Final SRAS Report

Ecología genética poblacional del *Caiman crocodrilus fuscus* en la represa hidroeléctrica del río prado (HIDROPRADO): en busca del Hibrido

Sigifredo Clavijo-Gatrzon

Grupo de Investigación en Herpetología, Eco-fisiologia y Etologia, Universidad del Tolima

Abstract

The Prado River Hydroelectric Reservoir (Hidroprado, Tolima, Colombia) harbors a wild population of *Caiman crocodilus fuscus* characterized by a high frequency of individuals exhibiting atypical nuchal scale patterns. Local reports of an accidental release during the 1990s involving individuals introduced from other regions—including the Atlantic Coast and the Llanos Orientales—led to the hypothesis of subspecific hybridization as the driver of this morphological variation. To test this hypothesis and characterize the population's genetic structure, 91 individuals were sampled across eight localities within the reservoir. Nuchal scale patterns were recorded in situ, and genomic DNA was extracted from epidermal scale tissue. Analysis identified 16 distinct nuchal patterns, with 2:2:4:4 (46.15%) and 2:4:4:4 (25.27%) being the most prevalent. A Chi-square test revealed significant differences in overall pattern frequencies ($X^2 = 326.93$; $P < 0.001$), whereas Fisher's exact test indicated no spatial structuring among sampling sites (P = 0.8372$). Pattern evenness was consistently low across the entire reservoir (H' < 2). Amplification and sequencing of the mitochondrial 16S gene were successfully achieved for six samples. Maximum Likelihood phylogenetic reconstruction (GTR+I model) and TCS haplotype network analysis assigned all Hidroprado specimens to a single clade, distinctly separate from the reference *Ca. c. crocodilus* lineage. These findings provide no evidence of intersubspecific hybridization or independent genetic lineages within the reservoir. Consequently, the observed morphological variation may be driven by alternative evolutionary or demographic processes, such as inbreeding or founder events/population bottlenecks resulting from the artificial isolation of the reservoir—hypotheses that warrant further evaluation using biparental molecular markers.

Introducción

La Represa de Hidroprado, localizada en la cuenca del río Magdalena, constituye uno de los principales cuerpos de agua del departamento del Tolima, con una extensión aproximada de 4.300 hectáreas. Este sistema cumple funciones relevantes para los municipios de su área de influencia, al ser utilizado como fuente de abastecimiento de agua, pesca, generación de energía, riego y transporte. Sin embargo, el incremento de las actividades productivas y el uso inadecuado del recurso hídrico han generado transformaciones en las condiciones naturales del ecosistema, con posibles repercusiones sobre la composición y dinámica de las comunidades de fauna y flora asociadas al embalse (Resolución No. 1735, 2011).

Son escasas las investigaciones en el país sobre especies de cocodrilianos de interés comercial en vida silvestre, lo que ha favorecido un uso inadecuado de este recurso biológico en algunas regiones del país (Larriera *et al.*, 2004). En Hidroprado habita la especie *Caiman crocodilus fuscus*, cuya presencia se encuentra distribuida a lo largo del embalse. El estudio realizado en 2020 permitió establecer que esta población presenta características ecológicas y poblacionales favorables para su permanencia, incluyendo una densidad de 7,8 ind/km, evidencia de reproducción y reclutamiento y una adecuada condición corporal, lo que resalta la importancia de Hidroprado como sitio de conservación de una población significativa de la especie a nivel local y regional (Mora-Rivera, 2020).

En este contexto, se ha identificado la presencia, a lo largo del embalse, de individuos con patrones morfológicos atípicos para la especie, particularmente en la disposición y conformación de las escamas nucales. Adicionalmente, en el estudio sobre percepción y conocimiento de la comunidad acerca de *Ca. c. fuscus*, se documentó, a partir de los reportes de los habitantes de la zona, la existencia de un zoocriadero aparentemente no autorizado en el embalse durante la década de 1990, en el cual se habrían mantenido en cautiverio individuos de *Ca. c. fuscus* procedentes de Magangué, en la costa Atlántica

colombiana, así como individuos provenientes de los Llanos Orientales colombianos, que podrían haber correspondido a *Caiman crocodilus crocodilus*. Según estos mismos reportes, el zoocriadero fue posteriormente afectado por un evento de inundación, situación que habría ocasionado el escape de algunos ejemplares hacia el embalse.

La coincidencia de estos antecedentes, particularmente el posible ingreso y posterior escape de individuos de diferentes procedencias, con la presencia actual de ejemplares que presentan patrones morfológicos atípicos en las escamas nucales, plantea interrogantes sobre el origen de esta variación y su posible manifestación morfológica. Entre las hipótesis que podrían considerarse se encuentran procesos genéticos y evolutivos, como la hibridación, así como fenómenos asociados con cuellos de botella poblacionales o endogamia. Por lo anterior, resulta importante adelantar estudios mediante marcadores moleculares ampliamente informativos que permitan caracterizar la composición genética de esta población y aportar evidencia para evaluar los posibles procesos históricos y evolutivos que hayan influido en su estructura genética y en la expresión de las características morfológicas observadas.

Por este motivo, nuestra intención fue determinar la variación, el flujo y la estructuración genética de la población silvestre presente en la represa, con el fin de relacionar esta información con variables ecológicas que permitieran explicar los patrones nucales atípicos observados en algunos individuos.

Metodología

Toma de muestras

Se realizaron salidas de campo en la represa Hidroprado, ubicada en el municipio de Prado, departamento del Tolima, Colombia. El muestreo se llevó a cabo en ocho (8) puntos distribuidos a lo largo y ancho de la represa: Bocas de Salero 1, Bocas de Salero 2, Corinto, El Caimán, Isla del Sol, Tafurito, Tomogó y Yucupí. La distribución de los transectos se presenta en la Figura 1.

Las capturas se realizaron de manera activa mediante pértiga con lazo de acero, pinza ofídica o captura manual, según el tamaño de los individuos, la distancia entre estos y la embarcación. Cada animal capturado fue marcado mediante el corte de hasta tres escamas caudales, siguiendo un patrón específico para su identificación individual y evitar recapturas inadvertidas, de acuerdo con las metodologías propuestas por Morales-Betancourt *et al.* (2013) y Seijas (2011). Para la asignación del número, las escamas caudales simples representaron las centenas, las escamas dobles caudales derechas las decenas y las escamas dobles caudales izquierdas las unidades (Domínguez Laso *et al* 2011). El material obtenido durante el marcaje fue almacenado en frascos con etanol al 96 % y conservado a −20 °C hasta su posterior utilización para la extracción de material genético.

Anotación y análisis de patrón de Escamas Nucales

El registro del patrón de escamas nucales se realizó in situ; posteriormente, se tomó una fotografía en vista dorsal como evidencia del patrón registrado. Los patrones fueron inspeccionados en cada individuo bajo la premisa de que la primera línea nucal correspondía a aquella más alejada de las escamas post-occipitales, mientras que la última correspondía a la más cercana a estas, siguiendo lo propuesto en CITES (1995). Para facilitar la lectura de cada patrón, este se escribió de izquierda a derecha, y cada línea que hace parte del esquema se separó mediante dos puntos, indicando el número de escamas que conforman cada línea (ej.: 2:2:4:4).

Con esta información se generó una base de datos que consistió en el número de marca del individuo, el sitio donde fue capturado y su correspondiente patrón de escamas nucales. Posteriormente, se calculó el índice de Shannon Weaver, con el fin de calcular la variabilidad de los patrones, tanto a nivel general como para cada uno de los sitios de captura. Adicionalmente, se desarrolló una prueba de Chi cuadrado, con el fin de saber si existían diferencias significativas entre los patrones nucales más comunes encontrados, siguiendo lo propuesto por Velasco y Roldan de sola (2022). Finalmente, para evaluar si existían diferencias en la distribución de los patrones nucales por sitio de captura, se construyeron tablas de contingencia y se llevó a cabo una prueba exacta de Fisher, debido a la presencia de frecuencias esperadas menores a cinco (5), la significancias se calculó mediante simulación de Monte Carlo (10.000

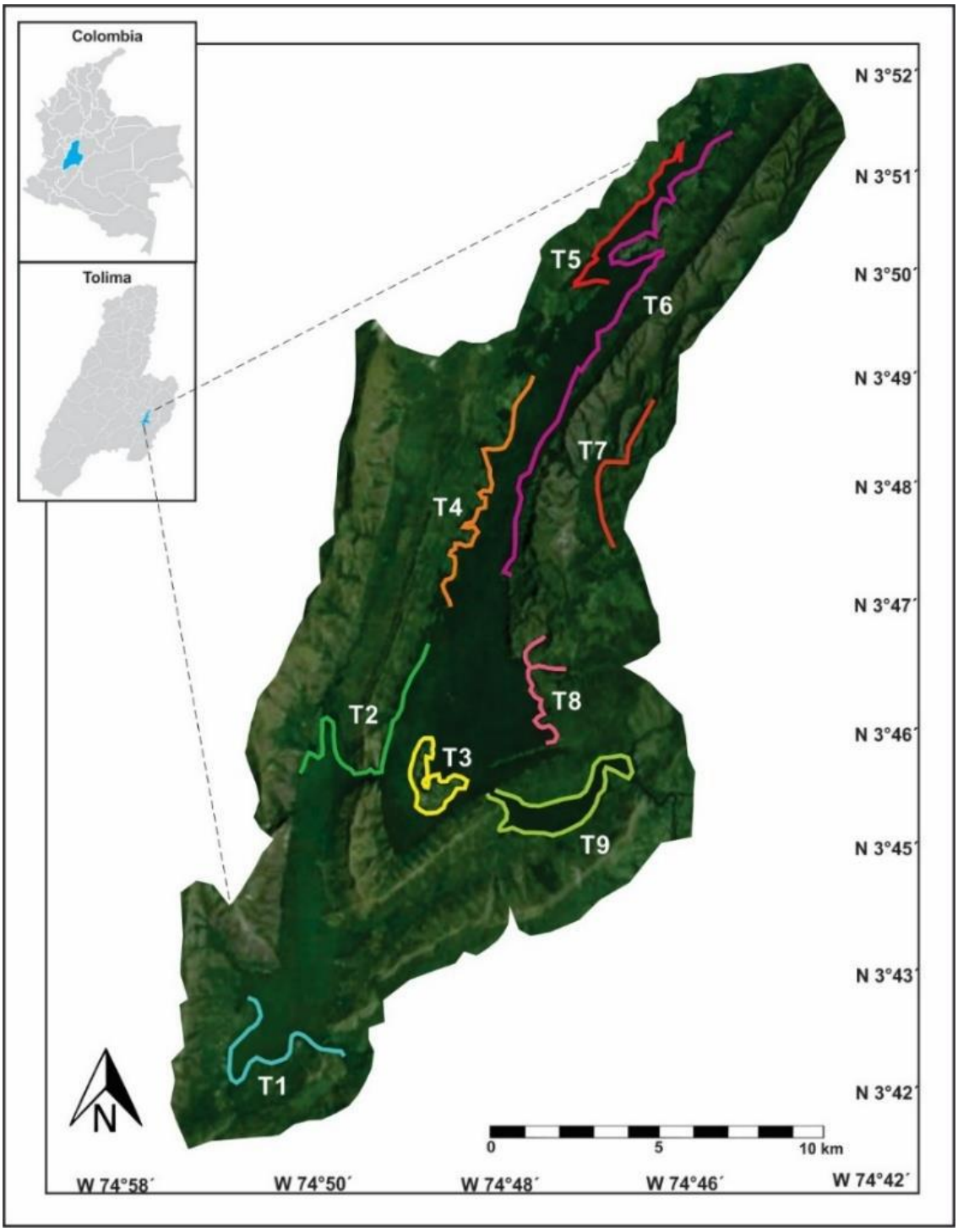


Figura 1. Ubicaron los transectos: Tomogó (T1), Corinto (T2), Isla del Sol (T3), San Buenaventura (T4), Bocas de Salero 1(T5), Bocas de Salero 2 (T6), Yucupí (T7), Tafurito (T8) y El Caimán (T9) (Mora-Rivera, 2020).

permutaciones). Los análisis se ejecutaron en el entorno R (v4.4.1) mediante las librerías tidyverse y vegan.

Extracción ADN Escamas

Se tomaron 200 µg de tejido de las escamas, se le agregaron 600 µL de buffer de lisis (10 mM Tris-Cl (pH 8,0); 1 mM EDTA (pH 8.0); 0,1 % (w/v) SDS) y se homogenizó golpeando suavemente el tubo, luego se adicionaron 3 µL de Proteinasa K (Stratec Molecular, Alemania) a la mezcla y se incubó durante 1 horas a 55°C en constante agitación. Posteriormente, se incubó a 94°C por 15 minutos para inactivar

la Proteinasa K. Se adicionó fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (PCI) (25:24:1) en una proporción de volumen 1:1 con la muestra y se mezcló por inversión de 5 a 7 veces, se centrifugó a 13500 rpm por 10 minutos a 4°C. La fase acuosa que contiene el ADN se transfirió a un tubo de 1,5 mL y la fase orgánica se descartó. Se adicionó cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) en una proporción de volumen 1:1, se mezcló por inversión y se incubó a 4°C por 5 minutos. Se centrifugó a 13500 rpm por 10 minutos a 4°C y se transfirió el sobrenadante a un tubo de 1,5 mL.

Para la precipitación, se adicionaron 1/10 de acetato de sodio 3M y se mezcló por inversión 4 veces. Posteriormente, se adicionaron etanol al 99% en una proporción de volumen 1:2 a -20°C, y se realizó la mezcla por inversión 4 veces. Luego se incubó durante 30 minutos a -20°C, seguido de una centrifugación a 14000 rpm durante 15 minutos a 4°C. Posterior a la centrifugación, se descartó el sobrenadante por inversión sobre una servilleta y se dejó secar el tubo por 5 minutos. Se lavó el pellet adicionando 1 mL de etanol al 75% a -20°C y se centrifugó a 14000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Se descartó el sobrenadante por inversión, de la misma manera que se describió anteriormente, y se retiró el remanente de sobrenadante con una pipeta de 10 µL, sin remover el pellet. El pellet se resuspendió en 20 µL de buffer TE (Stratec Molecular, Alemania) y se almacenó a -20°C.

PCR punto final

Se amplifico el gen mitocondrial *16S* utilizando los primers descritos en la Tabla 1.

La mezcla maestra para PCR se llevó a cabo en un volumen final de 25 µL, compuesta por 14.87 µL de agua destilada-desionizada, 5 µL de 5x Colorless GoTaq® Flexi Buffer, 1 µL de dNTPs (1.5 mM), 1 µL de cada primer (forward y reverse) (10 pmol /µL), 1 µL $MgCl_2$ (25 mM), 0.125 µL de la enzima GoTaq® G2 polymerase (Promega, Madison, USA) y 1 µL de la muestra de ADN. La amplificación de los fragmentos se llevó a cabo en un termociclador ProFlex™ 3 x 32-well PCR System (Thermo Fisher Scientific, USA), utilizando una desnaturalización inicial a 95°C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 segundos, anillaje a 55°C por 30 segundos, extensión a 72°C por 30 segundos y extensión final a 72°C por 7 minutos. Para el resultado final de la amplificación se utilizará electroforesis en gel de agarosa (PowerPac™ HC, Bio-Rad, USA), utilizando HydraGreen™ (ACTGene, Piscataway, NJ) como intercalante y utilizando el documentador de geles ENDURO™ GDS (Labnet International, Inc.), para el análisis del resultado.

Los productos de amplificación obtenidos fueron enviados a secuenciación de Sanger (Macrogen, Seúl, Korea).

Análisis genéticos

Se realizó un alineamiento Clustalw con las secuencias del gen 16S secuenciadas en el presente trabajo, una (1) secuencia referencia de *Caiman crocodilus* procedente de Venezuela, por lo cual asumimos que es parte de la línea genética de la subespecie *C.c. cocodrilus,* la cual fue extraída del genoma mitocondrial con código de acceso AJ404872 y una (1) secuencia de 16S, extraída del genoma mitocondrial de *Crocodylus acutus* con código de acceso HM636894, utilizado como outgroup. Posteriormente, se realizó un análisis para establecer el mejor modelo de sustitución de nucleotidos, utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC), con esta información se procedió a realizar el árbol filogenético basados en el algoritmos de Máxima Verosimilitud (MV). Los análisis de Máxima Verosimilitud se realizaron la herramienta online W-IQ-TREE (Trifinopoulos *et al* 2016) con el método de remuestreo de bootstrap de 10000 réplicas y un máximo de 10000 iteraciones aplicando también los modelos de sustitución establecidos para cada partición. Finalmente, se realizó y utilizó un alineamiento sin la presencia del outgroup (únicamente lo considerado como *C.c fuscus* y *Ca. c. crocodilus*) para construir una red de haplotipos en el programa PopArt (Leigh & Bryant, 2015) usando el algoritmo TCS

Tabla 1. Secuencia primers

Gen	Secuencia		Tm	GC%	Amplicon
16S	F	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	62.0	54.5	610 pb
	R	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	52.7	35	

(Clement et al., 2000), con la finalidad de visualizar con una mayor resolución las relaciones dentro y entre las poblaciones de Hidroprado y su distancia genética con aquellas utilizadas de referencia. Todos los análisis correspondiente a alineamientos y búsqueda de modelos de sustitución llevados a cabo mediante el software MEGA 12 (Kumar *et al* 2024)

Resultados

Patrones de escamación nucal

Al analizar los 91 individuos capturados, se identificaron 16 patrones nucales distintos, de los cuales solo siete (7) estuvieron presentes en más de un animal; los restantes nueve (9) solo estuvieron presentes en un animal cada uno. El patrón dominante fue 2:2:4:4 con el 46.15% del total de individuos evaluados, seguido por 2:4:4:4 con el 25.27%, 2:3:4:4 (7.69%), las disposiciones 2:2:4:3 y 2:3:4:3 (3.30% cada uno) y finalmente 2:3:4 y 2:4:4:2 con el 2.20% cada una, todos los demás representaron menos del 1.10% (Figura 2).

En cuanto a los sitios de captura, estos siguen la misma tendencia observada en la totalidad de los datos, en donde el patrón nucal 2:2:4:4 es el que presenta la mayor frecuencia al examinarlos individualmente, no obstante, es importante mencionar que este patrón compartió el mismo porcentaje de ocurrencia junto a las disposiciones 2:1:3:4:3 y 2:4:4:4 en el sitio conocido como Isla Cuba/Isla del Sol.

Nosotros realizamos un análisis de equidad de Shannon con el fin de determinar la equidad en la distribución de las diferentes disposiciones de escamación nucal de nuestra muestra, tanto a nivel global (toda la represa) como en cada uno de los sitios de captura (Tabla 2), encontrando que, para cada uno de los escenarios, la equidad es baja ($H' < 2$), lo que refuerza lo observado y mencionado anteriormente.

Asimismo, llevamos a cabo una prueba chi-cuadrado entre todos los patrones nucales encontrados encontrando diferencias significativas en la distribución de la frecuencia de patrones de escamas nucales al interior de la represa ($X^2 = 326.93$, $P<0.001$). También llevamos a cabo una prueba exacta de fisher, evidenciando que no se presentan diferencias significativas en la distribución de los patrones entre los sitios de captura ($P = 0.8372$).

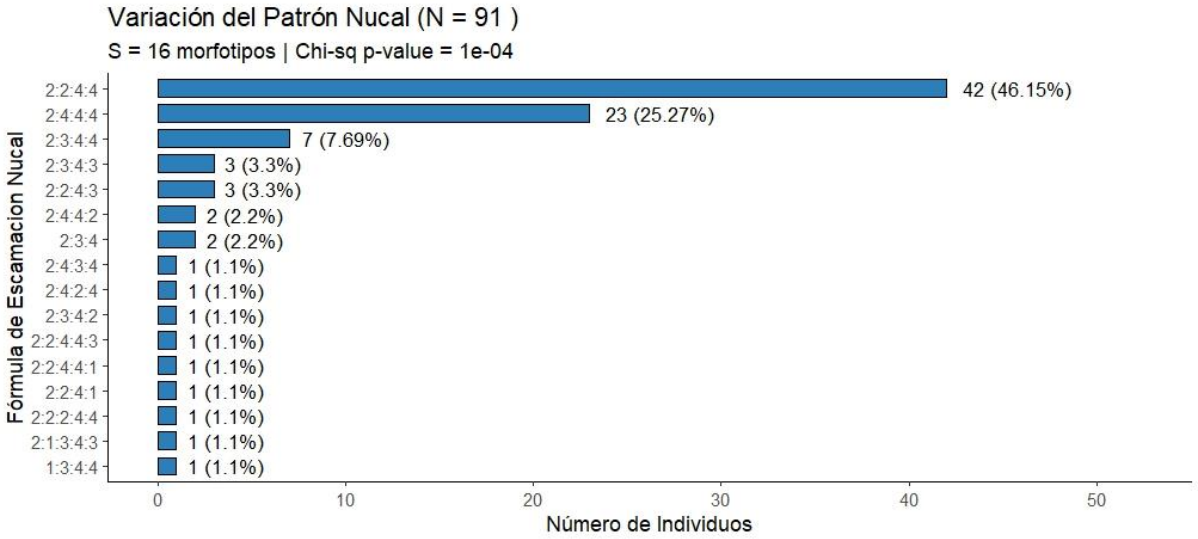


Figura 2. Histograma de frecuencia de los 16 patrones encontrados en 91 individuos de *Caiman crocodilus fuscus* en la represa Hidroprado, Tolima - Colombia.

Tabla 2. Valores del índice de shannon en la frecuencia de patrones nucales en los individuos presentes en la represa hidroprado, a nivel general y por localidad de captura.

Sitio	Shannon Weaver
Muestra completa	1,741
Tafurito /Angostura	1,796
Tomogó	1,484
Bocas de Salero 1	1,475
El Caimán	1,264
Bocas de salero 2	1,115
Isla Cuba/Isla del Sol	1,099
Yucupi/Corozales	0,956
Corinto	0

Datos genéticos

Se logró la amplificación y obtención de secuencias de alta calidad de seis (6) muestras de las 91 disponibles, lo que equivale al 6.6 % del total, esto se debió principalmente a la situación vivida como consecuencia de la pandemia del COVID-19, que impidió la utilización de laboratorios para estas actividades.

De acuerdo a los criterios de selección de modelos de sustitución de nucleótidos, el modelo más apropiado para las secuencias trabajadas fue GTR+I (General Time Reversible en inglés). El árbol filogenético de Máxima verosimilitud resultante, ubica todas las secuencias provenientes de la represa Hidroprado, como un solo clado, alejado de la secuencia asociada al linaje de *Ca. c. crocodilus* con la cual se comparó, evidenciando de esta forma, que todos los individuos evaluados pertenecen a un único linaje genético y no se encontraron evidencias para asegurar la presencia de más de un linaje (*C.c. fuscus y C.c. crocodilus*) al interior de la represa (Figura 3) y por ende asegurar el surgimiento de un Híbrido.

Así mismo al construir la red de haplotipos encontramos que la mayoría de los individuos evaluados pertenecientes a la represa, presentan un haplotipo único, exceptuando el individuo de la muestra 269, el cual está distanciado por un paso mutacional de todas las demás muestras que estarían conformando el clado de la represa. Por otro lado, los haplotipos de los individuos del departamento del Tolima estarían distanciados por cinco (5) pasos mutacionales con el haplotipo del individuo proveniente de Venezuela (Figura 4).

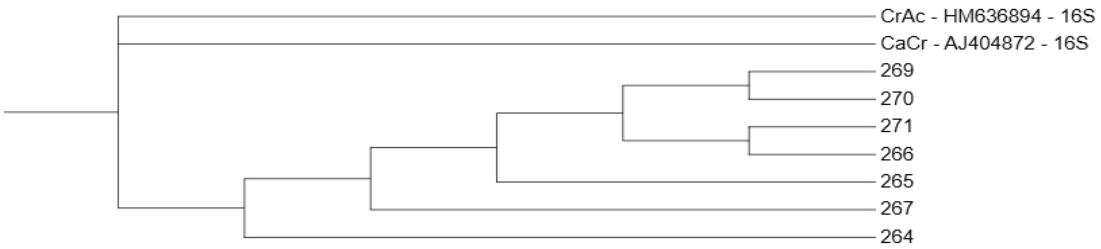


Figura 3. Árbol de Máxima verosimilitud para las relaciones filogenéticas de las secuencias de *Caiman crocodilus fuscus,* provenientes de la represa Hidroprado y las secuencias de referencia asociadas a *Caiman crocodilus crocodilus*. Muestras nombradas del 264-271 corresponden a secuencias del gen 16S provenientes de la represa de Hidroprado, CaCr corresponde a lo asumido como *Ca. c. crocodilus* y CrAc a la secuencia perteneciente a *Crocodylus acutus.*

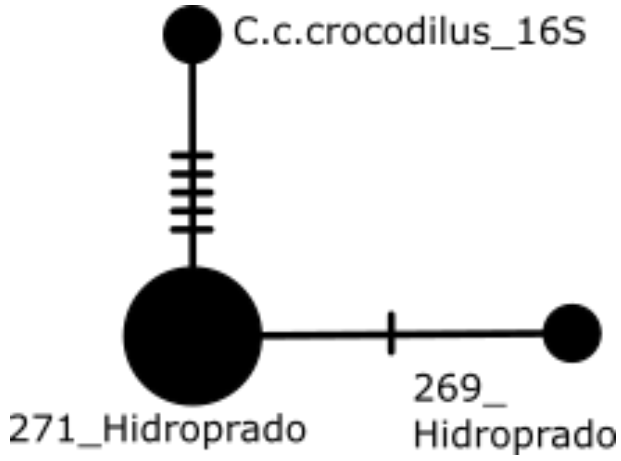


Figura 4. Red de haplotipos de individuos de *Caiman crocodilus* provenientes del departamento del Tolima (271, 269) y Venezuela (*Ca. c. crocodilus*)

Discusión

La información disponible sobre la variación de los patrones de escamas nucales en *Ca. c. fuscus* es limitada. Busack y Pandya (2001) documentaron al menos 29 patrones nucales para *Caiman crocodilus*, incluyendo tres de las subespecies reconocidas en ese momento (*Ca. c. crocodilus*, *Ca. c. chiapaseus* y *Ca. c. fuscus*). Sin embargo, hasta donde se ha podido establecer, son escasos los estudios que han abordado esta variación en poblaciones colombianas. En este sentido, el presente informe aborda la variación en la Configuración de las escamas nucales de una población de *Ca. c. fuscus* en Colombia.

En comparación con los datos contenidos en el trabajo de Busack y Pandya (2001), en este estudio se identificaron 16 patrones diferentes en 91 individuos, lo que corresponde al 55,17 % de los patrones reportados previamente para más de 200 individuos a lo largo de la distribución conocida de la especie *Caiman crocodilus*. Esta variación resulta relevante, considerando que el patrón nucal constituye un carácter morfológico utilizado frecuentemente para la identificación de la especie. Tomando como referencia que el patrón típico descrito para la subespecie *Ca. c. fuscus*, de acuerdo con la guía de identificación de CITES-Cocodrilos (CITES, 1995), corresponde a 2:2:4:4, en los individuos analizados se observó, en su mayoría, un aumento en el número de hileras que conforman la Configuración nucal, con un máximo de seis (6) hileras de escamas nucales. Asimismo, se observaron variaciones tanto en el número de escamas que conforman cada hilera como en su disposición, incluyendo inserciones abruptas de escamas en aquellas hileras con mayor número de escudos nucales (Figura 5). Estas variaciones permitieron identificar patrones de Configuración nucal que no habían sido reportados previamente para la especie.

La presencia de un alto número de patrones atípicos, en comparación con lo reportado para la especie, dentro de nuestra población de estudio fue lo que inicialmente nos llevó a preguntarnos si a nivel genético podría estar ocurriendo algún proceso que explicara la elevada cantidad de patrones nucales diferentes observados en los individuos de la represa. En principio, se buscó evaluar la hipótesis de la posible generación de un híbrido a nivel de subespecies, teniendo en cuenta que se ha demostrado que cada una de las subespecies reconocidas hace parte de un linaje evolutivo distinto (Venegas *et al.*, 2008). Por este motivo, se secuenció el gen mitocondrial 16S, propuesto como gen *barcode* para la delimitación de especies. A nuestro conocimiento, las secuencias obtenidas en este estudio constituyen las primeras generadas para la subespecie *Ca. c. fuscus*. Una de las principales dificultades encontradas fue la limitada información de referencia disponible para este gen en *Ca. c. fuscus*, debido a que en GenBank se encontraba disponible únicamente el mitogenoma de referencia utilizado para los análisis y algunas secuencias del gen 16S que no han sido publicadas ni sometidas a procesos de curaduría asociados a artículos científicos. No obstante, nuestros resultados fueron similares a los presentados por Díaz-Moreno *et al.* (2021), quienes utilizaron los genes mitocondriales citocromo c oxidasa I (COI) y citocromo *b* (CytB) y, al igual que en nuestro estudio, no encontraron linajes independientes al interior

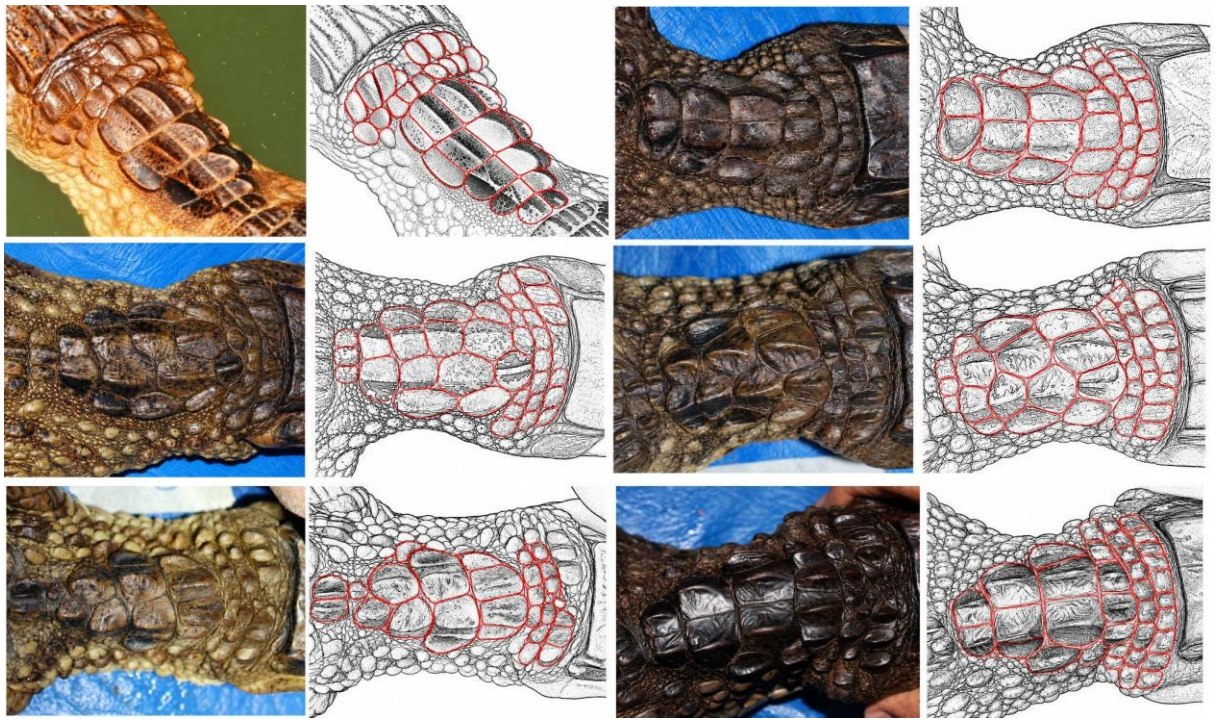


Figura 5. Nueve configuraciones más comunes de los escudos nucales de *Caiman crocodilus fuscus* en la presa Hidroprado

de la población de la represa de Prado (Hidroprado), en el departamento del Tolima. Estos resultados indican que los individuos analizados en la represa presentan afinidad con un mismo linaje mitocondrial y, por consiguiente, no se encontró evidencia que permita sustentar la presencia de un híbrido resultante del cruce entre dos subespecies distintas de *Caiman crocodilus*.

Finalmente, somos conscientes de que la utilización de marcadores moleculares biparentales, complementada con un análisis morfométrico más detallado, podría aportar nuevas evidencias que permitan corroborar la hipótesis inicial sobre la presencia de híbridos al interior de la represa o, por el contrario, generar elementos suficientes para descartarla y orientar la búsqueda hacia otros procesos que podrían estar influyendo en la generación de estos patrones atípicos, como la endogamia o un posible cuello de botella poblacional, así como factores ambientales que pudieran estar influyendo durante el desarrollo de los individuos. Esta posibilidad cobra especial relevancia si se considera que la represa constituye un ecosistema artificialmente aislado, cuya conformación ha generado una barrera física que limita la comunicación de la población de *Ca. c. fuscus* presente en Hidroprado con otras poblaciones de la especie en la región. En este sentido, comprender los procesos asociados con la variación observada resulta fundamental para orientar futuras acciones de conservación y manejo de esta población, particularmente por encontrarse en el mayor cuerpo de agua del departamento del Tolima y constituir una población significativa de *Ca. c. fuscus* a escala local y regional.

Agradecimientos

Agradecemos al Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular de la Universidad del Tolima y al grupo de Grupo de Especialistas de Cocodrilos de UICN-CSE por la asistencia financiera para el desarrollo de este trabajo.

Referencias

Busack, S. D., & Pandya, S. (2001). Geographic variation in *Caiman crocodilus* and *Caiman yacare* (Crocodylia: Alligatoridae): Systematic and legal implications. *Herpetologica*, *57*(3), 294–312.

CITES. (1995). CITES Identification Guide – Crocodilians: Guide to the Identification of Crocodilian Species Controlled under the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Environment Canada, Ottawa y CITES Secretariat, Ginebra.

Clement, M., Posada, D., & Crandall, K. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, *9*(1), 1657–1659.

Diana M. Díaz-Moreno, Felipe Hernández-Gonzalez, Juan F. Moncada-Jimenez, Cristina Mora, Carlos Prada, Gonzalo Jiménez-Alonso & Sergio A. Balaguera-Reina (2021) Molecular characterization of the spectacled caiman (Caiman crocodilus) in the upper Magdalena River basin, Colombia: Demographic and phylogeographic insights, Systematics and Biodiversity, 19:8, 1040-1048, DOI: 10.1080/14772000.2021.1968975

Domínguez Laso, J., Hinojosa Falcón, O. & Padilla Paz, S. (2011). Método de marcaje y recaptura de ejemplares (MRE). En: Sánchez Herrera O., G. López Segurajáuregui, A. García Naranjo Ortiz De La Huerta y H. Benítez Díaz. Programa de Monitoreo del Cocodrilo de Pantano (Crocodylus moreletii) México-Belice-Guatemala. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

Janke, A., Erpenbeck, D., Nilsson, M., & Arnason, U. (2001). The mitochondrial genomes of the iguana (Iguana iguana) and the caiman (Caiman crocodylus): implications for amniote phylogeny. *Proceedings. Biological sciences*, *268*(1467), 623–631. https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1402

Kumar S., Stecher G., Suleski M., Sanderford M., Sharma S., & Tamura K. (2024). Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution* 41:1-9.

Larriera, A., Webb, G., Velasco, A., Rodríguez, M. & Ortiz, B. (2004). Final report mission to Colombia. IUCN- SSC Crocodile Specialist Group (CGS).

Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). popart: full-feature software for haplotype network construction. Methods in Ecology and Evolution, 6(9).

Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. (2011). Resolución 1735: por la cual se establece el plan de manejo de la de la Represa HIDROPRADO. Santa Fe de Bogotá.

Mora Rivera, N. C. (2020). Estado poblacional, distribución y evaluación de hábitat para el establecimiento de perspectivas de manejo de la babilla (*Caiman crocodilus fuscus*) en la represa hidroeléctrica del río Prado en el departamento del Tolima [Tesis doctoral, Universidad del Tolima].

Morales Betancourt, M. A., Lasso, C. A., De La Ossa, V J. & Fajardo Patiño, A. (2013). 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, 336 p.

Seijas, A. E. (2011). Los Crocodylia de Venezuela: Ecología y Conservación. Colección Estudios. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, Venezuela.

Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. Nucleic Acids Research, 44, W232–W235.

Velasco, A., & De Sola, R. (2022). Variaciones en el patrón de las escamas postoccipital y nucal en *Crocodylus intermedius* (Caimán del Orinoco). *Boletín de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales*, *82*(1), 19–23.

Venegas-Anaya, M., Crawford, A. J., Escobedo Galvan, A. H., Sanjur, O. I., Densmore, L. D., & Bermingham, E. (2008). Mitochondrial DNA phylogeography of *Caiman crocodilus* in Mesoamerica and South America. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, *309A*(10), 614–627.