (Advanced Telemetry Systems, INC.)

conectado a una antena Yagi de tres elementos (AF Antronics, INC.);

2) GPS: responsable por la toma y almacenamiento de las localizaciones geográficas (precisión de hasta 2,5m);

3) UHF: para realizar la descarga de los datos. La señal UHF que es transmitida por los equipamientos, es captada por un receptor (BaseStation, Telemetry Solutions Ltda.) conectado a otra antena del tipo Yagi de tres elementos (Telemetry Solutions Ltda.) y una computadora portátil (Palm Top, HP iPAQ 200), donde los datos son descargados y almacenados.

Después de capturadas en sus nidos e inmovilizadas mecánicamente, de acuerdo con lo descrito anteriormente, los animales fueron trasladados a San Cristóbal (la ciudad más cercana, aproximadamente 30km) y llevados a un local aséptico para los procedimientos quirúrgicos. Los equipamientos fueron instalados en la región de la nuca siguiendo la metodología descrita por Brien *et al.* (2010) con algunas modificaciones (Fig.1.6). Previo a la instalación de los equipos, los animales fueron anestesiados localmente con inyecciones subcutáneas de lidocaína (Fig.1.6A), con concentración de 20mg/ml (2-3mg/kg por peso vivo). Luego de aplicar la anestesia, se realizó la asepsia de la región de la nuca con iodopovidona (Fig.1.6B) y se introdujeron subcutáneamente cuatro cables de acero inoxidable flexibles, los que fueron sujetos con grapas de acero (Figs.1.6C, 1.6D y 1.6E). Posteriormente se aplicó una fina capa de pegamento epoxy (DEVCON[®] S-208) entre el equipamiento y la nuca del animal, y se colocó un adhesivo elástico mono-componente (SikaBond[®] AT Universal) de secado rápido con el objeto de rellenar todos los espacios vacíos (Fig.1.6F). La utilización del adhesivo elástico permitió la formación de un conjunto final más hidrodinámico y que los cables de acero no quedasen expuestos. Para evitar futuras infecciones, fue aplicado vía intramuscular en la región del antebrazo oxitetraciclina LA (20mg/kg de peso vivo) (Gillespie, 1998). Todos los procedimientos quirúrgicos fueron llevados a cabo bajo la supervisión de un Médico Veterinario.



Figura 1.6 - Instalación de los equipamientos de telemetría en *C. latirostris*. A – Anestesia con inyecciones subcutáneas de lidocaína (2-3mg/kg por peso vivo); B – Asepsia de la región de la nuca con iodopovidona; C – Cables de acero inoxidable flexibles introducidos subcutáneamente; D – Ubicación del equipo de telemetría en la nuca del animal; E – Cables sujetos con grapas de acero inoxidable; F – Hembra liberada en el sitio de estudio después de la instalación del equipo.

Los transmisores fueron instalados durante el período reproductivo (entre diciembre 2010 y febrero 2011) en ocho hembras adultas, siendo cuatro silvestres (aquellas que permanecieron toda su vida en estado natural) y cuatro que habían sido reintroducidas aproximadamente ocho años atrás por el Proyecto Yacaré (Larriera, 1990), las que fueron identificadas por sus marcas en las crestas de la cola (Larriera *et al.*, 2006). Los equipos no excedieron el 2% de la masa corpórea de ningún animal (los límites recomendados son de 3 a 5%; Kenward, 2001). La hembra más liviana estudiada pesó 14,3kg y el equipo correspondía a 1,8% de su masa corpórea. El tiempo requerido para la instalación de cada equipo fue de aproximadamente 40 minutos. Las ocho hembras fueron liberadas en sitios próximos a los cuales fueron capturadas en un periodo entre 24 y 36h.

Los equipos fueron configurados para adquirir diariamente, tres localizaciones (en diferentes horarios) para cada animal durante los meses más cálidos (septiembre-abril) y una localización (en diferentes horarios) durante los meses más fríos (mayo-agosto). Por lo tanto, se consideraron dos períodos de muestreo: cálido y frío. Las localizaciones fueron obtenidas en horarios alternados y con una diferencia de ocho horas para los meses cálidos (por ejemplo, primer día: 0000h, 0800h y 1600h, segundo día: 0100h, 0900h y 1700h) y de 26 horas para los meses fríos (por ejemplo, primer día: 0000h, segundo día: 0200h). Todos los radios estaban sincronizados y tomaban el dato al mismo tiempo

Capítulo 2

Área de vida, uso de hábitat y patrón de movimiento de *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) en la Provincia de Santa Fe, Argentina

2.1. Introducción

Los cocodrilianos representan un grupo pequeño y relativamente homogéneo de reptiles, caracterizados por presentar individuos de gran porte, ovíparos, con largo período reproductivo (marcadamente estacional), determinación sexual por temperatura, cuidado parental de las crías, y un complejo comportamiento social (Lang, 1987; Thorbjarnarson, 1996; Piña *et al.*, 2003). El uso sustentable de estos animales, ha sido visto como una alternativa de aprovechamiento económico directo de las comunidades rurales o locales y para la conservación de la biodiversidad y de importantes ecosistemas (Magnusson, 1994; Ross, 1997; Larriera *et al.*, 2008). *Caiman latirostris* (yacaré overo) es una de las dos especies de cocodrilianos que existe en Argentina, la cual posee una de las más amplias distribuciones geográficas entre los cocodrilianos y habita diversos tipos de ambientes acuáticos, siendo encontrado más frecuentemente en locales de poca profundidad y fuertemente vegetados (Piña y Larriera, 2003; Verdade y Piña, 2007). Los hábitats y ambientes de nidificación de esta especie en Argentina pueden ser caracterizados físionómicamente como albardones de cuerpos de agua, embalsados, lomadas de esteros, cuerpos de aguas artificiales y montes (Larriera, 1995; Montini *et al.*, 2006). Esta especie se destaca debido a su importancia económica, debido al alto valor su piel y carne, y en Argentina es manejada a través de la técnica de rancheo (*ranching*: Larriera, 1993; Piña *et al.*, 2002).

El uso sustentable de los cocodrilianos es una importante estrategia para promover la conservación de esos reptiles, así como la preservación de ambientes naturales y la

diversidad biológica asociada (Hilborn *et al.*, 1995; Verdade, 2004). Por lo tanto, informaciones relacionadas a los aspectos poblacionales son esenciales para la determinación del estado actual de una población y para la elección de la práctica de manejo a aplicar en una determinada especie (Coutinho y Campos, 2002). El éxito de los programas de manejo y conservación de cocodrilianos basados en la técnica de *ranching*, comprendiendo la liberación o reintroducción de individuos en la naturaleza es determinado principalmente a través de informaciones sobre la densidad poblacional, supervivencia y tasas de crecimiento en la naturaleza (Muñoz y Thorbjarnarson, 2000). Sin embargo, conocer otros aspectos del comportamiento de estos animales reintroducidos, como el área de vida y los patrones de movimiento, permiten comprender si existe algún efecto o cambio en el comportamiento, condicionado por el cautiverio en el que fueron mantenidos durante el primer año de su vida, respecto de los silvestres.

Programas de manejo basados en la técnica de *ranching* (rancheo) son llevados a cabo para los cocodrilianos en muchas partes del mundo (Webb *et al.*, 1987), además de Argentina (Larriera e Imhof, 2006). El éxito de los programas de manejo con cocodrilianos es reconocido a nivel mundial como una importante herramienta para la conservación, a través del uso sustentable (comercio de carne y cuero; Thorbjarnarson, 1999), inclusión social de los habitantes locales (Larriera, 2011) y por recuperar poblaciones de especies amenazadas y no amenazadas (Dodd y Seigel, 1991; Thorbjarnarson, 1992; FitzSimmons *et al.*, 2002; Jayson *et al.*, 2006; Ballouard *et al.*, 2010). Sin embargo, pocos estudios evaluaron el efecto de la reintroducción sobre algunos aspectos de la vida de estos reptiles y de su comportamiento sobre el uso del espacio. Un ejemplo de estos programas es el Proyecto Yacaré, creado en el año 1990 en Santa Fe (Larriera, 1990), que realiza un manejo semiintensivo de las poblaciones del *C. latirostris*, a través de la cosecha de huevos, incubación y posterior liberación de un porcentaje de las crías nacidas en cautiverio en la naturaleza (Piña *et al.*, 2004; Larriera *et al.*, 2008). A pesar de Larriera *et al.* (2006) haber demostrado el potencial adaptativo del yacaré overo al observar algunas hembras reproduciéndose en la naturaleza, informaciones sobre el uso del espacio por individuos reintroducidos de esta especie todavía no están disponibles. Además, cabe resaltar que el único estudio sobre área de vida y patrón de movimiento para individuos reintroducidos de una especie de cocodriliano neotropical fue el presentado por Muñoz y Thorbjarnarson (2000) para machos juveniles del *Crocodylus intermedius* en Venezuela.

El uso del espacio (área de vida, patrón de movimiento y uso del hábitat) por los cocodrilianos puede variar de acuerdo con su edad (tamaño), sexo y época del año. No

existe un patrón único para todas las especies, aunque en algunos estudios se observaron comportamientos similares para diferentes cocodrilianos: hembras adultas generalmente permanecen en lugares con mucha vegetación y próximas a sus nidos, pero durante la época de cortejos y cópulas pueden ocupar otros sitios y aumentar su área de vida (Taylor, 1984; Ouboter y Nanhoe, 1988; Rootes y Chabreck, 1993; Lance *et al.*, 2011). Otro ejemplo son los machos adultos, los cuales son más territoriales, presentando movimientos más frecuentes y viajando largas distancias, por lo que en general su área de vida es mayor en comparación a las otras clases etarias (Goodwin y Marion, 1979; Kay, 2004; Campbell *et al.*, 2013). Mientras que los juveniles, son los individuos que buscan nuevos ambientes, los que todavía no están ocupados por los machos adultos dominantes, presentando áreas de vida y patrones de movimiento diferente al de los adultos y con valores más grandes que los observados para las hembras (Rodda, 1984; Hutton, 1989; Webb *et al.*, 2009). Al estudiar individuos adultos de la especie *C. latirostris*, Marques (2013) observó que hembras y machos poseen áreas de vida y patrones de movimiento similares, con mayor actividad durante los meses más cálidos del año (período reproductivo) y que utilizan las áreas de cultivo (plantaciones de eucalipto) para dislocarse entre los cuerpos hídricos.

El área de vida y el patrón de movimiento de un animal deben ser conocidos para comprender los procesos básicos de la población, e incluso pueden ser considerados como importantes parámetros demográficos, además de substanciales para el manejo de cualquier especie, principalmente las especies de cocodrilianos, por su influencia sobre los niveles más bajos en la cadena trófica (Hutton, 1989; Donovan *et al.*, 2011; Campbell *et al.*, 2013). Según Kenward (2001), el área de vida (*home range*) puede ser definido como el área usada repetidamente por un animal en un intervalo de tiempo dado, siendo diferente al patrón de movimiento, ya que este último es caracterizado por el movimiento que un animal realiza dentro de su área de vida por diferentes motivos (Pyle, 1984). Las informaciones obtenidas durante el monitoreo de individuos podrán ser trazadas en un mapa, con la posibilidad de calcular numéricamente sus áreas de vida (generación de polígonos y estimadores de densidad) y diferenciar cuales son los hábitats más utilizados por los animales (White y Garrot, 1990). Los análisis de uso del hábitat en general contemplan cuatro aspectos que relacionan la fauna silvestre y los ambientes disponibles: la disponibilidad (de área) de un determinado hábitat, el grado de utilización, la preferencia y su relación con la existencia de la población estudiada (White y Garrot, 1990). Debido a que sólo existe un estudio de telemetría para *C. latirostris* en Brasil (Marques, 2013), se desconocen informaciones sobre el uso del espacio del yacaré overo en Argentina.

Verdade *et al.* (2010), recomendaron que estudios de radiotelemetría fuesen realizados en *C. latirostris* con el objeto de conocer los patrones individuales del uso del espacio. La ausencia de datos relacionados al uso del espacio dificulta las acciones y la toma de decisiones al momento de planificar las actividades a realizar en pos de la conservación de la especie, como, por ejemplo, sobre la localización, composición del paisaje y tamaño de las áreas de conservación, sobre los locales de monitoreo y forma de manejo. Además, cabe aclarar que no existen registros que comparen individuos silvestres de aquellos que fueron reintroducidos por programas de manejo, lo que imposibilita conocer los efectos de esta actividad en algunos procesos básicos de sus poblaciones, como por ejemplo el uso del espacio. Considerando que no existen informaciones en ese contexto para *C. latirostris*, el presente estudio tuvo como objetivos: 1) determinar el área de vida, 2) los patrones de movimiento y 3) el uso del hábitat por hembras adultas de *C. latirostris*, comparando animales silvestres y reintroducidos en la naturaleza. Considerando los pocos registros para cocodrilianos respecto al comportamiento de individuos reintroducidos, la hipótesis es que el nacimiento y manejo en cautiverio de las hembras de *Caiman latirostris* por parte de los programas de rancho no afecta el uso del espacio en el ambiente silvestre. Como predicción se podría esperar que el área de vida, patrón de movimiento y el uso del hábitat de las hembras silvestres de *C. latirostris*, no difiere de las hembras reintroducidas.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Área de estudio

El presente estudio fue realizado en la reserva El Fisco (30°11'26"S 61°0'27"W), ubicada en el Departamento de San Cristóbal, provincia de Santa Fe, Argentina. Las informaciones sobre el área de estudio están detalladas en el ítem 1.6. "Área de estudio" en el Capítulo 1 de esta tesis (Pag. 19).

2.2.2. Uso del espacio

Los análisis espaciales fueron realizados utilizando los sistemas de información geográfica ARCVIEW 3.2 (ESRI, Redlands, California) y ARCGIS 9.2 (ESRI, Redlands, California) e imágenes de alta resolución del área de estudio. Además, se utilizaron las

extensiones *Animal Movement* y *Hawth's Analysis Tools* (Hooge y Eichenlaub, 2000).

2.2.2.1. *Área de vida*

El área de vida para cada animal fue descrita por el método del Mínimo Polígono Convexo (MPC; Hayne, 1949), basado en la construcción del polígono por la unión de los puntos más externos de la distribución de las localizaciones, de forma de cerrar el menor polígono posible sin admitir concavidades (Mohr, 1947; Fuller *et al.*, 2006); y por el método de Kernel 95%, que genera cuadrículas con contornos de probabilidades basadas en la densidad de puntos colectados (K95; Worton, 1989). Los centros de actividad (CA) fueron determinados por el método del Kernel 50%, donde se calcula la cantidad y tamaño de esos centros (Hayne, 1949).

Todos los datos fueron analizados en cuanto a la normalidad y homogeneidad de varianzas previo a la elección de los tests estadísticos utilizados. Regresiones lineales simples fueron utilizadas para averiguar si el tamaño de la hembra estaba relacionado con el área de vida (MPC y K95) y si la cantidad de puntos obtenidos afecta el valor observado del área de vida (MPC y K95). Los datos de área de vida (MPC) fueron comparados entre hembras silvestres y reintroducidas mediante ANCOVA (siendo la cantidad de puntos considerada como covariable). Al no encontrar relación entre la cantidad de puntos y el K95, se recurrió al test *t* a fin de comparar hembras silvestres y reintroducidas respecto al K95. Observaciones con coeficiente de leverage mayor que $4/N$ y residuos estandarizados altos fueron excluidos y los datos fueron reanalizados (Sokal y Rohlf, 1995).

2.2.2.2. *Patrón de movimiento*

El patrón de movimiento fue determinado para cada individuo considerando el promedio del movimiento diario (m/día), calculado a partir de la suma entre localizaciones subsecuentes. Para comparar los dos períodos de muestreo (reproductivo/cálido y no reproductivo/frío) fueron considerados para estos cálculos solamente un punto diario. Por lo tanto, durante el período cálido, donde el equipo estaba programado para colectar tres localizaciones, fueron consideradas solamente las informaciones obtenidas a cada 25 horas (un punto diario o el próximo registrado); los otros dos puntos colectados en el mismo día

nunca fueron utilizados. Utilicé histogramas para evaluar la frecuencia de distribución del movimiento. El test de Wilcoxon (Mann-Whitney) fue utilizado para comparar el patrón de movimiento entre el período reproductivo (octubre-enero) y no reproductivo (febrero-septiembre), entre hembras silvestres y reintroducidas, y una regresión lineal simple fue utilizada para relacionar el movimiento diario mensual (m/día) con la temperatura del aire. Las informaciones de temperatura del área de estudio fueron obtenidas por un registrador automático de temperatura (HOBO[®] *data logger*) instalado en el sitio de estudio.

Además, fue considerado como otro parámetro de movimiento la mayor distancia recorrida del nido (MDR) por la hembra. La MDR fue considerada como la distancia entre el nido (donde la hembra fue capturada, utilizado como punto de referencia) y su punto más lejano durante el periodo reproductivo, y un test de ANCOVA (siendo considerada como covariable la cantidad de puntos) fue utilizado para evaluar si había diferencia entre hembras silvestres y reintroducidas. Para averiguar si el tamaño de la hembra estaba relacionado con la MDR y si la cantidad de puntos obtenidos influía a la MDR, fueron utilizadas regresiones lineales simples.

2.2.2.3. *Uso del hábitat*

La disponibilidad de hábitat fue calculada utilizando el software ArcGis 9.2 (ESRI, Redlands, California) en imágenes de alta resolución del área estudiada. Para determinar si existía independencia en la forma en que los animales usan el hábitat, se utilizó un test de Chi-cuadrado (X^2 ; Zar, 1999), siendo la hipótesis nula que el uso del hábitat se distribuye en función de su superficie. Un análisis de Bonferroni fue realizado para establecer los intervalos de confianza y demostrar relación (negativa, positiva o nula) con la preferencia de hábitat (Byers *et al.*, 1984).

La permanencia próxima al nido fue considerada como otro parámetro de uso del hábitat y fue caracterizada como la cantidad de días en que las hembras estuvieron en un radio de hasta 250m del nido durante el periodo reproductivo hasta la época de nacimiento de las crías (octubre a marzo). Para comparar el porcentaje de días que hembras silvestres y reintroducidas permanecieron cerca del nido, fue utilizado un test *t* y una regresión lineal simple con el objeto de estudiar la relación entre el tamaño de la hembra y el porcentaje de días que ésta permaneció cerca del nido. Todos los procedimientos estadísticos fueron realizados en el *software* InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008). Todos los valores fueron

presentados como promedio \pm desvío estándar.

2.3. Resultados

2.3.1. Área de vida

Las ocho hembras adultas evaluadas en este estudio fueron capturadas entre el 28/12/10 y el 07/02/11 (durante el periodo reproductivo de la especie) junto a sus nidos, los que estaban ubicados en los márgenes de la laguna o del canal en el área de estudio. La hembra más grande capturada midió 85,0cm de LHC y pesó 22,0kg mientras que la menor midió 76,0cm de LHC y pesó 16,6kg (Tabla 2.1). Los equipamientos pesaron entre 1,1% y 1,8% de la masa corporal de cada hembra. El tiempo de monitoreo varió entre 19 y 455 días.

Tabla 2.1 - Hembras de *C. latirostris* monitoreadas en el estudio de telemetría. Frec. = Frecuencia en MHz para cada animal monitoreado; (S) = hembra silvestre, nacida en la naturaleza; (R) = hembra reintroducida por el programa de *ranching*; LHC = largo hocico-cloaca; MPC = Área en hectáreas del Mínimo Polígono Convexo; Kernel = Área en hectáreas del Kernel 95%; N° CA = Cantidad de centros de actividad y área en hectáreas del mayor Kernel 50%; MDR = mayor distancia recorrida total.

Frec. (VHF)	Captura	LHC (cm)	Masa (kg)	MPC (ha)	Kernel (ha)	N° CA (ha)	MDR (km)	Puntos	Colecta de datos
148.020 (S)	Canal	80,0	17,6	60,0	26,0	1 (4,0)	1,77	333	31/12/10 - 01/10/11
148.160 (R)	Canal	79,0	15,4	14,0	1,0	1 (0,2)	0,61	156	31/12/10 - 21/03/11
148.060 (S)	Canal	76,0	16,6	77,0	21,0	2 (2,0)	1,31	239	08/01/11 - 13/09/11
148.100 (S)	Canal	85,0	22,0	268,0	49,0	2 (3,4)	1,60	482	09/01/11 - 03/01/12
148.140 (R)	Canal	79,0	16,5	18,0	89,0	2 (20,0)	1,33	13	16/01/11 - 13/02/11
148.120 (S)	Laguna	77,0	15,5	180,0	43,0	1 (4,0)	2,15	809	14/01/11 - 22/04/12
148.080 (R)	Laguna	78,5	14,3	142,0	61,0	3 (4,5)	1,74	253	08/02/11 - 06/08/11
148.040 (R)	Laguna	76,5	15,1	17,0	28,0	1 (4,0)	1,32	35	08/02/11 - 27/02/11

Se observó una relación positiva entre el MPC y la cantidad de puntos colectados ($r^2_{Adj} = 0,54$; $P = 0,0230$), pero no se encontró relación entre el K95 y la cantidad de puntos colectados ($r^2_{Adj} = 0,00$; $P = 0,9080$). El área de vida según el MPC y el K95 de las hembras varió entre 14-268ha ($98 \pm 91,2ha$) y 1-89ha ($39,7 \pm 35,3ha$), respectivamente (Tabla 2.1; Figs.2.1-2.8). El MPC de las hembras silvestres ($146,2 \pm 96,9ha$; rango: 60-

268ha) y reintroducidas ($49,7 \pm 61,7$ ha; rango: 14-142ha) fue similar ($F_{(1,6)} = 3,82$; $P = 0,0984$). Tampoco se encontraron diferencias ($t = -0,49$; $gl = 6$; $P = 0,6401$) entre el K95 de hembras silvestres ($34,7 \pm 13,3$ ha; rango: 21-49ha) y de las reintroducidas ($44,7 \pm 38,3$ ha; rango: 1-89ha). No se halló que el tamaño o masa corporal de las hembras se relacione al área de vida utilizada, tanto para el MPC (LT: $r^2_{Adj} < 0,01$; $P = 0,7519$; LHC: $r^2_{Adj} = 0,22$; $P = 0,1324$; Masa: $r^2_{Adj} = 0,24$; $P = 0,1210$) cuanto para el K95 (LT: $r^2_{Adj} < 0,01$; $P = 0,8053$; LHC: $r^2_{Adj} < 0,01$; $P = 0,6270$; Masa: $r^2_{Adj} < 0,01$; $P = 0,8245$). En este estudio se observó que las hembras monitoreadas presentaron entre 1 y 3 centros de actividad (K50; Tabla 2.1). Dichos centros de actividad presentaron un promedio general de $6,6 \pm 7,0$ ha (rango: 0,2-23ha) y no se encontraron diferencias ($t = -0,95$; $gl = 6$; $P = 0,4101$) entre los centros de actividad de hembras silvestres ($4,2 \pm 1,2$ ha; rango: 3-6ha) y reintroducidas ($9,0 \pm 9,9$ ha; rango: 0,2-23ha).



Figura 2.1 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris* silvestre (148.020). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.



Figura 2.2 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris* silvestre (148.060). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.

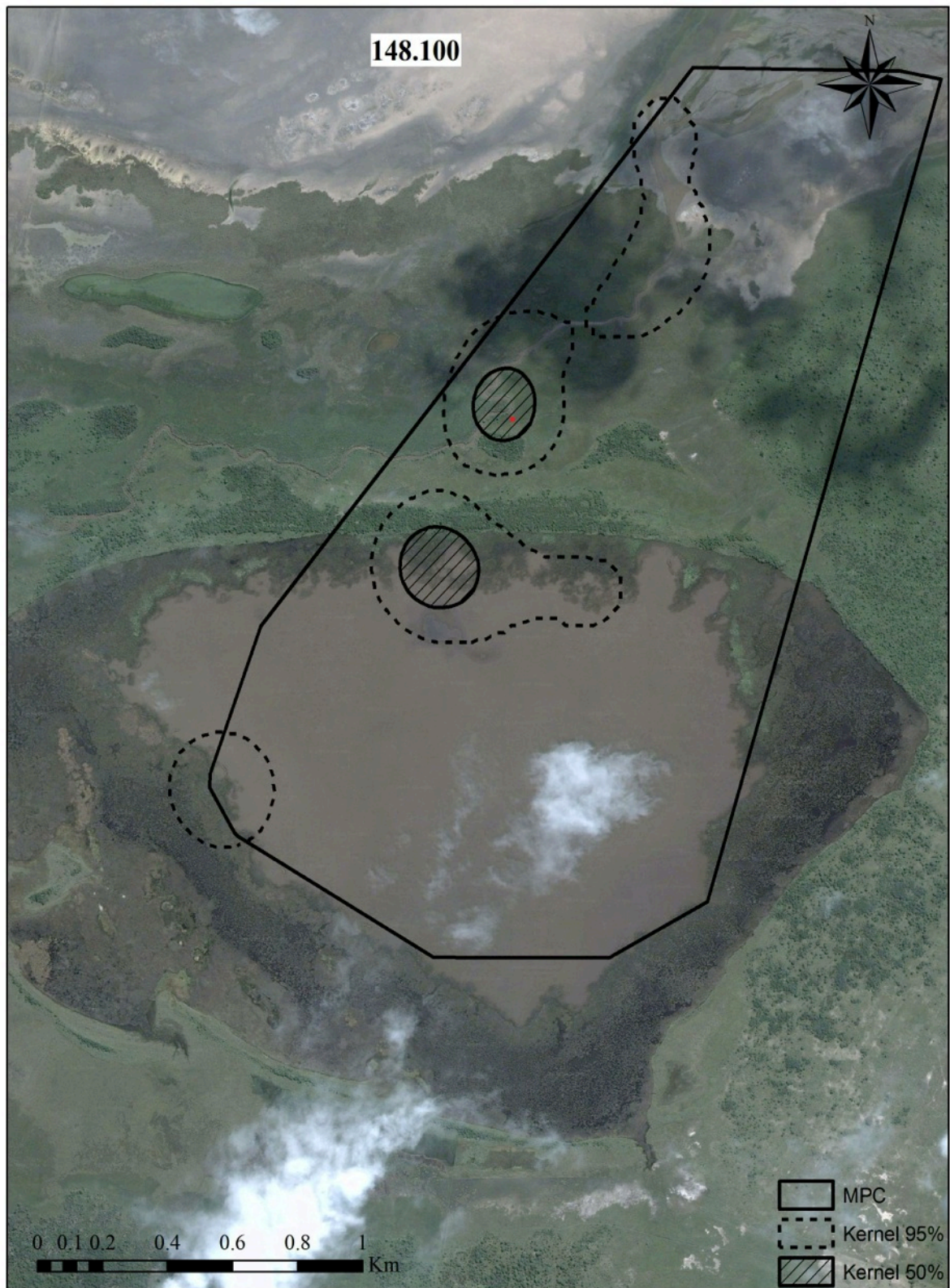


Figura 2.3 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris* silvestre (148.100). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.



Figura 2.4 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris silvestre* (148.120). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.

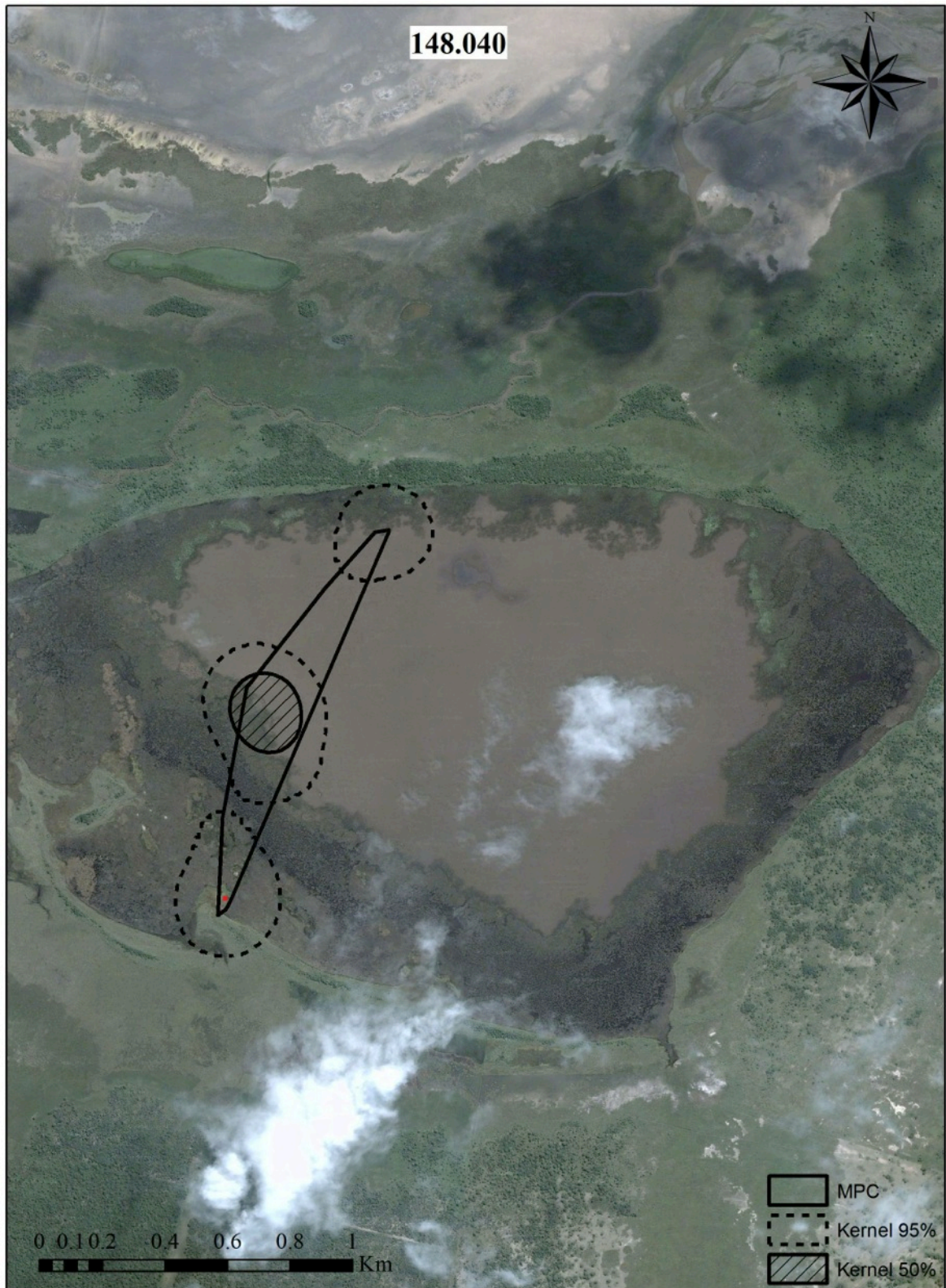


Figura 2.5 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris* reintroducida (148.040). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.



Figura 2.6 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris* reintroducida (148.080). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.

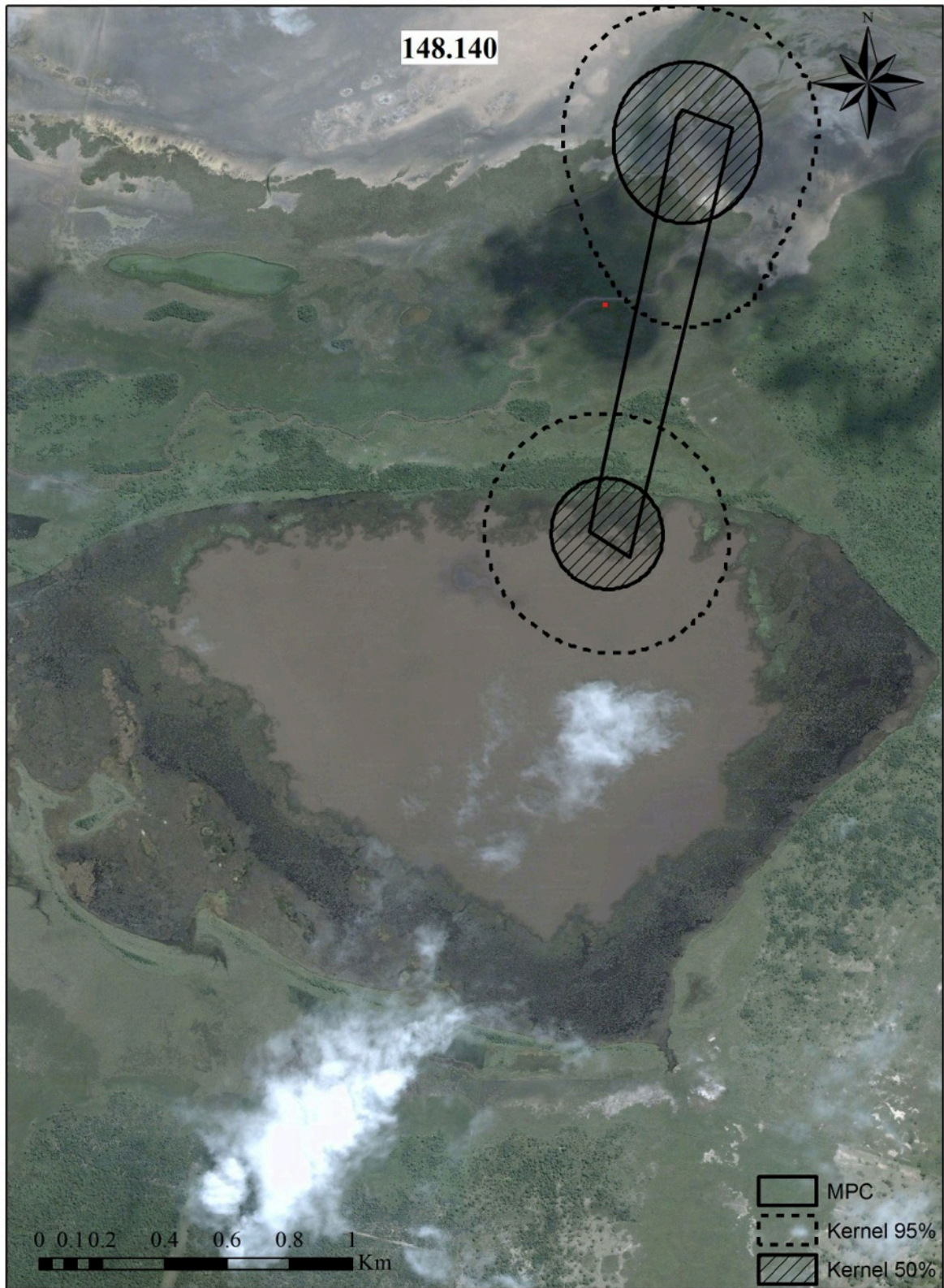


Figura 2.7 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris* reintroducida (148.140). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.

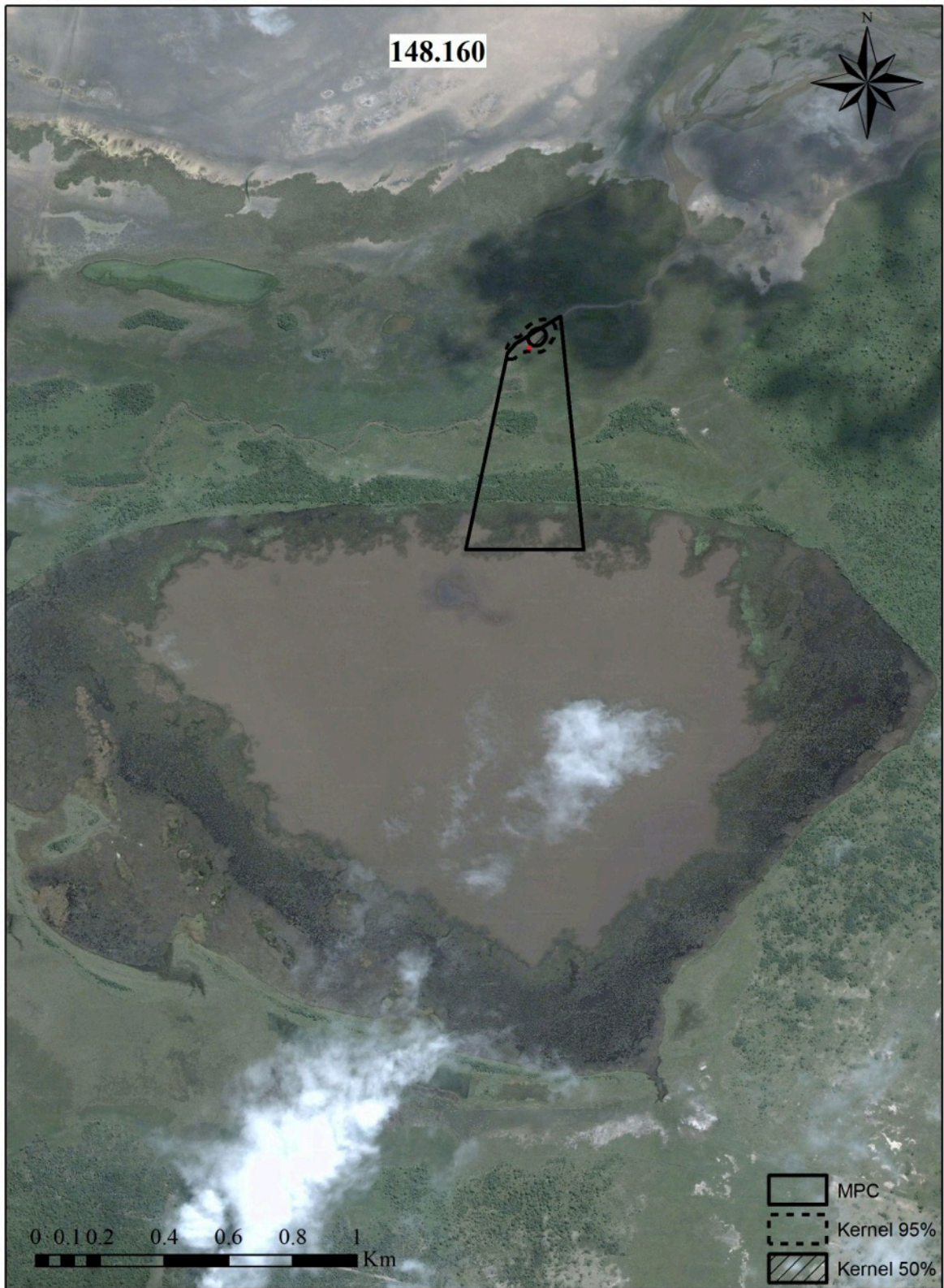


Figura 2.8 - Área de vida para hembra de *Caiman latirostris* reintroducida (148.160). MPC – Mínimo Polígono Convexo. Cuadrado rojo: localización del nido.

2.3.2. Patrón de movimiento

El promedio del movimiento diario de las hembras fue de $183,9 \pm 94,8\text{m/día}$ durante el periodo estudiado y se relacionó positivamente con la temperatura del aire ($r^2_{\text{Adj}} = 0,60$; $P = 0,0003$; Fig.2.9, 2.10 y 2.11), por lo que las hembras se movieron más durante el período reproductivo ($310,0 \pm 119,5\text{m/día}$) que durante el período no reproductivo ($127,0 \pm 41,5\text{m/día}$; $W = 26,0$; $P = 0,0286$). Las hembras silvestres y reintroducidas no se diferenciaron respecto a la tasa de movimiento diaria, a pesar de encontrar una gran diferencia entre los desvíos estándar (Silvestres: $176,3 \pm 44,0\text{m/día}$; Reintroducidas: $191,4 \pm 137,4\text{m/día}$; $W = 17,0$; $P = 0,8857$). Se observó una relación positiva entre la mayor distancia recorrida desde el nido (MDR) y la cantidad de puntos colectados ($r^2_{\text{Adj}} = 0,43$; $P = 0,0460$). La mayor distancia recorrida por las hembras desde el nido hasta el punto más lejano varió de 0,6 a 2,1km (promedio \pm DE.: $1,48 \pm 0,45\text{km}$; Tabla 2.1). Las hembras silvestres y las reintroducidas no se diferenciaron en cuanto a la mayor distancia recorrida desde el nido (MDR; $F_{(1,6)} = 2,62$; $P = 0,1665$). Tampoco se observó relación entre el tamaño y masa corporal de la hembra y su MDR (LT: $r^2_{\text{Adj}} < 0,01$; $P = 0,5341$; LHC: $r^2_{\text{Adj}} < 0,01$; $P = 0,9071$; Masa: $r^2_{\text{Adj}} < 0,01$; $P = 0,7808$).

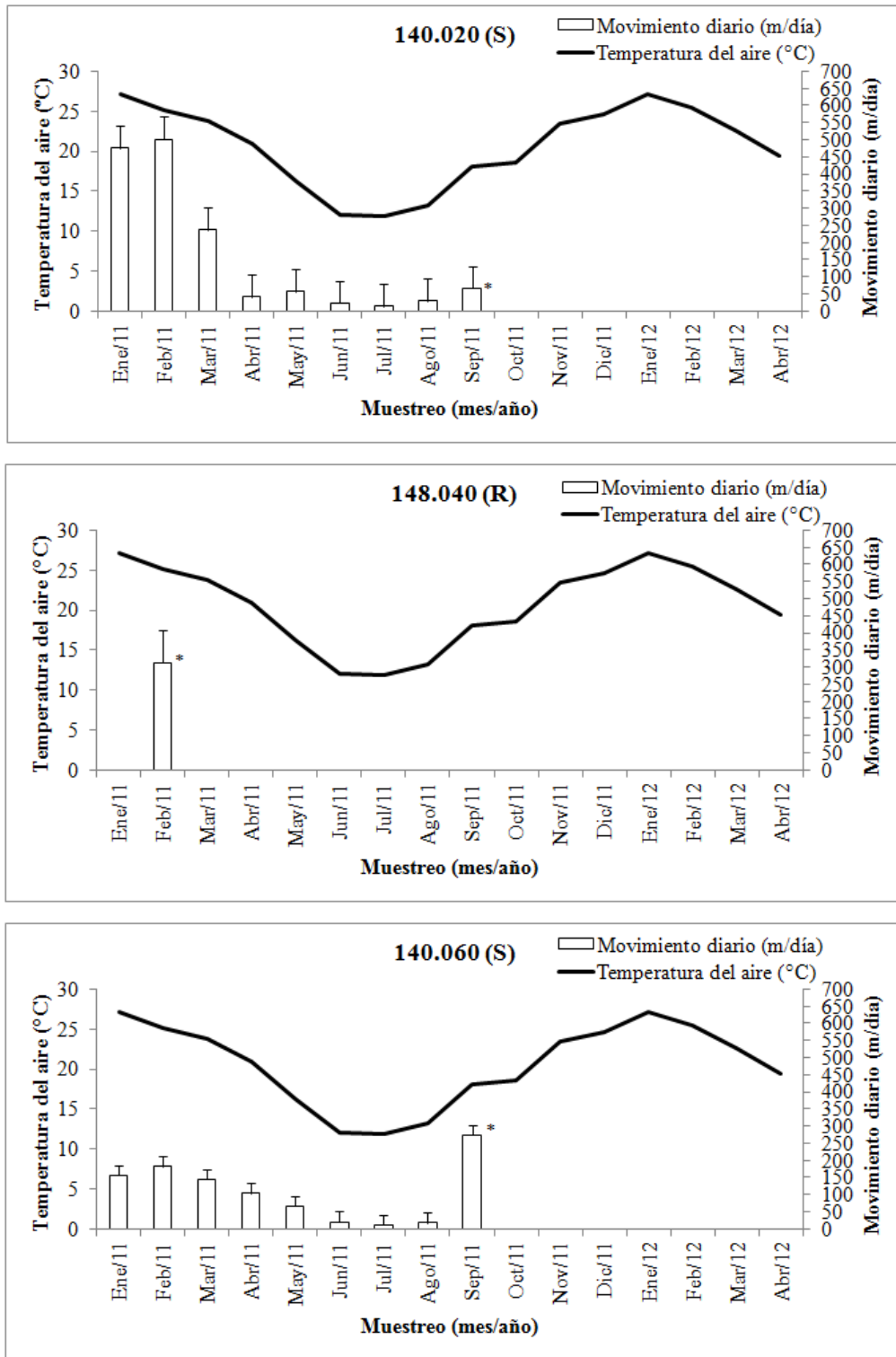


Figura 2.9 - Promedio de la temperatura del aire y del movimiento diario (m/día) correspondiente a cada hembra de *Caiman latirostris* (identificada por su respectiva frecuencia) monitoreada por radiotelemetría en Argentina. Las barras representan el desvío estándar. (R) – hembra reintroducida; (S) – hembra silvestre; * – más en que el radiotransmisor dejó de funcionar.

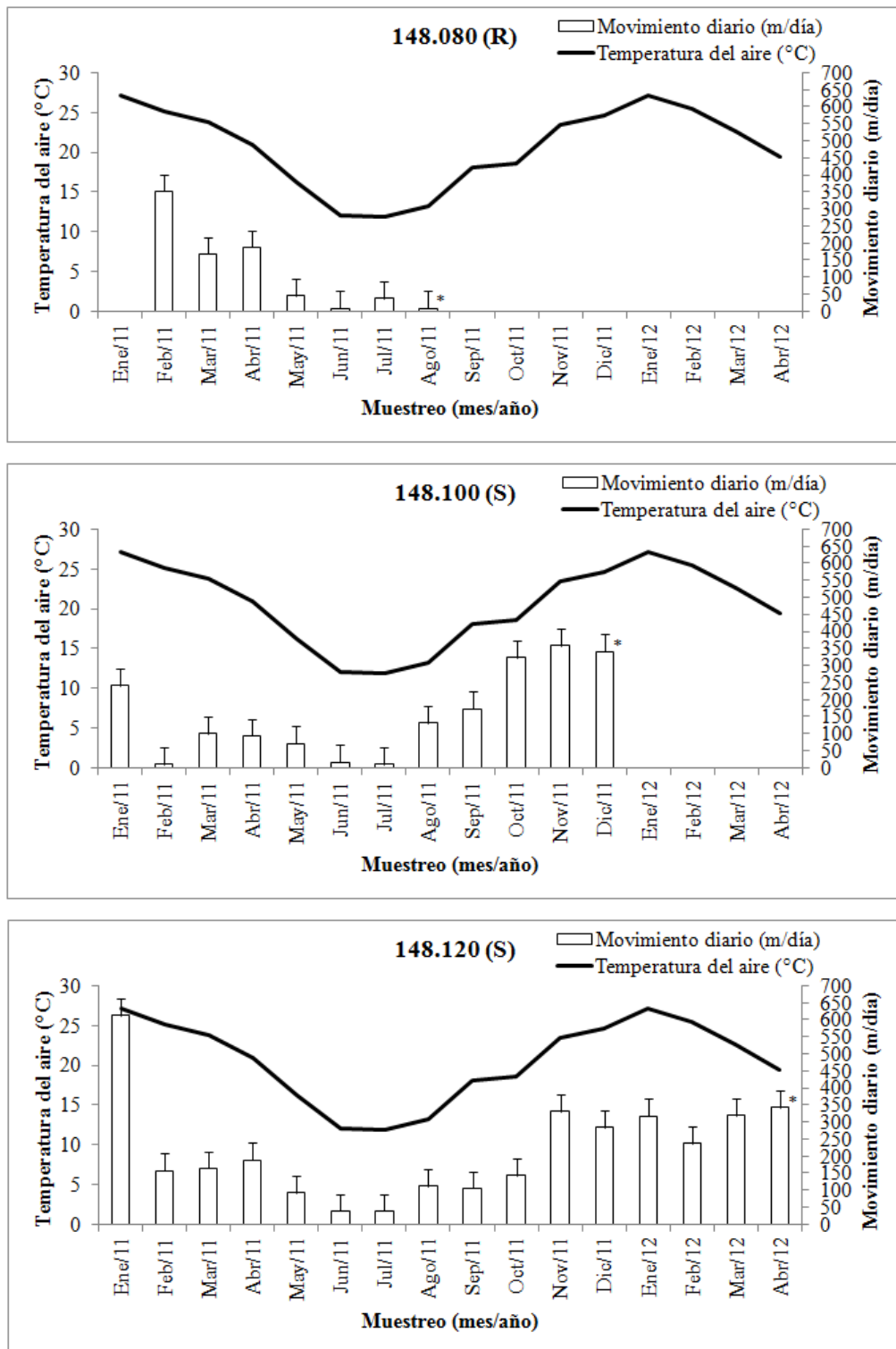


Figura 2.10 - Promedio de la temperatura del aire y del movimiento diario (m/día) correspondiente a cada hembra de *Caiman latirostris* (identificada por su respectiva frecuencia) monitoreada por radiotelemetría en Argentina. Las barras representan el desvío estándar. (R) – hembra reintroducida; (S) – hembra silvestre; * – más en que el radiotransmisor dejó de funcionar.

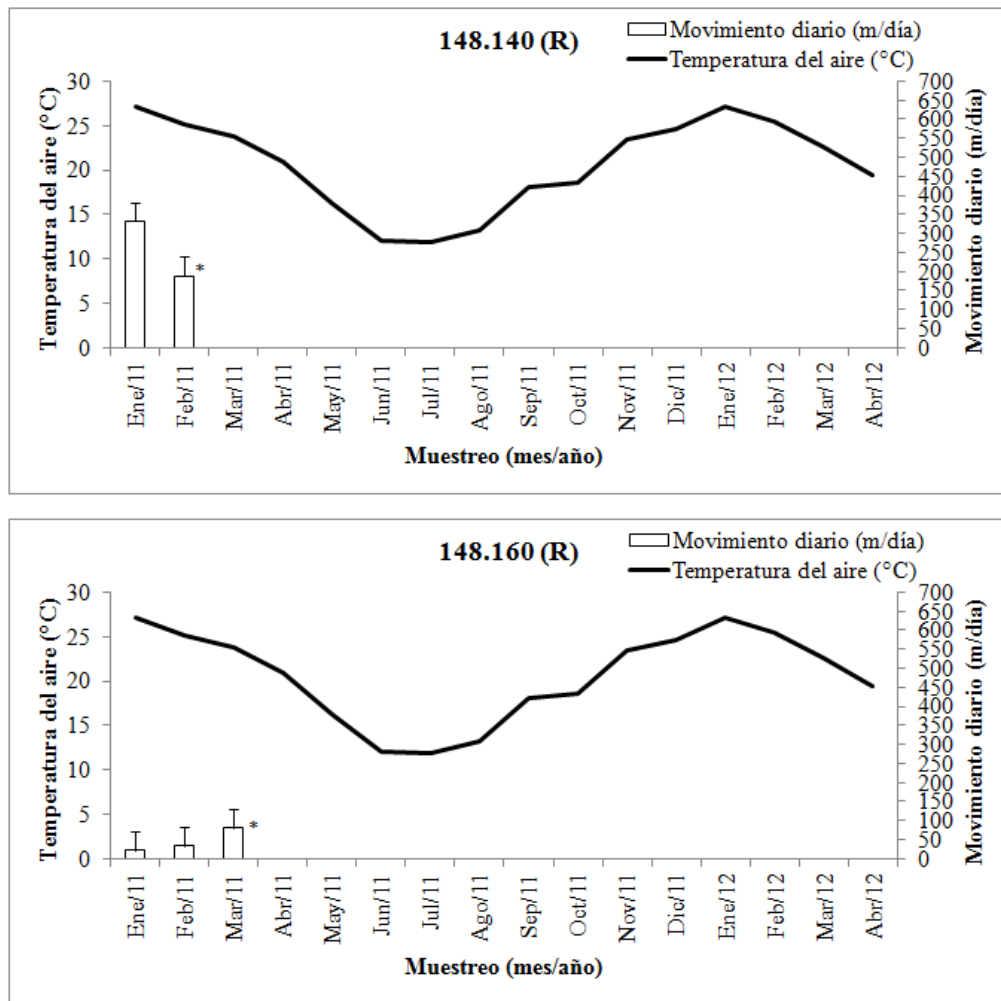


Figura 2.11 - Promedio de la temperatura del aire y del movimiento diario (m/día) correspondiente a cada hembra de *Caiman latirostris* (identificada por su respectiva frecuencia) monitoreada por radioteleetría en Argentina. Las barras representan el desvío estándar. (R) – hembra reintroducida; (S) – hembra silvestre; * – más en que el radiotransmisor dejó de funcionar.

2.3.3. Uso del hábitat

A través de las informaciones obtenidas por los centros de actividades (CA), se observó que los ambientes más utilizados por las hembras fueron: la vegetación acuática en la laguna (♀: 148.020, 148.040, 148.060, 148.080, 148.100, 148.120 y 148.140) y el canal (♀: 148.100, 148.140 y 148.160). También fueron registrados puntos en ambiente terrestre para algunas hembras (148.040, 148.080, 148.100 y 148.120). Las cinco hembras capturadas en el canal (tres silvestres y dos reintroducidas) se movieron hasta la laguna y retornaron para el canal. Sin embargo, las tres hembras capturadas en la laguna (una

silvestre y dos reintroducidas) utilizaron solamente ese ambiente durante el período monitoreado.

A pesar de que las hembras utilizaron todos los hábitats disponibles, se observó que el uso del hábitat fue diferente, incluso considerando la proporción del área para cada ambiente ($X^2 = 372,0$; $gl = 2$; $P < 0,001$; Tablas 2.2 y 2.3). Evaluando todas las hembras, se observó que la mayoría de los puntos registrados estaban en la vegetación acuática en la laguna (67%) y en el canal (26,8%), y el 6,2% de las observaciones en aguas abiertas. Los intervalos de Bonferroni demostraron que la vegetación acuática en la laguna y el canal son ambientes preferidos, mientras que las aguas abiertas son evitadas. Respecto a las hembras silvestres, éstas también mostraron un diferente uso del hábitat ($X^2 = 425,2$; $gl = 2$; $P < 0,001$; Tablas 2.2 y 2.3), demostrando preferencia por la vegetación acuática en la laguna (78,5%) y en el canal (13,3%), ya que el número de observaciones encontradas en estos ambientes fue mayor a lo esperado; y evitando el uso de aguas abiertas (8,2%). En el caso de las hembras reintroducidas también se observó una diferencia respecto al uso del hábitat ($X^2 = 515,9$; $gl = 2$; $P < 0,001$; Tablas 2.2 y 2.3). Tanto las hembras silvestres como las reintroducidas utilizaron el canal más de lo esperado (Tabla 2.3). Sin embargo, las hembras silvestres prefirieron la vegetación acuática, mientras que las reintroducidas lo utilizaron conforme su disponibilidad (no prefieren ni rechazan; esto fue observado a través de los intervalos de Bonferroni; Tabla 2.3).

Tabla 2.2 - Uso esperado y observado del hábitat por hembras de *C. latirostris* en Argentina. DE = Desvío estandar; Esp. = esperado; Obs. = observado; \bar{x} = promedio de la cantidad de puntos de las hembras evaluadas para cada situación (total, silvestres y reintroducidas) y hábitats estudiados; n = cantidad de observaciones.

Hábitat	Área total (ha)	Área relativa AR	Todas las ♀		♀ Silvestres		♀ Reintroducidas	
			Esp. (n^*AR)	Obs. ($\bar{x} \pm DE$)	Esp. (n^*AR)	Obs. ($\bar{x} \pm DE$)	Esp. (n^*AR)	Obs. ($\bar{x} \pm DE$)
Aguas abiertas	160	0,473	136,7	23±31	219,9	38±38	53	07±11
Vegetación acuática	169	0,500	144,5	215±233	232,5	365±235	56	65±106
Canal	9	0,027	7,8	51±81	12,6	62±98	03	40±74
Total	338	1	289	289±104 (n)	465	465±182 (n)	112	112±29 (n)

Tabla 2.3 – Uso de los ambientes por las hembras de *C. latirostris*. Pi – Puntos observados en el hábitat/total de puntos observados; * = indica diferencia a un nivel de 0,05 de significancia.

Hembras	Hábitat	Proporción esperada de uso	Proporción real de uso (Pi)	Intervalos de Bonferroni	Elección
Todas	Aguas abiertas	0,473	0,080	$0,042 \leq P \leq 0,117$	Negativa*
	Vegetación acuática	0,500	0,744	$0,682 \leq P \leq 0,805$	Positiva*
	Canal	0,027	0,176	$0,123 \leq P \leq 0,230$	Positiva*
Silvestres	Aguas abiertas	0,473	0,082	$0,051 \leq P \leq 0,112$	Negativa*
	Vegetación acuática	0,500	0,785	$0,739 \leq P \leq 0,830$	Positiva*
	Canal	0,027	0,133	$0,095 \leq P \leq 0,171$	Positiva*
Reintroducidas	Aguas abiertas	0,473	0,063	$0,008 \leq P \leq 0,117$	Negativa*
	Vegetación acuática	0,500	0,580	$0,469 \leq P \leq 0,692$	Nula
	Canal	0,027	0,357	$0,249 \leq P \leq 0,465$	Positiva*

En general, las hembras permanecieron próximas al nido desde el momento de su liberación con los equipos, hasta fines de enero o principios de febrero, a excepción de la hembra 148.140 (reintroducida), de la cual no se registraron datos próximos al nido. En cuanto a la permanencia (% de días), no se observaron diferencias entre las hembras silvestres y reintroducidas ($t = -1,33$; $gl = 5$; $P = 0,2324$; silvestres: 12%, rango 1-31% y reintroducidas: 40%, rango 0-96%), ni respecto al tamaño y masa corporal de las hembras (LT: $r^2_{Adj} < 0,01$; $P = 0,6932$; LHC: $r^2_{Adj} < 0,01$; $P = 0,3796$; Masa: $r^2_{Adj} = 0,09$; $P = 0,2419$). Solamente dos hembras fueron monitoreadas durante dos períodos reproductivos consecutivos (148.100 y 148.120). Sin embargo, ninguna de ellas evidenció una frecuencia reproductiva anual, ya que no permanecieron tiempo suficiente en un mismo lugar durante el segundo periodo reproductivo, ni cerca de su primer nido o sitio de captura.

2.4. Discusión

Entre las hembras de los cocodrilianos, el área de vida varía ampliamente entre las especies, por ejemplo: *Alligator mississippiensis* (27,9-64,7ha; Lewis *et al.*, 2014), *Crocodylus johnstoni* (2,0-5,4ha; Tucker *et al.*, 1997) y *Crocodylus porosus* (1,6-10,4ha; Brien *et al.*, 2008). En el presente estudio, los valores del área de vida para las hembras de *C. latirostris* también presentaron amplias variaciones (MPC: 14,0-268,0ha; Kernel 95%: 1,0-89,0ha), así como fue observado por Marques (2013) para hembras de la misma especie en Brasil (MPC: 7,2-43,5ha; Kernel 95%: 2,8-35,8ha). Las diferencias reportadas en las áreas de vida de los cocodrilianos, pueden estar relacionadas al tipo del ambiente

utilizado y las condiciones imperantes en el mismo (por ejemplo: área disponible, temperatura y nivel del agua), a la disponibilidad de recursos (por ejemplo: alimento) y al comportamiento social relacionado a la edad, reproducción y territorialidad de cada especie (Hutton, 1989; Magnusson y Lima, 1991; Tucker *et al.*, 1997; Brien *et al.*, 2008; Lance *et al.*, 2011; Rosenblatt *et al.*, 2013). De este modo, la diferencia observada en el presente estudio con las hembras de *C. latirostris* de Brasil posiblemente sea por el hecho de que éstas están ocupando diferentes ambientes: (1) en Argentina un área natural protegida, formada por una gran laguna (≈ 300 ha), con mucha vegetación acuática y un canal natural asociado, por lo que estas características permitirían que hembras adultas ocupen un área de vida mayor, procurando diferentes ambientes para nidificar en la vegetación acuática, además de tener la posibilidad de trasladarse entre los cuerpos hídricos y (2) en Brasil un área antropizada constituida por pequeñas lagunas (suma 19,5ha entre los cinco cuerpos hídricos estudiados) en campos privados con cultivo reciente de eucalipto (al momento del estudio la plantación tenía aproximadamente 4 años). Cabe destacar que estudios previos reportaron que el área de vida del *A. mississippiensis* es influido por las condiciones del hábitat (Rosenblatt *et al.*, 2013; Fujisaki *et al.*, 2014). A futuro, los estudios deberían evaluar el uso del espacio por juveniles de esta especie con el objeto de identificar si el área de vida podría ser mayor a lo reportado para individuos adultos (en el presente estudio y Marques, 2013), ya que en general los machos juveniles buscan territorios nuevos, presentando grandes variaciones en el área de vida (McNease y Joanen, 1974; Taylor *et al.*, 1976; Lance *et al.*, 2011).

El área de vida utilizada y el patrón de movimiento no se relacionó con el tamaño (TL o SVL) o masa corpórea de las hembras de *C. latirostris*. El movimiento de los cocodrilianos puede estar asociado a diferentes condiciones: comportamiento (Coutinho *et al.*, 2000; Read *et al.*, 2007; Nifong *et al.*, 2014a), alimentación (Campos, 2003; Rosenblatt y Heithaus, 2011), ambientales (Rodda, 1984; Campos *et al.*, 2006; Fujisaki *et al.*, 2014) y presión antrópica (Campos *et al.*, 2003). En este estudio se observó que las hembras de *C. latirostris* se mueven más durante el período reproductivo/cálido, el aumento de la actividad se relacionaría al incremento de la temperatura, y período del año en el que se alimentan y reproducen, como ya fuera reportado para otras especies de cocodrilianos (Rootes y Chabreck, 1993; Kay, 2004; Wang *et al.*, 2011a; Marques, 2013; Campbell *et al.*, 2013; Rosenblatt *et al.*, 2013). En el área de estudio, la temperatura ambiente durante los meses más fríos puede alcanzar valores bajo cero (valores mínimos obtenidos con el data logger para 2010/2011: junio = -6°C ; julio = -4°C ; y agosto = -1°C), reduciendo las

actividades de estos reptiles a mantenerse en el agua y exponerse al sol unas pocas horas al día (Larriera e Imhof, 2006). Se observó que la hembra 148.060 presentó una tasa de movimiento excepcional para el mes de septiembre (Fig.2.9), lo que podría reflejar una variación individual de este individuo o porque el equipo estaba finalizando su vida útil. Por lo tanto, no se debe concluir algo basado únicamente en esta hembra.

A pesar de los innumerables resultados positivos demostrando el éxito de los programas de conservación y manejo de cocodrilianos en la recuperación de sus poblaciones (Webb *et al.*, 1987; Larriera, 1990; Thorbjarnarson, 1992), pocos estudios evaluaron el efecto de la reintroducción sobre el comportamiento de estos reptiles, principalmente lo relacionado al uso del espacio (Muñoz y Thorbjarnarson, 2000; Ballouard *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011a). En el presente estudio no se observaron diferencias en el área de vida (MPC, K95 o K50) y en el patrón de movimiento (tasa de movimiento diario o MDR) entre los individuos reintroducidos y silvestres de *C. latirostris*, lo que a las claras indicaría la adaptación de las hembras reintroducidas o que el cautiverio (menor a un año) no afectó su comportamiento. A pesar de no hallar diferencias estadísticas ($P = 0,8857$), la variación encontrada en los desvíos estándares de la tasa de movimiento entre hembras silvestres ($\pm 44,0\text{m/día}$) y reintroducidas ($\pm 137,4\text{m/día}$) podría deberse a la cantidad de datos colectados, ya que dos de los equipos instalados en las hembras reintroducidas funcionaron por menos de un mes (148.140: 28 días y 148.040: 19 días). Las únicas informaciones disponibles sobre el área de vida para hembras reintroducidas de cocodrilianos fueron presentadas por Wang *et al.* (2011a) para *Alligator sinensis* en China, donde observaron un área de vida de 4ha al monitorear apenas una hembra durante cinco meses. El valor reportado por estos autores es bastante inferior al encontrado para las hembras reintroducidas de *C. latirostris* ($49,7 \pm 61,7\text{ha}$; rango: 14-142ha), sin embargo, por la diferencia entre las especies (por ejemplo, comportamiento), los ambientes que ocupan y el tiempo y cantidad de animales monitoreados no sería posible compararlos.

Conocer los patrones de movimiento y las distancias recorridas por los yacarés permite comprender mejor algunos aspectos del comportamiento y la forma en que estos reptiles utilizan su área de vida, como por ejemplo: conocer el tiempo que las hembras permanecen cerca de sus nidos y comprender su comportamiento de cuidado parental; las áreas que ocupan durante el período reproductivo y no reproductivo; y conocer las máximas distancias recorridas y su relación con la cantidad de área necesaria para el mantenimiento de la especie. Los valores de la máxima distancia recorrida (MDR) para las

hembras de *C. latirostris* varió entre 0,6 y 2,1km. Amplias variaciones en la máxima distancia recorrida parece ser un patrón común para las hembras de los cocodrilianos (*A. mississippiensis*: 10,0-90,2km, Lance *et al.*, 2011; *C. johnstoni*: 0-3,4km, Tucker *et al.*, 1997; *C. porosus*: 22,5-54,8km, Campbell *et al.*, 2013; *C. yacare*: 0-6,7km, Campos *et al.*, 2006). Entre los reptiles, los cocodrilianos se destacan por presentar comportamiento de cuidado parental, como la defensa del nido durante el período de incubación y el cuidado de las crías en sus primeros años de vida (Lang, 1987; Shine, 1988), por lo que podría explicar el gran lapso de tiempo que algunas hembras de *C. latirostris* permanecieron próximas a sus áreas de captura/nidos (hasta un 96%). En otro estudio de telemetría, Lance *et al.* (2011) observaron que las hembras de *A. mississippiensis* permanecen cerca de sus nidos durante el período reproductivo.

Las variaciones en el uso del espacio son influenciadas por la disponibilidad de recursos y condiciones ambientales (White y Garrott, 1990; Kenward, 2001). Para los cocodrilianos, esto es bastante particular, ya que las variables ambientales como temperatura, nivel del agua y salinidad, así como otros factores como la disponibilidad de alimento, el comportamiento social y la presión de caza pueden ejercer una fuerte influencia sobre el uso del espacio y sobre los patrones de movimiento de estos animales (Kay, 2004; Rosenblatt y Heithaus, 2011; Calverley y Downs, 2014; Lewis *et al.*, 2014; Nifong, 2014). Si bien las hembras silvestres de *C. latirostris* prefieren la vegetación acuática mientras que las reintroducidas eligieron el canal como ambiente preferido, un patrón común fue observado para esta especie, y es que todas las hembras evitan utilizar el ambiente que fue caracterizado como aguas abiertas. Eso posiblemente se debe al hecho de que estos animales se sentirían desprotegidos, al contrario de la vegetación acuática y del canal que podrían presentar mayor disponibilidad de abrigo (ramas, hojas, plantas flotantes, etc.) y de alimento, ya que estos animales son depredadores generalistas/oportunistas y la disponibilidad de peces, anfibios, otros reptiles y pequeños mamíferos podría ser mayor en estos ambientes (Melo, 2002; Borteiro *et al.*, 2009). Estudios previos con otras especies de cocodrilianos también observaron que hembras adultas prefieren lugares con densa vegetación y evitan ocupar ambientes de aguas abiertas (*A. mississippiensis*: Joanen y McNease, 1989; Lewis *et al.*, 2014; *C. crocodilus*: Ouboter y Nanhoe, 1988). Las localizaciones colectadas en ambiente terrestre posiblemente representan el momento en que las hembras estaban termorregulando o moviéndose entre los cuerpos hídricos (canal y laguna). Además, algunas de esas localizaciones fueron colectadas mientras los yacarés se dislocaban dentro del monte y de los pastizales,

demostrando la importancia de conservación de las áreas aledañas a los cuerpos hídricos habitados por cocodrilianos, así como ya fue observado para la misma especie en Brasil (Marques, 2013).

Las informaciones sobre patrón de movimiento, distancias recorridas y uso del hábitat también posibilitan tener una idea de los patrones de migración y dispersión que pueden existir, siendo relevante para los programas de manejo basados en la caza de cocodrilianos, ya que permitiría conocer como los animales sin manejo pueden repoblar los ambientes manejados (Campos *et al.*, 2006). Además, Campos *et al.* (2006) haciendo referencia al sistema fuente-sumidero (Bodmer, 1999), en el que los individuos de *C. yacare* provenientes de lagunas (menor presión de caza y mayor reproducción) estarían repoblando los ambientes de río (mayor presión de caza y menor reproducción), así como también fue sugerido para otras especies de cocodrilianos (*A. mississippiensis*: Elsey y Kinler, 2004; *Melanosuchus niger*: Da Silveira, 2001). Por lo tanto, un sistema de manejo debería conocer profundamente las cuestiones reproductivas y poblacionales (cantidad de nidos, éxito reproductivo, estructura etaria de la población) e informaciones respecto al movimiento y distancias recorridas podrían contribuir positivamente para una optimización en la planificación de manejo basados en la caza o colecta de huevos. De este modo, sería posible conocer las poblaciones “fuente” para conservarlas, así como sus hábitats, permitiendo la repoblación en ambientes “sumideros”.

La reintroducción de animales es una herramienta importante y viable para la conservación de especies (Jule *et al.*, 2008). De este modo, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) publicó las directrices para reintroducción de animales, con el objeto de aumentar el éxito de los programas de manejo y reducir la posibilidad de reintroducciones inapropiadas y sus posibles consecuencias negativas (IUCN, 1998; Carter y Newbery, 2004; Seddon *et al.*, 2007). A pesar del éxito de estos programas en la recuperación y restablecimiento poblacional para muchos grupos taxonómicos (Campbell, 1980; Seddon, 1999; Seddon *et al.*, 2005; Bambilra y Ribeiro, 2009), poco se conoce sobre el comportamiento de los individuos reintroducidos en comparación a los silvestres. Para el caso de los cocodrilianos, la reintroducción de individuos nacidos en cautiverio por programas de uso sustentable del tipo *ranching* es una práctica común para muchos países (Thorbjarnarson, 1992), incluso la Argentina (Larriera, 1990). Existen pocos registros sobre el comportamiento de individuos reintroducidos para cocodrilianos, aunque para diferentes grupos taxonómicos se registró que el tiempo de permanencia en cautiverio podría afectar las interacciones sociales interfiriendo en las

jerarquías y en la reproducción, incluso transmitiendo enfermedades a las poblaciones naturales, así como también influir en la pérdida de comportamientos naturales, como la caza y el forrajeo (primates: Stoinski *et al.*, 2003; osos: Vickery y Mason, 2003; roedores: Shier y Owings, 2006; mamíferos y reptiles: Moseby *et al.*, 2011; aves: Van Heezik y Ostrowski, 2001). En este estudio se encontró que tanto las hembras reintroducidas como las silvestres de *C. latirostris* presentaron comportamientos similares, utilizando el canal y rechazando el ambiente de aguas abiertas; a pesar de que hembras silvestres prefieren la vegetación acuática, mientras que las reintroducidas lo utilizan de forma nula (no prefieren ni rechazan a este ambiente; Tabla 2.3). Eso podría indicar que el período de confinamiento en que estos animales son mantenidos antes de su liberación podría afectar su comportamiento relacionado al uso del espacio. Una hipótesis sería que durante el cautiverio, las hembras mantienen contacto con otros yacarés, en cambio las hembras silvestres no poseen ese contacto, por lo que para ellas sería más importante permanecer refugiadas en la vegetación rechazando los ambientes abiertos o que podrían compartir con otros animales. También se debe tener en cuenta, que esta diferencia en el uso del hábitat, podría sesgar la extracción de individuos reintroducidos en la implementación de un programa de caza. Además, al momento de realizar los monitoreos se podría sobrestimar el efecto de la reintroducción, ya que los ambientes donde los individuos reintroducidos se encuentran son de fácil acceso (ambientes más abiertos). Con las informaciones obtenidas en este estudio, sería posible corroborar la eficacia del programa de manejo que es llevado a cabo en Argentina, ya que los individuos adultos reintroducidos están reproduciéndose con éxito en la naturaleza, así como fue observado previamente por Larriera *et al.* (2006).

Conocer el tamaño y la composición del área requerida por los caimanes son informaciones de importancia y necesarias al momento de tomar decisiones por parte de los organismos ambientales cuando el objetivo es crear nuevas áreas de protección o implementar programas de manejo con *C. latirostris*. De acuerdo con los datos obtenidos en este trabajo, sería posible considerar como condiciones mínimas para la conservación y mantenimiento de hembras adultas de *C. latirostris*: la presencia de cuerpos hídricos (por ejemplo lagunas) con vegetación acuática y conectados a otros cuerpos hídricos (arroyos, ríos, canales, etc.); presencia de vegetación en los márgenes de los cuerpos hídricos, favoreciendo la reproducción, alimentación y refugio para la especie; y áreas con tamaño mínimo de 300 hectáreas, basado en la hembra que presentó el mayor MPC durante el estudio. Sin embargo, hay que considerar que las hembras fueron monitoreadas por un periodo máximo de 2 años y que estos valores pueden ser diferentes a lo requerido por

machos y por individuos en la fase juvenil. Cabe destacar, que al momento de planificar nuevas áreas de protección para la especie estudiada, deba considerarse la heterogeneidad del ambiente (de acuerdo con lo comentado anteriormente), considerando que estos reptiles pueden utilizar varios componentes del paisaje durante su ciclo de vida.

Capítulo 3

Detectabilidad del *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) durante conteos nocturnos en Argentina

3.1. Introducción

El censo de poblaciones de animales silvestres es uno de los métodos más utilizados para estimar índices de abundancia o tamaño poblacional (Caughley, 1977; Gibbs, 2000). Sin embargo, muchos estudios hacen referencia a las dificultades en detectar individuos durante censos de poblaciones naturales, demostrando que parte de esa población no sería contabilizada por el observador, ya sea por problemas del diseño de muestreo o por las posibilidades de detección (Graham y Bell, 1969; Thompson y Seber, 1994; Kéry, 2002; Royle *et al.*, 2007). Una de las formas de determinar directamente los problemas de detectabilidad sería utilizar un método donde se conozca el tamaño exacto de una población, como es el caso de los estudios en cautiverio (Escobedo-Galván, 2003) o con el uso de radiotelemetría (Refsnider *et al.*, 2011), donde se conoce la ubicación exacta de los animales. Los problemas de detectabilidad (visibilidad) en una metodología pueden inducir a resultados que sobrestimen o subestimen el tamaño de una población, generando informaciones equivocadas sobre el estado poblacional. Esa situación es complicada para el caso de especies susceptibles al manejo, como los cocodrilianos (Hutton y Webb, 1992), lo que puede comprometer su uso así como la estabilidad de las poblaciones naturales.

Diversos métodos ya fueron propuestos para determinar algunos parámetros poblacionales como densidad, abundancia y distribución de los individuos en las clases etarias en cocodrilianos (Graham, 1988), a través de: censos nocturnos, conteos aéreos de animales o de nidos y de animales que están termorregulando al sol o trasladándose (Parker y Watson, 1970; Magnusson, 1982; Mourão *et al.*, 2000; Campos *et al.*, 2003; Rice *et al.*, 2005; Larriera *et al.*, 2008). Entre estos, el censo nocturno es el más utilizado para generar índices de abundancia para poblaciones de cocodrilianos (Bayliss *et al.*, 1986; O'Brien,

1990; Cherkiss *et al.*, 2006). Ese método es realizado durante incursiones nocturnas (habitualmente en embarcaciones) ubicando a los animales a partir del brillo reflejado por sus ojos al ser iluminados (Cherkiss *et al.*, 2011). Sin embargo, cualquiera de los métodos mencionados anteriormente ofrece algún tipo de sesgo en la obtención de los datos, por el hecho de considerar o contabilizar solamente la fracción visible de la población y no el tamaño real de la misma, además del hecho de ser influidos por factores ambientales y/o por las condiciones generales del hábitat y presencia de vegetación marginal (para una revisión ver Woodward y Marion, 1978).

La elección del método a ser utilizado para generar índices de abundancia de poblaciones naturales dependerá de la especie a ser estudiada, objetivos del trabajo, recursos económicos y logísticos disponibles (Chabreck, 1966). En este sentido, es importante saber la precisión del método utilizado, ya que para los cocodrilianos las informaciones obtenidas a través de un monitoreo son frecuentemente utilizadas para conocer el estado poblacional o el rendimiento máximo sostenible (MSY en inglés) de una población, información de suma importancia para la toma de decisiones en programas de manejo y conservación (Magnusson, 1982; Larriera, 1990; Ross, 1997). Algunos trabajos demostraron que la proporción de animales detectados en una población de cocodrilianos puede ser inferior o próximo al 50% (Thorbjarnarson, 1988; Escobedo-Galván, 2003; Subalusky *et al.*, 2009a; Carter y Bugbee, 2014), llegando hasta el 91% (Woodward *et al.*, 1996), y que existe una reducción considerable en la posibilidad de detectar estos animales en función de la presencia de vegetación (Wood *et al.*, 1985; Da Silveira *et al.*, 1997; Cherkiss *et al.*, 2006; Carter, 2010). A pesar de eso, existen pocos estudios que indiquen la precisión del método de censo nocturno.

Durante el censo de una población diversos factores imposibilitan la visualización de todos los animales presentes (Thompson y Seber, 1994). Sin embargo, dos situaciones deben ser evidenciadas: 1) individuos que están disponibles pero no fueron contabilizados (por ejemplo, sumergidos o escondidos); y 2) individuos que no están disponibles para ser contabilizados (fuera del alcance del muestreo). *Caiman latirostris* (yacaré overo) es un cocodriliano que posee comportamiento críptico y es encontrado en ambientes acuáticos altamente vegetados, con aguas poco profundas y con poca corriente, generalmente del tipo estero, embalsado o mangle (Verdade y Piña, 2006). Estos ambientes son caracterizados por ser de difícil acceso al hombre, lo que dificulta todavía más los trabajos de monitoreo de esa especie. Por lo tanto, el segundo factor citado anteriormente podría ser el más influyente durante los censos realizados para el yacaré overo en su hábitat natural, ya que

las condiciones ambientales (por ejemplo: mayor disponibilidad de abrigo en función de la densa vegetación) podría reducir el número de animales visualizados, así como fue sugerido por Larriera *et al.* (2008).

Basado en estas informaciones la cantidad de cocodrilianos visualizados en un censo no necesariamente podría representar la totalidad de la población presente en el área monitoreada. El presente estudio tuvo por objetivo identificar la posibilidad de que hembras de *C. latirostris* puedan ser observadas durante un censo nocturno basados en datos colectados por equipos de telemetría con sistema GPS. Las informaciones obtenidas en este estudio brindarán nociones de la efectividad de estos censos que son exhaustivamente realizados en cocodrilianos, de manera de comprender mejor el comportamiento de estos animales y ayudar en la toma de decisiones por los programas de manejo de esta especie. Además, la cantidad de hembras en ambientes visibles y no visibles dependerá de las características de los ambientes que habiten, siendo que tanto hembras silvestres como reintroducidas ocupan esos ambientes de forma similar.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Área de estudio

El presente estudio fue realizado en la reserva El Fisco (30°11'26"S 61°0'27"W), ubicada en el Departamento de San Cristóbal, provincia de Santa Fe (Argentina). Las informaciones sobre el área de estudio están detalladas en el ítem 1.6. "Área de estudio" en el Capítulo 1 de esta tesis (Pag. 19).

3.2.2. Colecta y análisis de los datos

Los equipos de telemetría utilizados para la colecta de datos están detallados en el ítem 1.8. "Telemetría" del Capítulo 1 de esta tesis (Pag. 22). Fueron considerados para los análisis solamente las localizaciones geográficas obtenidas durante el periodo nocturno (entre 1800h y 0500h) y en los meses más cálidos del año (enero-abril). Las hembras fueron consideradas visibles (V) cuando estaban en lugares abiertos (por ejemplo: cuerpo de agua) o en el borde de la vegetación acuática (por ejemplo: juncos y totoras); y como no visibles (NV) cuando estaban a más de tres metros dentro de la vegetación

acuática o fuera de los cuerpos de agua monitoreados (Fig.3.1). Las localizaciones de los individuos ubicados a menos de tres metros dentro de la vegetación acuática no fueron consideradas en el análisis, debido a que la precisión del GPS no sería posible determinar en cual ambiente se encuentra. En un principio los datos fueron analizados en un contexto poblacional, donde eran consideradas las ubicaciones nocturnas registradas en un mismo horario y que coincidían entre cinco o más hembras monitoreadas. Posteriormente, en un contexto más individual con el objeto de evaluar si la posibilidad de ser observada representaba un aspecto del comportamiento de cada animal, las localizaciones geográficas fueron analizadas para cada una de las hembras. También fueron considerados dos posibles escenarios de monitoreo (1 – laguna y canal; y 2 – solamente laguna) para estudiar si había diferencia en la posibilidad de observar un animal durante un censo nocturno en diferentes ambientes. Los análisis espaciales fueron realizados en los sistemas de información geográfica ARCVIEW 3.2 (ESRI, Redlands, California) y ARCGIS 9.2 (ESRI, Redlands, California) e imágenes de alta resolución del área de estudio.

Regresiones lineales simples fueron utilizadas para evaluar si la posibilidad de ser observada se relaciona con el tamaño (LT o LHC) o masa corpórea de las hembras. La diferencia de detectabilidad entre hembras silvestres y reintroducidas fue comparada a través de un test *t*. Los análisis estadísticos fueron realizados en el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008). Todos los valores fueron presentados como promedio \pm desvío estándar.

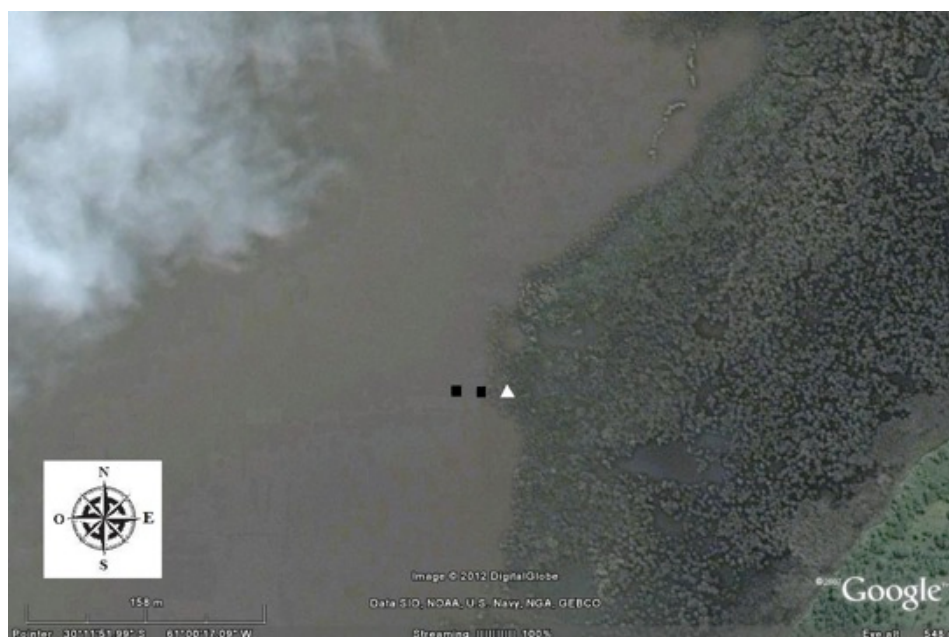


Figura 3.1 - Ejemplo de localizaciones consideradas como visible (cuadrados negros) y no visible (triángulo blanco) durante un censo nocturno.

3.3. Resultados

En total fueron monitoreadas siete hembras, ya que el radio utilizado por una de ellas presentó problemas técnicos, por lo que no se colectaron localizaciones durante el período nocturno y no se contó con datos para los análisis. Las hembras fueron monitoreadas entre los días 12 de enero hasta el 29 de abril del 2011, y presentaron un tamaño (LHC) promedio de $78,9 \pm 3,0\text{cm}$ (rango: 76,0-85,0cm) y masa corpórea promedio de $16,6 \pm 2,6\text{kg}$ (rango: 14,3-22kg). La posibilidad de visualizar un yacaré puede ser reducida en aproximadamente 75% dependiendo del tipo de ambiente monitoreado, ya que todas las hembras del canal estaban 100% visibles, mientras que solamente el 25,9% promedio de las hembras en la laguna podrían estar en un local visible. Todos los puntos colectados en el canal indicaron la posibilidad de visualizar los yacarés durante un censo nocturno. En 40 situaciones (para los dos ambientes monitoreados) fueron adquiridos puntos geográficos de cinco o más hembras simultáneamente y se observó que el $45,1\% \pm 20,4$ (0-80%) de ellas estaban en un sitio donde era posible visualizarlas. Sin embargo, cuando se consideró solamente los puntos colectados en la laguna, apenas $25,9\% \pm 20,9$ (0-66,6%) de las hembras podrían estar en un sitio visible durante un censo nocturno. En la laguna, el mayor porcentaje de las hembras que estaban en sitios visibles se dio entre las 2200h y 0300h (0-30%; Fig.3.2). El hecho de no visualizar animales a las 2000h y 0100h posiblemente esté relacionado a la poca cantidad de datos colectados para estos horarios (n = 1).

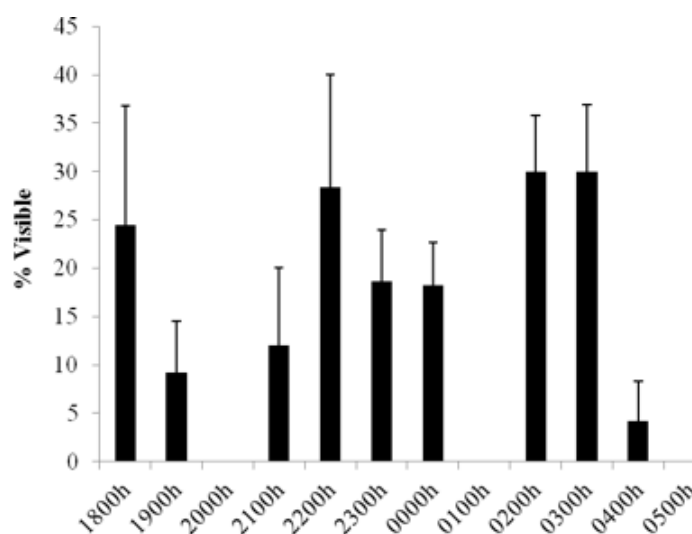


Figura 3.2 - Porcentaje de yacarés en una localización visible por hora en la laguna. El error estándar está presentado sobre las barras.

Para la segunda parte de los análisis, donde se consideraron las localizaciones de cada individuo, se observó que algunas hembras son más susceptibles de estar en un sitio visible respecto a otras (Figs.3.3-3.9). Teniendo en cuenta los dos ambientes estudiados, la hembra 148.060 presentó la menor cantidad de puntos en sitios donde podría ser visualizada (7 de 92, 7,6%), mientras que la hembra 148.160 presentó la mayor cantidad de puntos en sitios donde podría ser visualizada (93 de 95, 97,9%). Sin embargo, cuando fueron considerados solamente los datos colectados en la laguna se observó que la posibilidad de visualización de los individuos se redujo, siendo la hembra 148.040 la que presentó la mayor cantidad de puntos colectados en lugares donde podría ser visualizada (6 de 16, 37,5%). La posibilidad de que la hembra esté en un sitio donde es posible visualizarla no se relaciona con su tamaño o masa corporal (LT: $r^2 = 0,00$; $P = 0,533$; LHC: $r^2 = 0,00$; $P = 0,430$; y Masa: $r^2 = 0,00$; $P = 0,885$). Hembras silvestres y reintroducidas presentan la misma posibilidad de ser visualizadas (canal y laguna: $t = -1,08$; $gl = 5$; $P = 0,3309$; solamente en la laguna: $t = -0,71$; $gl = 5$; $P = 0,5070$).

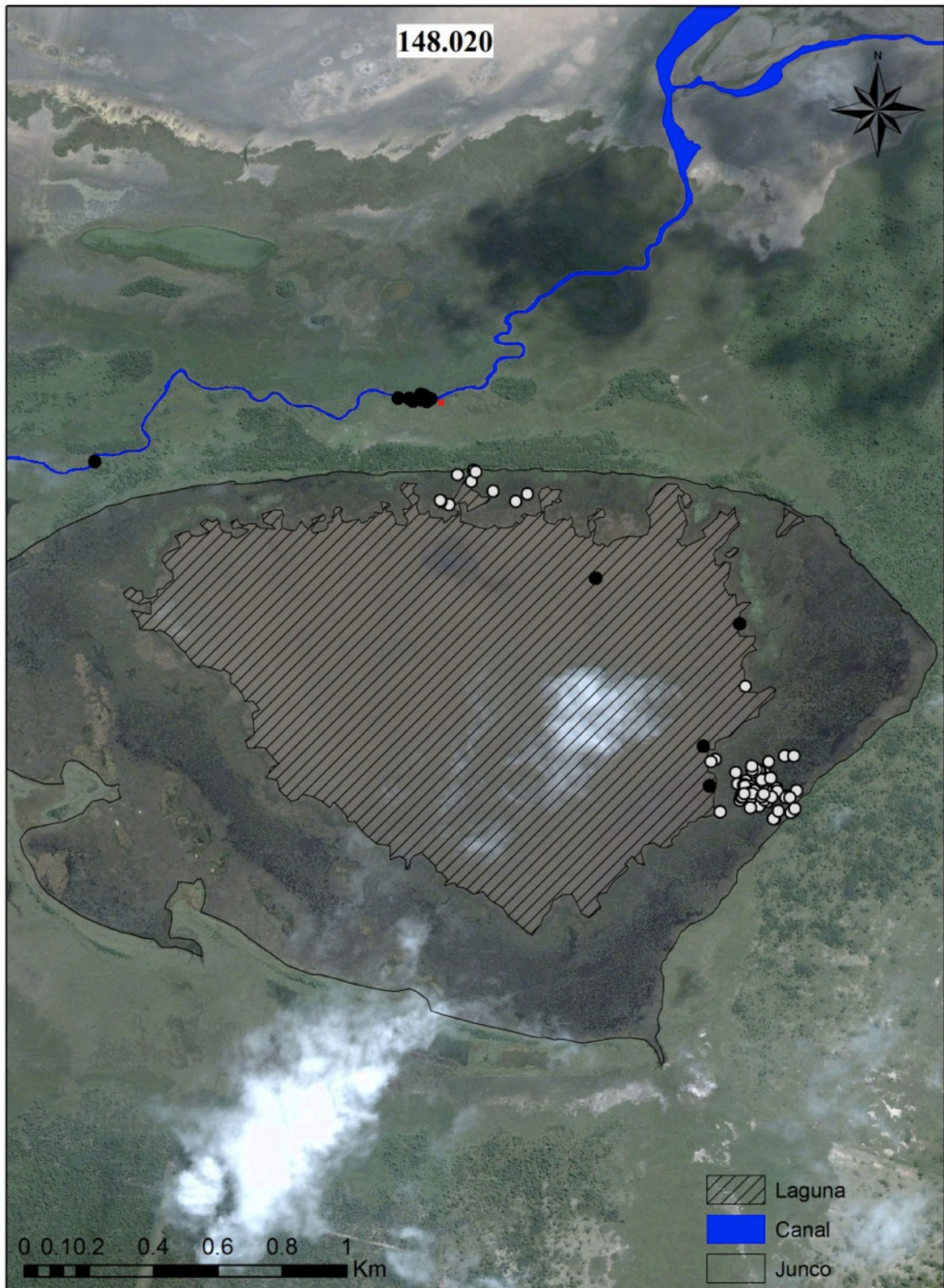


Figura 3.3 – Hembra 148.020 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido.

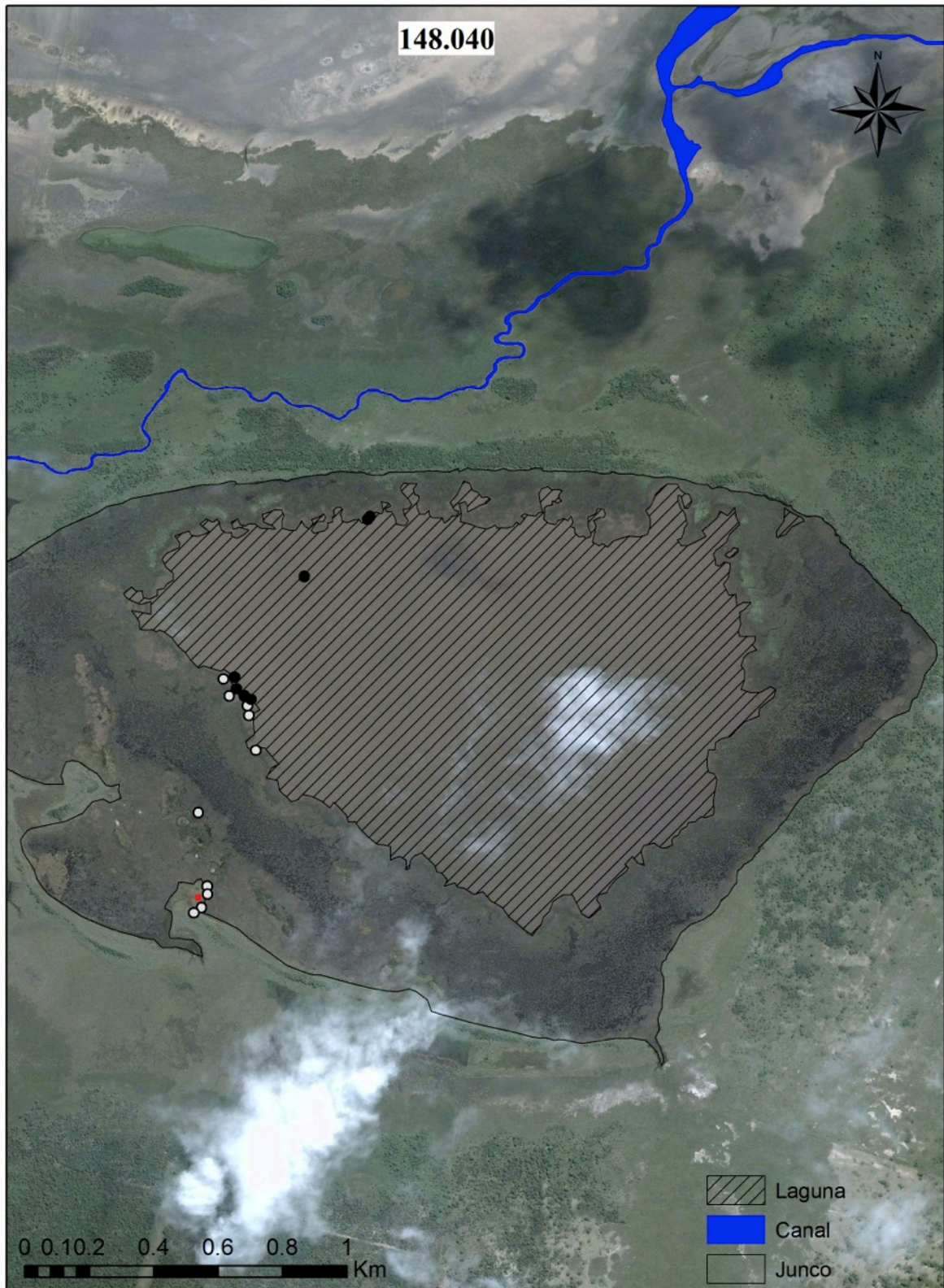


Figura 3.4 – Hembra 148.040 (R). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido.

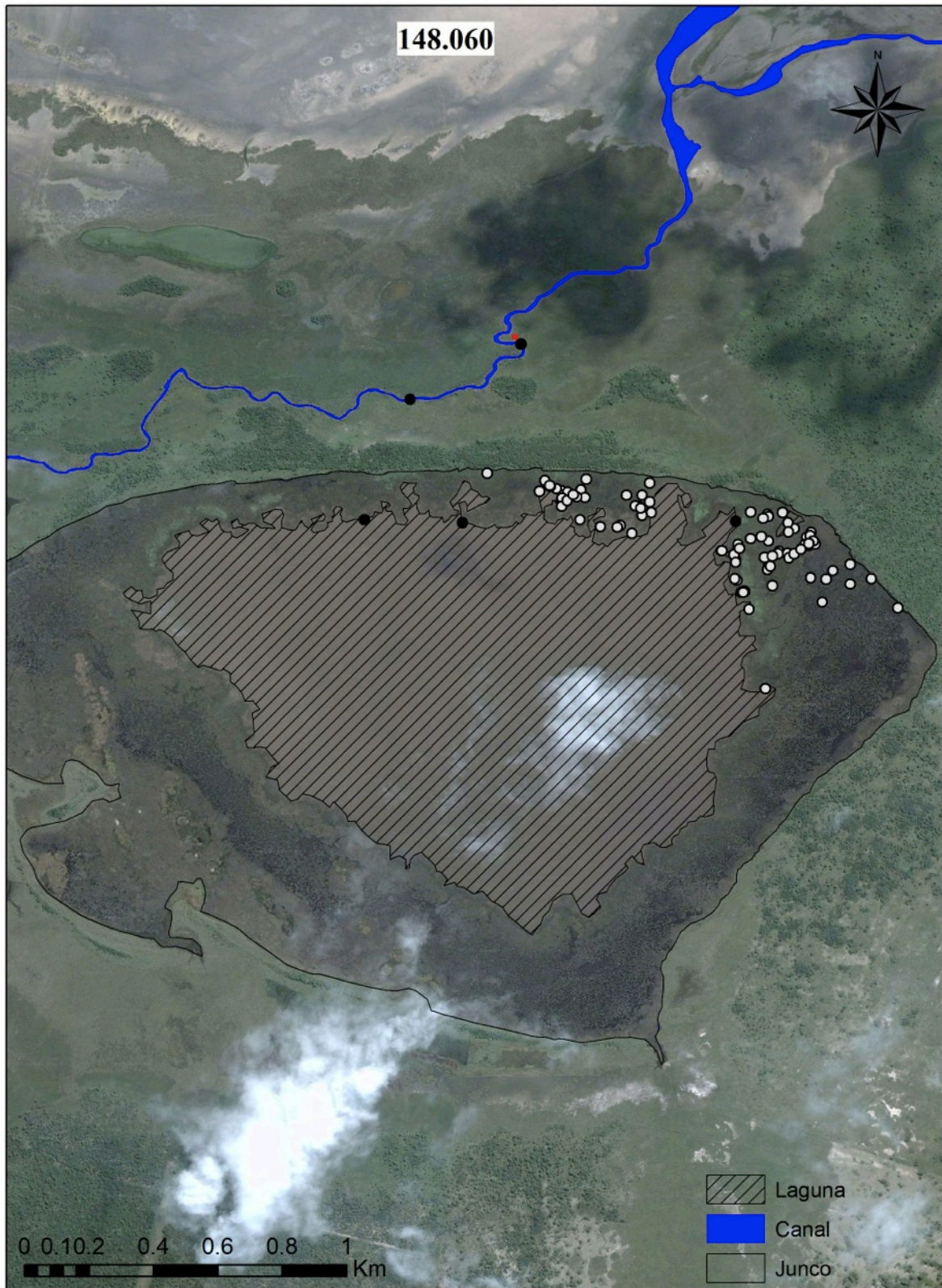


Figura 3.5 – Hembra 148.060 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido.

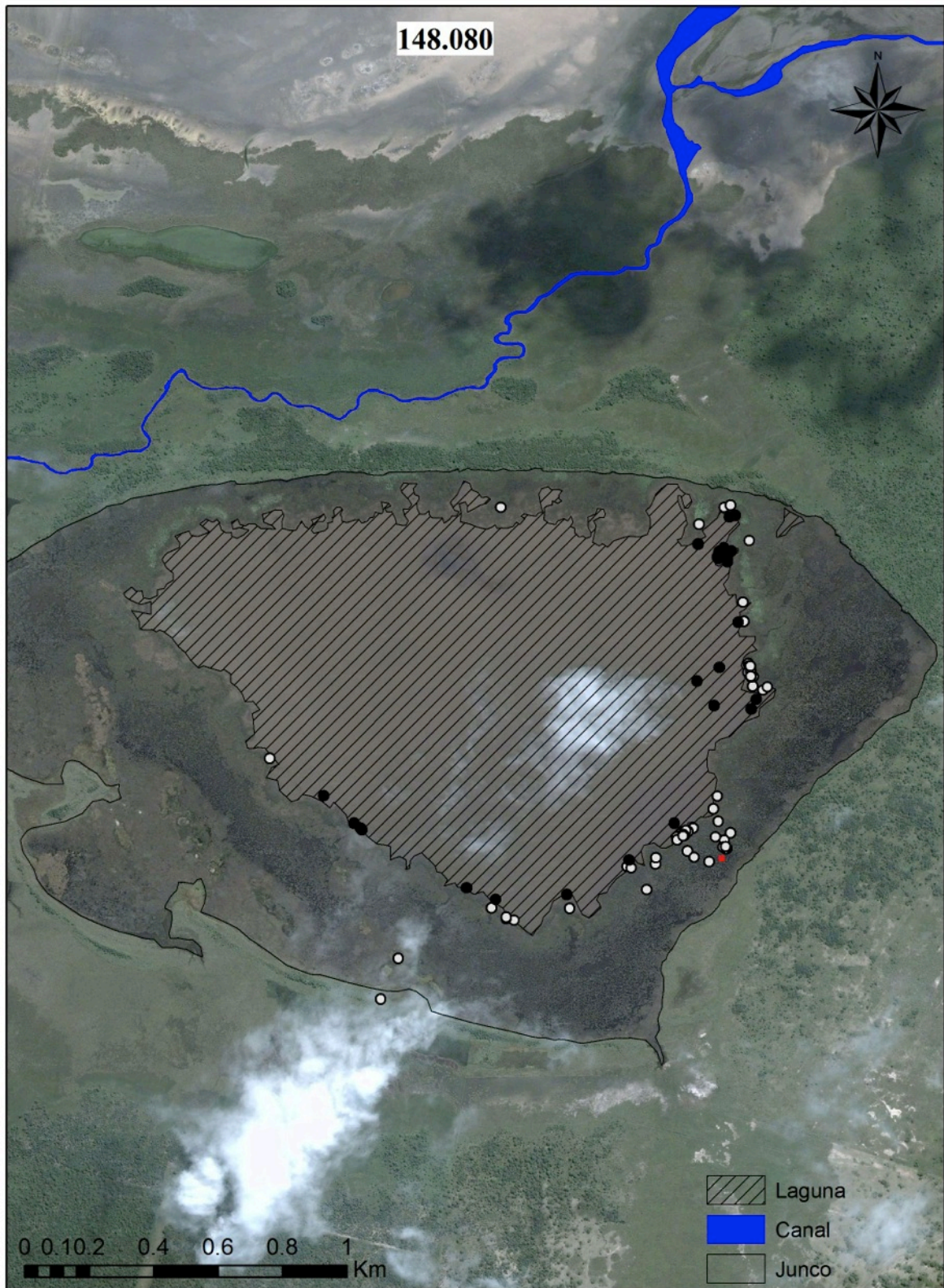


Figura 3.6 – Hembra 148.080 (R). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido.

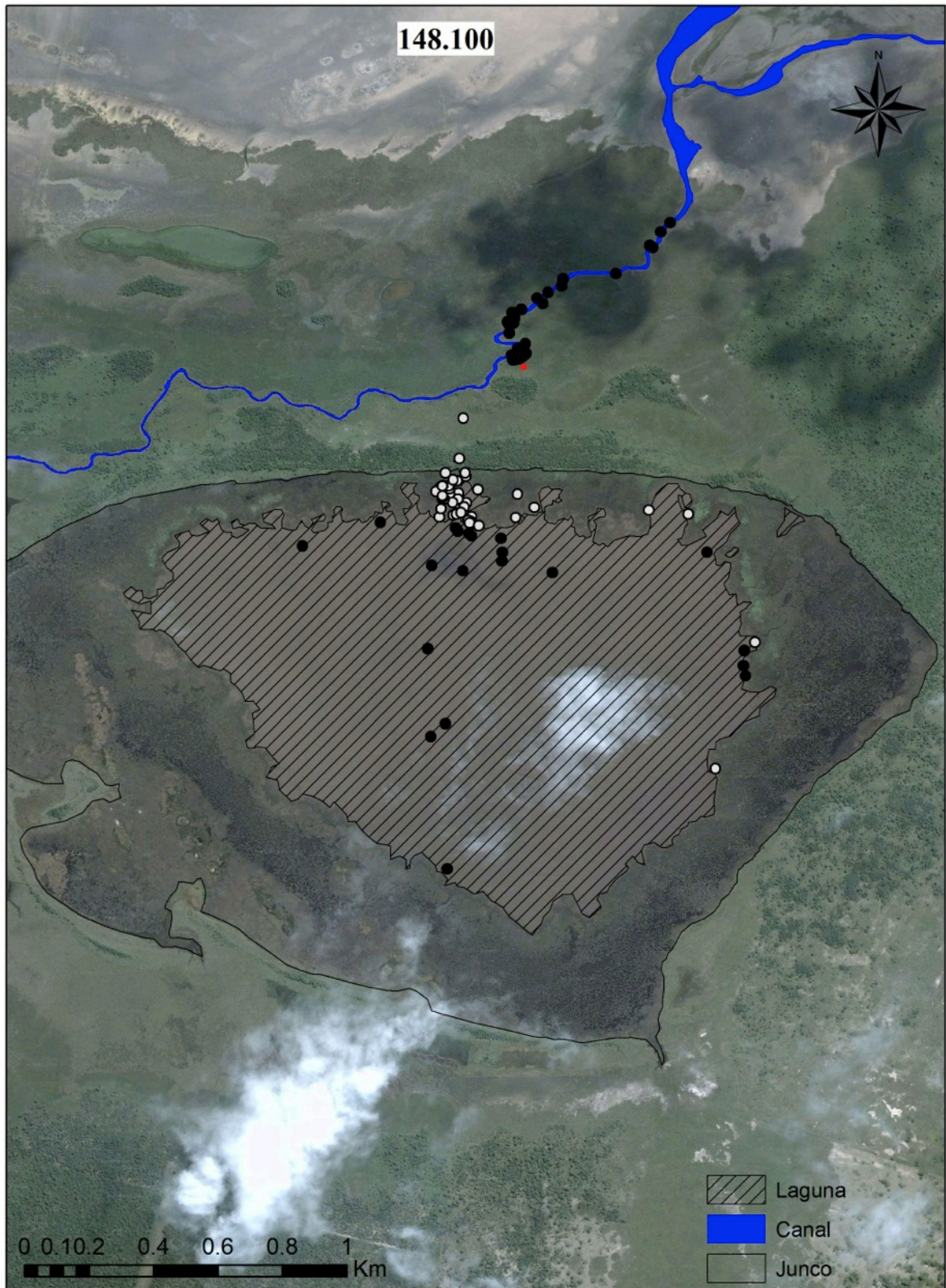


Figura 3.7 – Hembra 148.100 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido.

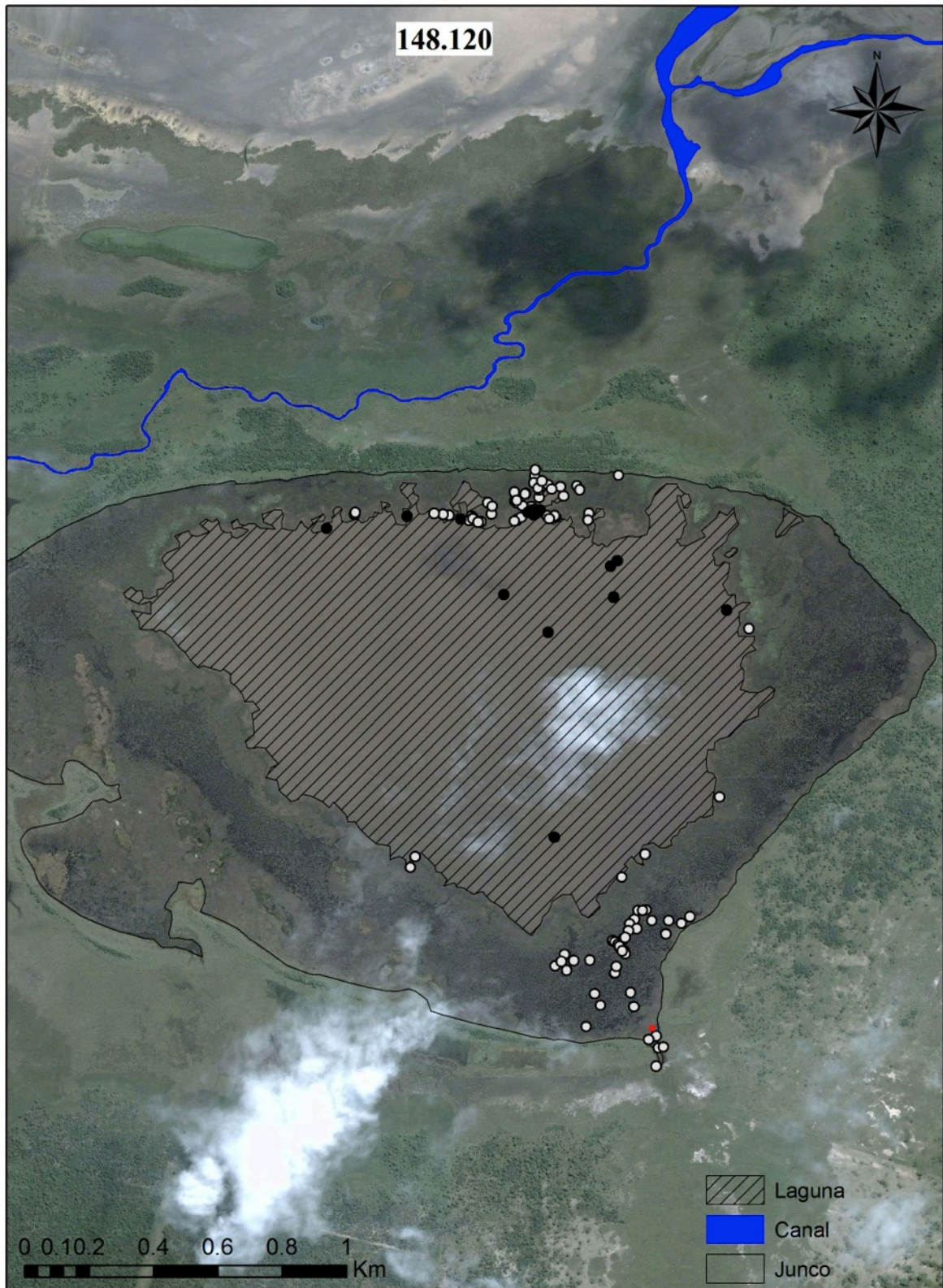


Figura 3.8 – Hembra 148.120 (S). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido.



Figura 3.9 – Hembra 148.160 (R). Puntos nocturnos obtenidos para las hembras de *Caiman latirostris* monitoreadas por radiotelemetría (VHF/GPS). Los hábitats están clasificados entre laguna, canal y junco (vegetación acuática). Las hembras están identificadas en la figura según sus frecuencias VHF. (S) – hembras silvestres; (R) – hembras reintroducidas por el programa de *ranching*. Puntos negros: visibles; puntos blancos: no visibles; y cuadrado rojo localización del nido.

3.4. Discusión

La cantidad de individuos visibles en una población puede ser inferior al tamaño poblacional real, y algunos trabajos ya mencionan esto para reptiles, aves, pequeños y grandes mamíferos (Stauffer *et al.*, 2002; Gu y Swihart, 2004; Pinto *et al.*, 2006; Kéry y Schmidt, 2008; Kéry *et al.*, 2009). Posiblemente, estas diferencias en la detectabilidad estén asociadas a características específicas de las diferentes especies. Escobedo-Galván (2003) estudió una población de tamaño conocido de la especie *Crocodylus acutus* en cautiverio e identificó una fracción visible real promedio del 49% (33-60%) de los individuos presentes. A pesar de desconocer la fracción visible de la población estudiada, los resultados de detectabilidad en el presente estudio son similares a los presentados anteriormente, siendo que considerando ambos ambientes en conjunto el $45,1\% \pm 20,4$ (0-80%) de las siete hembras de *C. latirostris* monitoreadas podrían estar en un sitio visible. Estas informaciones representan que menos del 50% de las hembras nunca podrían ser contadas durante un censo nocturno, ya que no estarían en un sitio visible. Además, hay que considerar que el 45,1% de las hembras aunque estuviesen en sitios en los que puedan ser visualizadas, algunas no serían contadas por estar sumergidas o simplemente fuera del ángulo de visión. En función de eso, los resultados obtenidos con base en censos nocturnos en estudios para estimar la densidad de una población y que serán utilizados por programas de manejo deben ser interpretados con cautela.

Para calcular la fracción visible de una población hay que estimar el número de animales visualizados respecto al total de individuos en la población (King *et al.*, 1990). Por otro lado, la fracción no visible está constituida por individuos localizados dentro del área de muestreo, pero que no son visibles por encontrarse sumergidos o escondidos (De la Ossa *et al.*, 2013). En el presente estudio se generaron informaciones respecto a la ubicación de un individuo durante la noche, lo que contribuye para el conocimiento de la fracción no visible de la población durante un conteo nocturno. Además, conocer la ubicación de un individuo y la posibilidad de ser contado, sumado a los índices de fracción visible (Messel *et al.*, 1981; King *et al.*, 1990; Escobedo-Galván, 2003), podrían generar estimativas más precisas del tamaño de la población estudiada y ayudar a corregir los modelos poblacionales basados en conteos (*count-survey data*), los que son ampliamente utilizados en especies de vida silvestre (Lancia *et al.*, 2005; Mackenzie *et al.*, 2006; Royle y Dorazio, 2008).

Los modelos poblacionales pueden basarse en conteos en transectas en línea, mediante los cuales se relaciona la distancia de los individuos sobre una línea o punto de muestreo a fin de calcular la abundancia o densidad de una población (Burnham *et al.*, 1980; Buckland *et al.*, 2001). Dicho modelo ha sido utilizado para estimar densidades poblacionales de aves (Bellis y Muriel, 2015), mamíferos (Hounscome *et al.*, 2005) y reptiles (Anderson *et al.*, 2001), aunque no hay registros en la literatura utilizando esta técnica para cocodrilianos. Posiblemente, esto se debe al hecho de que uno de los supuestos del modelo de que el objeto sobre la línea o punto de muestreo siempre es detectado, difícilmente sea cumplido, principalmente tratándose de reptiles (lagartos: Smolensky y Fitzgerald, 2010; tortugas: Freilich *et al.*, 2005) y en especial los cocodrilianos, que podrían encontrarse sumergidos en el momento del conteo. La función de detección (detectabilidad) del modelo de transectas en línea es una variable calculada básicamente en función de la distancia que el objeto observado se encuentra de la línea de muestreo. Sin embargo, esto podría ser diferente para los cocodrilianos ya que además de la distancia, otros factores podrían dificultar la observación de estos animales (como por ejemplo, el ángulo de visión del observador podría estar obstruido por la vegetación). Por lo tanto, los datos generados en los estudios de telemetría podrían ayudar a ajustar la función de detección de los modelos basados en conteos, como los de transectas en línea (Buckland *et al.*, 2001) o de doble observador para cocodrilianos (Shirley *et al.*, 2012). Queda mucho por investigar a fin de mejorar los métodos de estimación de poblaciones de cocodrilianos, los que brindan datos fundamentales para la conservación y manejo de las especies.

Diversos autores demostraron el efecto de variables ambientales (por ejemplo: temperatura y profundidad del agua, presencia de viento, tipo de luna y salinidad) sobre la estimación de la densidad de cocodrilianos a través de censos nocturnos (Woodward y Marion, 1978; Campos *et al.*, 1994; Da Silveira *et al.*, 1997; Fujisaki *et al.*, 2011; Carter y Bugbee, 2014). Sin embargo, pocos estudios compararon la detectabilidad de los cocodrilianos para diferentes tipos de ambientes y como afecta la presencia de la vegetación marginal sobre el conteo nocturno de estos reptiles. En el presente estudio se evaluó donde estaban durante el periodo nocturno las hembras de *C. latirostris* y si las mismas se encontraban en sitios donde podrían ser contadas o no durante un censo. Además, de aquellas que están en sitios que posibilitarían la visualización habría que considerar la fracción visible, así como ya fue reportado por otros autores (Gardner *et al.*, 1999; Escobedo-Galván, 2003). En este estudio se encontró que todas las hembras del

canal estaban en sitios donde podrían ser observadas, mientras que solo el 25,9% de las hembras en la laguna podrían ser observadas. De este modo, fue registrada una reducción de hasta un 75% en la posibilidad de observar un yacaré comparando animales en ambiente densamente vegetado (laguna) y poco vegetado (canal). Thorbjarnarson (1988), observó que la vegetación marginal puede reducir en hasta 50% la cantidad de cocodrilianos visualizados en Haití; mientras que Cherkiss *et al.* (2006) y Carter (2010), en experimentos con reflectores artificiales en los ambientes naturales de *Crocodylus acutus* y *Alligator mississippiensis* en los Estados Unidos, demostraron que la vegetación implica una reducción del 24 al 65% y del 37 al 47% sobre la detectabilidad, respectivamente. A pesar de los pocos trabajos que cuantificaron el porcentaje visible de una población, los estudios de Cherkiss *et al.* (2006) y Carter (2010) dejan en evidencia el efecto de la vegetación en los censos de cocodrilianos. Por lo tanto, además de las variables ambientales (tomadas habitualmente durante un censo nocturno) la presencia de vegetación marginal podría ser uno de los factores más influyentes sobre los índices de abundancia y densidad de cocodrilianos, generando valores subestimados del tamaño real de la población presente en el área, lo que podría desencadenar en un manejo inadecuado.

A pesar de las informaciones disponibles sobre los hábitos nocturnos de los cocodrilianos (Lang, 1987), pocos trabajos describen los horarios (o momentos) de mayor movimiento de estos animales durante la noche. Escobedo-Galván (2003), observó una mayor actividad durante la madrugada (de 0000h a 0230h) para individuos de *C. acutus*, momento en que el autor visualizó entre el 32 y el 58% de la población total monitoreada. En el presente estudio, fue observado que el mejor horario para realizar los censos nocturnos en la laguna para *C. latirostris* sería entre las 2200h y 0300h, ya que hasta un 30% de las hembras se encuentran en sitios donde podrían ser visualizadas. Monitoreos en horarios extremos (cercano a la puesta del sol o al amanecer) deberían evitarse, ya que la cantidad de animales contados podría representar apenas una pequeña parte de la población presente en el área estudiada.

El comportamiento de dominancia, fidelidad de área y disputa por territorios es común entre los cocodrilianos principalmente para los individuos de gran porte (Vitt y Caldwell, 2013). Lang (1987), sugirió que el tamaño corporal sería uno de los principales factores que afectan a la dominancia, motivo por el cual los animales de mayor tamaño exponen frecuentemente el cuerpo, cabeza y cola. En este sentido, podría ser esperado que individuos más grandes estuvieran más expuestos y, por ende, en sitios donde podrían ser visualizados durante un monitoreo (por ejemplo, aguas abiertas). Sin embargo, no fue

observada ninguna relación ($P > 0,05$) entre el tamaño (LT y LHC) o masa corpórea con la posibilidad de que hembras de *C. latirostris* monitoreadas estuviesen en un sitio en el que pudieran ser visualizadas, lo que respondería a un comportamiento individual, aunque cabe aclarar que las hembras estudiadas tenían tamaños aproximados (LHC: 76-85cm). Algunos estudios demostraron que cambios en el patrón de movimiento, diferencias en el nivel de actividad y el comportamiento de sumergirse (además de otros comportamientos naturales, como por ejemplo forrajeo, reproducción y termorregulación) pueden influir sobre la posibilidad de visualizar diferentes individuos de una población (Graham y Bell, 1969; Rosenstock *et al.*, 2002; Bugbee, 2008). El hecho de que algunas hembras de *C. latirostris* sean más susceptibles de estar en un sitio visible respecto a otras, podría reflejar una respuesta individual y no social de estos animales, así como ya fue observado para otra especie de cocodriliano (*Alligator mississippiensis*) en relación a sus movimientos (Rosenblatt y Heithaus, 2011; Rosenblatt *et al.*, 2013; Fujisaki *et al.*, 2014). A pesar de la poca cantidad de informaciones, ya que la colecta de datos ocurrió solamente durante un periodo de 4 meses, no se observaron diferencias ($P = 0,086$) entre hembras silvestres y reintroducidas en la posibilidad que estuviesen en un sitio en que pudieran ser visualizadas. Sin embargo, hay que aclarar que hembras silvestres prefieren la vegetación acuática, mientras que las reintroducidas utilizan este ambiente de forma nula (no prefieren ni rechazan), así como fue mencionado previamente en esta tesis (Capítulo 2, telemetría). Por lo tanto, un monitoreo a largo plazo podría cambiar los resultados sobre detectabilidad, donde hembras reintroducidas estarían más visibles que las silvestres.

En diversas partes del mundo el monitoreo a largo plazo de los cocodrilianos, basado en los índices de abundancia obtenidos a través de los conteos nocturnos, es el método más utilizado para acompañar el estado y la recuperación de poblaciones manejadas por programas de conservación y uso sustentable; lo mismo ocurre con el yacaré overo en Argentina (Larriera, 1990; Piña *et al.*, 2010). En el presente estudio se observó que el porcentaje de hembras de *C. latirostris* localizadas en lugares donde se hacen los monitoreos puede ser muy bajo y variar en función del hábitat estudiado, del comportamiento de algunos animales y del horario que se llevó a cabo el conteo, así como fue observado también para otros cocodrilianos (Woodward *et al.*, 1996; Cabrera-Peña *et al.*, 2003; Cherkiss *et al.*, 2006; Subalusky *et al.*, 2009a; Carter y Bugbee, 2014). Por lo tanto, conocer la precisión y comprender las variables que pueden influir en los resultados de ese método es extremadamente importante para tener en claro su limitación, sesgo y aplicación al manejo del yacaré overo, así como de otros cocodrilianos. En función del

bajo porcentaje de individuos de *C. latirostris* que podrían ser visualizados (<75%) los programas de manejo de esta especie deberían considerar otras informaciones cómo por ejemplo: conteos de nidos (Larriera *et al.*, 2008), conteos diurnos con helicópteros (Mourão *et al.*, 2000), modelos de detectabilidad para cocodrilianos (Bugbee, 2008; Carter, 2010; Fujisaki *et al.*, 2011), los que pueden auxiliar a estimar con mayor precisión el tamaño de la población manejada. Se sugiere que futuros estudios investiguen los efectos de las variables climáticas (temperatura, viento, lluvia, luna, etc.), del comportamiento de los individuos (tiempo sumergido) y el efecto de las actividades humanas (presencia de caza y movimiento de embarcaciones) para generar modelos de detectabilidad para el *C. latirostris* en Argentina.

El presente estudio reporta informaciones sobre la detectabilidad de hembras adultas de *C. latirostris*, las que son de gran importancia ya que estos individuos, juntamente como los machos adultos, son esenciales para la reproducción, mantenimiento y crecimiento de la población y deben ser considerados en los cálculos de sus poblaciones. Futuros trabajos deberían evaluar si la posibilidad de visualizar juveniles y machos adultos de *C. latirostris* también es similar, ya que la ocupación del hábitat entre los cocodrilianos puede variar en función del sexo y tamaño (Thorbjarnarson, 1988; Tucker *et al.*, 1997; Campos *et al.*, 2006; Cherkiss *et al.*, 2011), influyendo en la cantidad de animales visualizados (Subalusky *et al.*, 2009a). La utilización de datos colectados en trabajos de telemetría puede ser una alternativa para estudiar la detectabilidad de especies crípticas como es el caso de los cocodrilianos, ayudando en la comprensión de algunos aspectos del comportamiento y sobre las limitaciones de la metodología que usualmente se utiliza para coleccionar datos de abundancia de las poblaciones. Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que el porcentaje de individuos de *C. latirostris* contabilizados en un censo nocturno puede representar apenas una pequeña parte de la población presente, principalmente si el ambiente monitoreado es densamente vegetado.

Capítulo 4

Desarrollo de folículos y huevos y niveles hormonales en hembras de *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) *

*parte de los datos de este capítulo fueron publicados en: Portelinha, T.C.G.; Jahn, G.A.; Hapon, M.B.; Verdade, L.M. y Piña, C.I. 2015. Hormone levels and ultrasound evaluation of *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) ovulation. South American Journal of Herpetology, 10: 23-31.

4.1. Introducción

En los últimos años algunos métodos no invasivos, incluyendo la palpación, radiografía, y ecografías han sido utilizadas para evaluar aspectos de la dinámica reproductiva en hembras de reptiles (Rostal *et al.*, 1990; Martínez-Torres *et al.*, 2006; Gilman y Wolf, 2007), incluyendo el desarrollo de los folículos ováricos (Uribe *et al.*, 1996). La evaluación del desarrollo folicular a través de la ecografía permite la observación directa de órganos reproductivos, informando la condición de la hembra sin la necesidad de utilizar procedimientos invasivos (Hildebrandt *et al.*, 2000). Algunos trabajos reportaron la eficiencia de la ecografía para identificar, medir y acompañar el desarrollo de folículos vitelogénicos y huevos de cocodrilianos, tanto en la naturaleza como en cautiverio (Tucker y Limpus, 1997; Coutinho, 2000; Palacios y Beltrán, 2005; Lance *et al.*, 2009), incluyendo cocodrilianos neotropicales (Coutinho, 2000; Palacios y Beltrán, 2005) así como el yacaré overo (*Caiman latirostris*; Vac *et al.*, 1992).

A pesar de la gran cantidad de informaciones disponibles sobre la reproducción de *C. latirostris* en cautiverio y en la naturaleza (Verdade y Piña, 2006), el desarrollo de los huevos, los niveles hormonales y el porcentaje de hembras adultas activamente reproductivas por año es desconocida. Las únicas informaciones sobre el desarrollo folicular para la especie *C. latirostris* fueron presentadas por Vac *et al.* (1992), donde

observaron en hembras de cautiverio folículos de 1,0 a 1,5cm de diámetro durante el comienzo de la temporada reproductiva (agosto). Determinar el porcentaje de hembras adultas que son activamente reproductivas en una determinada temporada podría ayudar a estimar algunos parámetros poblacionales, como el tamaño de la población basado en el conteo de nidos (Wilkinson, 1983; Taylor *et al.*, 1991).

Lance *et al.* (2009) reportaron la relación entre el desarrollo folicular (mediante imágenes de ecografía) y los niveles hormonales de hembras de *Alligator mississippiensis*. Estos autores observaron elevados niveles de estradiol en individuos con grandes folículos vitelogénicos y que los niveles de progesterona y testosterona aumentan con el crecimiento de los folículos. Además, para tortugas marinas y del desierto Rostal *et al.* (1996) y Lance y Rostal (2002), demostraron una fuerte relación entre el crecimiento de los folículos ováricos y los niveles hormonales (estradiol y testosterona), y que existe un incremento de los niveles de progesterona durante la ovulación. Por lo tanto, además de la citología, estudios utilizando técnicas de ecografía y niveles hormonales en conjunto serían herramientas de mayor precisión en la identificación y reconocimiento del estadio reproductivo de los reptiles.

A pesar de ser una especie manejada mediante el sistema de rancheo (donde se colectan los nidos de las poblaciones naturales) en Argentina (Larriera, 1993; Larriera e Imhof, 2006) y por la cría en granja en Brasil (Verdade, 1997; Verdade, 2001), no hay registros en la literatura sobre estudios en la naturaleza empleando ecografía, así como para los niveles de las hormonas reproductivas en *C. latirostris*. Informaciones sobre estos aspectos podrían ser utilizadas para comprender su ciclo reproductivo y frecuencia de nidificación, como así también evaluar si existe un efecto del tiempo en que los yacarés se mantuvieron en cautiverio (aproximadamente un año) por los programas de rancheo en Argentina, sobre el comportamiento reproductivo de esta especie. Hasta el momento se conoce que las cópulas inician en el mes de octubre y las hembras construyen sus nidos y oviponen aproximadamente 36 huevos (amplitud: 16–45) entre diciembre y enero (Larriera, 1994; Piña *et al.*, 2002; Simoncini *et al.*, 2009); las hembras exhiben cuidado parental (Verdade, 1995), el tamaño de postura aumenta con la latitud (Simoncini *et al.*, 2009) y que hembras alcanzan la madurez sexual a los cinco años en cautiverio o en la naturaleza (Verdade *et al.*, 2003; Larriera *et al.*, 2006).

El presente trabajo tuvo como objetivo: 1) identificar las estructuras reproductivas (folículos y huevos), 2) acompañar el desarrollo de folículos y huevos, 3) correlacionar el desarrollo de folículos y huevos con los niveles de estradiol, progesterona y testosterona y

4) comparar el comportamiento reproductivo entre hembras silvestres y reintroducidas de *C. latirostris*. Esta información será importante para la conservación y el uso sustentable de la especie.

Las estructuras reproductivas de hembras de *C. latirostris* están relacionadas con su período reproductivo y se esperaría encontrar altos niveles de estradiol y progesterona (así como folículos y huevos) durante los meses previos y durante la nidificación. Además, debido al hecho de que las hembras de *C. latirostris* manejadas por los programas de rancheo son reintroducidas en la fase juvenil, no se esperaría diferencias en su comportamiento reproductivo durante la etapa adulta, respecto a las hembras silvestres. Como predicción se podría esperar que el porcentaje de hembras silvestres reproductivas, el número de folículos, su apariencia, tamaño y desarrollo, así como los niveles hormonales en las diferentes etapas durante el ciclo reproductivo, no difieren al de hembras reintroducidas.

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Área de estudio y método de captura

El estudio fue realizado durante dos temporadas reproductivas, entre los meses de noviembre del 2010 a enero del 2011 y noviembre del 2011 a enero del 2012 en el Norte de la Provincia de Santa Fe (Argentina), en los sitios de trabajo de Caminos (30°2'46"S 59°58'30"W), Espín (29°58'04"S 60°4'55"W), Fisco (30°11'40"S 61°0'50"W) y Lucero (29°54'25"S 60°50'23"W). Las informaciones sobre el área de estudio están detalladas en el ítem 1.6 "Área de estudio" en el Capítulo 1 de esta tesis (Pag. 19).

4.2.2. Muestras de sangre y ecografía

Las muestras de sangre fueron extraídas antes de cumplirse los 10 minutos desde la captura (para evitar la supresión debido al estrés de estradiol; Elsey *et al.*, 1991; Lance *et al.*, 2009) y posteriormente se realizaron los procedimientos de ecografía. Las muestras de sangre fueron extraídas en campo del ramo dorsal de la vena cava superior (Olson *et al.*, 1975), y posteriormente colocadas en tubos heparinizados de 15mL. Cada tubo fue centrifugado durante 10 minutos a 4.000rpm. El sobrenadante extraído (plasma) fue

almacenado en tubos eppendorf (1,5mL) y refrigerado en hielo hasta llegar al laboratorio donde fueron colocados en freezer (-20°C) para los análisis hormonales subsecuentes.

Un ecógrafo portátil de la marca Welld (modelo WED-3000V) con transductor lineal de 5.0MHz fue utilizado para determinar el estado reproductivo y acompañar el desarrollo de los folículos ováricos y huevos. Hembras de diferentes tamaños (incluyendo juveniles $n = 10$; LHC: $54,2 \pm 4,8$ cm, 46-60cm) fueron examinadas, pero solamente fue posible observar estructuras reproductivas en individuos con LHC > 65 cm, consistente con resultados previos para *C. latirostris* (Larriera *et al.*, 2006). Las hembras fueron examinadas en ambos lados de la región ventro-lateral del abdomen para poder determinar la condición reproductiva (Tucker y Limpus, 1997; Lance *et al.*, 2009). Fue utilizado gel para ultrasonido para facilitar la visualización durante los procedimientos de ecografía. Las imágenes fueron congeladas en el monitor y medidas con calibre electrónico (± 1 mm). La resolución del ecógrafo permitió identificar solamente folículos vitelogénicos bien desarrollados, huevos y folículos atrésicos. Hembras con folículos vitelogénicos o huevos fueron consideradas reproductivas y hembras sin estructuras reproductivas visibles fueron consideradas como no reproductivas para aquella temporada. Hembras con folículos atrésicos capturadas en sus nidos fueron consideradas como reproductivas para los análisis hormonales, pero no fueron utilizadas para calcular el porcentaje de hembras activamente reproductivas. Las hembras restantes con folículos atrésicos no fueron incluidas en los análisis hormonales porque no fue posible identificar la estación reproductiva a la cual los folículos correspondían (Lance *et al.*, 2009). Las estructuras identificadas fueron clasificadas basadas en los estudios previos de Palacios y Beltrán (2005) y Lance *et al.* (2009), siendo:

a) No reproductiva (NR): ninguna característica reproductiva evidente fue encontrada;

b) Folículos vitelogénicos (VT): presencia de múltiples corpúsculos esféricos negros $> 1,5$ cm de diámetro;

c) Huevos (HV): estructuras perfectamente delimitadas con o sin formación de cáscara, generalmente $> 4,0$ cm de diámetro;

d) Folículos atrésicos (AT): presencia de múltiples folículos con tamaños y formas diferentes, generalmente $< 1,5$ cm de diámetro.

4.2.3. Análisis hormonales

Las muestras de plasma congeladas se trasladaron al laboratorio LARLAC-IMBECU (CONICET-Mendoza) donde fueron procesadas y analizadas a través del método de Radioinmunoanálisis (RIA). Previo a la realización del RIA se evaluó la necesidad de extracción de los esteroides (a continuación, se detalla la determinación de estradiol) para eliminar las proteínas que podrían interferir en los ensayos, según estándares establecidos por Lance *et al.* (2009) y Boretto *et al.* (2010). Fue observado que, para una determinación más precisa de estradiol-17 β las muestras de plasma deberían ser extraídas. Sin embargo, las determinaciones de progesterona y testosterona fueron realizadas directamente en plasma porque la extracción no cambiaba los resultados, demostrando que las proteínas del plasma no interfieren significativamente con el RIA para estas dos hormonas (progesterona y testosterona).

Los niveles de progesterona y testosterona en plasma fueron determinados a través de kits comerciales para radioinmunoensayo para hormonas totales (PITKPG-11 y PITKTT-9, Coat-A-Count solid phase, respectivamente; Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Los Angeles, CA, USA). Para las determinaciones de estradiol-17 β , 250 μ L de plasma fueron extraídos (por duplicado) adicionando 1mL de éter etílico, los tubos fueron agitados (vortex) rápidamente y congelados en -80°C durante aproximadamente 5 minutos. El sobrenadante fue cuidadosamente pipeteado para tubos de cultivo de vidrio y todas las extracciones fueron evaporadas hasta secar a temperatura ambiente y bajo una corriente de nitrógeno. Las extracciones fueron reconstituidas en 0,5mL de PBS EDTA 1mM (0,1% gelatina) incubadas a 37°C durante 2 horas y alícuotas de 60 μ L fueron utilizadas para medir [¹²⁵I]- 17 β -estradiol utilizando un kit comercial para hormona total (PIKE2D- 11 double antibody radioimmunoassay; Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Los Angeles, CA, USA). Para validar el procedimiento de extracción, estándares de sueros comerciales con la concentración hormonal conocida fueron extraídos y recuperados con una estimativa entre 80-90%. Los resultados no fueron corregidos en la recuperación hasta que todas las muestras fuesen procesadas al mismo tiempo. Para una validación adicional de los tres ensayos, se ejecutaron muestras de plasma de yacaré como un control adicional, siendo utilizadas para estimación en paralelo. Diferentes diluciones de las muestras fueron ejecutadas en el ensayo y se observó que la curva era paralela a las respectivas curvas estándares.

4.2.4. Análisis de los datos

Los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas de los datos fueron previamente testeados. Al no cumplir los supuestos, un test de Kruskal-Wallis, seguido de un test post-hoc de múltiples comparaciones, fue utilizado para comparar los niveles hormonales y la condición reproductiva de las hembras entre los meses estudiados. El porcentaje de hembras activamente reproductivas fue calculado sumando el número de hembras con folículos y huevos y dividiendo este valor por el número total de hembras adultas capturadas. En este caso no fueron consideradas las hembras capturadas en sus nidos, ya que su condición reproductiva era previamente conocida.

Para evaluar si la actividad reproductiva estaba relacionada con la condición corpórea de las hembras, se calculó el índice de condición corpórea (ICC). Este índice fue considerado como los residuos de la regresión lineal entre longitud hocico-cloaca y la masa corpórea (Litzgus *et al.*, 2008). Se utilizó un test de Kruskal-Wallis para evaluar si la actividad reproductiva estaba relacionada con la condición corpórea de las hembras (ICC) y si los niveles hormonales variaron entre hembras silvestres y reintroducidas. Todos los procedimientos estadísticos fueron realizados en el *software* InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008). Los valores fueron presentados como promedio \pm error estándar y amplitud, y fueron considerados estadísticamente diferentes cuando $P < 0,05$.

4.3. Resultados

Fueron examinadas las estructuras reproductivas de 32 hembras adultas ($LT > 130\text{cm}$ o $LHC > 65\text{cm}$) capturadas durante el período reproductivo (octubre-enero; Tabla 4.1). La condición reproductiva identificada fue: folículos vitelogénicos ($n = 5$), huevos ($n = 4$), folículos atrésicos ($n = 11$) y no reproductivas ($n = 12$; Fig.4.1). Folículos vitelogénicos y huevos fueron observados en hembras durante los meses de noviembre/diciembre (fines de la primavera y principios del verano) y folículos atrésicos en los meses de diciembre/enero (Tabla 4.1). Durante las estaciones reproductivas estudiadas, fue observado que 50% de las hembras estaban activamente reproductivas en 2010/2011 ($n = 5/10$) y 36% en 2011/2012 ($n = 4/11$). La actividad reproductiva no estuvo relacionada a la condición corporal de las hembras (ICC; $H_{(1,25)} = 0,05$; $P = 0,831$; Fig.4.2A y 4.2C) y tampoco a la condición de silvestre o reintroducida ($H_{(1,25)} = 0,01$; $P = 0,931$). Sin embargo, fue observado que 80% ($n = 12/15$) de las hembras reproductivas

eran mayores a 77cm de LHC y que 75% (n = 9/12) de hembras no reproductivas eran menores a 77cm de LHC (Fig.4.2B).

Tabla 4.1 - Hembras de *C. latirostris* examinadas mediante ecografía. Captura: día/mes/año; LT: longitud total; LHC: largo hocico-cloaca; MC: masa corpórea; Folículos: estructuras reproductivas; VT–Folículos vitelogénicos; HV–Huevos; NR– ninguna estructura reproductiva observada; AT–Folículos atrésicos; *Capturadas en el nido.

Captura	LT (cm)	LHC (cm)	MC (kg)	Folículos (promedio mm)
11/11/2010	152,0	78,0	18,2	VT (32)
29/11/2010	157,0	79,0	20,6	HV (51)
29/11/2010	146,0	77,0	17,8	HV (50)
01/12/2010	125,0	72,0	10,4	NR
01/12/2010	164,0	84,0	19,4	HV (53)
01/12/2010	144,0	79,0	14,1	NR
08/12/2010	134,0	68,0	11,6	NR
08/12/2010	138,5	68,0	12,1	NR
08/12/2010	152,0	79,0	18,2	HV (67)
08/12/2010	149,5	74,0	13,5	NR
28/12/2010	162,0	80,0	17,6	AT (14)*
29/12/2010	155,6	79,0	15,4	AT (18)*
06/01/2011	157,0	76,0	16,6	AT (8)*
06/01/2011	175,0	85,0	22,0	AT (7)*
12/01/2011	158,0	79,0	16,5	AT (4)*
13/01/2011	142,0	77,0	15,5	AT (11)*
01/11/2011	157,0	79,0	16,9	VT (18)
01/11/2011	158,0	80,0	18,4	VT (29)
01/12/2011	138,0	69,0	9,5	VT (17)
01/12/2011	141,0	71,0	11,5	NR
01/12/2011	140,0	70,0	10,4	NR
01/12/2011	141,0	67,5	11,2	NR
21/12/2011	169,0	84,5	21,3	NR
21/12/2011	141,0	70,0	11,8	NR
28/12/2011	134,0	69,0	10,0	VT (15)
04/01/2012	144,0	73,0	12,6	AT (7)
26/01/2012	163,0	85,5	20,3	AT (9)
26/01/2012	161,0	83,0	20,2	NR
26/01/2012	139,0	70,5	12,5	AT (8)
27/01/2012	159,5	87,0	19,1	AT (10)
27/01/2012	140,0	70,5	12,0	NR
27/01/2012	156,0	76,5	13,8	AT (8)

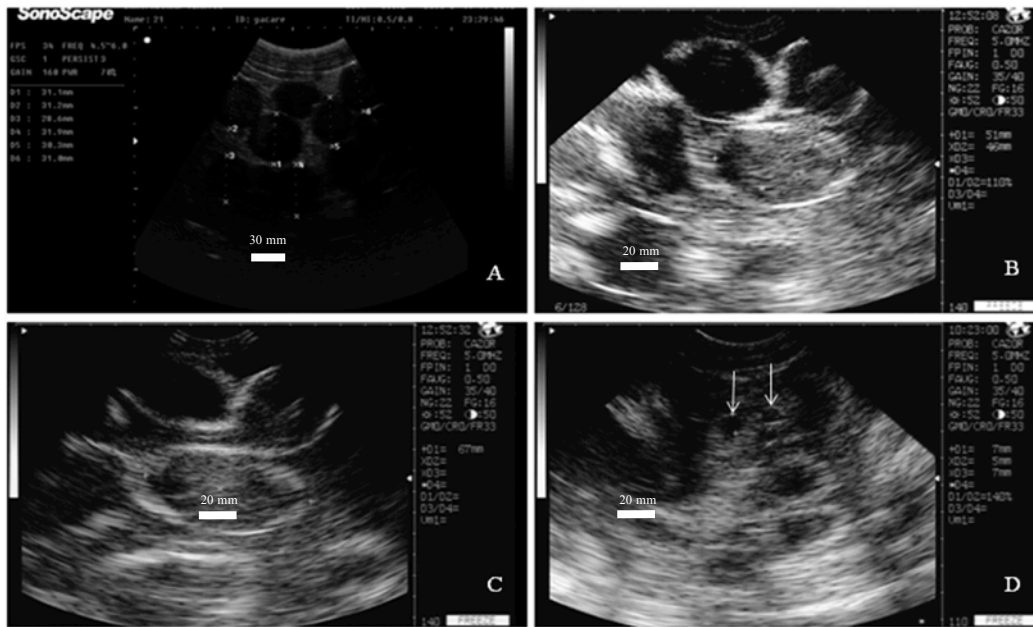


Figura 4.1 - Imágenes ecográficas de la estructura reproductiva de *Caiman latirostris*. A – folículos vitelogénicos; B y C – huevos; y D – folículos atrésicos (flechas).

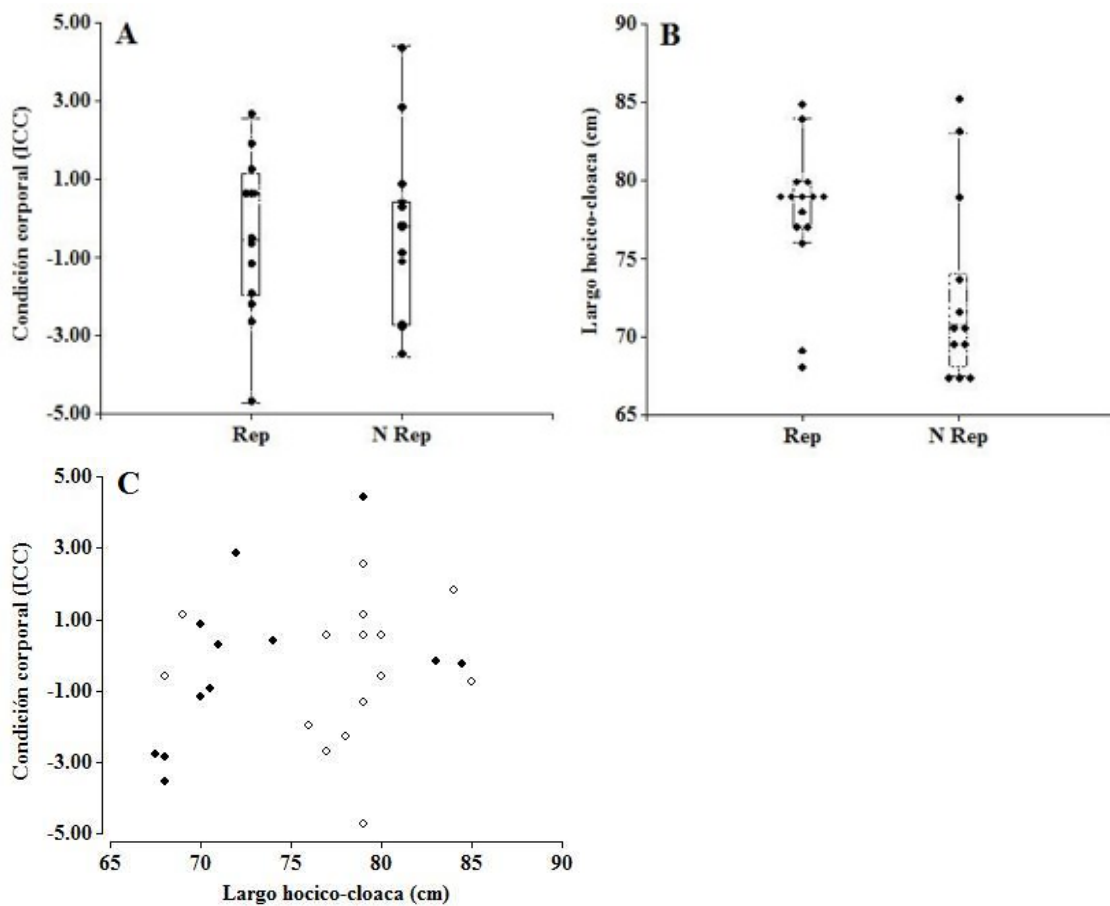


Figura 4.2 - Condición corporal (A), tamaño de la hembra (B) y (C) condición corporal x tamaño de la hembra relacionados a la condición reproductiva de hembras adultas de *Caiman latirostris*. Rep = reproductiva; NRep = no-reproductiva. Puntos blancos: hembras reproductivas; y puntos negros: hembras no reproductivas en (C).

4.3.1. Niveles hormonales y estructuras reproductivas

A pesar de la gran variabilidad en los niveles hormonales entre los grupos (folículos vitelogénicos, huevos, folículos atrésicos y no reproductivas), fueron observados altos valores de estradiol en hembras con folículos vitelogénicos, respecto de las hembras con folículos atrésicos o no reproductivas (Tabla 4.2; Fig.4.3A). Los niveles de progesterona fueron bajos en todas las hembras, excepto para las que tenían huevos ($2,1 \pm 0,6$ ng/mL; Tabla 4.2, Fig.4.3B). En general, los valores promedios de testosterona fueron muy bajos ($0,2 \pm 0,1$ pg/mL; Tabla 4.2, Fig.4.3C) y similares entre los diferentes grupos ($P > 0,05$).

Tabla 4.2 - Valores promedios de estradiol, progesterona y testosterona para hembras adultas de *Caiman latirostris* en diferentes condiciones reproductivas. Los valores fueron analizados por un test de Kruskal-Wallis seguido de un test a posteriori de comparaciones múltiples y están expresados como promedio \pm error estándar. Los grupos identificados con las mismas letras superíndice poseen valores similares para la hormona ($P > 0,05$). VT = folículos vitelogénicos; HV = huevos; AT = folículos atrésicos; NR = ninguna estructura reproductiva observada.

Hormona	Condición reproductiva				Kruskal-Wallis	
	VT (n = 5)	HV (n = 4)	AT (n = 11)	NR (n = 12)	H	P
17 β -estradiol (pg/mL)	1517,9 \pm 700,7 ^A	360 \pm 263,6 ^A	52,9 \pm 14,2 ^B	76 \pm 13,6 ^B	10,76	0,013
Progesterona (ng/mL)	0,3 \pm 0,1 ^A	2,1 \pm 0,6 ^B	1,0 \pm 0,5 ^A	0,3 \pm 0,1 ^A	8,20	0,035
Testosterona (ng/mL)	0,3 \pm 0,2 ^A	1,5 \pm 1,3 ^A	0,01 \pm 0,01 ^A	0,05 \pm 0,03 ^A	1,70	0,544

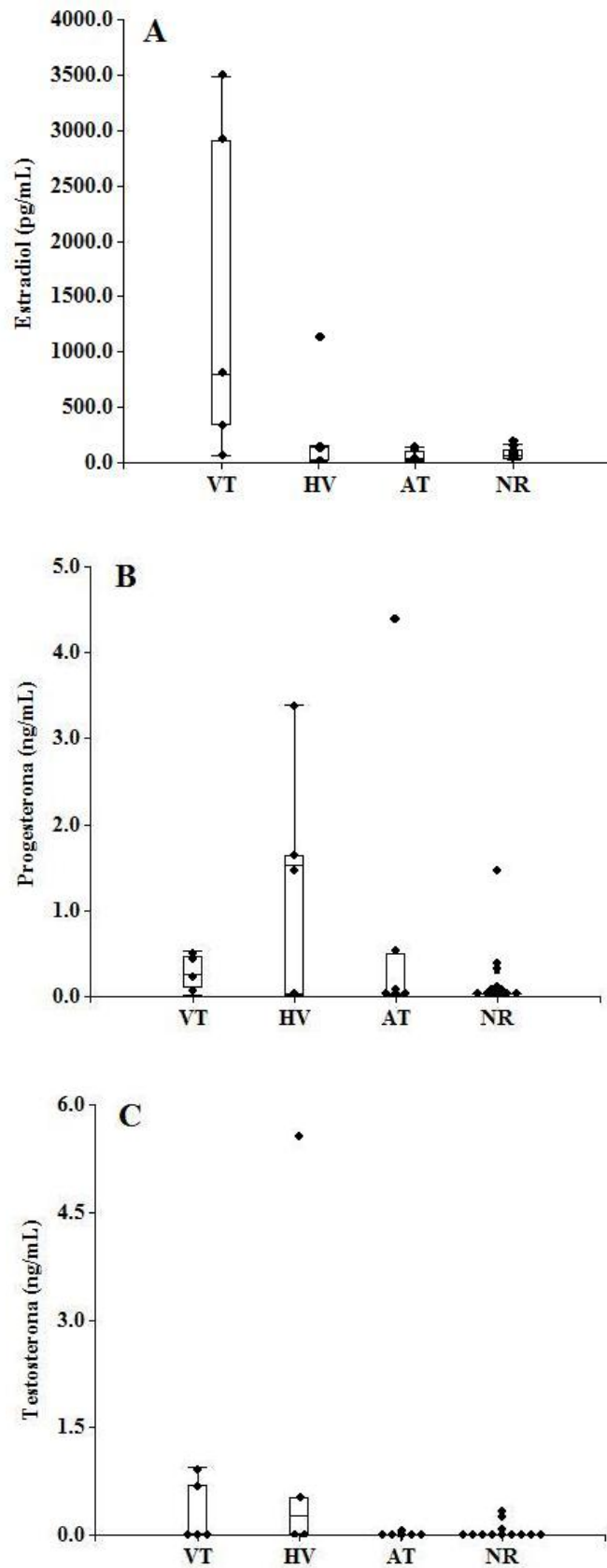


Figura 4.3 - Niveles hormonales de estradiol (A), progesterona (B) y testosterona (C) y la condición reproductiva de hembras adultas de *C. latirostris*. VT = folículos vitelogénicos; HV = huevos; AT = folículos atrésicos; NR = ninguna estructura reproductiva observada.

4.3.2. Niveles hormonales durante los meses

Hembras reproductivas presentaron niveles más altos de estradiol durante el desarrollo folicular (noviembre; $H_{(2,12)} = 8,42$; $P = 0,014$; Fig.4.4A) en comparación con los otros estadios reproductivos. Durante los meses de diciembre y enero (periodo de nidificación) los niveles de estradiol fueron bajos ($107,2 \pm 45,8\text{pg/mL}$ y $71,8 \pm 17\text{pg/mL}$, respectivamente) en comparación con el período previo a la nidificación (noviembre, $1603,9 \pm 605,4\text{pg/mL}$; $H_{(2,12)} = 8,42$; $P = 0,014$) y no fueron encontradas diferencias entre hembras reproductivas y no reproductivas ($H_{(1,22)} = 0,35$; $P = 0,553$). En el final del periodo de nidificación (enero) los niveles de estradiol fueron similares al de hembras no reproductivas, y no se hallaron diferencias entre los grupos estudiados (foliculos vitelogénicos, huevos, foliculos atrésicos y no reproductivas; $H_{(2,8)} = 0,95$; $P = 0,267$). Las hembras capturadas en sus nidos después de la nidificación presentaron valores bajos de estradiol comparado con hembras con foliculos o huevos ($H_{(2,12)} = 7,34$; $P = 0,025$).

Hembras reproductivas presentaron valores altos de progesterona durante la nidificación (diciembre) comparado con hembras no reproductivas ($H_{(1,13)} = 5,56$; $P = 0,035$; Fig.4.4B). No se hallaron diferencias entre los niveles de testosterona entre hembras no reproductivas durante el período de nidificación (diciembre-enero; $H_{(1,10)} = 0,18$; $P = 0,999$) o entre hembras reproductivas, hembras no reproductivas y hembras con foliculos atrésicos ($H_{(2,8)} = 2,32$; $P = 0,120$) al final del período de nidificación (enero; Fig.4.4C). Hembras silvestres y reintroducidas presentaron los mismos niveles hormonales ($P > 0,05$) de estradiol, progesterona y testosterona para cada uno de los meses estudiados (noviembre, diciembre y enero).

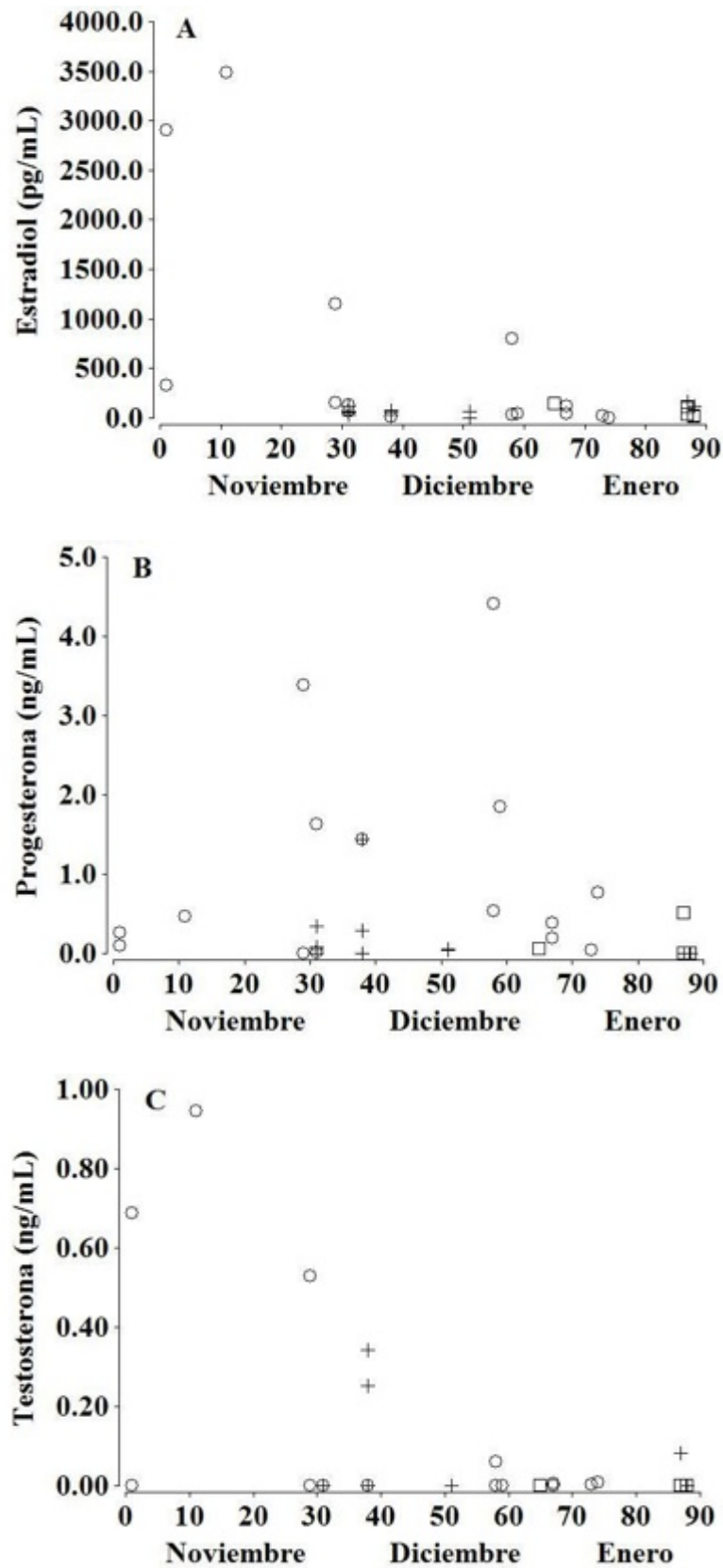


Figura 4.4 - Niveles hormonales de estradiol (A), progesterona (B) y testosterona (C) durante la estación reproductiva (2010-2012) para hembras adultas de *C. latirostris*. Círculos = hembras reproductivas; Cuadrados = folículos atrésicos; Cruces = hembras no reproductivas.

4.4. Discusión

En general el ciclo reproductivo de los cocodrilianos comienza a principios de la primavera, meses donde la temperatura del aire y del agua se incrementan (Lance, 1989; Larriera e Imhof, 2006). El ciclo reproductivo del *C. latirostris* es bien definido, encontrándose folículos vitelogénicos y huevos en los meses de noviembre/diciembre (fines de la primavera y principios del verano) y folículos atrésicos en los meses de diciembre/enero. Un ciclo reproductivo bien definido también fue descrito para otras especies de cocodrilianos, como el *Alligator mississippiensis* (Joanen y McNease, 1979), *Caiman yacare* (Coutinho, 2000) y *Crocodylus johnstoni* (Tucker y Limpus, 1997); a pesar de ser bien definido, el ciclo reproductivo de una misma especie puede variar según las variables ambientales (temperatura del aire y del agua, nivel del agua, etc.; Lance *et al.*, 2009; Simoncini *et al.*, 2011) del sitio habitado (Lance, 1989; Guillete *et al.*, 1997). Debe ser resaltado que las seis hembras capturadas en sus nidos poseían folículos atrésicos (Tabla 4.1) siendo que dichas estructuras reproductivas pueden ser encontradas a lo largo de todo el año para los cocodrilianos adultos. Sin embargo, los folículos atrésicos no son encontrados en hembras inmaduras y raramente encontrados en hembras muy viejas o estériles (Lance *et al.*, 2009).

Este es el primer estudio reportando datos de ecografía y de hormonas reproductivas para individuos de *C. latirostris* en la naturaleza. El único estudio publicado sobre la dinámica folicular para *C. latirostris* fue presentado por Vac *et al.* (1992), para individuos de cautiverio en Brasil. Los autores reportaron la presencia de folículos con diámetro entre 3,0 y 3,8cm en diciembre. En el presente estudio las hembras presentaron folículos con diámetro entre 1,5 y 3,2cm en los meses de noviembre y diciembre, demostrando un patrón similar al presentado anteriormente para individuos de cautiverio. Posiblemente, en función de las limitaciones del ecógrafo, no fue posible identificar folículos previtelogénicos y cuerpos lúteos a través de las imágenes ecográficas. También no fue posible estimar precisamente la cantidad de folículos o huevos utilizando el ecógrafo, por la superposición de las estructuras reproductivas y por la presencia de los intestinos con materia fecal, así como fue reportado por Tucker y Limpus (1997) y Lance *et al.* (2009).

Para el yacaré overo en Argentina, fue observado que los folículos y huevos pueden ser detectados con la ecografía durante los meses de noviembre/diciembre y que los folículos atrésicos son encontrados en hembras postovulatorias al final de diciembre o

principios de enero. Ninguna hembra fue capturada en los otros meses. El ciclo reproductivo del *C. latirostris* presentó un patrón similar al descrito para otros cocodrilianos (Lance, 1989; Thorbjarnarson, 1996). Como los trabajos se han iniciado en noviembre, estudios futuros deberían realizar ecografías en septiembre (principios de la temporada reproductiva) para identificar la posible presencia de folículos en desarrollo en ese momento y permitir una mejor comprensión del ciclo reproductivo de la especie.

Los valores de estradiol encontrados para las hembras no reproductivas y hembras con folículos atrésicos fueron muy bajos en comparación con aquellas que presentaban folículos en desarrollo o huevos (Fig.4.4); esto puede ser explicado porque el estradiol es un fuerte estimulante de la vitelogénesis en reptiles (Ho *et al.*, 1985; Cree *et al.*, 1992), presentando valores bajos después de la nidificación o para hembras no reproductivas. Además, el estradiol es producido principalmente por los folículos preovulatorios y deben reducirse después de la nidificación. Esto fue observado en el presente estudio, donde los valores de estradiol fueron bajos en hembras que habían depositado sus huevos en comparación con aquellas que poseían folículos en desarrollo o huevos. Altos niveles de progesterona fueron encontrados en hembras con huevos, lo que indicaría que esta hormona aumenta durante la ovulación hasta el momento de deposición de los huevos, y se reduce después de la nidificación. La principal función de la progesterona en los ovíparos sería la de estimular la maduración de los folículos y preparar el oviducto para la reproducción (Wibbels *et al.*, 1992). El mismo patrón también fue reportado para otras especies de cocodrilianos (Lance *et al.*, 2009) y tortugas (Rostal *et al.*, 1998; Rostal *et al.*, 2001; Schramm *et al.*, 1999).

El porcentaje de hembras activamente reproductivas de *C. latirostris* en el presente estudio (50% en 2010 y 36% en 2011) fue un poco mayor al reportado para esta misma especie en cautiverio (27-33%, Vac *et al.*, 1992) y similar para poblaciones de Alligatoridae en la naturaleza (29-50% para *Alligator mississippiensis*, Lance *et al.*, 2009; 33% para *Paleosuchus trigonatus*, Magnusson y Lima, 1991), pero inferior a los presentados para Crocodylidae (90% para *Crocodylus johnstoni*, Webb *et al.*, 1983; 63,8% para *Crocodylus acutus*, Thorbjarnarson, 1988). Una de las condiciones que podría afectar la frecuencia reproductiva en cocodrilianos sería las precipitaciones (Kushlan y Jacobsen, 1990; Simoncini *et al.*, 2011). En años con mayores cantidades de lluvias más hembras se reproducirían, en función de una mayor disponibilidad de alimentos, mejor condición corporal y bajos niveles de estrés, lo que favorecería la reproducción (Joanen y McNease, 1989). En este sentido, hembras de *C. latirostris* que están ocupando ambientes con mayor

disponibilidad de alimentos y refugios (por ejemplo, vegetación acuática) podrían presentar una mejor condición reproductiva. Esto se debería a que el tipo de hábitat utilizado por la hembra puede influir sobre la condición reproductiva, la madurez sexual y el tamaño de postura como fue reportado para el *A. mississippiensis* (Lance, 2003). En el Capítulo 2 de esta tesis se observaron diferentes formas de uso del hábitat, donde algunas hembras prefieren ambientes densamente vegetados, mientras que otras lo utilizan de acuerdo a su disponibilidad. Por lo tanto, se esperaría que, durante los años con mayores cantidades de lluvias y disponibilidad de recursos, las hembras de *C. latirostris* que habitan la laguna o el canal podrían reproducirse con mayor éxito.

En el presente estudio, no se observó una relación entre el índice de condición corporal y la actividad reproductiva; sin embargo, fue observado que las hembras serían capaces de reproducirse con más de 69cm de LHC, así como observado previamente para hembras de la misma especie (Verdade y Sarkis, 1998; Moulton *et al.*, 1999; Larriera *et al.*, 2006). No obstante, la madurez sexual en hembras no debe ser basada en el suceso reproductivo de pocos individuos, ya que ellos no podrían representar toda la población (Joanen y McNease, 1987; Coutinho, 2000). En este estudio, 80% de las hembras reproductivas poseían más de 77cm de LHC, lo que podría ser considerado como un umbral (límite) para los estudios de campo. Sin embargo, debe ser considerado que el 75% de hembras no reproductivas que poseían menos de 77cm de LHC (Fig.4.3) pueden ser hembras inmaduras, en reposo (maduras, pero no nidificó en aquel año) o estériles. Además, se conoce que la cantidad de hembras adultas en reposo puede exceder el 50% para los cocodrilianos en una temporada reproductiva (Joanen y McNease, 1980; Lance, 1989) y que el tiempo entre las reproducciones de una misma hembra en la naturaleza puede variar de 2 a 4 años (Lance, 2003). Por lo tanto, esto explicaría el hecho de que hembras capturadas que poseían tamaño corporal reproductivo, no estaban reproduciéndose en aquella temporada. Además, se conoce que factores ecológicos (disponibilidad y tipo de hábitat), fisiológicos (energía invertida en reproducción) y ambientales (precipitaciones y temperatura) podrían afectar la reproducción de hembras adultas de cocodrilianos (Thorbjarnarson, 1996; Lance, 2003; Simoncini *et al.*, 2011). Conocer las variables que pueden afectar la reproducción es muy importante para los programas de uso sustentable, ya que estas informaciones podrían ayudar a estimar la producción de nidos y su distribución espacial (Simoncini *et al.*, 2011). Sin embargo, este estudio abarcó solamente dos años consecutivos. Un programa de monitoreo a largo plazo

sobre la biología reproductiva de esta especie es necesario para incrementar los conocimientos en los que se sustentan los programas de rancheo (*ranching*) en Argentina.

Solamente las informaciones sobre los niveles hormonales no son suficientes para diagnosticar la condición reproductiva o la fase del ciclo folicular para las hembras del *C. latirostris*. Por lo que se recomienda acompañar los estudios hormonales con métodos donde sea posible visualizar las estructuras reproductivas, como por ejemplo ecografías. Además, conocer el porcentaje de hembras que se reproducen es un parámetro importante, ya que el número total de hembras adultas en una determinada población podría ser calculado fácilmente dividiendo la cantidad de nidos (total de hembras activamente reproductivas en una temporada) por el porcentaje de hembras de la especie que se reproducen (Wilkinson, 1983; Taylor *et al.*, 1991).

La mayoría de las informaciones relacionadas a la dinámica de desarrollo de los folículos ováricos en cocodrilianos fueron obtenidas a partir de sacrificios de individuos adultos (Lance, 1989; Palacios y Beltrán, 2005) o utilizando animales muertos encontrados en las rutas (Thorbjarnarson, 1996). El uso de la técnica de ecografía permite la obtención de datos reproductivos interesantes en animales vivos (Robeck *et al.*, 1990; Bertona y Chiaraviglio, 2003; Valdez *et al.*, 2011; Sacchi *et al.*, 2012), lo que es particularmente importante para el caso de especies amenazadas (ejemplo, *Alligator sinensis*). Además, con el avance tecnológico y la portabilidad de los equipos, el uso de la ecografía en poblaciones silvestres es posible. Sin embargo, solamente el uso integrado de la citología, niveles hormonales y ecografía permiten estimar más precisamente el estadio reproductivo de hembras de cocodrilianos, así como fue realizado para tortugas (Rostal *et al.*, 1998) y aligátos (Lance *et al.*, 2009).

Se observó que el mantenimiento en cautiverio (aproximadamente un año después del nacimiento) no afectó el comportamiento reproductivo (actividad reproductiva y niveles hormonales) de las hembras reintroducidas de *C. latirostris* en comparación con aquellas que estuvieron toda su vida en la naturaleza; así como lo observado para los datos de área de vida, patrón de movimiento y uso del espacio obtenidos en los otros capítulos de esta tesis. Larriera *et al.* (2006), estudiando la misma especie, encontraron hembras adultas reintroducidas por un programa de uso sustentable (rancheo) reproduciéndose en la naturaleza. Estudios futuros deberían evaluar el ciclo hormonal del *C. latirostris* al principio de la cópula (posiblemente agosto-septiembre) para identificar posibles variaciones en los niveles de estradiol, progesterona y testosterona y la relación entre los niveles hormonales y la condición reproductiva en hembras. Dichas informaciones serán

cruciales para estimar la actividad reproductiva de la población, lo que es particularmente relevante para especies amenazadas y de importancia económica.

Capítulo 5

Discusión General

En esta tesis fueron estudiados algunos aspectos de la ecología espacial (área de vida, movimiento y uso del hábitat) y de la biología reproductiva del *C. latirostris* en Argentina, con el objeto de generar nuevas informaciones sobre la especie, así como evaluar los efectos que los programas de manejo podrían producir sobre algunas variables comportamentales de los individuos al reintroducirlos después de aproximadamente un año de mantenimiento en cautiverio. Estas informaciones son herramientas fundamentales para los programas de manejo y conservación de la especie (Verdade, 1997; Larriera *et al.*, 2008). A partir de las informaciones obtenidas, y las ya precedentes sobre los aspectos de la historia de vida de *C. latirostris*, se pudo confeccionar el siguiente modelo (Fig.5.1). Las interpretaciones detalladas de las informaciones del modelo son presentadas en los párrafos consecutivos.

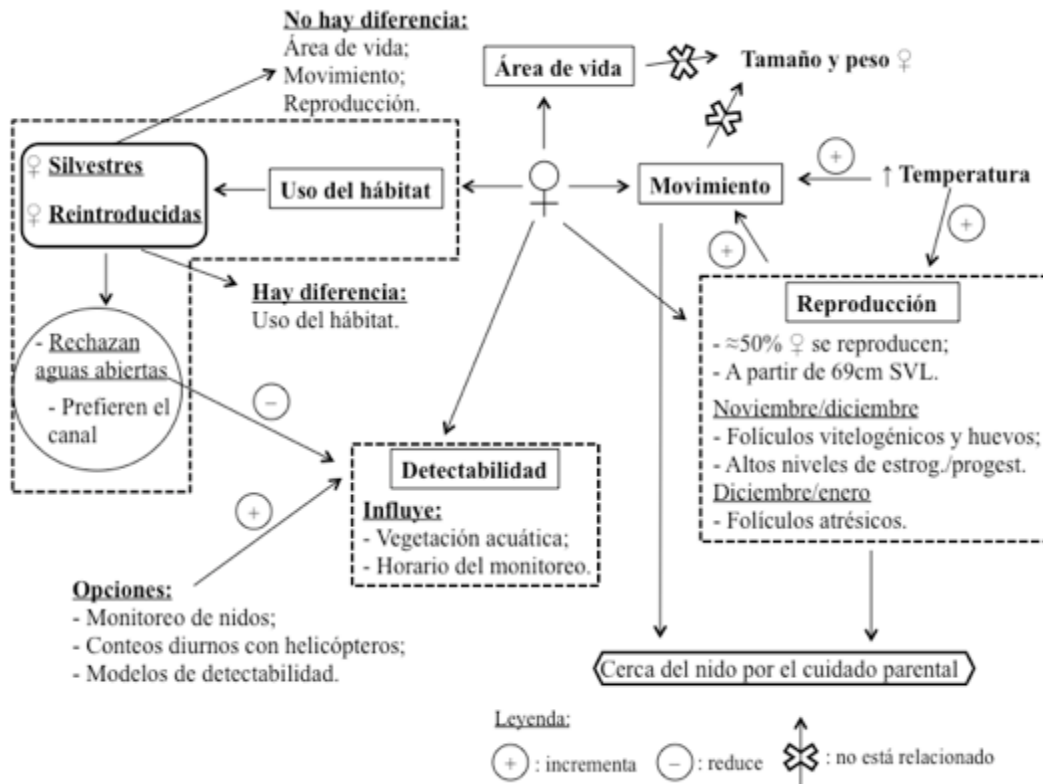


Figura 5.1 - Modelo basado en los resultados de este estudio sobre aspectos del uso del espacio y de la biología reproductiva de hembras adultas de *C. latirostris*.

Los resultados de este estudio demuestran que el área de vida utilizada y el patrón de movimiento de hembras de *C. latirostris* no se relacionan con el tamaño (TL o SVL) o masa corpórea de las mismas y que ellas se mueven más durante el período reproductivo/cálido, lo que estaría relacionado al incremento de la temperatura, período del año en el que los cocodrilianos se alimentan y reproducen (Rootes y Chabreck, 1993; Rosenblatt *et al.*, 2013). Además, durante fines de la primavera y principios del verano (meses cálidos), se observaron folículos vitelogénicos, huevos y altos niveles de estradiol y progesterona; y también se observaron folículos atrésicos en los meses de diciembre/enero. Otra característica relacionada al comportamiento reproductivo y que se pudo constatar a partir de las informaciones de telemetría fue que algunas hembras permanecieron próximas a sus áreas de captura/nidos por un gran lapso de tiempo (entre diciembre y febrero); y esto podría relacionarse al comportamiento de cuidado parental presentado por hembras de cocodrilianos, defendiendo sus nidos durante el período de incubación de los huevos y protección de sus crías después del nacimiento (Lang, 1987; Shine, 1988; Campos *et al.*, 2012; Larriera, com. pers.).

A través del estudio de telemetría se observó que hembras silvestres y reintroducidas de *C. latirostris* evitan utilizar el ambiente que fue caracterizado como aguas abiertas, lo que podría ser explicado por el comportamiento críptico de los cocodrilianos (difícil de ser observado; Lang, 1987; Fujisaki *et al.*, 2011). La elección del ambiente puede influir en la visualización de un individuo durante los censos nocturnos (Capítulo 3, detectabilidad), donde la posibilidad de observar un yacaré puede reducirse considerablemente con la presencia de vegetación en el ambiente monitoreado y la hora en que el monitoreo es llevado a cabo. Además, conocer los ambientes preferidos por las hembras de cocodrilianos podría mejorar la selección de los sitios de muestreo e incluso aumentar los esfuerzos de búsqueda de nidos en determinados ambientes monitoreados por programas de manejo. En Argentina, con el objeto de optimizar los trabajos de monitoreo del *C. latirostris* se recomendaría: 1) aumentar los esfuerzos de muestreo durante el período más cálido y cercano a las zonas de reproducción, ya que los individuos están más activos y la posibilidad de visualizarlos sería mayor; 2) estos monitoreos deberían llevarse a cabo posteriormente al período de oviposición (diciembre/enero, en Argentina) a fin de no afectar la actividad reproductiva de estos animales, salvo que el objeto sea estimar el porcentaje de hembras que se reproducen en una temporada reproductiva a través de los estudios de ecografía. En este caso, las campañas de campo deberían realizarse

principalmente entre los meses de octubre hasta diciembre; 3) los cuerpos hídricos de menor tamaño y aledaños a las grandes lagunas (como el caso del canal en este estudio) también deberían ser contemplados en los muestreos nocturnos, ya que los yacarés se mueven entre estos ambientes; 4) realizar los monitoreos evitando los horarios extremos (cerca a la puesta del sol o al amanecer). Cabe aclarar que los datos de este estudio fueron basados en hembras adultas, por lo tanto, las recomendaciones resaltadas podrían generar un sesgo, al desconocer el comportamiento de los machos para estos aspectos.

En Argentina la técnica de ranqueo es utilizada para el *C. latirostris* desde el año 1990 (Larriera, 1990), alcanzando importantes resultados para la conservación de la especie y los ambientes en que habitan, así como para las poblaciones humanas locales: liberación de más de 30.000 crías en la naturaleza, aumento de hasta un 1500% en las poblaciones de *C. latirostris* en los sitios manejados y beneficios económicos para los “Gauchos” involucrados con la cosecha de huevos en la naturaleza (Larriera e Imhof, 2000; Piña *et al.*, 2010; Larriera, 2011). Sin embargo, hasta el desarrollo de esta tesis, se desconocía algunos aspectos del comportamiento de los individuos reintroducidos respecto de aquellos que permanecieron en la naturaleza. En términos generales, tanto las hembras reintroducidas como las silvestres de *C. latirostris* presentaron comportamientos similares para el uso del espacio (área de vida y patrón de movimiento) y para el comportamiento reproductivo (actividad reproductiva y niveles hormonales). Sin embargo, se observó diferencias en cuanto al uso del hábitat (Fig. 5.1), lo que indicaría que el período de confinamiento previo a su liberación (hasta un año) podría afectar su comportamiento relacionado al uso del hábitat, y que estos animales posiblemente estarían ocupando hábitats diferentes. Por lo tanto, a pesar de la reintroducción de animales ser una herramienta importante y viable para la conservación, recuperación y restablecimiento poblacional del *C. latirostris* en Argentina (Larriera *et al.*, 2008), los efectos que el tiempo de mantenimiento en cautiverio podría tener sobre el comportamiento de los individuos reintroducidos deberían ser considerados a futuro. Aunque exista la posibilidad del tiempo de cautiverio afectar su comportamiento relacionado al uso del espacio, en este estudio se observó que las hembras reintroducidas sobreviven y en la actualidad, aproximadamente la mitad de las hembras reproductoras capturadas en la naturaleza (Cap. 4, ecografía y hormonas) fueron reintroducidas años atrás por el programa de conservación (Proyecto Yacaré).

A pesar de que el presente trabajo se enfocó en estudiar aspectos de la ecología de hembras adultas y que estos valores pueden ser diferentes para juveniles y machos, podrían

considerarse como condiciones mínimas para el mantenimiento del *C. latirostris*: la presencia de cuerpos hídricos (por ejemplo lagunas) con vegetación acuática y conectados a otros cuerpos hídricos (arroyos, ríos, canales, etc.); la presencia de vegetación (monte y pastizales) en los márgenes de los cuerpos hídricos, favoreciendo la reproducción, alimentación, refugio y posibilitando el movimiento para la especie, entre los ambientes. En base a lo expuesto, futuros estudios deberían evaluar si el uso del espacio por machos y juveniles de esta especie en Argentina, es diferente a lo reportado para hembras.

Bibliografía

Amavet, P.S., Rosso, E., Markariani, R., Piña, C.I. 2008. Microsatellite DNA markers applied to detection of multiple paternity in *Caiman latirostris* in Santa Fe, Argentina. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, 309A: 637–642.

Amavet, P.S., Vilardi, J.C., Rueda, E.C., Larriera, A., Saidman, B.O. 2012. Mating system and population analysis of the broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) using microsatellite markers. **Amphibia Reptilia**, 33:83–93.

Anderson, D.R., Burnham, K.P., Lubow, B.C., Thomas, L.E.N., Corn, P.S., Medica, P.A., Marlow, R.W. 2001. Field trials of line transect methods applied to estimation of desert tortoise abundance. **The Journal of Wildlife Management**, 2001:583-597.

Balaguera-Reina, S.A., Venegas-Anaya, M., Sánchez, A., Arbelaez, I., Lessios, H.A., Densmore, L.D. III. 2016. Spatial Ecology of the American Crocodile in a Tropical Pacific Island in Central America. **PLoS ONE**, 11: e0157152. doi:10.1371/journal.pone.0157152.

Ballouard, J., Priol, P., Oison, J., Ciliberti, A., Awely, A.C. 2010. Does reintroduction stabilize the population of the critically endangered gharial (*Gavialis gangeticus*, Gavialidae) in Chitwan National Park, Nepal? **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, 20:756–761.

Bambirra, S.A., Ribeiro, A.O. 2009. Tendências nos programas de reintrodução de espécies de animais silvestres no Brasil. **Bioikos**, 23:103–110.

Bayliss, P., Webb, G.J.W., Whitehead, P.J., Dempsey, K., Smith, A. 1986. Estimating the abundance of saltwater crocodiles, *Crocodylus porosus*, Schneider, in tidal wetlands of the Northern Territory; a mark-recapture experiment to correct spotlight counts to absolute numbers, and the calibration of helicopter and spotlight counts. **Australian Wildlife Research**, 13:309–320.

Bellairs, A. dÁ. 1987. The Crocodilia. Pp.5–7. In: Webb, G.J.W., Manolis, S.C., Whitehead, P.J. (Eds), **Wildlife management: crocodiles and alligators**. Sydney: Surrey Beatty and Sons.

Bellis, L.M., Muriel, N. Response of the endemic long-tailed Meadowlark (*Sturnella loyca obscura*) to grazing exclusion in herbivore-dependent upland grasslands of Argentina. **Emu**, 115:176-184.

Bertona, M., Chiaraviglio, M. 2003. Reproductive biology, mating aggregations, and sexual dimorphism of the Argentine Boa Constrictor (*Boa constrictor occidentalis*). **Journal of Herpetology**, 37:510–516.

Bodmer, R. E. 1999. Uso sustentable de los ungulados amazónicos: implicaciones para las áreas protegidas comunales. Pp.51–58. In: Fang, T. G., Montenegro, O. L., Bodmer, R. E. (Eds.), **Manejo y conservación de fauna silvestre en América Latina**. New York: Columbia University Press.

Bolton, M. 1994. **La explotación del cocodrilo en cautividad**. Guía FAO Conservación 22, Roma. 158p.

Boretto, J.M., Ibarguengoytía, N.R., Jahn, G.A., Acosta, J.C., Vicenti, A.E., Fornés, M.W. 2010. Asynchronic steroid activity of Leydig and Sertoli cells related to spermatogenic and testosterone cycle in *Phymaturus antofagastensis*. **General and Comparative Endocrinology**, 166: 556–564.

Borteiro, C., Gutiérrez, F., Tedros, M., Kolenc, F. 2009. Food habits of the broad-snouted Caiman (*Caiman latirostris*: Crocodylia, Alligatoridae) in northwestern Uruguay. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, 44:31–36.

Brazaitis, P. 1969. The determination of sex in living crocodylians. **British Journal of Herpetology**, 4:54–58.

Brazaitis, P. 1973. The identification of living crocodylians. **Zoologica**, 58:59–101.

Brazaitis, P. 1989. The trade in crocodilians. Pp.196–201. In: Ross, C. A. y Garnett, S. (Eds.) **Crocodiles and Alligators**. Merehurst Press, London.

Brien, M., Read, M.A., McCallum, H.I., Grigg, G.C. 2008. Home range and movements of radio-tracked (*Crocodylus porosus*) within a non-tidal waterhole. **Wildlife Research**, 35:140–149.

Brien, M., Webb, G., Manolis, C., Lindner, G., Ottway, D. 2010. A Method for Attaching Tracking Devices to Crocodilians. **Herpetological Review**, 41:305–308.

Buckland, S.T., Anderson, D.R., Burnham, K.P., Laake, J.L., Borchers, D.L., Thomas, L. 2001. **Introduction to Distance Sampling: Estimating Abundance of Biological Populations**. Oxford University Press: New York.

Bugbee, C.D. 2008. **Emergence dynamics of American alligators (*Alligator mississippiensis*) in Arthur R. Marshall Loxahatchee National Wildlife Refuge: life history and application to statewide alligator surveys**. Ph.D. Thesis, University of Florida, USA.

Burnham, K., Anderson, D., Laake, J. 1980. Estimation of density from line transect sampling of biological populations. **Wildlife Monographs**, 72:3-202.

Byers, C.R., Steinhorst, R.K., Krausman, P.R. 1984. Clarification of a technique for analysis of utilization-availability data. **Journal of Wildlife Management**, 48:1050–1053.

Cabrera-Peña, J., Quesada, M.P., Hernández, M.U., Murillo, R.C. 2003. Distribución y abundancia de *Caiman crocodilus* en el Refugio Nacional de Vida Silvestre Caño Negro, Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, 51:571–578.

Calverley, P.M., Downs, C.T. 2014. Habitat use by Nile crocodiles in Ndumo Game Reserve, South Africa: a naturally patchy environment. **Herpetologica**, 70:426–438.

Campbell, H.A., Dwyer, R.G., Irwin, T.R., Franklin, C.E. 2013. Home range utilisation and long-range movement of estuarine crocodiles during the breeding and nesting season. **PLoS ONE**, 8:e62127.

Campbell, S. 1980. Is reintroduction a realistic goal? Pp.263–269. In: Soule, M.E., Wilcox, B.A. (Eds.), **Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective**. Sinaure Associates. Sunderland, Massachusetts, USA.

Campos, Z. 2003. *Caiman crocodilus yacare*. Food-related movement. **Herpetological Review**, 34:141.

Campos Z., Coutinho M., Abercrombie C. 1994. Night-light, size structures, and sex ratios in wild populations of yacare (*Caiman crocodilus yacare*) in the Brazilian Pantanal. **Vida Silvestre Neotropical**, 4:46–50.

Campos, Z., Coutinho, M.E., Magnusson, W.E. 2003. Terrestrial activity of the caiman in the Pantanal, Brazil. **Copeia**, 2003:628–634.

Campos, Z., Coutinho, M.E., Mourão, G., Bayliss, P., Magnusson, W.E. 2006. Long distance movements by *Caiman crocodilus yacare*: implications for management of the species in the Brazilian Pantanal. **Herpetological Journal**, 16:123–132.

Campos, Z., Coutinho, M., Magnusson, W. 2006a. *Caiman crocodilus yacare* (Pantanal Caiman). Aestivation. **Herpetological Review**, 37:343–344.

Campos, Z., Sanaiotti, T., Muniz, F., Farias, I., Magnusson, W.E. 2012. Parental care in the dwarf caiman, *Paleosuchus palpebrosus* Cuvier, 1807 (Reptilia: Crocodilia: Alligatoridae). **Journal of Natural History**, 46:2979–2984.

Caro, T. 1999. The behaviour-conservation interface. **TREE**, 14:366–369.

Carter, C.B. 2010. **Effects of habitat type and structure on detection probabilities of American alligators (*Alligator mississippiensis*) during night-light counts**. Ms.C. Thesis, University of Florida, USA. 62p.

Carter, C.B., Bugbee, C.D. 2014. A detectability model for American alligators (*Alligator mississippiensis*) in freshwater marsh habitats. **Proceedings of the 23th Working Meeting of the C.S.G. IUCN**. The Conservation Union. Gland, Switzerland.

Carter, I., Newbery, P. 2004. Reintroduction as a tool for population recovery of farmland birds. **Ibis**, 146:221–29.

Caughley, G. 1977. **Analysis of vertebrate populations**. New York: Wiley. 234p.

Chabreck R.H. 1966. Methods of determining the size and composition of Alligator population in Luisiana. **Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners**, 20:105–112.

Cherkiss, M.S., Mazzotti, F.J., Rice, K.G. 2006. Effects of shoreline vegetation on visibility of American crocodiles (*Crocodylus acutus*) during spotlight surveys. **Herpetological Review**, 37:37–40.

Cherkiss, M.S., Romañach S.S., Mazzotti F.J. 2011. The American Crocodile in Biscayne Bay, Florida. **Estuaries and Coasts**, 34:529–535.

Cott, H. B. 1961. Scientific results of an inquiry into the ecology and economic status of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*) in Uganda and Northern Rhodesia. **Transactions of the Zoological Society of London**, 29:211–356.

Coutinho M.E. 2000. **Population ecology and the conservation and management of *Caiman yacare* in the Pantanal Brazil**. Ph.D. Thesis, University of Queensland, Australia.

Coutinho, M.E., Campos, Z. 2002. A utilização de populações naturais de jacaré (*Caiman crocodylus yacare*) como mecanismo de conservação do Pantanal. Pp. 47–59. In: Verdade, L. M., Larriera, A. (Eds.), **Conservação e manejo de jacarés e crocodilos da América Latina**. v.2. C.N. Editoria, Piracicaba.

Coutinho, M., Campos, Z., Cardoso, F., Martinelli, P., Castro, A. 2000. Reproductive biology and its implication for management of caiman *Caiman yacare* in the Pantanal wetland, Brazil. Pp.229–243. In: Gordon, G., Seebacher, F., Franklin, C.E. (Eds), **Crocodylian Biology and Evolution**. Chipping Norton, Australia: Surrey Beatty & Sons.

Cree, A., Cockrem, J.F., Guillette, L.J. 1992. Reproductive cycles of male and female tuatara (*Sphenodon punctatus*) on Stephens Island, New Zealand. **Journal of Zoology**, 226:199–217.

Da Silveira, R. 2001. **Monitoramento, crescimento e caça de jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) e de jacaré-tinga (*Caiman crocodilus crocodilus*)**. Ph.D. Thesis Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Brasil.

Da Silveira, R., Thorbjarnarson, J.B. 1999. Conservation implications of commercial hunting of black and spectacled caiman in the Mamirauá Sustainable Development Reserve, Brazil. **Biological Conservation**, 88:103–109.

Da Silveira, R., Magnusson, W.E., Campos, Z. 1997. Monitoring the distribution, abundance, and breeding areas of *Caiman crocodilus* and *Melanosuchus niger* in the Anavilhanas Archipelago, Central Amazonia, Brazil. **Journal of Herpetology**, 31:514–520.

Da Silveira, R., Amaral, J.V., Magnusson, W.E., Thorbjarnarson, J. 2011. *Melanosuchus niger* (Black Caiman). Long distance movement. **Herpetological Review**, 42:424–425.

De la Ossa, J., Fajardo-Patiño, A., De la Ossa-Lacayo, A., Sampedro-Marín, A. 2013. Métodos de campo. Pp.39–68. In: Morales-Betancourt, M.A., Lasso, C.A., De La Ossa, J., Fajardo-Patiño, A. (Eds.), **VIII. Biología y conservación de los Crocodylia de Colombia**. Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D. C., Colombia.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. 2008. **InfoStat, Version 2008**. Available from: <http://infostat.com.ar>

Dodd, C.K., Seigel, R.A. 1991. Relocation, repatriation, and translocation of amphibians and reptiles: are they conservation strategies that work? **Herpetologica**, 47:336–350.

Donovan, T.M., Freeman, M., Abouelezz, H., Royar, K., Howard, A., Mickey, R. 2011. Quantifying home range habitat requirements for bobcats (*Lynx rufus*) in Vermont, USA. **Biological Conservation**, 144:2799–2809.

Elsey, R., Kinler, N. 2004. Louisiana's alligator program: adapting management as populations recover and risk of unsustainable use decreases. P.p.92–101. **Proceedings of the 17th Working Meeting of the Crocodiles Specialist Group of the Species Survival Commission of IUCN**. Darwin: IUCN.

Elsey, R.M., Lance, V.A., Joanen, T., McNease, L. 1991. Acute stress suppresses plasma estradiol levels in female alligators (*Alligator mississippiensis*). **Comparative Biochemistry and Physiology A**, 100:649–651.

Escobedo-Galván, A.H. 2003. Períodos de actividad y efecto de las variables ambientales en cocodrilos (*Crocodylus acutus* cuvier 1807): evaluando los métodos de determinación de la fracción visible. **Ecología Aplicada**, 2:136–140.

FitzSimmons, N.N., Buchan, J.C., P.V., Lam, Polet, G., Hung, T.T., Thang, N.Q., Gratten, J. 2002. Identification of purebred *Crocodylus siamensis* for reintroduction in Vietnam. **Journal of Experimental Zoology**, 294:373–381.

Franklin, C.E., Read, M.A., Kraft, P.G., Liebsch, N., Irwin, S.R., Campbell, H.A. 2009. Remote monitoring of crocodilians: implantation, attachment and release methods for transmitters and data-loggers. **Marine and Freshwater Research**, 60:284–292.

Freilich, J.E., Camp, R.J., Duda, J.J., Karl, A.E. 2005. Problems with sampling desert tortoises: a simulation analysis based on field data. **Journal of Wildlife Management**, 69:45-56.

Fujisaki, I., Mazzotti, F.J., Dorazio, R.M., Rice, K.G., Cherkiss, M., Jeffery, B. 2011. Estimating trends in Alligator populations from nightlight survey data. **Wetlands**, 31:147–155.

Fujisaki, I., Hart, K.M., Mazzotti, F.J., Cherkiss, M.S., Sartain, A.R., Jeffery, B.R., Beauchamp, J.S., Denton, M. 2014. Home range and movements of American alligators (*Alligator mississippiensis*) in an estuary habitat. **Animal Biotelemetry**, 2:8.

Fuller, M.R., Millsaugh, J.J., Church, K.E., Kenward, R.E. 2006. Wildlife Radiotelemetry. Pp.377–417. In: Braun, C.E. (Ed.), **Techniques for wildlife investigations and management**. The Wildlife Society, Maryland.

Gardner, S., Baard, E.H.W., Roux, N.J. 1999. Estimating the detection probability of the geometric tortoise. **South Africa Journal of Wildlife Research**, 29:62–71.

Garnett, S. 1989. **Crocodiles and Alligators**. New York: Checkmark Books. 240p.

Garrick, L.D., Lang, J.W. 1977. Social signals and behaviors of adult Alligators and Crocodiles. **American Zoologist**, 17:225–239.

Gibbs, J. P. 2000. Monitoring populations. Pp.213–252. In: Boitani, L., Fuller, T.K. (Eds.), **Research techniques in animal ecology: controversies and consequences**. New York: Columbia University Press.

Gillespie, D. 1998. Distúrbios dos Animais de Estimação - Répteis. Pp.1552–1576. In: Bichard, S.J., Sherding, R.G. (Eds). **Clínica de pequenos animais**. São Paulo: Ed. Roca.

Gilman, C.A., Wolf, B.O. 2007. Use of portable ultrasonography as a nondestructive method for estimating reproductive effort in lizards. **Journal of Experimental Biology**, 210:1859–1867.

Gobierno de la Provincia de Santa Fe, Administracion de Parques Nacionales. 1997. **Sistema provincial de areas naturales protegidas**. Publicación de la asociación coop. De la E.Z.E. Santa fe. Argentina. 174p.

Goodwin, T., Marion, W.R. 1979. Seasonal activity and habitat preferences of adult alligators in a north-central Florida lake. **Journal of Herpetology**, 13:157–164.

Graham, A. 1988. Methods of surveying and monitoring crocodiles. Pp.74–101. **Proceedings of SADCC Workshop on Management and Utilisation of Crocodiles in the SADCC Region of Africa**. Kariba, Zimbabwe.

Graham, A., Bell, R. 1969. Factors influencing the countability of animals. **East African Agricultural and Forestry Journal**, 34:38–43.

Groombridge, B. 1987. The distribution and status of world crocodilians. Pp.9–21. In: Webb, G.J.W., Manolis, S.C., Whitehead, P.J. (Eds), **Wildlife management: crocodiles and alligators**. Sydney: Surrey Beatty and Sons.

Gu, W., Swihart, R.K. 2004. Absent or undetected? Effects of non-detection of species occurrence on wildlife-habitats models. **Biological Conservation**, 116:195–203.

Hayne, D.W. 1949. Calculation of size of home range. **Journal of Mammalogy**, 30:1–18.

Hilborn, R., Walters, C.J., Ludwig, D. 1995. Sustainable exploitation of renewable resources. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, 26:45–67.

Hildebrandt, T.B., Hermes, R., Jewgenow, K., Göritz F. 2000. Ultrasonography as an important toll for the development and application of reproductive technologies in non-domestic species. **Theriogenology**, 53:73–84.

Ho, S.M., Wangh, L.J., Callard, I.P. 1985. Sexual differences in the *in vitro* induction of vitellogenesis in the turtle (*Chrysemys picta*): Role of the pituitary and growth hormone. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, 81:467–472.

Hooge, P.N., Eichenlaub, B. 2000. **Animal movement extension to Arcview**. ver. 2.0. Anchorage: Alaska Science Center - Biological Science Office, U.S. Geological Survey. 105p.

Hounscome, T.D., Young, R.P., Davison, J., Yarnell, R.W., Trewby, I.D., Garnett, B.T., Delahay, R.J., Wilson, G.J. 2005. An evaluation of distance sampling to estimate badger (*Meles meles*) abundance. **Journal of Zoology**, 266:81-87.

Hutton, J.M. 1989. Movements, home range, dispersal and the separation of size classes in Nile crocodiles. **American Zoologist**, 29:1033–1049.

Hutton, J.M., Webb, G.J.W. 1992. An introduction to the farming of crocodilians. Pp.1–39. In: Luxmore, R. (Ed.), **Directory of crocodilian farming operations**. v.2. IUCN - The World Conservation Union, Gland, Switzerland.

Hutton, J.M., Webb, G.J.W. 2003. Crocodiles: legal trade snaps back. Pp.108–120. In: Oldfield, S. (Ed), **The trade in wildlife: regulation for conservation**. Earthscan Publications Ltda., London.

IUCN - International Union for Conservation of Nature. 1998. **Guidelines for Reintroductions**. Prepared by the IUCN/ SSC Reintroduction Specialist Group. IUCN, Cambridge, UK: IUCN.

IUCN 2014. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2014.2. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>.

Lungman, J.L., Piña, C.I. 2013. Hypoxia and temperature: Does hypoxia affect caiman embryo differentiation rate or rate of growth only? **Journal of Thermal Biology**, 38:407–418.

Jayson, E.A., Sivaperuman, C., Padmanabhan, P. 2006. Review of the reintroduction programme of the mugger crocodile *Crocodylus palustris* in Neyyar reservoir, India. **Herpetological Journal**, 16:69–76.

Joanen, T., McNease, L. 1979. Time of egg deposition for the American alligator. **Proceedings of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies**, 33:15–19.

Joanen, T., McNease, L. 1980. Reproductive biology of the American alligator in southwest Louisiana. In: Murphy, J.B. y Collins, J.T. (Eds.), **Reproductive biology and diseases of captive reptiles**. Society for the Study of Amphibians and Reptiles.

Joanen, T., McNease, L. 1987. Alligator farming research in Louisiana, USA. Pp.329–340. In: Webb, G.J.W., Manolis, S.C., Whitehead, P.J. (Eds.), **Wildlife management: crocodiles and alligators**. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, Australia.

Joanen, T., McNease, L. 1989. Ecology and physiology of nesting and early development of the American Alligator. **American Zoologist**, 29:987–998.

Jule, K.R., Leaver, L.A., Lea, S.E.G. 2008. The effects of captive experience on reintroduction survival in carnivores: a review and analysis. **Biological Conservation**, 141:355–63.

Kay, W.R. 2004. Movements and home ranges of radio-tracked *Crocodylus porosus* in the Cambridge Gulf region of Western Australia. **Wildlife Research**, 31:495–508.

Kenward, R.E. 2001. **A manual for wildlife radio tagging**. 2 ed. Academic press: London, 311p.

Kéry, M. 2002. Inferring the absence of a species – a case study of snakes. **Journal of Wildlife Management**, 66:330–338.

Kéry, M., Schmidt, B.R. 2008. Imperfect detection and its consequences for monitoring for conservation. **Community Ecology**, 9:207–216.

Kéry, M., Dorazio, R.M., Soldaat, L., Van Strien, A., Zuiderwijk, A., Royle, J.A. 2009. Trend estimation in populations with imperfect detection. **Journal of Applied Ecology**, 46:1163–1172.

King, F.W., Espinal, M., Cerrato, C.A. 1990. Distribution and status of the crocodylians of Honduras. Pp.313–354. **Proceedings of the 10th Working Meeting of the C.S.G. IUCN**. The Conservation Union. Gland, Switzerland.

Kleiman, D.G., Price, M.R.S., Beck, B.B. 1994. Criteria for reintroductions. Pp.287–303. In: Olney, P.J.S., Mace, G.M., Feistner, A.T.T. (Eds.), **Creative conservation: interactive management of wild and captive animals**. Springer Science+Business Media, B.B.

Kofron, C.P. 1990. The reproductive cycle of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). **Journal of Zoology**, 221:477–488.

Kushlan, J.A., Jacobsen, T. 1990. Environmental variability and the reproductive success of Everglades Alligators. **Journal of Herpetology**, 24:176–184.

Lance, V.A. 1989. Reproductive cycle of the American alligator. **American Zoologist**, 29:999–1018.

Lance, V.A. 2003. Alligator physiology and life history: the importance of temperature. **Experimental Gerontology**, 38: 801–805.

Lance, V.A., Rostal, D.C. 2002. The annual reproductive cycle of the male and female desert tortoise: physiology and endocrinology. **Chelonian Conservation and Biology**, 4:302–312.

Lance, V.A., Rostal, D.C., Elsey, R.M., Trosclair III, P.L. 2009. Ultrasonography of reproductive structures and hormonal correlates of follicular development in female American alligators, *Alligator mississippiensis*, in southwest Louisiana. **General and Comparative Endocrinology**, 162: 251–256.

Lance, V.A., Elsey, R.M., Trosclair III, P.L., Leisa, A. 2011. Long-distance movement by American alligators in southwest Louisiana. **Southeastern Naturalist**, 10:389–398.

Lance, V.A., Elsey, R.M., Trosclair III, P.L., 2015. Sexual maturity in male American Alligators in Southwest Louisiana. **South American Journal of Herpetology**, 10:58–63.

Lancia, R.A., Kendall, W.L., Pollock, K.H., Nichols, J.D. 2005. Estimating the number of animals in wildlife populations. Pp.106–146. In: Braun, C.E. (Ed.), **Techniques for wildlife investigations and management**. The Wildlife Society, Bethesda, Maryland, USA.

Lang, J. W. 1987. Crocodylian behaviour: implications for management. Pp. 273–294. In: Webb, G.J.W., Manolis, S.C., Whitehead, P.J. (Eds.), **Wildlife management: crocodiles and alligators**. Surrey Beatty and Sons Pty Ltda., Australia.

Lang, J.W., Andrews, H. 1994. Temperature-dependent sex determination in crocodylians. **Journal of Experimental Zoology**, 270:28–44.

Larriera, A. 1990. A program of monitoring and recovering of wild populations of caimans in Argentina with aim of management. Pp.1–5. **Proceedings of the 10th Working Meeting of the C.S.G. IUCN**. The Conservation Union. Gland, Switzerland.

Larriera, A. 1991. Clutch size and hatching success in Broad-Snouted Caiman, *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae), in Santa Fe province, Argentina. **Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral**, 22:19–23.

Larriera A. 1993. *Caiman latirostris* Project in Santa Fe, Argentina. **Crocodile Specialist Group Newsletter**, 12:20.

Larriera A. 1994. Tamaño de postura y éxito reproductivo de Yacarés (*Caiman latirostris*) en Santa Fe, Argentina. **Vida Silvestre Neotropical**, 3:118–119.

Larriera, A. 1995. Áreas de nidificación y momento óptimo de cosecha de huevos de *Caiman latirostris* en Santa Fe, Argentina. Pp.221–232. In: Larriera, A., Verdade, L.M. (Eds.), **La conservación y el manejo de caimanes y cocodrilos de América Latina**. v.1. Fundación Banco Bica, Santo Tomé, Santa Fe, Argentina.

Larriera, A. 2002. *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman). Communal nesting. **Herpetological Review**, 33:202.

Larriera, A. 2011. Ranching the broad-snouted cayman (*Caiman latirostris*) in Argentina: An economic incentive for wetland conservation by local inhabitants. Pp.86-92. In: Abensperg-Traun, M., Roe, D., O’Criodain, C. (Eds.), **Proceedings of an international symposium on “The relevance of CBNRM to the conservation and sustainable use of CITES-listed species in exporting countries”**. Vienna, Austria. IUCN and London, UK: IIED.

Larriera, A., Del Barco, D. 1992. Observaciones sobre el crecimiento de *Caiman latirostris* (Daudin 1802), nacidos en cautiverio (Reptilia Alligatoridae). **Acta Zoologica Lilloana**, 41:329–339.

Larriera, A., Imhof, A. 2000. Proyecto yacaré, Santa Fe, Argentina: a sustainable use proposal. Pp.311–313. **Proceedings of the 15th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group, IUCN – The World Conservation Union**, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Larriera, A., Piña, C.I. 2000. *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman) nest predation: does low rainfall facilitate predator access? **Herpetological Natural History**, 7:73–77.

Larriera, A., Imhof, A. 2006. Proyecto yacaré: cosecha de huevos para cría en granjas del género *Caiman* en la Argentina. Pp.1–14. In: Bolkovic, M.L., Ramadori, D. (Eds.), **Manejo de fauna silvestre en la Argentina. Programas de uso sustentable**. Dirección de fauna silvestre, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Buenos Aires.

Larriera A., Siroski P., Piña C.I., Imhof A. 2006. Sexual maturity of farm-released *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) in the wild. **Herpetological Review**, 37:26–28.

Larriera, A., Imhof, A., Siroski, P. 2008. Estado actual de los programas de conservación y manejo del Género *Caiman* en Argentina. Pp.141–180. In: Castroviejo, J., Ayarzagüena, J., Velasco, A. (Eds.), **Contribución al conocimiento del género *Caiman* de Sudamérica**. Publ. Asoc. Amigos de Doñana.

Larriera, A., Imhof, A., Siroski, P., Piña, C.I. 2008. Eggs harvest records versus night counts in *Caiman latirostris*: What do they really mean? Pp.330–332. **Proceedings of 19th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group, Species Survival Commission.** IUCN, Gland, Switzerland.

Lewis, J.D., Cain III, J.W., Denkhous, R. 2014. Home range and habitat selection of an inland alligator (*Alligator mississippiensis*) population at the Northwestern edge of the distribution range. **Southeastern Naturalist**, 13:261–279.

Litzgus, J.D., Bolton, F., Schulte-Hostedde, A.I. 2008. Reproductive output depends on body condition in spotted turtles (*Clemmys guttata*). **Copeia**, 2008:86–92.

López González, E.C., Latorre, M.A., Larriera, A., Siroski, P.A., Poletta, G.L. 2013. Induction of micronuclei in broad snouted caiman (*Caiman latirostris*) hatchlings exposed in vivo to Roundup® (glyphosate) concentrations used in agriculture. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 105:131–134.

MacKenzie, D.I., Nichols, J.D., Royle, J.A., Pollock, K.H., Bailey, L.L., Hines, J.E. 2006. **Occupancy estimation and modeling.** Academic Press, San Diego, California, USA.

Magnusson, W.E. 1982. Techniques of surveying crocodilians. Pp.389–403. **Proceedings of the 5th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group.** IUCN - The World Conservation Union Morges, Switzerland.

Magnusson, W.E. 1994. Conservação de jacarés no Brasil. Pp.65–70. In: Larriera, A., Imhof, A., Von Finck, M.C., Costa, A.L., Tourn, S.C. (Eds.), **Memorias del IV Workshop sobre conservación y manejo del yacaré overo (*Caiman latirostris*).** La Región – Fundación Banco Bica, Santo Tomé, Santa Fe.

Magnusson, W. E. 1995. A conservação de crocodilianos na América Latina. Pp.5–17. In: Larriera, A., Verdade, L.M. (Eds.), **La conservación y el manejo de caimanes y cocodrilos de América Latina.** Fundación Banco Bica, Santo Tomé, Santa Fe, Argentina.

Magnusson, W.E., Lima, A.P. 1991. The ecology of a cryptic predator, *Paleosuchus trigonatus*, in a tropical rainforest. **Journal of Herpetology**, 25:41–48.

Magnusson, W.E., Da Silva, E.V., Lima, A.P. 1987. Diets of Amazonian crocodilians. **Journal of Herpetology**, 21:85–95.

Manolis, S.C., Stevenson, C. 2010. **Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan**. 3^a ed. Crocodile Specialist Group, SSC/IUCN – The World Conservation Union, Gland, Switzerland & Cambridge.

Marques, T.S. 2013. **Estrutura populacional, uso do espaço e ecologia trófica de jacarés-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) em paisagem silvicultural**. Ph.D. Thesis, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), Brasil. 115p.

Martin, S. 2008. Global diversity of crocodiles (Crocodilia, Reptilia) in freshwater. **Freshwater Animal Diversity Assessment**, 198:587–591.

Martínez-Torres, M., Guzman-Rodriguez, R., Cardenas-Leon, M., Brunner-Reynaldo, N. 2006. Follicular development and ovulation determined by ultrasound imaging in the viviparous lizard *Barisla imbricate* (Reptilia: Anguillidae). **Southwestern Naturalist**, 51:401–406.

McNease, L., Joanen, T. 1974. A study of immature alligators on Rockefeller Refuge, Louisiana. **Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners**, 28:482–500.

Melo, M.T.Q. 2002. Dieta do *Caiman latirostris* no sul do Brasil. Pp.119–125. In: Verdade, L.M., Larriera, A. (Eds.), **La conservación y manejo de los Crocodylia de America Latina**. v.2, CN Ed.: Piracicaba, SP, Brasil.

Messel, H., Vorlicek, G.C., Wells, A.G., Green, W.J. 1981. **Surveys of tidal river systems in the Northern Territory of Australia and their crocodile populations**. Monograph 1. Pergammon Press: Sydney.

- Mohr, C.O. 1947. Table of equivalent populations of North American small mammals. **American Midland Naturalist**, 37:223–249.
- Montini J.P., Piña C.I., Larriera A., Siroski P., Verdade L.M. 2006. The relationship between nesting habitat and hatching success in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). **Phyllomedusa**, 5:91–96.
- Moseby, K.E., Read, J.L., Paton, D.C., Copley, P., Hill, B.M., Crisp, H.A. 2011. Predation determines the outcome of 10 reintroduction attempts in arid South Australia. **Conservation Biology**, 144:2863–2872.
- Moulton, T.P., Magnusson, W.E., Melo, M.T.Q. 1999. Growth of *Caiman latirostris* inhabiting a coastal environment in Brazil. **Journal of Herpetology**, 33:479–484.
- Mourão, G., Coutinho, M., Mauro, R., Campos, Z., Tomás, W., Magnusson, W. 2000. Aerial surveys of caiman, marsh deer and pampas deer in the Pantanal wetland of Brazil. **Biological Conservation**, 92:175–183.
- Muñoz, M.C., Thorbjarnarson, J. 2000. Movement of captive-released Orinoco crocodiles (*Crocodylus intermedius*) in the Capanaparo River, Venezuela. **Journal of Herpetology**, 34:397–403.
- Nifong, J.C. 2014. **Use of marine habitat and food resources by coastal inhabiting *Alligator mississippiensis* (American alligator): implications for food web and community dynamics.** PhD. Thesis, University of Florida, USA. 201p.
- Nifong, J.C., Layman, C.A., Silliman, B.R. 2014. Size, sex, and individual-level behavior drive intra-population variation in cross-ecosystem foraging of a top-predator. **Journal of Animal Ecology**, 84:35–48.
- Nifong, J.C., Nifong, R.L., Silliman, B.R., Lowers, R.H., Guillette Jr, L.J., Ferguson, J.M., Welsh, M., Abernathy, K., Marshall, G. 2014a. Animal-borne imaging reveals novel insights into the foraging behaviors and diel activity of a large-bodied apex predator, the American alligator (*Alligator mississippiensis*). **PLoS ONE**, 9:e83953.

O'Brien, T. 1990. A comparison of 3 survey methods for estimating relative abundance of rare crocodylians. Pp.91–108. **Proceedings of the 10th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group, Species Survival Commission**. IUCN, Gland, Switzerland.

Oliveira, D.P., Marioni, B., Farias, I.P., Hrbek, T. 2014. Genetic evidence for polygamy as a mating strategy in *Caiman crocodilus*. **Journal of Heredity**, 105:485–492.

Olson, G.A., Hessler, J.R., Faith, R.E. 1975. Techniques for blood collection and intravascular infusion of reptiles. **Laboratory Animal Science**, 25:783–786.

Ouboter, P.E., Nanhoe, L.M.R. 1988. Habitat selection and migration of *Caiman crocodilus crocodilus* in a swamp and swamp-forest habitat in Northern Suriname. **Journal of Herpetology**, 2:283–294.

Palacios, I.D., Beltrán, A. 2005. Identificación de estructuras reproductivas en hembras de *Caiman crocodilus fuscus* mediante el uso de ultrasonido. Pp.272–277. **Proceedings de la Reunión Regional de América Latina y el Caribe del Grupo de Especialistas en Cocodrilos (CSG/SSC/IUCN)**. Santa Fe, Argentina.

Palmer, M.L., Mazzotti, F.J. 2004. Structure of Everglades Alligator holes. **Wetlands**, 24:115–122.

Parachú-Marcó, M.V., Piña, C.I., Larriera, A. 2012. Presence of red fire ants (*Solenopsis invicta* Buren) in broad-snouted Caiman (*Caiman latirostris*) nests. **Journal of Herpetology**, 46:228–232.

Parker, I.S.C., Watson, R.M. 1970. Crocodile distribution and status in the major waters of western and central Uganda in 1969. **East African Wildlife Journal**, 8:85–103.

Peña, M.R. 1997. **Catálogo de nombres vulgares de la flora Argentina**. Centro de Publicaciones, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.

Piña, C.I., Larriera, A. 2003. *Caiman latirostris* (Broad-snouted Caiman). Feeding. **Herpetological Review**, 34:56.

Piña, C., Imhof, A., Frutos, N., Medina, M., Larriera, A. 2002. Tamaño de postura y medidas de huevos de *Caiman latirostris* en las Provincias de Santa Fe y Entre Ríos. Pp.127–134. In: Verdade, L.M., Larriera, A. (Eds.), **Conservação e manejo de jacarés e crocodilos da América Latina**. v.2. C.N. Editora, Piracicaba.

Piña, C.I., Larriera, A., Cabrera, M. 2003. Effect of incubation temperature on incubation period, sex ratio, hatching success, and survivorship in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). **Journal of Herpetology**, 37:199–202.

Piña, C.I., Larriera, A., Siroski, P. 2004. Cocodrilos en la región Litoral: especies, distribución geográfica, y modo de vida. **INSUGEO Miscelanea**, 12:317–322.

Piña, C.I., Simoncini, M.S., Larriera, A. 2005. Effects of two different incubation media on hatching success, body mass, and length in *Caiman latirostris*. **Aquaculture**, 246:161–165.

Piña, C.I., Siroski, P., Larriera, A., Lance, V., Verdade, L.M. 2007. The temperature sensitive period (TSP) during incubation of Broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) eggs. **Amphibia-Reptilia**, 28:123–128.

Piña, C.I., Siroski, P., Príncipe, G., Simoncini, M. 2010. Population Status of *Caiman yacare* and *Caiman latirostris* in North Argentina. **Crocodylia**, 1:1–5.

Pinto, G.R.M., Ferraz, K.M.P.M.B., Couto, H.T.Z., Verdade, L.M. 2006. Detectability of capybaras in forested habitats. **BiotaNeotropica**, 6:bn01906012006.

Platt, S.G., Thorbjarnarson, J.B., Rainwater, T.R., Martin, D.R. 2013. Diet of the American Crocodile (*Crocodylus acutus*) in Marine Environments of Coastal Belize. **Journal of Herpetology**, 47:1–10.

Poletta, G.L., Kleinsorge, E., Paonessa, A., Mudry, M.D., Larriera, A., Siroski, P.A. 2011. Genetic, enzymatic and developmental alterations observed in *Caiman latirostris* exposed in ovo to pesticide formulations and mixtures in an experiment simulating environmental exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 74:852–859.

Pyle, G. H. 1984. Animal Movements: An Optimal Foraging Approach. Pp.6–31. In: Swingland, I.R., Greenwood, P.J. (Eds.), **The ecology of animal movement**. Clarendon Press. Oxford.

Read, M., Grigg, G.C., Irwin, S.R., Shanahan, D., Franklin, C.E. 2007. Satellite tracking reveals long distance coastal travel and homing by translocated estuarine crocodiles, *Crocodylus porosus*. **PLoS ONE**, 2:e949.

Refsnider, J.M., Mitchell, T.S., Streby, H.M., Strickland, J.T., Warner, D.A., Janzen, F.J. 2011. A generalized method to determine detectability of rare and cryptic species using the ornate box turtle as a model. **Wildlife Society Bulletin**, 35:93–100.

Rice, K.G., Mazzotti F.J., Brandt L.A. 2005. Status of American alligator in southern Florida and its role in measuring restoration success in the Everglades. Pp.145–153. In: Meshaka, W.E. Jr, Babbitt, K.J. (Eds.), **Amphibians and reptiles: status and conservation in Florida**. Krieger Publishing Company, Malabar.

Robeck, T.R., Rostal, D.C., Burchfield, P.M., Owens, D.W., Kraemer, D.C. 1990. Ultrasound Imaging of Reproductive Organs and Eggs in Galapagos Tortoises, *Geochelone elephantopus* spp. **Zoo Biology**, 9:349–359.

Rodda, G. 1984. Homeward paths of displaced juvenile alligators as determined by radiotelemetry. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 14:241–246.

Rootes, W.L., Chabreck, H. 1993. Reproductive status and movement of female alligators. **Journal of Herpetology**, 27:121–126.

Rosenblatt, A.E., Heithaus, M.R. 2011. Does variation in movement tactics and trophic interactions among *American alligators* create habitat linkages? **Journal of Animal Ecology**, 80:786–798.

Rosenblatt, A. E., Heithaus, M.R., Mazzotti, F.J., Cherkiss, M., Jeffery, B.M. 2013. Intrapopulation variation in activity ranges, diel patterns, movement rates, and habitat use of American alligators in a subtropical estuary. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 135:182–190.

Rosenstock, S.S., Anderson, D.R., Giesen, K.M., Leukering, T., Carter, M.F. 2002. Landbird counting techniques: current practices and an alternative. **Auk**, 119:46–53.

Ross, J.P. 1997. Biological basis and application of sustainable use for the conservation of crocodylians. Pp.182–187. **Memorias de la 4ta Reunión Regional del Grupo de Especialistas en Cocodrilos de América Latina y el Caribe**. Villahermosa, Tabasco, México.

Ross, J.P. 1998. **Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan**. 2nd ed. Crocodile Specialist Group, SSC/IUCN – The World Conservation Union, Gland, Switzerland & Cambridge.

Rostal, D.C., Robeck, T.R., Owens, D.W., Kraemer, D.C. 1990. Ultrasound imaging of ovaries and eggs in Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 21:27–35.

Rostal, D.C., Paladino, F.V., Patterson, R.M., Spotila, J.R. 1996. Reproductive physiology of nesting leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) at Las Baulas de Guanacaste National Park, Costa Rica. **Chelonian Conservation and Biology**, 2:230–236.

Rostal, D.C., Owens, D.W., Grumbles, J.S., MacKenzie, D.S., Amoss Jr., M.S. 1998. Seasonal Reproductive Cycle of the Kemp's Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempi*). **General and Comparative Endocrinology**, 109:232–243.

Rostal, D.C., Grumbles, J.S., Palmer, K.S., Lance, V.A., Spotila, J.R., Paladino, F.V. 2001. Changes in gonadal and adrenal steroid levels in the leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) during the nesting cycle. **General and Comparative Endocrinology**, 122:139–147.

Royle, J.A., Dorazio, R.M. 2008. **Hierarchical modeling and inference in ecology: the analysis of data from population, metapopulation and communities**. Academic Press, San Diego, California, USA.

Royle, J.A., Kéry, M., Gautier, R., Schmid, H. 2007. Hierarchical spatial models of abundance and occurrence from imperfect survey data. **Ecological Monographs**, 77:465–481.

Rueda-Almonacid, J.V., Carr, J.L., Mittermeier, R.A., Rodríguez-Mahecha, J.V., Mast, R.B., Vogt, R.C., Rhodin, A.G.J., Ossa-Velásquez, J. de la, Rueda, J.N., Mittermeier, C.G. 2007. **Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos del trópico**. Bogotá: Editorial Panamericana, Formas e Impresos. 538p.

Sacchi, R., Pellitteri-Rosa, D., Capelli, A., Ghitti, M., Di Paoli, A., Bellati, A., Scali, S., Galeotti, P., Fasola, M. 2012. Studying the reproductive biology of the common wall lizard using ultrasonography. **Journal of Zoology**, 287:301–310.

Schramm, B.G., Casares, M., Lance, V.A. 1999. Steroid levels and reproductive cycle of the Galápagos tortoises, *Geochelone nigra*, living under seminatural conditions on Santa Cruz Island, Galápagos. **General and Comparative Endocrinology**, 114:108–120.

Seddon, P.J. 1999. Persistence without intervention: assessing success in wildlife reintroductions. **Trends in Ecology and Evolution**, 14:503.

Seddon, P.J., Soorae, P.S., Launay, F. 2005. Taxonomic bias in reintroduction projects. **Animal Conservation**, 8:51–58.

Seddon, P.J., Armstrong, D.P., Maloney, R.F. 2007. Developing the science of reintroduction biology. **Conservation Biology**, 21:303–12.

Shier, D.M., Owings, D.H. 2006. Effects of predator training on behavior and post-release survival of captive prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). **Biological Conservation**, 132:126–135.

Shine, R. 1988. Parental care in reptiles. Pp.275–330. In: Gans, C., Huey, R.B. (Eds.), **Biology of the Reptilia**. New York, Liss.

Shirley, M.H., Dorazio, R.M., Abassery, E., Elhady, A.A., Mekki, M.S., Asran, H.H. 2012. A sampling design and model for estimating abundance of Nile crocodiles while accounting for heterogeneity of detectability of multiple observers. **The journal of wildlife management**, 76:966-975.

Simoncini, M.S. 2011. **Influencia de las variables climáticas sobre la nidificación, éxito de eclosión y proporción de sexos de neonatos de *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae)**. Ph.D. Thesis, Universidad Nacional del Comahue, Argentina. 103p.

Simoncini M.S., Piña C.I., Siroski P. 2009. Clutch size of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) varies on a latitudinal gradient. **North-Western Journal of Zoology**, 1:191–196.

Simoncini, M.S., Piña, C.I., Cruz, F.B., Larriera, A. 2011. Climatic effects on the reproductive biology of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae). **Amphibia Reptilia**, 32:305–314.

Simoncini, M.S., Parachú-Marcó, V.M., Portelinha, T.C.G., Piña, CI. 2014. Evaluation factors associated with nest predation of broad-snouted caiman. Pp.79. **Proceedings of the 23rd Working Meeting of the Crocodile Specialist Group (CSG/IUCN)**. Louisiana, EUA.

Siroski, P.A., Poletta, G.L., Fernandez, L., Ortega, H.H., Merchant, M.E. 2012. Ultraviolet radiation on innate immunity and growth of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*): implications for facilities design. **Zoo Biology**, 31:523–533.

Siroski, P.A., Merchant, M.E., Poletta, G.L., Larriera, A., Ortega, H.H. 2013. Detection and characterization of phospholipase A2 (PLA2) in *Caiman latirostris* and *Caiman yacare* plasma. **Zoological Science**, 30:35–41.

Smolensky, N.L., Fitzgerald, L.A. 2010. Distance sampling underestimates population densities of Dune-Dwelling lizards. **Journal of Herpetology**, 44:372-381.

Sokal, R.R., Rohlf, F.J. 1995. **Biometry**. New York: W.H. Freeman. 887p.

Stauffer, H.B., Ralph, C.J., Miller, S.L., 2002. Incorporating detection uncertainty into presence–absence surveys for marbled murrelet. Pp.357–365. In: Scott, J.M., Heglund, P.J., Morrison, M.L., Haufler, J.B., Raphael, M.G., Wall, W.A., Samson, F.B. (Eds.), **Predicting species occurrences: issues of accuracy and scale**. Island Press, Washington, DC.

Stoinski, T.S., Beck, B.B., Bloomsmith, M.A., Maple, T.L., 2003. A behavioral comparison of captive-born, reintroduced golden lion tamarins and their wild-born offspring. **Behaviour**, 140:137–160.

Subalusky, A.L., Fitzgerald, L.A., Smith, L.L. 2009. Ontogenetic niche shifts in the American Alligator establish functional connectivity between aquatic systems. **Biological Conservation**, 142:1507–1514.

Subalusky, A.L., Smith, L.L., Fitzgerald, L.A. 2009a. Detection of American alligators in isolated, seasonal wetlands. **Applied Herpetology**, 6:199–210.

Taylor, D. 1984. Management implications of an adult female telemetry study. **Proceedings of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies**, 38:222–227.

Taylor, D., Joanen, T., McNease, L. 1976. A comparison of native and introduced immature alligators in northeast Louisiana. **Proceedings of the Annual Conference of Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies**, 30:362–370.

Taylor, D., Kinler, N., Linscombe, G. 1991. Female alligator reproduction and associated population estimates. **The Journal of Wildlife Management**, 55:682–688.

- Thompson, S.K., Seber, G.A.F. 1994. Detectability in conventional and adaptive sampling. **Biometrics**, 50:712–724.
- Thorbjarnarson, J.B. 1988. The status and ecology of the American crocodile in Haiti. **Bulletin of the Florida State Museum. Biological Sciences**, 33:1–86.
- Thorbjarnarson, J.B. 1992. **Crocodiles: an action plan for their conservation**. IUCN, Gland.
- Thorbjarnarson, J.B. 1993. Diet of the spectacled caiman (*Caiman crocodilus*) in the central Venezuelan Llanos. **Herpetologica**, 49:108–117.
- Thorbjarnarson, J.B. 1996. Reproductive characteristics of the Order Crocodylia. **Herpetologica**, 52:8–24.
- Thorbjarnarson, J.B. 1999. Crocodile tears and skins: international trade, economic constraints, and limits to the sustainable use of crocodylians. **Conservation Biology**, 13:465–470.
- Tucker, A.D., Limpus, C.J. 1997. Assessment of reproductive status in Australian freshwater crocodiles (*Crocodylus johnstoni*) by ultrasound imaging. **Copeia**, 4:851–857.
- Tucker, A.D., Limpus, C.J., McCallum, H.I., McDonald, K.R. 1997. Movements and home ranges of *Crocodylus johnstoni* in the Lynd River, Queensland. **Wildlife Research**, 24:379–396.
- Uribe, M. del C.A., Portales, G.L.B., Guillette, L.J. Jr. 1996. Ovarian folliculogenesis in the oviparous Mexican Lizard *Ctenosaura pectinata*. **Journal of Morphology**, 230:99–112.
- Vac, M.H., Verdade, L.M., Meirelles, C.F., Larsen, R.E., Michelotti, F., Rangel, M.C., Salem, C.Z., Lavorenti, A. 1992. Ultrasound evaluation of the follicle development in adult female broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*). Pp.176–183. **Proceedings of the 11th working meeting of the C.S.G.** IUCN, Switzerland.

Valdez, M.V.G., Chamut, S., Jaen, G.V., Arce, O.E.A., Manes, M.E. 2011. Dynamics of ovarian follicles in *Tupinambis merianae* lizards. **Acta Herpetologica**, 6:303–313.

Valenzuela, N., Lance, V. 2004. **Temperature-dependent sex determination in vertebrates**. Smithsonian Books. Washington (DC).

Van Heezik, Y., Ostrowski, S., 2001. Conservation breeding for reintroductions: assessing survival in a captive flock of houbara bustards. **Animal Conservation**, 4:195–201.

Verdade, L.M. 1995. Biología reproductiva do jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) em São Paulo, Brasil. Pp.57–79. In: Larriera A., Verdade, L.M. (Eds.), **Conservación y manejo de los caimanes y cocodrilos de América Latina**. v.1. Fundación Banco Bica, Santo Tomé.

Verdade, L.M. 1997. Manejo e Conservação do Jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) no Estado de São Paulo. Pp.222–232. In: Valladares–Padua, L., Dodmer, R.E., Cullen Jr., L. (Eds.), **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil**. CNPq, Brasília.

Verdade, L.M. 1998. *Caiman latirostris*. Pp.18–20. **Crocodiles: status survey and conservation action plan IUCN** – The World Conservation Union, Gland, Switzerland.

Verdade, L.M. 2001. O Programa Experimental de Criação em Cativeiro do Jacaré-de-Papo-Amarelo (*Caiman latirostris*) da ESALQ/USP: Histórico e Perspectivas. Pp.559–564. In: Mattos, W.R.S. (Ed.), **A Produção Animal na Visão dos Brasileiros**. Sociedade Brasileira de Zootecnia, Piracicaba, SP, Brasil.

Verdade, L.M. 2004. A exploração da fauna silvestre no Brasil: jacarés, sistemas e recursos humanos. **BiotaNeotropica**, 4:1–12.

Verdade, L.M., Lavorenti, A. 1990. Preliminary notes on the status and conservation of *Caiman latirostris* in the State of São Paulo, Brazil: directions of the captive breeding, reintroduction and management program. Pp.231–237. **Proceedings of the 10th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group**. IUCN, Switzerland.

Verdade, L.M., Sarkis-Gonçalves, F. 1998. Age at first reproduction in captive *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman). **Herpetological Review**, 29:227–228.

Verdade L.M., Piña C.I. 2006. *Caiman latirostris*. **Catalog of the American Society of Amphibians and Reptiles**, 833:1–21.

Verdade, L.M., Piña, C.I. 2007. O jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris* Daudin, 1802). Pp.295–307. In: Nascimento, L.B., Oliveira, M.E. (Eds.), **Herpetologia no Brasil II**. Sociedade Brasileira de Herpetologia.

Verdade, L.M., Sarkis-Gonçalves, F., Miranda-Vilela, M.P., Bassetti, L.A.B. 2003. New record of age at sexual maturity in captivity for *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman). **Herpetological Review**, 34:225–226.

Verdade, L.M., Larriera, A., Piña, C.I. 2010. Broad-snouted Caiman *Caiman latirostris*. Pp.18–22. In: Manolis, S.C., Stevenson, C. (Eds.), **Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan**. v.3. Crocodile Specialist Group: Darwin.

Verdade, L.M., Penteadó, M., Gheler-Costa, C., Dotta, G., Rosalino, L.M., Pivello, V.R., Piña, C.I., Lyra-Jorge, M.C. 2014. The conservation value of agricultural landscapes. Pp.91–102. In: Verdade, L.M., Lyra-Jorge, M.C., Piña, C.I. (Eds.), **Applied Ecology and Human Dimensions in Biological Conservation**. Springer Heidelberg New York Dordrecht London. 228p.

Vickery, S.S., Mason, G.J. 2003. Behavioral persistence in captive bears: implications for reintroduction. **Ursus**, 14:35–43.

Vitt, L.J., Caldwell, J.P. 2013. **Herpetology**. 4th ed. Academic press. 776p.

Waller, T., Micucci, P.A. 1992. **Relevamiento de la distribución, hábitat y abundancia de los Cocodrilos de la República Argentina**. Fase I (1990/91): Provincia de Corrientes. 61p.

- Wang, E., Donatti, C.I., Ferreira, V.L., Raizer, J., Himmelstein, J. 2011. Food Habits and Notes on the Biology of *Chelonoidis carbonaria* (Spix 1824) (Testudinidae, Chelonia) in the Southern Pantanal, Brazil. **South American Journal of Herpetology**, 6:11–19.
- Wang, Z., Yao, H., Ding, Y., Thorbjarnarson, J.B., Wang, X. 2011a. Testing reintroduction as a conservation strategy for the critically endangered Chinese alligator: Movements and home range of released captive individuals. **Chinese Science Bulletin**, 56:2586–2593.
- Webb, G.J.W., Messel, H. 1978. Movement and dispersal patterns of *Crocodylus porosus* in some rivers of Arnhem land, northern Australia. **Wildlife Research**, 5:263–283.
- Webb, G.J.W., Manolis, S.C., Buckworth, R. 1983. *Crocodylus johnstoni* in the McKinlay river area N. T., II. Dry season habitat selection and an estimate of the total population size. **Australian Wildlife Research**, 10:373–382.
- Webb, G.J.W., Manolis, S.C., Whitehead, P.J. 1987. **Wildlife management: crocodiles and alligators**. Surrey Beatty and Sons Pty Limited, Australia. 552p.
- Webb, K.K., Conway, W.C., Calkins, G.E., Duguay, J.P. 2009. Habitat Use of American Alligators in East Texas. **Journal of Wildlife Management**, 73:566–572.
- White, G.C., Garrot, R.A. 1990. **Analysis of wildlife radio-tracking data**. San Diego: Academic Press. 383p.
- Wibbels, T., Owens, D.W., Licht, P., Limpus, C.J., Reed, P.C., Amoss, M.S. 1992. Serum gonadotropins and gonadal steroids associated with ovulation and egg production in sea turtles. **General Comparative Endocrinology**, 87:71–78.
- Wilkinson, P.M. 1983. **Nesting ecology of the American alligator in coastal South Carolina**. South Carolina Wildlife and Marine Resources Department, Study Completion Report.
- Wood, J.M., Woodward, A.R., Humphrey, S.R., Hines, T.C. 1985. Night counts as an index of American alligator population trends. **Wildlife Society Bulletin**, 13:262–302.

Woodward, A.R., Marion, W.R. 1978. An evaluation of factors affecting night-light counts of alligators. **Proceedings of the Annual Conference of the Southeast Association of Fish and Wildlife Agencies**, 32:291–302.

Woodward, A.R., Rice, K.G., Linda, S.B. 1996. Estimating sighting proportions of American alligators during night-light and aerial helicopter surveys. **Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies**, 50:509–519.

Worton, B. 1989. Kernel methods for estimating the utilization distribution in home range studies. **Ecology**, 70:164–168.

Yanosky, A.A. 1990. Histoire naturelle du Caiman à museau large (*Caiman latirostris*), un Alligatoriné mal connu. **Revue Française d’Aquariology et Herpetologie**, 17:19–31.

Zar, J.H. 1999. **Biostatistical analysis**. v.4. New Jersey: Prentice-Hall. 663p.

COPIA DE PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

(no incluir presentaciones a congresos)

South American Journal of Herpetology, 10(1), 2015, 23–31
© 2015 Brazilian Society of Herpetology

Hormone Levels and Ultrasound Evaluation of *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) Ovulation

Thiago C.G. Portelinha^{1,2,3,*}, Graciela A. Jahn⁴, M. Belén Hapon⁴, Luciano M. Verdade⁵, Carlos I. Piña^{2,3,6}

¹ Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Tocantins. Avenida NS 15, Quadra 109 Norte, CEP 77001-090, Palmas, TO, Brazil.

² Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Matteri y España s/n, CP E3105BWA, Diamante, ER, Argentina.

³ Proyecto Yacaré, Laboratorio de Zoología Aplicada: Anexo Vertebrados (Facultad de Humanidades y Ciencias-Universidad Nacional del Litoral/ Ministerio de Aguas, Servicios Públicos y Medio Ambiente), A. del Valle 8700, CP3000, Santa Fe, Argentina.

⁴ Laboratorio de Reproducción y Lactancia, Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Av. A.R. Leal s/n, CC 855, CP 5500, Mendoza, Argentina.

⁵ Laboratório de Ecologia Isotópica, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Avenida Centenário, 303, Caixa Postal 96, CEP 13400-970, Piracicaba, SP, Brazil.

⁶ Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad Autónoma de Entre Ríos, Diamante, ER, Argentina.

* Corresponding author. Email: thiagoportelinha@yahoo.com.br

Abstract. Although there is much information available about reproduction in *Caiman latirostris*, knowledge related to steroid hormone levels and follicle development for wild adult females is still lacking. In this study we monitored and assessed the development of follicles and eggs and correlated these results with plasma steroid hormone levels in 32 adult females captured in Santa Fe, Argentina. Fieldwork was carried out over two reproductive seasons (October–January) between 2010 and 2012. Using an ultrasound device to take images of the reproductive structures of adult females, we observed individuals with vitellogenic follicles ($n = 5$), eggs ($n = 4$), atretic follicles ($n = 11$), and inactive reproductive structures ($n = 12$). We found no reproductive females smaller than 65 cm snout–vent length. High levels of estradiol were found during the ovulation period (November) only in reproductive females. Reproductive females showed no differences in progesterone levels during the study period (November–January) compared to non-reproductive females; however, reproductive females showed higher progesterone levels during nesting (December). We found no differences in progesterone levels between reproductive females and females with atretic follicles at the end of the nesting period (January). Ultrasound imaging was found to be an efficient technique to study reproductive structures at the beginning of reproductive cycle of the broad-snouted caiman. Isolated analyses of hormonal levels are not sufficient to determine the reproductive condition of *C. latirostris* females.

Keywords. Crocodylians; Radioimmunoassay (RIA); Reproduction; Reproductive hormones; Ultrasonography.

Resumo. Apesar do grande número de informações disponíveis sobre a biologia reprodutiva do *Caiman latirostris*, pouco se sabe sobre os níveis hormonais e o desenvolvimento de folículos e ovos para fêmeas adultas na natureza. No presente estudo, nós monitoramos e determinamos o desenvolvimento folicular e correlacionamos esses resultados com os valores dos níveis dos hormônios esteroides de 32 fêmeas adultas capturadas na província de Santa Fe, Argentina. O trabalho de campo foi realizado durante duas estações reprodutivas (outubro–janeiro) entre os anos de 2010 e 2012. Um ultrassom portátil foi utilizado para avaliar e obter imagens das estruturas reprodutivas das fêmeas, sendo possível observar folículos vitelogênicos ($n = 5$), ovos ($n = 4$), folículos atrésicos ($n = 11$) e ausência de estrutura reprodutiva ($n = 12$). Não foram encontradas fêmeas menores que 65 cm de comprimento rostro-cloacal com características que pudessem indicar sinais de reprodução. Os maiores valores de estradiol foram encontrados durante a ovulação (novembro) para as fêmeas reprodutivas. Não foram encontradas diferenças nos níveis de progesterona para as fêmeas reprodutivas durante o período estudado (novembro–janeiro), apesar de terem apresentado maiores valores durante a nidificação (dezembro) do que fêmeas não reprodutivas. Não encontramos diferenças nos níveis de progesterona entre fêmeas reprodutivas e fêmeas com folículos atrésicos no final do período de nidificação (janeiro). A ultrassonografia demonstrou ser uma técnica eficiente para o estudo das estruturas reprodutivas no começo do ciclo reprodutivo do jacaré-de-papo-amarelo. Somente análises dos níveis hormonais, de forma isolada, não são suficientes para determinar a condição reprodutiva das fêmeas de *C. latirostris*.

INTRODUCTION

In recent years some non-invasive methods, such as palpation, radiography, and ultrasound, have been used to evaluate aspects of the reproductive dynamics of female reptiles (Rostal et al., 1990; Martínez-Torres et al., 2006; Gilman and Wolf, 2007), including ovarian follicular development (Uribe et al., 1996). The use of ultrasound to study follicular development allows reproductive structures to be observed, revealing the female caiman reproductive condition without invasive procedures (Hildebrandt et al., 2000). Some studies have highlighted the

efficiency of ultrasound to identify, measure, and follow the development of vitellogenic follicles and eggs in wild and captive crocodylians (Tucker and Limpus, 1997; Palacios and Beltrán, 2005; Lance et al., 2009), including Neotropical crocodylians (Vac et al., 1992; Coutinho, 2000; Palacios and Beltrán, 2005) such as the broad-snouted caiman, *Caiman latirostris* (Daudin, 1802).

Although there is much information available on *Caiman latirostris* reproduction in the wild and in captivity (Verdade and Piña, 2006), knowledge about egg development, hormonal fluctuation, and percentage of actively reproductive females per breeding season is still lacking.

Submitted: 17 September 2014
Accepted: 06 March 2015

Handling Editor: Mark E. Merchant
doi: 10.2994/SAJH-D-14-00030.1

The only information about follicular development for this species was reported by Vac et al. (1992), who used ultrasound to study captive females and observed follicles with diameters of 1.0–1.5 cm at the beginning of the reproductive season. Determining the percentage of adult females that are reproductively active in a given season can help in estimating population parameters, such as population size, based on number of nests observed (Wilkinson, 1983; Taylor et al., 1991).

Lance et al. (2009) reported the relationship between follicle development (using ultrasound imaging) and hormone levels in female *Alligator mississippiensis* (Daudin, 1802). They observed high estradiol levels in individuals with large vitellogenic follicles and increasing levels of progesterone and testosterone levels during follicle growth. Likewise, for marine turtles and desert tortoises Rostal et al. (1996) and Lance and Rostal (2007) showed a strong relationship between follicle growth and hormonal levels (estradiol and testosterone) and observed that progesterone levels increase during ovulation. Therefore, besides cytology, studies using ultrasound techniques and hormonal data would be accurate tools to identify and recognize the reproductive status of reptiles.

Although the broad-snouted caiman has a wide geographic distribution and economic importance in Argentina (Larriera, 1993; Larriera and Imhof, 2006), there is no information in the literature concerning ultrasound or hormonal data for wild individuals that could be used to understand its reproductive cycle and nesting frequency. However, it is known that mating begins in October and females build their nests and oviposit an average of 36 eggs (range: 16–45) from December through January (Larriera, 1994; Pita et al., 2002; Simoncini et al., 2009); females exhibit nest care (Verdade, 1995), clutch size increase with latitude (Simoncini et al., 2009), and females can reach sexual maturity at the age of 5 years in captivity (Verdade et al., 2003) or wild conditions (Larriera et al., 2006).

This study aimed at: 1) identifying the reproductive structures (follicles and eggs), 2) describing follicle and egg development, and 3) correlating follicle and egg development with levels of estradiol, progesterone, and testosterone in *Catman latrostris*. This information can be useful for the sustainable use of the species.

MATERIALS AND METHODS

Study area and capture methods

Fieldwork was carried out in the northern region of Santa Fe Province, Argentina, during two reproductive seasons from November 2010–January 2011 and November 2011–January 2012 at four study sites: Caminos (30°02'46"S, 59°58'30"W), Espín (29°58'04"S,

60°04'55"W), Fisco (30°11'40"S, 61°00'50"W), and Lucero (29°54'25"S, 60°50'23"W) (Fig. 1).

The climate is temperate with a mean minimum annual temperature of 14.9°C and maximum of 25.6°C and an annual rainfall of 1,380 mm (National Meteorological Service web site: www.smm.gov.br). The main habitats and nesting environments of *Catman latrostris* in Argentina are characterized as forest, savanna, and floating vegetation (Montini et al., 2006).

Females were caught with a steel cable noose and immobilized manually without the use of anesthetics and then sexed by cloacal palpation (Yanosky, 1990; Verdade, 1997). Blood samples were collected within 10 min of capture and then ultrasound procedures were performed. The following measurements were taken from all captured individuals: total length (TL) and snout-vent length (SVL) were measured with a tape measure (± 1 mm) and body mass (BM) was measured with a scale (± 0.1 kg). Females were marked individually by notching tail scutes (Bolton, 1994). Individuals were released at the capture site after data collection.

Blood samples and ultrasonography

Blood samples were collected in the field from the dorsal spinal vein (Olson et al., 1975) and placed in 15 mL heparinized tubes. Time between capture and blood extraction never exceeded 10 min to avoid stress-induced suppression of estradiol (Elsey et al., 1991; Lance et al., 2009). Each tube was centrifuged for 10 min at 4,000 revolutions per min. Separated plasma was stored in Eppendorf tubes (1.5 mL) refrigerated with ice until arrival at the laboratory, where they were frozen (-20°C) for subsequent hormone analyses.

To determine reproductive condition and visualize follicles and eggs we used a portable ultrasound device (Well® model WED-3000V) with a 5.0 MHz convex linear transducer. Females of different sizes (including juveniles, $n = 10$; TL: 87.5–125 cm, $\bar{X} 107 \pm 12$ cm,) were examined, but we were only able to visualize reproductive structures in individuals with SVL > 65 cm, consistent with previous results for *Catman latrostris* (Larriera et al., 2006). Individuals were scanned on both sides of the ventrolateral region of the abdomen to determine reproductive stage (Tucker and Limpus, 1997; Lance et al., 2009). An ultrasound coupling gel was applied to facilitate visualization during scanning. Static images were captured on-screen, measuring follicles and eggs with an electronic caliper (± 1 mm). Ultrasound resolution allowed the identification of only well-developed vitellogenic follicles, eggs, and atretic follicles. Females with vitellogenic follicles and eggs were considered reproductive and females without visible reproductive structures were considered non-reproductive for that season. Females with atretic



Figure 1. Study sites (Caminos, Espin, Falso, and Luque) in Santa Fe Province, Argentina. Adapted from Simoncini et al. (2011).

follicles captured on their nests were considered to be reproductive for the hormone analysis but were not used to calculate the percentage of actively reproductive females (see Data analysis, below). The remaining females with atretic follicles were not included in the hormone analysis because it was not possible to identify the reproductive season to which the follicles corresponded (Lance et al., 2009). Individuals were classified according to the identified structures following Palacios and Beltrán (2005) and Lance et al. (2009), as:

- a) Non-reproductive (NR): no active reproductive structures were found
- b) Vitellogenic follicles (VF): presence of multiple black spherical corpuscles > 1.5 cm diameter
- c) Eggs (EG): structures perfectly delineated with or without calcified shells, generally > 4.0 cm diameter
- d) Atretic follicles (AT): presence of multiple follicles of variable shape and size, generally < 1.5 cm in diameter

Hormonal analysis

Frozen plasma samples were transported, processed, and analyzed by radioimmunoassay (RIA) in the

laboratory. Prior to RIA procedures, we evaluated the need for extraction of steroids (performed as described below for estradiol determinations) to eliminate the sex hormone binding proteins that could interfere with the assay, according to the standards established by Boretto et al. (2010) and Lance et al. (2015). We found that for accurate determination of 17β -estradiol the plasma samples had to be extracted. However, progesterone and testosterone were measured directly in plasma because extraction did not modify the results, showing that plasma proteins did not interfere significantly with RIA for these hormones.

Progesterone and testosterone levels in plasma were measured using radioimmunoassay commercial kits for total hormones (PITKPG-11 and PITKTT-9, Coat-A-Count solid phase respectively; Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Los Angeles, CA, USA). For measurements of 17β -estradiol, 250 μ L of plasma were extracted twice adding 1 mL of diethyl ether, the tubes were vortexed briefly, and frozen at -80°C during approximately 5 minutes. Supernatant was carefully pipetted to glass culture tubes and all extracts were evaporated to dryness at room temperature and under a stream of nitrogen. Extracts were reconstituted in 0.5 mL PBS EDTA 1 mM, gelatin 0.1%, incubated at 37°C for 2 hours and aliquots of 60 μ L were used to measure [^{125}I]- 17β -estradiol using a commercial kit for

Table 1. Cross-reactivity of estradiol, progesterone, and testosterone kits used for measurements in *Caiman latirostris* with other hormones/metabolites. Kits are from Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Los Angeles, CA, USA. ND - not detectable; NI - not informed.

Compound	% Cross-reactivity		
	17 β -estradiol (PIKE2D-11)	Progesterone (PITKPC-11)	Testosterone (PITKTT-9)
Aldosterone	ND	ND	0
Corticosterone	ND	0.9	0.002
Dexamol	ND	0.006	0.09
DHEA-SO ₄	ND	0.002	0.006
Estradiol	100	ND	0.02
Estrinol	0.235	NI	NI
Estrene	12.5	NI	0.01
Progesterone	ND	100	0
Testosterone	ND	0.1	100

total hormone (PIKE2D-11 double antibody radioimmunoassay from Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Los Angeles, CA, USA). To validate the extraction procedure, commercial serum standards of known hormone concentration were extracted and recovery estimated to be between 80-90%. The results were not corrected for recovery since all the samples were processed and measured at the same time. For further validation of the three assays, a pool of caiman plasma was run as an additional control and used for parallelism estimation. Different dilutions of the pool were run in the assay, and we found that the curve was parallel to the respective standard curves. Additional information about cross-reactivity of the kits used for hormonal measurements can be found in Table 1.

Data analysis

Because data were not normally distributed, we used a Kruskal-Wallis test followed by post-hoc multiple comparisons to compare females hormone levels and the reproductive condition between months. The proportion of actively reproductive females per year was calculated by adding the number of females with follicles and eggs and dividing by the total number of adult females captured. Females captured on their nests were not considered for this calculation, because their reproductive condition was previously known since they had already laid eggs and they do not overlap reproductive periods. Females with atretic follicles were also not considered for

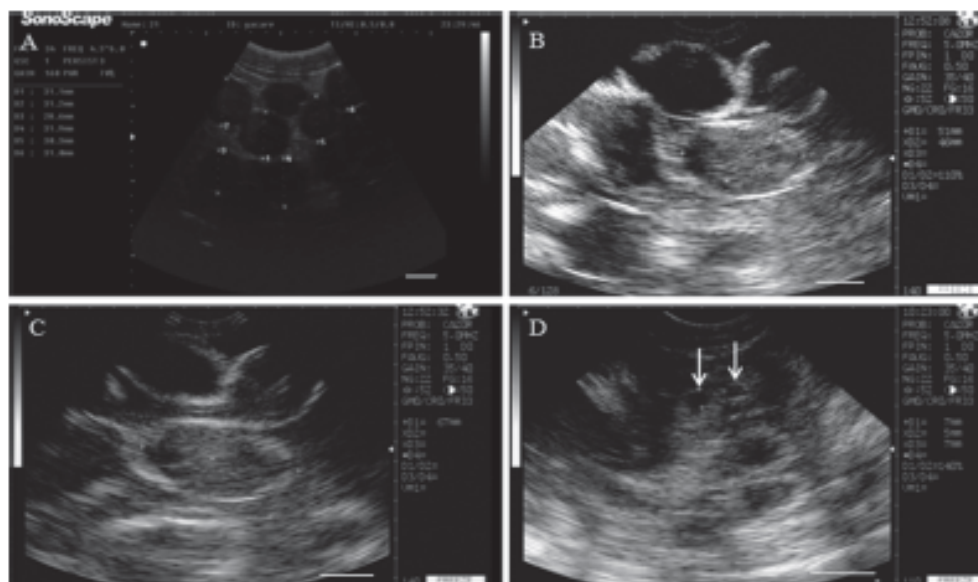


Figure 2. Ultrasound images of reproductive structures of *Caiman latirostris*. A - vitellogenic follicles; B and C - eggs; D - atretic follicles (arrows). Scale bar - 20 mm.

this calculation, because the low resolution of the ultrasound made it impossible to identify whether reproductive structures corresponded to the current or previous breeding seasons.

To evaluate if the reproductive activity was related to female body condition we calculated a body condition index (BCI). This index was considered as the residuals of the linear regression between SVL and body BM (Litigius et al., 2008). All data were analyzed in the software Info-Stat (Di Benzo et al., 2008). The values are expressed as means \pm standard error and range, and were considered to be statistically different when $P < 0.05$.

RESULTS

We examined the ultrasound images of 32 adult females (SVL > 65 cm) captured during the reproductive season (October–January; Table 2). Their reproductive status was vitellogenic follicles ($n = 5$), eggs ($n = 4$), atretic follicles ($n = 11$), and non-reproductive ($n = 12$) (Fig. 2). Fifty percent of the females were reproductively active in 2010/2011 ($n = 5/10$) and 36% were active in 2011/2012 ($n = 4/11$). Reproductive activity was not related to female body condition between reproductive and non-reproductive females (BCI; $H = 0.05$, $df = 1$, $P = 0.831$); however, we observed that 80% of reproductive females were > 77 cm SVL and 75% of non-reproductive females were < 77 cm SVL (Fig. 3).

Hormonal levels and reproductive structures

Despite the wide variation in hormone levels between groups (vitellogenic follicles, eggs, atretic follicles and non-reproductive), we observed higher estradiol levels in females with vitellogenic follicles and eggs than females with atretic follicles or non-reproductive (Table 3, Fig. 4A). Progesterone levels were low in females with follicles but increased during ovulation in females with eggs (Table 3, Fig. 4B). Generally, mean values for testosterone were low (Table 3, Fig. 4C) and similar among the different groups ($P > 0.05$).

Hormonal levels per month

Reproductive females showed higher estradiol levels during follicular development (November; $H = 8.42$, $df = 2$, $P = 0.014$; Fig. 5A) compared with the other reproductive stages. During nesting (December–January) estradiol levels were lower (107.2 ± 45.8 pg/mL and 71.8 ± 17 pg/mL, respectively) than prior to nesting (November, 1603.9 ± 605.4 pg/mL; $H = 8.42$, $df = 2$, $P = 0.014$), and we found no differences between reproductive and

Table 2. *Caiman latirostris* females examined by ultrasound. Capture date – day/month/year; TL – total length; SVL – snout-vent length; BM – body mass (kg); Follicles – reproductive structures; VF – vitellogenic follicles; EG – eggs; NR – no reproductive structures observed; AT – atretic follicles; * – Females caught at nests.

Capture date	TL (cm)	SVL (cm)	BM (kg)	Follicles (average mm)
11/11/2010	152.0	78.0	18.2	VF (32)
29/11/2010	157.0	79.0	20.6	EG (51)
29/11/2010	146.0	77.0	17.8	EG (50)
01/12/2010	125.0	72.0	10.4	NR
01/12/2010	164.0	84.0	19.4	EG (53)
01/12/2010	144.0	79.0	14.1	NR
08/12/2010	134.0	68.0	11.6	NR
08/12/2010	138.5	68.0	12.1	NR
08/12/2010	152.0	79.0	18.2	EG (67)
08/12/2010	149.5	74.0	13.5	NR
28/12/2010	162.0	80.0	17.6	AT (14)*
29/12/2010	155.6	79.0	15.4	AT (18)*
06/01/2011	157.0	76.0	16.6	AT (8)*
06/01/2011	175.0	85.0	22.0	AT (7)*
12/01/2011	158.0	79.0	16.5	AT (4)*
13/01/2011	142.0	77.0	15.5	AT (11)*
01/11/2011	157.0	79.0	16.9	VF (18)
01/11/2011	158.0	80.0	18.4	VF (29)
01/12/2011	138.0	69.0	9.5	VF (17)
01/12/2011	141.0	71.0	11.5	NR
01/12/2011	140.0	70.0	10.4	NR
01/12/2011	141.0	67.5	11.2	NR
21/12/2011	169.0	84.5	21.3	NR
21/12/2011	141.0	70.0	11.8	NR
28/12/2011	134.0	69.0	10.0	VF (15)
04/01/2012	144.0	73.0	12.6	AT (7)
26/01/2012	163.0	85.5	20.3	AT (9)
26/01/2012	161.0	83.0	20.2	NR
26/01/2012	139.0	70.5	12.5	AT (8)
27/01/2012	159.5	87.0	19.1	AT (10)
27/01/2012	140.0	70.5	12.0	NR
27/01/2012	156.0	76.5	13.8	AT (8)

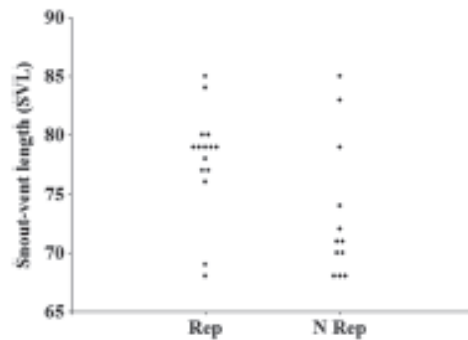


Figure 3. Body length (snout-vent length) and reproductive condition for adult female *Caiman latirostris* in Argentina. Rep – reproductive; NRep – non-reproductive.

Table 3. Mean estradiol, progesterone, and testosterone levels for *Catman latrostris* adult females in different reproductive conditions. The values were analyzed by Kruskal-Wallis test followed by post-hoc multiple comparisons and are expressed as mean ± standard error. Groups identified with the same superscript letter have similar level of hormone ($P > 0.05$). VF - vitellogenic follicles; EG - eggs; AT - atretic follicles; NR - no reproductive structures observed.

Hormone	Reproductive condition				Kruskal-Wallis	
	VF	EG	AT	NR	H	P
17β-estradiol (pg/mL)	1517.9 ± 700.7 ^A	900 ± 263.6 ^A	52.9 ± 14.2 ^A	76 ± 13.6 ^A	10.76	0.013
Progesterone (ng/mL)	0.3 ± 0.1 ^A	2.1 ± 0.6 ^B	1.0 ± 0.5 ^A	0.3 ± 0.1 ^A	8.20	0.035
Testosterone (ng/mL)	0.3 ± 0.2 ^A	1.5 ± 1.3 ^A	0.01 ± 0.01 ^A	0.05 ± 0.03 ^A	1.70	0.544

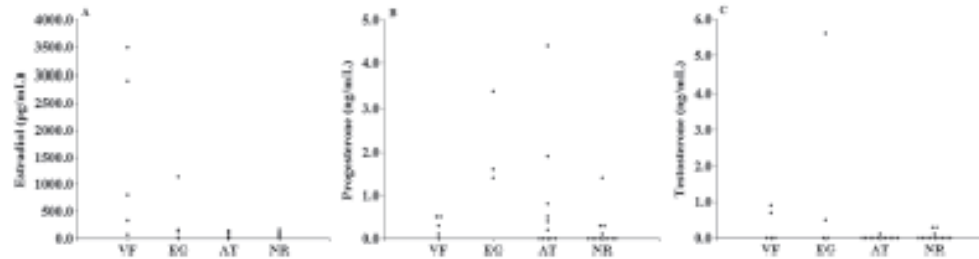


Figure 4. Estradiol (A), progesterone (B), and testosterone (C) levels and reproductive condition for adult female *Catman latrostris*. VF - vitellogenic follicles; EG - eggs; AT - atretic follicles; NR - no reproductive structures observed.

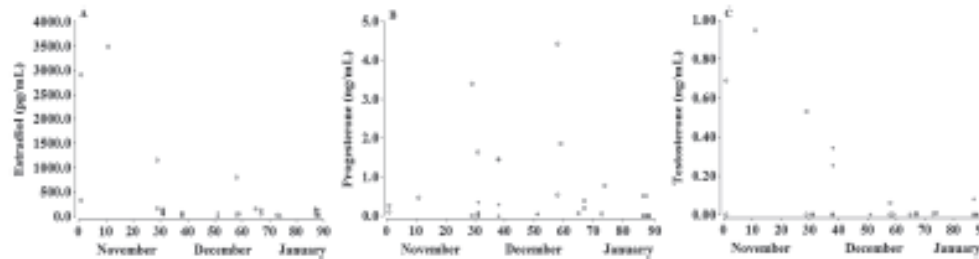


Figure 5. Estradiol (A), progesterone (B), and testosterone (C) levels during reproductive seasons (2010–2012) for *Catman latrostris*. Circle - reproductive females; Square - atretic follicles; Cross - non-reproductive females.

non-reproductive females ($H = 0.35$, $df = 1$, $P = 0.553$). At the end of the nesting period (January) estradiol levels were similar to those of non-reproductive females, and we found no differences between the studied groups (reproductive, non-reproductive, and atretic follicles; $H = 0.95$, $df = 2$, $P = 0.267$). Females that were captured at their nests after oviposition had lower estradiol values than females with follicles or eggs ($H = 7.34$, $df = 2$, $P = 0.025$).

Reproductive females had higher progesterone values during nesting (December) than non-reproductive females ($H = 5.56$, $df = 1$, $P = 0.035$; Fig. 5B). We found no differences between testosterone levels for non-reproductive females during the nesting period (December–January; $H = 0.18$, $df = 1$, $P = 0.999$) or between reproductive females, non-reproductive females, and females with atretic follicles ($H = 2.32$, $df = 2$, $P = 0.120$) at the end of the nesting period (January; Fig. 5C).

DISCUSSION

Generally, the reproductive cycle of crocodylians begins in early spring as temperatures rise (Lance, 1989; Larrera and Imhoff, 2006). Based on this, the reproductive cycle of *Catman latrostris* appears well defined, with vitellogenic follicles and eggs found in November/December (late spring and early summer) and atretic follicles occurring in December/January. A well-defined reproductive cycle has also been observed for other crocodylians, such as *Alligator mississippiensis* (Joanen and McNease, 1979), *Catman yacare* (Daudin, 1802) (Coutinho, 2000), and *Crocodylus johnstoni* Krefft, 1873 (Tucker and Limpus, 1997). However, it should be emphasized that the eight females captured in their nests had atretic follicles (Table 2) and that these can be found throughout the year in mature crocodylians. However, atretic follicles are not

found in immature females and are rarely found in very old, barren females (Lance et al., 2009).

This is the first study reporting data about ultrasonography and hormone levels for wild individuals of *Catman latirostris*. The only published report about the follicular dynamics of *C. latirostris* was presented by Vac et al. (1992) for captive individuals in Brazil. Those authors reported the presence of 3.0–3.8 cm diameter follicles in December. In our study, females presented follicles of 1.5–3.2 cm diameter in November and December, similar to the pattern above. Possibly, due to the ultrasound limitations we could not identify previtellogenic follicles and corpora lutea by ultrasound images. We were not able either to accurately count follicles or eggs with ultrasonography because of the overlapping of reproductive structures and the presence of intestinal fecal material, as previously reported by Tucker and Limpus (1997) and Lance et al. (2009).

For the broad-snouted caiman in Argentina we observed that follicles and eggs can be detected by ultrasonography during November–December and atretic follicles can be found in postovulatory females from late December–early January. No females were caught in other months. The reproductive cycle of *Catman latirostris* showed a similar pattern to that described for other crocodylians (Lance, 1989; Thorbjarnarson, 1996). Because we started our study in November, future studies should perform ultrasound scans from early September (beginning of the breeding season) to identify the possible presence of developing follicles at this time and enable a better understanding of the reproductive cycle of this species.

Estradiol values in non-reproductive females and females with atretic follicles were very low compared to those that had developing follicles and eggs (Fig. 4); this can be explained because estradiol is a strong stimulant of vitellogenesis in reptiles (Ho et al., 1985; Cree et al., 1992), with low levels after nesting or for non-reproductive females. Additionally, estradiol is mainly produced by preovulatory follicles and should decrease after oviposition. This was observed in the present study, with estradiol levels being lower in females that had laid eggs than in those with developing follicles or eggs. Higher progesterone levels were found in females with eggs, indicating that this hormone increases during ovulation until the moment of egg deposition, and decreases after nesting. The main function of progesterone in oviparous species is to stimulate follicular maturation and prepare the oviduct for reproduction (Wibbels et al., 1992). The same pattern has been reported for other crocodylians (Lance et al., 2009) and turtles (Rostal et al., 1998; Rostal et al., 2001; Schramm et al., 1999).

The percentage of *Catman latirostris* females actively reproducing (50% in 2010, 36% in 2011) was somewhat higher than that reported for this species in captivity (27–33%, Vac et al., 1992) and similar for other wild

alligatorid populations (29–50% in *Alligator mississippiensis*, Lance et al., 2009; 33% in *Pseudisuchus trigonatus* (Schneider, 1801), Magnusson and Lima, 1991), but was lower than that described for *Crocodylus* (90% in *Crocodylus johnstoni*, Webb et al., 1983; 63.8% in *Crocodylus acutus* (Cuvier, 1807), Thorbjarnarson, 1988). Rainfall is one of the conditions that might affect reproductive frequency in crocodylians (Kushlan and Jacobsen, 1990; Simoncini et al., 2011). In years with more rainfall more females would reproduce due to greater availability of food, better body condition, and lower stress levels, which should favor reproduction (Joanen and McNease, 1989).

In this study, we did not observe a relationship between body condition index and reproductive activity; however, we observed that females would be physiologically able to reproduce > 69 cm SVL. Nevertheless, female sexual maturity should not be based on the breeding success of a few individuals, as they might not represent the entire population (Joanen and McNease, 1987; Coutinho, 2000). In this study, 80% of reproductive females were > 77 cm SVL, which can be considered a threshold for field studies; however, it should be noted that the 75% of non-reproductive females that were < 77 cm SVL (Fig. 3) could be immature, quiescent (mature, but did not nest that year) or barren (old and possibly no longer able to reproduce) females. Knowing the variables that can affect reproduction is important for sustainable use programs, since this information could help in estimating nest production and spatial distribution (Simoncini et al., 2011). However, this study encompassed only two consecutive years. A long-term monitoring program on the reproductive biology of the species is needed to support its ranching program in Argentina.

Information about hormone levels alone is not enough to diagnose the reproductive condition or the stage of the follicular cycle for *Catman latirostris* females. Therefore, it is recommended that studies on hormone levels should be accompanied by a technique that allows a view of reproductive structures, such as ultrasound. With a simple nest counting it is possible to determine the number of reproductive actively females in a season (Wilkinson, 1983; Taylor et al., 1991). Knowing the reproductive frequency would allow the total adult female population to be estimated.

Most of the information related to the dynamics of ovarian follicle development for crocodylians has been obtained from the sacrifice of adult individuals (Lance, 1989; Palacios and Beltrán, 2005) or the use of animals found dead on roads (Thorbjarnarson, 1996). The use of ultrasound allows reproductive data to be obtained from living animals (Robeck et al., 1990; Bertona and Chiaraviglio, 2003; Valdez et al., 2011; Sacchi et al., 2012), which is particularly important for endangered species (e.g., *Alligator stenensis* Fauvel, 1879). With technological advances in equipment and its portability, the use of ultrasound in

wild populations might become viable. However, only the integrative use of cytology, hormone profiles, and ultrasound can lead to precise estimates of reproductive status of female crocodilians, as already done for turtles (Rostal et al., 1998) and alligators (Lance et al., 2009).

Future studies should assess the hormonal cycle of *Caiman latirostris* from the beginning of courtship until mating (presumably August–September) to identify possible variations in estradiol, progesterone, and testosterone levels and the relationship between hormone levels and reproductive condition in females. Such information might be crucial to the estimate of reproductive activity for the population, which is particularly relevant for both endangered and economic species.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank P. Tomatis for ultrasound procedures training and images interpretation and LAR-LAC-IMBECU (CONICET) where we processed and analyzed samples by radioimmunoassay (RIA). We are grateful for all members of Proyecto Yacaré. M.S. Simoncini and V.A. Lance helped in first drafts of this manuscript. Field work was supported by Agencia PICT 2008 N220 and N404 to C.I. Pinta. T.C.G. Portelinho received a PhD fellowship from CONICET. L.M. Verdade holds a CNPq Productivity Scholarship (309468/2011-6).

REFERENCES

Bertona M., Chiaraviglio M. 2003. Reproductive biology, mating aggregations, and sexual dimorphism of the Argentine boa constrictor (*Boa constrictor occidentalis*). *Journal of Herpetology* 37:510–516. doi:10.1670/122-02A

Bolton M. 1994. La explotación del cocodrilo en cautividad. *Guía FAD Conservación* 22, Roma.

Borotto J.M., Ibarrahegoypitia N.R., Jahn G.A., Acosta J.C., Vicenti A.E., Fornás M.W. 2010. Asynchronous steroid activity of Leydig and Sertoli cells related to spermatogenic and testosterone cycle in *Ptychocheilus antipodensis*. *General and Comparative Endocrinology* 166:556–564. doi:10.1016/j.ygcen.2010.02.006

Coutinho M.E. 2000. Population ecology and the conservation and management of Caiman jacare in the Pantanal Brazil. Ph.D. Thesis, University of Queensland, Australia.

Cree A., Cockrem J.F., Gullett L.J. 1992. Reproductive cycles of male and female tuatara (*Sphenodon punctatus*) on Stephens Island, New Zealand. *Journal of Zoology* 226:199–217. doi:10.1111/j.1469-7998.1992.tb03834.x

Carvier C. 1807. Sur les différentes espèces de crocodiles vivans et sur leurs caractères distinctifs. *Annales de National Museum of Natural History of Paris* 10:8–86.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.C., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. 2008. InfoStat, Version 2008. Accessible at <http://infostat.com.ar>

Elsey R.M., Lance V.A., Joansen T., McNease L. 1991. Acute stress suppresses plasma estradiol levels in female alligators (*Alligator mississippiensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology A* 100:649–651. doi:10.1016/0300-9629(91)90384-0

Fauvel A.A. 1879. Alligators in China: their history, description and identification. *Journal of the North China Branch Royal Asiatic Society* 13:1–36.

Colman C.A., Wolf B.O. 2007. Use of portable ultrasonography as a nondestructive method for estimating reproductive effort in lizards. *Journal of Experimental Biology* 210:1859–1867. doi:10.1242/jeb.001875

Hildebrandt T.B., Hermes R., Jougenow K., Geritz F. 2000. Ultrasonography as an important tool for the development and application of reproductive technologies in non-domestic species. *Theriogenology* 53:73–84. doi:10.1016/S0093-691X(99)00241-1

Ho S.M., Wangh L.J., Callard J.P. 1985. Sexual differences in the *in vitro* induction of vitellogenesis in the turtle (*Chrysemys picta*): Role of the pituitary and growth hormone. *Comparative Biochemistry and Physiology in vitro B* 81:467–472.

Joansen T., McNease L. 1979. Time of egg deposition for the American alligator. *Proceedings of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies* 33:15–19.

Joansen T., McNease L. 1987. Alligator farming research in Louisiana, USA. Pp. 329–340, in Webb G.J.W., Marsden S.C., Whithead P.J. (Eds.), *Wildlife Management: Crocodiles and Alligators*. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton.

Joansen T., McNease L. 1989. Ecology and physiology of nesting and early development of the American alligator. *American Zoologist* 29:987–998.

Krofft C. 1873. Remarks on Australian crocodiles, and description of a new species. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1873:334–335.

Kushlan J.A., Jacobson T. 1990. Environmental variability and the reproductive success of *Evagallus* alligators. *Journal of Herpetology* 24:176–184.

Lance V.A. 1989. Reproductive cycle of the American alligator. *American Zoologist* 29:999–1018. doi:10.1093/ich/29.3.999

Lance V.A., Elsey R.M., Trocclair P.L. III 2015. Sexual maturity in male American Alligators in Southwest Louisiana. *South American Journal of Herpetology* 10:58–63. doi:10.2994/SAJH-D-15-00005.1

Lance V.A., Rostal D.C. 2002. The annual reproductive cycle of the male and female desert tortoise: physiology and endocrinology. *Chelonian Conservation and Biology* 4:302–312.

Lance V.A., Rostal D.C., Elsey R.M., Trocclair P.L. 2009. Ultrasonography of reproductive structures and hormonal correlates of follicular development in female American alligators, *Alligator mississippiensis*, in southwest Louisiana. *General and Comparative Endocrinology* 162: 251–256. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.03.021

Larriera A. 1993. *Caiman latirostris* Project in Santa Fe, Argentina. *C.S.G. Newsletter* 12:20.

Larriera A. 1994. Tamaño de postura y éxito reproductivo de Yacaris (*Caiman latirostris*) en Santa Fe, Argentina. *Vida Silvestre Neotropical* 3:118–119.

Larriera A. 2002. *Caiman latirostris* (Broad-snouted caiman). Commercial nesting. *Herpetological Review* 33: 702.

Larriera A., Imhof A. 2006. Proyecto Yacaré: Casada de huevos para cría en granjas del género Caiman en la Argentina. Pp. 1–14, in Bekovic M.L., Ramadori D. (Eds.), *Manejo de Fauna Silvestre en la Argentina*. Programas de Uso Sustentable. Dirección de Fauna Silvestre, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Buenos Aires.

Larriera A., Strooki R., Pinta C.I., Imhof A. 2006. Sexual maturity of farm-released *Caiman latirostris* (Crocodylidae: Alligatoridae) in the wild. *Herpetological Review* 37:26–28.

Litngus J.D., Bolton F., Schulte-Hostedde A.I. 2008. Reproductive output depends on body condition in spotted turtles (*Clemmys guttata*). *Copeia* 2008:86–92. doi: 10.1643/CH-07-093

Magnusson W.E., Lima A.P. 1991. The ecology of a cryptic predator, *Palaemonetes trigonatus*, in a tropical rainforest. *Journal of Herpetology* 25:41–48.

Martinez-Torres M., Guzman-Rodriguez R., Cardenas-Leon M., Brunner-Reynaldo N. 2006. Follicular development and ovulation

- determined by ultrasound imaging in the viviparous lizard *Basiliscus vittatus* (Reptilia: Anguillidae). *Southwestern Naturalist* 51:401–406.
- Montini J.P., Piña C.I., Larrivera A., Strodel F., Verdade L.M. 2006.** The relationship between nesting habitat and hatching success in *Crocodilus latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). *Phyllomedusa* 5:91–96. doi:10.11606/issn.2316-9079.v5i2p91-96
- Olsen G.A., Hasler J.R., Faith R.E. 1975.** Techniques for blood collection and intravascular infusion of reptiles. *Laboratory Animal Science* 25:783–786.
- Palacios I.D., Beltrán A. 2005.** Identificación de estructuras reproductivas en hembras de *Crocodilus fuscus* mediante el uso de ultrasonido. Pp. 271–277, in *Proceedings of the Reunión Regional de América Latina y el Caribe del Grupo de Especialistas en Cocodrilos (CSG/SSC/IUCN)*. Santa Fe, Argentina.
- Piña C., Imhof A., Frutos N., Medina M., Larrivera A. 2002.** Tamaño de postura y machos de huevos de *Crocodilus latirostris* en las Provincias de Santa Fe y Entre Ríos. Pp. 127–134, in Verdade L.M., Larrivera A. (Eds.), *Conservação e Manejo de Jacarés e Cocodrilos da América Latina*. v. 2. C.N. Editora, Piracicaba.
- Rostal D.C., Rostal D.C., Burchfield P.M., Owens D.W., Kraemer D.C. 1990.** Ultrasound imaging of reproductive organs and eggs in Galapagos tortoises, *Geochelone elephantopus* spp. *Zoo Biology* 9:349–353. doi:10.1002/zoo.1430090503
- Rostal D.C., Robeck T.R., Owens D.W., Kraemer D.C. 1990.** Ultrasound imaging of ovaries and eggs in Kemp's ridley sea turtles (*Leptochelys kempi*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 21:27–35.
- Rostal D.C., Paladino F.V., Patterson R.M., Spottis J.R. 1996.** Reproductive physiology of nesting leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) at Las Baulas de Guanacaste National Park, Costa Rica. *Chelonian Conservation and Biology* 2:230–236.
- Rostal D.C., Owens D.W., Grumbles J.S., MacKenzie D.S., Amoss M.S. Jr. 1998.** Seasonal Reproductive Cycle of the Kemp's Ridley Sea Turtle (*Leptochelys kempi*). *General and Comparative Endocrinology* 109:232–243. doi:10.1006/gcen.1997.7026
- Rostal D.C., Grumbles J.S., Palmor K.S., Lance V.A., Spottis J.R., Paladino F.V. 2001.** Changes in gonadal and adrenal steroid levels in the leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) during the nesting cycle. *General and Comparative Endocrinology* 122:139–147. doi:10.1006/gcen.2001.7615
- Sacchi R., Polittieri-Rosa D., Capelli A., Ghitti M., Di Paoli A., Bellati A., ... Fasola M. 2012.** Studying the reproductive biology of the common wall lizard using ultrasonography. *Journal of Zoology* 287:301–310. doi:10.1111/j.1469-7998.2012.00917.x
- Schneider J.C. 1801.** *Historia Amphibiorum naturalis et Itineraria*. Fascioides sacandus continens Crocodilos, Scincos, Chamaeleones, Boas, Psalodrosos, Elapes, Anguis, Amphidromos et Caecilia. Frommann, Jena.
- Schramm B.C., Casares M., Lance V.A. 1999.** Steroid levels and reproductive cycle of the Galapagos tortoise, *Geochelone nigra*, living under semi-natural conditions on Santa Cruz Island, Galapagos. *General and Comparative Endocrinology* 114:108–120. doi:10.1006/gcen.1998.7340
- Simoncini M.S., Piña C.I., Strodel F. 2009.** Clutch size of *Crocodilus latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) varies on a latitudinal gradient. *North-Western Journal of Zoology* 1:191–196.
- Simoncini M.S., Piña C.I., Cruz R.B., Larrivera A. 2011.** Climatic effects on the reproductive biology of *Crocodilus latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae). *Amphibia-Reptilia* 32:305–314. doi:10.1163/017353711X571874
- Taylor D., Kinler N., Itincombe C. 1991.** Female alligator reproduction and associated population estimates. *The Journal of Wildlife Management* 55:682–688.
- Thorbjarnarson J.B. 1988.** The status and ecology of the American crocodile in Haiti. *Bulletin of the Florida State Museum, Biological Sciences* 33:1–86.
- Thorbjarnarson J.B. 1996.** Reproductive characteristics of the order Crocodylia. *Herpetologica* 52:8–24.
- Tucker A.D., Limpus C.J. 1997.** Assessment of reproductive status in Australian freshwater crocodiles (*Crocodilus johnstoni*) by ultrasound imaging. *Copeia* 4:851–857.
- Uribe M. del C.A., Portales G.I.B., Gufflette L.J. Jr. 1996.** Ovarian folliculogenesis in the oviparous Mexican Lizard *Cnemidophorus tectatus*. *Journal of Morphology* 230:99–112.
- Vac M.H., Verdade L.M., Metrolas C.F., Larsen R.E., Michelotti F., Rangel M.C., ... Lavoretti A. 1992.** Ultrasound evaluation of the follicle development in adult female broad-headed caiman (*Crocodilus latirostris*). Pp. 176–183, in *Proceedings of the 11th working meeting of the C.S.G. IUCN, Switzerland*.
- Valdes M.V.G., Chamot S., Jaen G.V., Arco O.E.A., Manos M.E. 2011.** Dynamics of ovarian follicles in *Tupiaia munitana* lizards. *Acta Herpetologica* 6:303–313. doi:10.13128/Acta_Herpetol-0341
- Verdade L.M. 1995.** Biología reproductiva do jacaré-de-papo-amarelo (*Crocodilus latirostris*) em São Paulo, Brasil. Pp. 57–79, in Larrivera A., Verdade L.M. (Eds.), *Conservação e Manejo de los Caimanes y Cocodrilos de América Latina*. v. 1. Fundación Banco Bica, Santo Tomé.
- Verdade L.M. 1997.** Manejo e conservação do jacaré-de-papo-amarelo (*Crocodilus latirostris*) no Estado de São Paulo. Pp. 222–232, in Valladão-Padua L., Dodson R.E., Colten Jr. L. (Eds.), *Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil*. CNPq, Brasília.
- Verdade L.M., Piña C.I. 2006.** *Crocodilus latirostris*. *Catalog of the American Society of Amphibians and Reptiles* 833:1–21.
- Verdade L.M., Sarkis-Gonçalves F., Miranda-Vilala M.P., Bassetti L.A.B. 2003.** New record of age at sexual maturity in captivity for *Crocodilus latirostris* (broad-mouthed caiman). *Herpetological Review* 34:225–226.
- Webb G.J.W., Manolis S.C., Buckworth R. 1983.** *Crocodilus johnstoni* in the McKinlay River Area, N.T. 11. Dry season habitat selection and an estimate of the total population size. *Australian Wildlife Research* 10:573–582. doi:10.1071/ZO9805877
- Wibbels T., Owens D.W., Licht P., Limpus C.J., Road P.C., Amoss M.S. 1992.** Serum gonadotropins and gonadal steroids associated with ovulation and egg production in sea turtles. *General Comparative Endocrinology* 87:71–78. doi:10.1016/0016-6480(92)90151-9
- Wilkinson, P.M. 1983.** Nesting ecology of the American alligator in coastal South Carolina. *South Carolina Wildlife and Marine Resources Department, Study Completion Report*.
- Yanosky A.A. 1990.** Histoire naturelle du caïman à museau large (*Crocodilus latirostris*), un alligatorinid mal connu. *Revue Française d'Apertologie et Herpetologie* 17:19–31.