

Informe final* del Proyecto NE017
Establecimiento de un programa de manejo genético para las especies *Dermatemys mawii* (tortuga blanca) y *Trachemys venusta* (tortuga hicotea) en Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMA) para favorecer el flujo genético y la conectividad del Corredor Biológico Mesoamericano en Tabasco*

Responsable: Dra. Julia María Lesher Gordillo
Institución: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Dirección: Km. 0.5 carretera Villahermosa-Cárdenas entronque Bosque de Saloya, Villahermosa, Tab, 86000, México
Teléfono/Fax: (993) 3581500 ext. 6466
Fecha de inicio: Octubre 30, 2016.
Fecha de término: Noviembre 4, 2019.
Principales resultados: Informe final.
Forma de citar el informe final y otros resultados:** Lesher Gordillo, J. M. 2019. Establecimiento de un programa de manejo genético para las especies *Dermatemys mawii* (tortuga blanca) y *Trachemys venusta* (tortuga hicotea) en Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMA) para favorecer el flujo genético y la conectividad del Corredor Biológico Mesoamericano en Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. **Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. NE017.** Ciudad de México.

Resumen:

Muchas de las especies de tortugas dulce acuícolas a nivel mundial están amenazadas o en peligro de extinción, debido a destrucción o fragmentación de su hábitat, contaminación y sobreexplotación para consumo de su carne, uso como mascotas o medicina tradicional, de forma tal que la única forma de asegurar su sobrevivencia es la propagación de individuos en cautiverio. Por lo que, las UMAs's (Unidades de Manejo para la conservación de Vida Silvestre) son alternativas viables que permiten la conservación, reproducción y propagación de especies silvestres. Sin embargo, es importante tomar en cuenta consideraciones genéticas para mantener la variabilidad genética dentro de las UMAs. El papel que juega la Genética en la Conservación es muy importante principalmente para el manejo organismos en cautiverio, ya que este tipo de poblaciones son más susceptibles a presentar depresión consanguínea o endogamia, que surge como el resultado de apareamientos entre parientes cercanos, además de que los niveles más bajos de diversidad genética reducirán la aptitud y la capacidad de adaptación a largo plazo a las poblaciones naturales. Por lo que el establecimiento de un manejo genético en UMAs de tortugas para las especies *Dermatemys mawii* y *Trachemys venusta*, en el corredor Mesoamericano, puede ayudar a minimizar los efectos negativos del cautiverio, permitiendo retornar al medio silvestre organismos genéticamente saludables, que se integran a las poblaciones naturales sin riesgo de depresión genética.

-
- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
 - ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.



a) Nombre de la consultoría: Establecimiento de un programa de manejo genético para las especies *Dermatemys mawii* (tortuga blanca) y *Trachemys venusta* (tortuga hicotea) en Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMA) para favorecer el flujo genético y la conectividad del Corredor Biológico Mesoamericano en Tabasco

INFORME FINAL: 15 DE noviembre de 2018

Número de contrato: NE017

Nombre del consultor: UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO (UJAT)

Investigadora responsable: Dra. Julia María Lesher Gordillo. División Académica de Ciencias Biológicas. UJAT

Tipo de reporte o producto que corresponde con los entregables descritos en los Términos de Referencia (Parcial o Final): **INFORME FINAL**

Número y tipo de productos entregados: Un informe técnico electrónico, con Anexos técnicos y fotográficos.

Jueves 15 de noviembre de 2015



b) INDICE TEMATICO.

1. RESUMEN EJECUTIVO	5
2. INTRODUCCIÓN.	8
3. OBJETIVOS	10
3.1. Objetivo General	10
3.2. Objetivos particulares	10
4. MÉTODOS	10
4.1. Consideraciones generales para <i>Dermatemys mawii</i>	10
4.1.1. Distribución geográfica de <i>D. mawii</i>	11
4.1.2. Estado de Conservación de <i>D. mawii</i>	11
4.2. Consideraciones generales para <i>Trachemys venusta</i>	12
4.2.1. Distribución geográfica de <i>T. venusta</i>	12
4.2.2. Estado de conservación de <i>T. venusta</i>	13
4.3. MUESTREO	14
4.3.1. Muestreo de <i>Dermatemys mawii</i>.	16
4.3.1.1. Descripción de los sitios de muestreo	16
4.3.1.1.1. UMAS	16
4.3.1.1.2. Poblaciones de vida libre	20
4.3.1.2. Captura de Organismos de <i>Dermatemys mawii</i>	21
4.3.1.2.1. Muestreo y captura de poblaciones en cautiverio (UMA).de <i>Dermatemys mawii</i>	21
4.3.1.2.2. Muestreo y captura de individuos silvestres de <i>D. mawii</i>. ..	22
4.3.1.2.2.1. Captura y toma de datos morfométricos de <i>D. mawii</i>	23
4.3.1.2.2.2. Toma de Muestras de Tejido para <i>D. mawii</i>	24
4.3.2. Muestreo de los organismos pertenecientes a <i>Trachemys venusta</i>	25
4.3.2.1. Descripción de los sitios de muestreo para <i>Trachemys venusta</i>	25
4.3.2.1.1. Muestreo y captura de poblaciones en cautiverio (UMA).de <i>T. venusta</i>	26
4.3.2.1.2. Muestreo y captura de individuos silvestres de <i>T. venusta</i>.	28
4.3.2.1.2.1. Captura y toma de datos morfométricos de <i>T. venusta</i> ..	28
4.3.2.1.2.2. Toma de Muestras de Tejido de <i>Trachemys venusta</i>	30
4.4. Extracción de ADN Genómico de <i>D. mawii</i> y <i>T. venusta</i>	30



4.4.1. Método 1. Extracción de ADN mediante el protocolo de Resina de Chelex100 (Walsh et al. 1991, HwangBo et al. 2010) para <i>D. mawii</i> y <i>T. venusta</i>	31
4.4.2. Método 2. Extracción de ADN con el DNeasy Blood and Tissue kit (QIAGEN) (Valencia CA USA) para <i>Dermatemys mawii</i>	31
4.4.3. Método 3. Extracción de ADN con lisis celular/fenol-cloroformo-alcohol para <i>Dermatemys mawii</i>	32
4.5. Prueba de Amplificación de ADN, por medio de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para <i>D. mawii</i> y <i>T. venusta</i>	33
4.6. Cuantificación de ADN (Nanodrop).....	33
4.7. Amplificación de ADN Genómico por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	34
4.7.1. Amplificación de ADN para <i>D. mawii</i>	34
4.7.2. Amplificación del ADN de <i>T. venusta</i>	35
5. ANÁLISIS DE DATOS	37
5.1. Diversidad Genética.	37
5.2. Estructura Genética.....	38
5.3. Análisis de parentesco	40
6. RESULTADOS.....	41
6.1. <i>Dermatemys mawii</i>	41
6.1.1. Diversidad Genética de <i>Dermatemys mawii</i>	41
6.1.2. Estructura Genética para <i>Dermatemys mawii</i>	44
6.1.3. Análisis de parentesco de <i>D. mawii</i>	48
6.2. <i>Trachemys venusta</i>	49
6.2.1. Diversidad Genética de <i>Trachemys venusta</i>	49
6.2.2. Estructura Genética para <i>Trachemys venusta</i>	51
6.2.3. Análisis de parentesco de <i>T. venusta</i>	53
7. RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS.....	53
7.1. <i>Dermatemys mawii</i>	53
7.2. <i>Trachemys venusta</i>	58
7.3. Análisis de paternidad.....	60
8. CONCLUSIONES.....	61
9. REFERENCIAS O BIBLIOGRAFÍAS	63
10. ANEXOS.....	71
10.1. Tablas apareamiento recomendados para <i>Dermatemys mawii</i> .71	71
10.2. Presentaciones power point proyecto	71
10.3. Cuantificación de DNA <i>Dermatemys mawii</i> .y <i>Trachemys venus</i> 71	71
10.4. Correos de envió articulo científico	71
10.5. Mapa localidades de muestreos.....	71
10.6. Noticia, saqueo UMA de tortuga del estado de Tabasco.....	71
10.7. Tabla de microsátélites	71
10.8. Programa de manejo genético <i>Dermatemys mawii</i>	71



10.9. Programa de manejo genético <i>Trachemys venusta</i>	71
10.10. Archivo fotográfico <i>Dermatemys mawii</i>	71
10.11. Archivo fotográfico <i>Trachemys venusta</i>	71
10.12. Archivo fotográfico general del proyecto	71
11. ÍNDICES DE FIGURAS, TABLAS Y MAPAS.....	72



1. RESUMEN EJECUTIVO

Muchas de las especies de tortugas dulce acuícolas a nivel mundial están amenazadas o en peligro de extinción, debido a destrucción o fragmentación de su hábitat, contaminación y sobreexplotación para consumo de su carne, uso como mascotas o medicina tradicional, de forma tal que la única forma de asegurar su sobrevivencia es la propagación de individuos en cautiverio. Por lo que, las UMA (Unidades de Manejo para la conservación de Vida Silvestre) son alternativas viables que permiten la conservación, reproducción y propagación de especies silvestres. Sin embargo, es importante tomar en cuenta consideraciones genéticas para mantener la variabilidad genética dentro de las UMAs.

El papel que juega la Genética en la Conservación es muy importante principalmente para el manejo organismos en cautiverio, ya que este tipo de poblaciones son más susceptibles a presentar depresión consanguínea o endogamia, que surge como el resultado de apareamientos entre parientes cercanos, además de que los niveles más bajos de diversidad genética reducirán la aptitud y la capacidad de adaptación a largo plazo a las poblaciones naturales. Por lo que el establecimiento de un manejo genético en UMA de tortugas para las especies *Dermatemys mawii* y *Trachemys venusta*, en el corredor Mesoamericano, puede ayudar a minimizar los efectos negativos del cautiverio, permitiendo retornar al medio silvestre organismos genéticamente saludables, que se integran a las poblaciones naturales sin riesgo de depresión genética.

En esta investigación, se tuvo como objetivo principal el establecimiento de un programa de manejo genético para dos especies de tortugas dulceacuícolas, *Dermatemys mawii* y *Trachemys venusta*, en tres UMAs en el estado de Tabasco, con la finalidad de garantizar que la diversidad genética de las especies estudiadas permanezca lo más cercana posible a la de los organismos de la misma especie en vida silvestre. Para lo cual determinamos la diversidad y la estructura genética de los individuos fundadores de *Dermatemys mawii* en 3 UMAs y *Trachemys venusta* en una UMA en el Estado de Tabasco, usando microsatélites. Se comparó la diversidad y estructura genética de *Trachemys venusta* y *Dermatemys mawii* en poblaciones silvestres y cautivas. Así también se analizaron las relaciones de parentesco en las poblaciones cautivas para seleccionar los mejores organismos para el plan de manejo genético.

Para esto se llevó a cabo el muestreo de 185 individuos de *Dermatemys mawii*, 117 de las UMAs y 68 de vida silvestre. De *Trachemys venusta* se muestreó un total de 131 individuos, 86 de las UMAs y 45 de vida silvestre. De todos los individuos se tomaron muestras de piel de la membrana interdigital de una pata



trasera, la zona en donde se realizó la toma de muestra se desinfectó para evitar infecciones posteriores. Las muestras se mantuvieron en frío para evitar la degradación del material genético y fueron transportadas al laboratorio de Genómica de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. En donde se extrajo ADN de ellas con el kit DNeasy Blood and Tissue de QIAGEN. Para la amplificación del ADN se usaron 10 microsatélites en el caso de *Dermatemys mawii* y 14 microsatélites para *Trachemys venusta*. Los productos de PCR obtenidos fueron visualizados y fotodocumentados para su análisis posterior y estimar los parámetros de Diversidad y Estructura Genética.

La Diversidad Genética fue estimada por medio del número de alelos (N_a), Número efectivo de alelos (N_E), Heterocigosidad observada (H_o), Heterocigosidad esperada (H_E), así como el nivel de endogamia fueron obtenidos usando del programa GENALEX 6.502, el contenido de información polimórfica (PIC) usando el programa CERVUS 3.0.7. Además, el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) por déficit de heterocigotos, el cual fue obtenido con el programa GENEPOP. El tamaño efectivo de la población (N_E) usando el programa NEESTIMATOR 2.1.

La Diferenciación Genética de las poblaciones por lo valores de F_{ST} , obtenidos por medio de GENALEX 6.502. El programa STRUCTURE fue usado para determinar los grupos o clusters de las poblaciones por medio del valor de K . Para obtener los mejor individuos destinados al manejo genético en las UMAs, se estimaron las relaciones de parentesco por medio de los programas STORM y ML-RELATED. Para dar mayor fortaleza a la selección de los individuos y evitar endogamia analizamos las relaciones internas (IR), así como la homocigosidad por loci (HL).

Los parámetros de diversidad genética demuestran que las poblaciones cautivas presentan diferenciación genética con las poblaciones silvestres en las dos especies, así también las poblaciones de UMAs presentan una mayor diversidad genética que las silvestres, lo que puede deberse a una disminución de la diversidad genética en las poblaciones de vida libre debido a la caza, fragmentación del hábitat y contaminación. Debido a los altos índices de parentesco entre los individuos de las UMAs, se seleccionaron los individuos sin relación y baja homocigosidad para iniciar un programa de manejo genético con fines de reintroducción de individuos a vida silvestre e incorporación de alelos que se hayan perdido en las poblaciones silvestres.

Se proponen a partir de esto las mejores parejas para iniciar un plan de manejo genético, con menor probabilidad de estar emparentadas y disminuir el riesgo de endogamia en sus descendientes. Sin embargo, debido a que los individuos no emparentados en las dos especies son pocos; pueden ser insuficientes para



reproducción y conservar la diversidad genética en las siguientes generaciones, ya que las poblaciones pequeñas son más propensas a presentar depresión por endogamia, así como a presentar efecto fundador en la que se pierden alelos representativos de las poblaciones silvestres. Por eso se sugiere en medida de lo posible la incorporación de nuevos individuos de vida libre a las UMAs, los cuales deben de ser genotipificados previamente para conocer su nivel de parentesco.

Así también se proponen en las dos especies mantener dos líneas diferentes de los organismos altamente emparentados (FS) y (HS), una línea destinada al aprovechamiento, así como a investigación y una línea destinada a los programas de reintroducción a vida silvestre. Sin embargo, es necesario mantener un programa continuo de evaluación de los descendientes. Evitando la reproducción de generaciones traslapadas (padre-hijos) para evitar apareamientos relacionados. Así también se recomienda, para la formación de las nuevas UMAs la donación de organismos procedentes de una sola generación como ocurre actualmente, ya que se iniciarían con organismos altamente relacionados.

Para poder llevar a cabo el programa de manejo genético es necesario hacer adecuaciones físicas en las UMAs como la separación de los grupos destinados a aprovechamiento y reintroducción en diferentes estanques. También proponemos el intercambio de individuos no emparentados entre UMAs, para favorecer la conectividad en el corredor biológico Mesoamericano en Tabasco.



2. INTRODUCCIÓN.

Actualmente, el mundo se enfrenta a una mayor y más rápida pérdida de biodiversidad (Valiente-Banuet et al. 2015) como resultado principalmente de actividades antropogénicas, que han provocado cambio climático, pérdida de hábitat, presencia de especies invasoras, contaminación y degradación del hábitat entre otras. Debido a esto los programas de reproducción en cautiverio de especies en algún tipo de riesgo son prioritarias para la conservación (Miller et al. 2018). En México se han desarrollado Unidades de manejo para la conservación de vida silvestre (UMA) (Valdez et al. 2006; Weber et al. 2006) que tienen como objetivo favorecer un manejo adecuado y económicamente viable de los recursos de vida silvestre (fauna y flora) con fines de conservación, rescate y preservación (SEMARNAT 1997). Las UMAs tienen un amplio tipo de actividades como investigación, recreación, educación ambiental y comercialización de subproductos de vida silvestre que están sujetos a las leyes regulatorias (Valdez et al. 2006). Además, la creación de las UMAs ha favorecido el desarrollo de corredores biológicos donde las UMAs están interconectadas con las áreas naturales protegidas, así como sitios donde se realizan acciones de uso sustentable de las especies y que permiten mejorar la conservación de la biodiversidad. Desafortunadamente, los aspectos genéticos relacionados con la cría en cautividad son poco considerados en el manejo de la UMA, lo que podría resultar en el fracaso de estos programas.

Uno de los principales objetivos de los programas de reproducción en cautiverio es obtener y mantener una pequeña población con niveles elevados de variabilidad genética (Ballou y Lacy 1995). Generalmente, las poblaciones para la reproducción en cautiverio son pequeñas y establecidas a partir de unos pocos organismos fundadores, lo cual puede hacer a estas poblaciones sensibles a cambios en su estructura y variabilidad genética, como pérdida de la diversidad genética, depresión endogámica, acumulación de nuevas mutaciones deletéreas y adaptación genética al cautiverio (Williams y Hoffman, 2009).

Sin embargo, consideraciones genéticas como diversidad genética de los fundadores y su descendencia o relaciones de parentesco, son uno de los aspectos menos considerados en el establecimiento y manejo de las UMAs. En México, los estudios genéticos para mejorar el manejo genético de las poblaciones cautivas son realmente escasos.

Dentro los vertebrados, las tortugas se encuentran entre los grupos más amenazados y con mayor número de especies en algún tipo de riesgo. (Turtle Conservation Coalition, 2018). En México y particularmente en Tabasco, debido



a la explotación sin control para usos comerciales y consumo, aunado a la pérdida de hábitat, muchas especies de tortugas están consideradas en algún tipo de riesgo y están enlistadas en la Norma Oficial Mexicana, NOM-059-SEMARNAT-2010 la cual establece la protección del ambiente y especies nativas de flora y fauna, considerando las siguientes categorías; en peligro de extinción, amenazada, bajo protección especial y probablemente extinta en vida libre.

La tortuga hicoitea, *Trachemys venusta* (previamente conocida como *T. scripta venusta* (Flores-Villela y Canseco-Márquez, 2004) está clasificada como "sujeta a protección especial" (SEMARNAT 2010) y la tortuga blanca *Dermatemys mawii* está incluida en la lista roja de especies amenazadas como "críticamente en peligro de extinción (Vogt et al. 2006). En México esta especie está clasificada como "en peligro de extinción" y en los Estados Unidos está enlistada en la ESA (Diario Oficial de la Federación, 2010; USFWS, 2016).

Las herramientas moleculares permiten identificar el origen de los individuos cuyo origen se desconoce (p. Ej., Confiscación de mascotas, incautación de organismos procedentes de venta ilegal) utilizando, por ejemplo, la asignación genética implementada en el software STRUCTURE, así como inferir la relación entre individuos fundadores cautivos (Miller et al. al. 2018). Para un manejo adecuado de los programas de reproducción en cautiverio, el conocimiento de la relación entre los individuos es fundamental para el éxito, ya que permite minimizar el parentesco promedio y permitir conservar el máximo de la variación genética (revisión en Miller et al. 2018).

En esta investigación, la genética de los organismos fundadores de *T. venusta* en una de las UMA de Tabasco y en tres UMA para *D. mawii* fue caracterizada y comparadas con la de organismos de vida libre, con el propósito de establecer un plan de manejo genético eficiente, que asegure los apareamientos entre organismos sin parentesco, para así mantener una variabilidad genética adecuada en los organismos de las UMA y optimizar los programas de reintroducción a vida libre, minimizando el riesgo de depresión genética en las poblaciones receptoras. Considerando esto los objetivos particulares fueron: (1) Determinar la diversidad genética de los organismos fundadores de una UMA en *Trachemys venusta* y la diversidad genética de *Dermatemys mawii* en tres UMAs y comparar estas con individuos de vida libre. , (2) Evaluar la estructura genética intra e inter poblacional considerando UMAs y vida libre (3) Determinar las relaciones de parentesco entre machos y hembras de las UMAs evaluadas y (4) Discusión de nuestros resultados y establecimiento de manejo genético y perspectivas para la conservación.



3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Establecer un programa de manejo genético para dos especies de tortugas dulceacuícolas, *Dermatemys mawii* y *Trachemys venusta*, en tres UMAs en el Estado de Tabasco, con la finalidad de garantizar que la diversidad genética de las especies estudiadas permanezca lo más cercana posible a la de los organismos de la misma especie en vida silvestre.

3.2. Objetivos particulares

- Determinar la variabilidad genética de los individuos fundadores de *Dermatemys mawii* en 3 UMAs y *Trachemys venusta* en una UMA en el Estado de Tabasco.
- Conocer la variabilidad genética de las poblaciones silvestres de *Trachemys venusta* y *Dermatemys mawii*.
- Establecer la relación de la diversidad genética entre poblaciones silvestres y cautivas.
- Plantear estrategias y acciones para aumentar y posteriormente mantener la diversidad genética de los individuos en cautiverio de las 3 UMAs del estado de Tabasco.

4. MÉTODOS

4.1. Consideraciones generales para *Dermatemys mawii*

La tortuga blanca (*D. mawii*) es la tortuga de agua dulce más grande de Mesoamérica, siendo la única representante viviente de la familia Dermatemydidae. Se sabe que los organismos de esta especie son de tamaño grande, llegando a medir hasta 60 cm de longitud del caparazón y pesar 22 kg (Zenteno et al. 2001).

El caparazón es muy ancho y aplanado, compuesto por cinco escudos vertebrales, cuatro pares costales, 12 pares marginales y un escudo nual, con dimensiones de largo total del caparazón que van de 342-480 mm para hembras y 342-450 mm para machos. El color del caparazón puede variar de gris claro a gris olivo, sus extremidades son fuertes y aplanadas con amplias membranas interdigitales, su color de piel es gris oscuro, en etapa adulta los machos tienen en la cabeza



manchas amarillas vermiforme de color amarillo ocre a los lados que forman un triángulo de las fosas nasales hasta la zona occipital (Moll 1989). En la parte lateral las hembras presentan un color grisáceo en la cabeza con tonalidades pardas (Iverson y Mittermeier 1980). Las crías y jóvenes presentan una quilla media en el caparazón que usualmente desaparece con la edad. (Juárez 2008; Zenteno 2001).

4.1.1. Distribución geográfica de *D. mawii*

Esta especie se distribuye en el sureste mexicano en los estados de Veracruz, Chiapas, Oaxaca, Tabasco y al sur de la Península de Yucatán llegando a los países de Guatemala y Belice (Calderón-Mandujano 2008).

4.1.2. Estado de Conservación de *D. mawii*

Dermatemys mawii es la especie con mayor riesgo de desaparecer en México. A nivel mundial, esta tortuga se ubica dentro del top 25 de las tortugas dulce acuícolas y terrestres más amenazadas del mundo (Turtle Conservation Coalition 2018); A nivel internacional, la IUCN la tiene en estatus de peligro crítico y la CITES la ubica en la categoría II de aprovechamiento. En México, la Nom-59-semarnat-2010 la categoriza como especie en peligro de extinción y la CONABIO la considera como especie prioritaria para su conservación (Macip-Ríos et al. 2015).

El motivo que ha llevado a la reducción de las poblaciones en la tortuga blanca, son la caza excesiva, debido a que su carne es muy apreciada para consumo humano, así como la fragmentación y deterioro de su hábitat por parte de actividades humanas. El perder a la tortuga blanca, no solo representa perder una especie, sino también a toda una familia, debido a que esta tortuga es la última especie de la familia Dermatemydidae.



4.2. Consideraciones generales para *Trachemys venusta*

La tortuga hicotea (*T. venusta*) es una especie grande, alcanza una longitud de caparazón de 40 cm. El carapacho es elíptico, arqueado o aplanado; con 11 o 12 escudos marginales a cada lado. El plastrón presenta 12 escudos; el puente es de naturaleza ósea. Poseen de 4 a 5 dedos con membranas interdigitales (Lee, 1996).

La región ventral de los escudos marginales, al igual que los dorsales, presentan ocelos tanto en la parte anterior como en la posterior. El plastrón es escotado en la región posterior, la ornamentación plastral es una figura elipsoidal simétrica con doble contorno. La cabeza tiene un morro obtuso, se caracteriza por ser de color pardo oliváceo o pardo oscuro, con líneas amarillas que parten del morro. La coloración del carapacho es olivo oscuro con líneas irregulares de color amarillo y naranja y algunas veces negras. En las extremidades anteriores y posteriores poseen líneas negras y amarillas. Los machos poseen uñas largas en las extremidades anteriores y la cola más alargada y gruesa que las hembras. Las hembras son más grandes que los machos, llegando a pesar hasta 3.5 kg. (Zenteno, 1993).

4.2.1. Distribución geográfica de *T. venusta*

Esta especie es de amplia distribución en México, principalmente en las vertientes del Pacífico y del Golfo de México. Se encuentra reportada para los estados de la Península de Baja California; Chihuahua, Coahuila, Sonora, Sinaloa, Tamaulipas, Nuevo León, San Luis Potosí, Durango, Nayarit, Michoacán, Jalisco, Guerrero, Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Chiapas, Campeche, Quintana Roo y Yucatán. (Lee, 1996).

Trachemys venusta, descrita por Gray en 1856, se considera endémica del sureste de México y América Central. Anteriormente *Trachemys venusta* era considerada como una subespecie de *Trachemys scripta*, pero en el 2004 cambia a categoría de especie (Flores-Villela y Canseco-Márquez 2004).



4.2.2. Estado de conservación de *T. venusta*

En la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 se ubica en Protección especial (Pr), y la IUCN la ubica en la categoría de Preocupación menor (LC); sin embargo, la importancia económica que representa esta especie debido a su fácil crianza en cautiverio, la convierte en una especie ideal para implementar programas de manejo genético enfocados a la explotación comercial de manera sustentable.



4.3. MUESTREO

Tabla 1. Número de individuos capturados por UMA y población silvestre para la especie *Dermatemys mawii*

<i>Dermatemys mawii</i>							
UMA			Población silvestre			Total de individuos	
La Encantada	Estado de Tabasco	CICEA-UJAT	Tabasquillo	Río Mezcalapa	Laguna el Chochal		
Total de individuos	67	28	22	37	8	23	185

Tabla 2. Número de individuos capturados por UMA y población silvestre para la especie *Trachemys venusta*

<i>Trachemys venusta</i>					
UMA	Población silvestre			Total de individuos	
Estado de Tabasco	Bosque de Saloya	La Venta	R/A Miguel Hidalgo		
Total de individuos	86	12	29	4	131



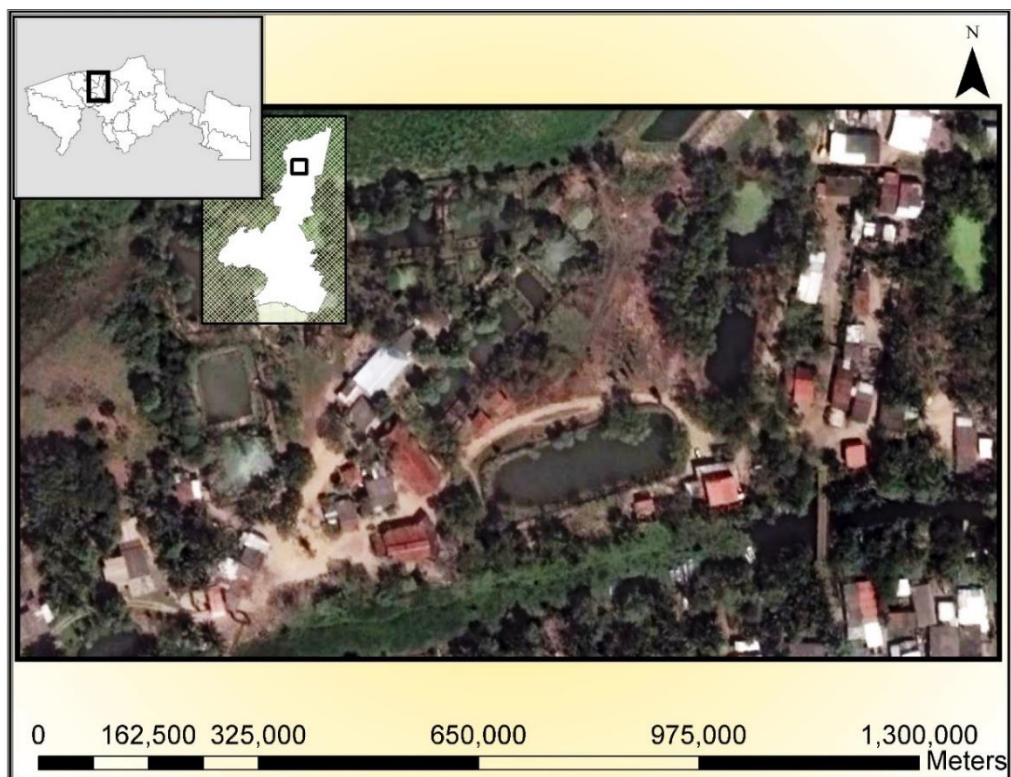
Mapa 1. Ubicación de los sitios de muestreo



4.3.1. Muestreo de *Dermatemys mawii*.

4.3.1.1. Descripción de los sitios de muestreo

4.3.1.1.1. UMAS



Mapa 2. Ubicación de la UMA "La Encantada"



Se tomaron muestras de piel de tres diferentes UMAs de Tortuga:

La UMA "La Encantada", localizada en Jalpa de Méndez, a 3 km de la cabecera municipal y 27.5 km de Villahermosa, Tabasco, con coordenadas (UTM): X: 494921.00 Y: 2027359.00 (Mapa. 1 y 2). Esta UMA fue creada en 2002 y representa la segunda UMA en tamaño de tortugas dulceacuícolas en Tabasco. Tiene como objetivo principal la reproducción de dos especies de tortugas dulceacuícolas *D. mawii* y *T. venusta*, además de conservación y comercialización de estas. Los individuos fundadores de *D. mawii* provienen de vida libre (sitios diferentes), así también con organismos donados por la UMA del estado de Tabasco.



Figura 1. Extracción de los individuos reproductores y fundadores de la especie *Trachemys venusta* utilizando la técnica conocida como "arrastre" con el uso de una red de pesca tipo trasmallo



Figura 2. Resguardo de individuos de *Trachemys venusta* en tinas para su posterior toma de muestra biológica

La UMA de tortugas del estado de Tabasco, esta UMA está localizada en Nacajuca, Tabasco. Fue creada en 1978, sus objetivos son la reproducción, investigación, educación y conservación de siete especies de tortugas dulceacuícolas (incluyendo *D. mawii* y *T. venusta*). Otro objetivo importante es que esta UMA es la encargada de la donación de pies de cría que servirán como organismos fundadores de las nuevas UMAs. Esta UMA tiene la población cautiva más grande de *D. mawii* en México (> 800 individuos reportados en 2006) (Rangel-Mendoza, Weber, Zenteno-Ruiz, López-Luna, & Barba-Macías, 2009). Los individuos fundadores *D. mawii* provienen de vida libre, fueron capturadas como adultos en



el río Salinas, cercano a la frontera con Guatemala. (Vogt, Comunicación personal).



Figura 3. Liberación de organismos de *Trachemys venusta* a sus estanques



Figura 4. Resguardo de individuos y marcaje de *Trachemys venusta*

La UMA de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, localizada en Villahermosa, Tabasco. Esta UMA fue creada in 2011, tiene como objetivos la reproducción, investigación y conservación de tortugas dulceacuícolas nativas. Esta UMA está dedicada a la cría de *T. venusta* y *D. mawii*. Los organismos fundadores de *D. mawii* provienen de la UMA de tortugas del estado de Tabasco, así como organismo silvestres decomisados y donados por la PROFEPA para enriquecer el pie de cría. En la Tabla 1 se puede observar la cantidad de individuos de *D. mawii* capturados en las UMAs.



Figura 5. Extracción de los individuos reproductores y fundadores de la especie *Dermatemys mawii* utilizando trampas de aros.



Figura 6. Tortuga *Dermatemys mawii*



4.3.1.1.2. Poblaciones de vida libre.

Las muestras de los organismos silvestres para esta investigación fueron colectadas de tres localidades: (1) Arroyo Tabasquillo, el cual está ubicado en el municipio de Centla, Tabasco ($18^{\circ}24'0''N$, $-92^{\circ}39'0''O$). La cuenca del arroyo Tabasquillo se localiza dentro de la zona de amortiguamiento, de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla. Este arroyo es un afluente importante del sistema del delta Grijalva-Usumacinta, ya que su fuerte caudal alimenta al río Grijalva todo el año. (2) Laguna del Chochal, esta es una laguna de agua dulce localizada en el municipio de Jonuta, Tabasco ($18^{\circ}26'44''N$, $-92^{\circ}16'30''O$), también se encuentra dentro de la zona de amortiguamiento de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, esta laguna está permanentemente inundada por agua de lluvia y se encuentra unida al río Usumacinta y (3) río Mezcalapa, localizado en Huimanguillo, Tabasco ($18^{\circ}36'0''N$ - $92^{\circ}39'0''O$), el cual es un sistema lotico y es un gran cuerpo de agua que es parte del sistema de drenaje del río Grijalva. En el proyecto inicial teníamos previsto muestrear el área de Bitzales, sin embargo, el muestreo en esta zona no fue posible debido a que esta área se ha convertido en un área conflictiva debido al aumento de la inseguridad en el estado y las personas de estas localidades desconfían de las personas "desconocidas" y no permiten fácilmente el acceso. Aunado a esto el primer año del proyecto era imposible acceder a la zona porque los accesos estaban inundados, posteriormente se intentó un acercamiento con las personas del lugar con el apoyo del M.C. Darwin Jiménez, del grupo de investigación del Dr. León David Olivera que ha trabajado en esa zona, pero la respuesta fue negativa y este año se presentó mortalidad de manatíes y la desconfianza fue mayor. Sin embargo, consideramos que se tiene un número alto de muestras silvestres de *D. mawii* que dan un resultado confiable en cuanto a la diversidad y la estructura genética de las poblaciones de vida libre, por lo que no haber muestreado en esta zona no repercute en los resultados obtenidos. En la Tabla 1 se puede observar el número de individuos de *D. mawii* capturados en vida libre.



4.3.1.2. Captura de Organismos de *Dermatemys mawii*

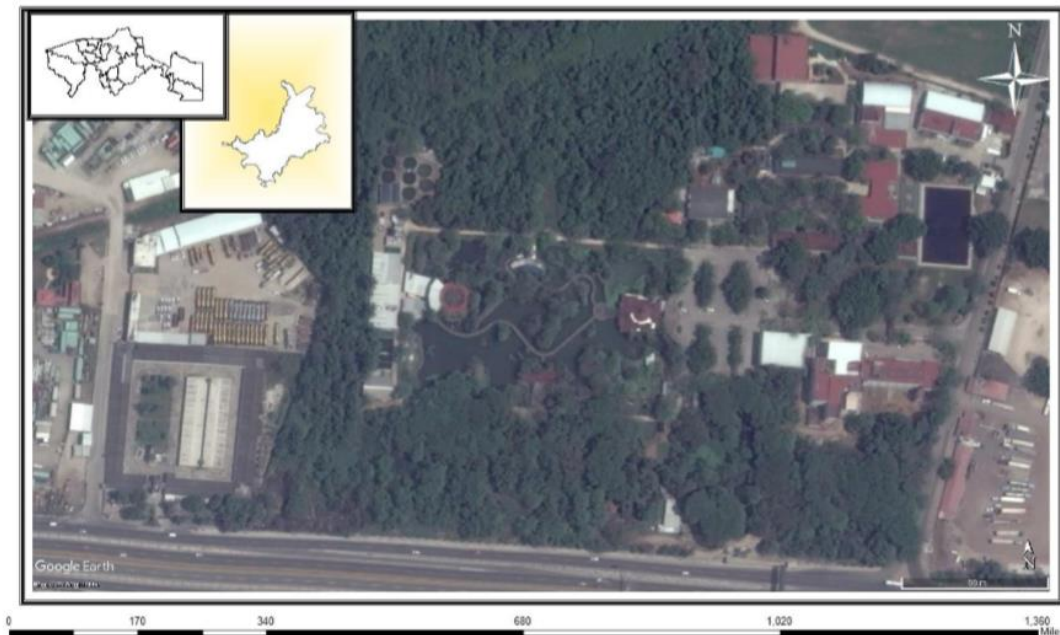
4.3.1.2.1. Muestreo y captura de poblaciones en cautiverio (UMA) de *Dermatemys mawii*

Para la captura de los organismos de *Dermatemys mawii* en la UMA “La encantada” se utilizó una red de trasmallo (redes tortugueras) de 30 m de longitud. Se realizaron 2 arrastres para la captura de los organismos. El procedimiento de los arrastres consistió en ir cubriendo la totalidad del estanque con la red de trasmallo, para acorralar a los organismos jalando la red hacia uno de los extremos del estanque, los individuos se colectaron de forma manual, colocándose durante el muestreo en tinas de plástico de 700 L con agua aproximadamente hasta 1/3 de la tina para evitar el estrés de los organismos durante el manejo.

Para el muestreo que llevamos a cabo en la UMA del estado de Tabasco en el municipio de Nacajuca, el arrastre fue realizado por personal de la UMA con el método descrito anteriormente.

En el inicio en este proyecto se consideró la UMA Teapan para el muestreo de *D. mawii*, sin embargo, ésta UMA dejó de funcionar en el mes de enero del 2017. Como se expresó en el segundo informe fue sustituida en el proyecto por la UMA del Centro de Investigación para la Conservación de Especies Amenazadas (CICEA) con clave INE/CITES/DFYFS-CR-IN-0023-TAB/99 y Número de Registro Ambiental UJASY2700411, propiedad de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), ubicada en el Km. 0.5 Carretera Villahermosa – Cárdenas, entronque a Bosques de Saloya, municipio de Nacajuca, Tabasco (Mapa 3).

El muestreo en esta UMA se llevó a cabo de la misma forma que en la UMA “La Encantada”, usando una red de trasmallo y posteriormente realizando un arrastre para dirigir los organismos hacia un extremo del estanque. Posteriormente los organismos se capturaron de forma manual y durante el muestreo se colocaron en tinas de 700 L con agua.



Mapa 3. Ubicación de la UMA CICEA

4.3.1.2.2. Muestreo y captura de individuos silvestres de *D. mawii*.

Para la captura de los organismos de vida silvestre se emplearon redes de trasmallo, colecta manual y trampas de desvío acuático tipo “Fike-net” (Vogt, 1990). Las trampas *fike-net* consisten en dos trampas en cada extremo tipo nasa (dos embudos que actúan como trampa evitando que las tortugas que entren vuelvan a salir, conectadas a una red o trasmallo de 20 m de largo y una altura de 1.50 m (Guzmán-Juárez, 2006). Las trampas fueron colocadas dentro del agua durante 8 días (día y noche, con revisiones cada 4 horas) a distancias mínimas de 50 m y hasta 200 m. Las trampas se ataron a ramas de árboles cercanos a las orillas del cuerpo de agua de tal manera que parte de los embudos queden fuera del agua y actúen como respiradero para evitar que los organismos capturados se ahoguen. Se utilizaron redes tortugueras entre 1.8 m a 1.5 m de diámetro (Guzmán-Juárez, 2006).

A los organismos capturados se les tomó muestra de tejido las cuales fueron preservados en buffer de conservación de piel (González-Porter et al, 2013), y



posteriormente se conservaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para evitar muestrear más de una vez al mismo individuo, cada tortuga fue marcada utilizando un sistema de muescas rectangulares permanentes (precodificadas) en el caparazón (Cagle, 1950, Plummer 1979). Este sistema consiste en asignar un valor numérico a los escudos marginales del caparazón. Las muescas se realizaron utilizando una segueta en la parte media de los escudos marginales, fisurando hasta las dos terceras partes del escudo en posición perpendicular al borde del caparazón. Terminado el marcaje y toma de muestra de los organismos, estos fueron liberados a una distancia de 10 m de su lugar de captura. Para evitar contaminación por fauna nociva, las trampas antes de ser utilizadas en cada muestreo revisadas y lavadas para desinfectarlas. Finalizado el lavado de las trampas, eran expuesta al sol para que se secaran. Este mismo procedimiento fue empleado al finalizar cada muestreo, donde se retiraba cualquier fauna nociva que pudiera haber quedado en la trampa (Guzmán-Juárez, 2006).

4.3.1.2.2.1. Captura y toma de datos morfométricos de *D. mawii*

Para la toma de datos morfométricos de los individuos capturados en las UMAs, los individuos se colocaron en tinas con agua para evitar su deshidratación. Posteriormente, el individuo era colocado en una mesa previamente desinfectada y se utilizaron una balanza de resorte de 20 kg y una cinta métrica de 1 metro para tomar las siguientes medidas físicas: peso; largo de caparazón; ancho de caparazón; largo de plastrón y ancho de plastrón. Las unidades para el peso fueron en gramos y las unidades de largo y ancho fueron en milímetros. Para los individuos capturados también registraron los datos de sexo y la edad, así como observaciones, como si los animales presentaban lesiones, deformidades o la presencia de parásitos. Todos los datos se anotaron en una boleta de campo previamente elaborada.

Para la toma de datos morfométricos de los individuos capturados en vida libre, los individuos se colocaron en tinas con agua para evitar su deshidratación y la toma de datos se realizó en la lancha o en las orillas de los cuerpos de agua. La toma de datos se realizó utilizando una balanza de resorte de 20 kg y una cinta métrica de 1 metro para tomar las siguientes medidas físicas: peso; largo de caparazón; ancho de caparazón; largo de plastrón y ancho de plastrón. Las unidades para el peso fueron en gramos y las unidades de largo y ancho fueron en milímetros. A los individuos capturados se les tomó el dato de edad probable y sexo, así como observaciones del estado de salud por ejemplo si los animales



presentaban lesiones o parásitos. Todos los datos se anotaron en una boleta de campo previamente elaborada.

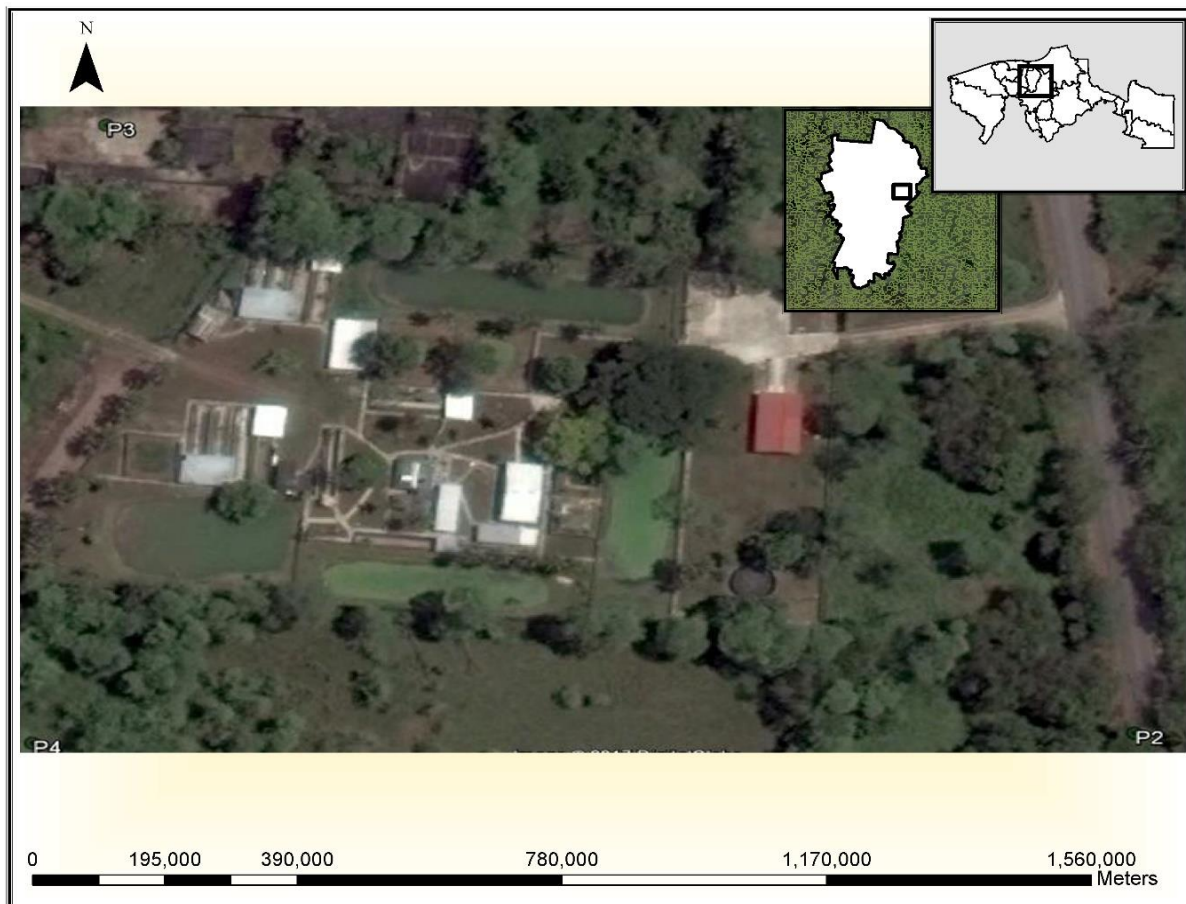
4.3.1.2.2. Toma de Muestras de Tejido para *D. mawii*

Para la obtención de las muestras se inmovilizó al animal, el sitio de toma de muestra se limpió con etanol al 70%. Para la obtención de la muestra de piel se cortó aproximadamente 1 cm² de la membrana interdigital inferior con ayuda de una tijera pequeña previamente desinfectada con alcohol al 70%. En el sitio donde se retiró la muestra se aplicó una solución desinfectante y cicatrizante (con base de yodo o azul de metileno) colocando al organismo en un recipiente sin agua hasta que la solución se secó. Posteriormente se aplicó una pomada antimicrobiana (FURACINE®). Untándose sobre la herida con una gasa. Los individuos se observaron por dos horas para confirmar que la herida cerrara antes de ser liberados en el estanque. La talla de los individuos permitió obtener la cantidad suficiente piel, por lo que no fue necesario realizar muestreo de los caparazones. Las muestras colectadas fueron preservadas en una solución tampón para tejido (Mix de solución buffer), la cual fue preparada a base de NaCl saturado; 250 mM EDTA (pH 7.5) y 20% DMSO (Amos y Hoelzel 1991; Proebstel et al. 1993) para su posterior extracción de ADN.



4.3.2. Muestreo de los organismos pertenecientes a *Trachemys venusta*

4.3.2.1. Descripción de los sitios de muestreo para *Trachemys venusta*



Mapa 4. Mapa de ubicación de la UMA del estado de Tabasco



4.3.2.1.1. Muestreo y captura de poblaciones en cautiverio (UMA).de *T. venusta*

El muestreo realizado comprende la **UMA del estado de Tabasco**, ubicada en el municipio de Nacajuca, en la comunidad de Tuctá a 25 km de Villahermosa, Tabasco, con coordenadas (UTM): X: 498741.89 Y: 2010135.23 (**Mapa. 4**).

Esta UMA está localizada en el estado de Tabasco (municipalidad de Nacajuca; 18°11'23"N - 92°59'37"W) y fue creada en 1978. Está dedicada a la reproducción de siete especies de tortugas dulceacuícolas: *Dermatemys mawii* Gray 1947 (Testudines, Dermatemydidae), *Chelydra serpentina* L. 1758 (Testudines, Chelytridae), *Staurotypus triporcatus* Wiegmann 1828 (Testudines, Kinosternidae), *Trachemys venusta* Gray 1856 (Testudines, Emydidae), *Rhinoclemys aerolata* Duméril & Bibron 1851 (Testudines, Geoemydidae), *Claudius angustatus* Cope 1865 (Testudines, Kinosternidae), *Kinosternon leucostomum* Duméril & Bibron 1851 (Testudines, Kinosternidae) con el propósito de conservación, investigación y también para destinar los descendientes como a otras UMA.

Para el muestreo de *T. venusta* se diseñó un muestreo al azar usando tabla de números aleatorios. Sin embargo, días antes de realizar la captura se llevó a cabo un delito de robo de organismos de esta especie en la UMA del estado de Tabasco. (Noticia en anexo). Por lo que el personal responsable de la UMA realizó un inventario de organismos, por medio de arrastre y retirarlos del estanque temporalmente, lo que nos dio la oportunidad de muestrear el 100% de los organismos fundadores (86, 73 hembras y 13 machos), además de 20 organismos reproductores nacidos en cautiverio. En el primer informe se reportó que se muestrearon 106 individuos lo cual es correcto, pero al verificar el marcaje con el cual están registrados estos organismos en la UMA únicamente 86 correspondían a los individuos fundadores y fueron los organismos utilizados para este estudio. Los 20 organismos restantes corresponden a individuos nacidos en la UMA y solo se le extrajo su ADN el cual fue conservado a -80°C para que puedan ser utilizados en estudios posteriores, pero en el presente trabajó el ADN de estos organismos no fue amplificado., existió un error al momento de verificar el marcaje por lo que inicialmente se muestrearon, sin embargo, ya que los individuos fundadores son los de importancia para este estudio, En la Tabla 2 se observa el número de individuos fundadores de *T. venusta* de la UMA del estado



de Tabasco. Su ADN fue extraído y conservado a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, para que pueda ser utilizado en investigaciones futuras, sin embargo este no fue amplificado.



4.3.2.1.2. Muestreo y captura de individuos silvestres de *T. venusta*.

El muestreo de organismos silvestres de *T. venusta* fue difícil y poco fructífero en un inicio, debido principalmente a que tuvimos que respetar los tiempos de apareamiento que ocurren de los meses de diciembre a febrero y el periodo de anidación que se lleva a cabo de febrero a junio (Zenteno y Bouchot 2001). Con lo cual los meses en los que podíamos realizar el muestreo eran limitados y este periodo coincide con la temporada de lluvias lo que complicó mucho el muestreo.

Considerando lo anterior y a que la necesidad de contar con organismos de vida libre en este proyecto se debía principalmente a poder comparar los valores de diversidad genética con los de los organismos fundadores de la UMA y poder realizar un adecuado manejo genético; se tomó la decisión de muestrear para ampliar el tamaño de muestra y capturar tortugas que provienen de vida libre producto de decomisos. De tal manera, se colectó tejido de 29 organismos que son mantenidos en el parque museo La Venta. Este sitio está localizado en el municipio de Centro Tabasco (18°00'02"N - 92°56'08"O). También se colectaron 4 individuos capturados en la localidad de Miguel Hidalgo, en el municipio de Centla Tabasco (18°20'00"N-92°30'00"O) y 12 individuos de la comunidad de Bosques de Saloya (18°11'22.85"N - 92°58'39.37"O). En total se obtuvieron 45 organismos de vida libre (32 hembras y 13 machos). En la Tabla 2 se observa el número de individuos capturados de *T. venusta* en vida libre por población.

4.3.2.1.2.1. Captura y toma de datos morfométricos de *T. venusta*

La captura de los individuos de *T. venusta* en la UMA fue realizada por el personal de la UMA debido a que en días anteriores a la fecha de nuestro muestreo se reportó un robo de tortugas en la UMA. Debido a ese acontecimiento el personal de la UMA del estado de Tabasco realizó un inventario y para la captura de los individuos, ellos utilizaron redes de trasmallo, las cuales se colocaron a lo ancho del estanque donde se encontraban los individuos reproductores, evitando dejar espacios entre el fondo y la línea final del trasmallo con la finalidad de evitar que las tortugas pudieran escapar. Luego el personal procedió a arrastrar a través del estanque de manera longitudinal y de manera paulatina la red de trasmallo, lo que permitía que las tortugas quedaran atrapadas en las redes. Los individuos una vez capturados eran colocados en tinas con agua para evitar su



deshidratación. Posteriormente, el individuo era colocado en una mesa previamente desinfectada y se utilizaron una balanza de resorte de 10 kg y una cinta métrica de 1 metro para tomar las siguientes medidas físicas: peso; largo de caparazón; ancho de caparazón; largo de plastrón y ancho de plastrón. El peso fue registrado en gramos (g) y las medidas del largo y ancho del caparazón y plastrón fueron registrados en milímetros (mm). A los individuos capturados también se tomaron datos del sexo y edad, así como si los animales presentaban lesiones o parásitos. Todos los datos se anotaron en una boleta de campo previamente elaborada.

Para capturar los individuos de *T. venusta* en vida libre de Bosques de Saloya y Miguel Hidalgo, se utilizaron redes de *Fike net*, se colocaron a lo ancho del cuerpo de agua en lugares poco profundos que permitieran ser colgadas. La ubicación las redes fueron sitios con poca corriente de agua como lagunas y remesos de ríos. Las trampas fueron revisadas periódicamente cada hora durante un lapso de 24 horas para evitar que las tortugas se ahogaran o lastimaran. Una vez capturadas las tortugas, se llevaban a las orillas de los cuerpos de agua o colocadas en tinas que se transportaban en la misma lancha para la toma de datos morfométricos. La toma de datos se realizó utilizando una balanza de resorte de 10 kg y una cinta métrica de 1 metro para tomar las siguientes medidas físicas: peso; largo de caparazón; ancho de caparazón; largo de plastrón y ancho de plastrón. El peso fue registrado en gramos (g) y las medidas del largo y ancho del caparazón y plastrón fueron registrados en milímetros (mm). A los individuos capturados también se tomaron los datos de sexo y la edad probable, así como si los animales presentaban lesiones o parásitos. Todos los datos se anotaron en una boleta de campo previamente elaborada. Para realizar la captura de los individuos de Tabasquillo (Parque museo La venta), esos eran tomados manualmente ya que se encontraban en piletas de agua en una zona apartada del parque (para no mezclarse con otros individuos), estos individuos también se colocaron en tinas para proceder a hacerle la toma de medidas morfométricas y toma de muestras.



4.3.2.1.2.2. Toma de Muestras de Tejido de *Trachemys venusta*

Al igual que la metodología descrita para *D. mawii*, para la obtención de las muestras se inmovilizó al animal, el sitio de toma de muestra se limpió con etanol al 70%. Para la obtención de la muestra de piel se cortó aproximadamente 1 cm² de la membrana interdigital inferior con ayuda de una tijera pequeña previamente desinfectada con alcohol al 70%. En el sitio donde se retiró la muestra se aplicó una solución desinfectante y cicatrizante (con base de yodo o azul de metileno) colocando al organismo en un recipiente sin agua hasta que la solución secó. Posteriormente se aplicó una pomada antimicrobiana (FURACINE®). Untándose sobre la herida con una gasa. Los individuos se observaron por dos horas para confirmar que la herida cerrara antes de ser liberados en el estanque. La talla de los organismos permitió obtener una cantidad adecuada de tejido, por lo que no fue necesario llevar a cabo el muestreo de los caparazones. Las muestras colectadas fueron preservadas en una solución tampón para tejido (Mix de solución buffer), la cual fue preparada a base de NaCl saturado; 250 mM EDTA (pH 7.5) y 20% DMSO (Amos y Hoelzel 1991; Proebstel et al. 1993) para su posterior extracción de ADN.

4.4. Extracción de ADN Genómico de *D. mawii* y *T. venusta*

Para la extracción de ADN a partir de tejido de *D. mawii* y *T. venusta* se probaron tres métodos reportados como eficientes para la obtención de ADN en tejido. El motivo por el que probamos tres métodos diferentes de extracción de ADN se debe a que en nuestra experiencia en la realización de estudios previos usamos el método de lisis celular, el cual ha sido el más eficiente y reproducible. Sin embargo, era necesario evaluar si a partir de otra metodología se podía obtener ADN en mayor cantidad y calidad. Por lo que, además del método de lisis se evaluaron los métodos de resina de intercambio iónico de Chelex y el DNeasy Blood and Tissue kit (QIAGEN) (Valencia CA USA), los cuales son reportados en la literatura como ideales para muestras de piel.



4.4.1. Método 1. Extracción de ADN mediante el protocolo de Resina de Chelex100 (Walsh et al. 1991, HwangBo et al. 2010) para *D. mawii* y *T. venusta*

Para este método se usaron 2 mg de piel con 500µl de solución de Chelex100 al 10%. Para romper la pared celular y extraer el contenido celular, las muestras previamente cortadas en fragmentos pequeños a los que se les adicionó 1 ml de resina de Chelex, se incubaron a 95°C por 30 min. A continuación, se agitaron con vórtex por 10s, y posteriormente triturando con la ayuda de un micropistilo de policarbonato; las muestras se incubaron nuevamente en baño maría a 95°C para completar la lisis celular. Seguido de una centrifugación durante 15 minutos a 13,000 RPM para precipitar restos celulares y proteínas. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo y limpio, este sobrenadante contiene el ADN. Éste fue cuantificado en un Nanodrop ONE C. Para verificar la calidad (presencia de ARN, proteínas o contaminantes) las muestras se sometieron a electroforesis sumergida en gel de agarosa al 2.5% con un diferencial de voltaje de 80.

4.4.2. Método 2. Extracción de ADN con el DNeasy Blood and Tissue kit (QIAGEN) (Valencia CA USA) para *Dermatemys mawii*

Para este método se utilizó 1 mg del tejido, el cual se dividió en pequeños fragmentos con una navaja de bisturí. A continuación, se agregaron 180 µl de Buffer ATL (buffer para lisis de tejido animal) y 20 µl de proteinasa K, a cada muestra. Posteriormente las muestras fueron incubadas a 56°C durante 105 min. Terminado el tiempo de incubación las muestras se agitaron por medio de vórtex por 15 s. Inmediatamente se les adicionó 200 µl de Buffer AL como buffer de lisis y 200 µl de etanol absoluto. La mezcla producida se colocó en una DNeasy spin column con un tubo colector de 2 ml. centrifugando durante 1 min a 8,000 RPM, durante este proceso el ADN se adhiere a la columna por intercambio iónico. La columna se colocó en un tubo nuevo. Agregando 500 µl de buffer AW1, con la finalidad de desnaturalizar las proteínas que pasan por la columna durante la centrifugación por 1 min a 8,000 RPM. Descartamos la solución del tubo colector y la columna se colocó en un nuevo tubo colector. Se le adicionaron 500 µl de buffer AW2 para remover sales que puedan interferir posteriormente con la amplificación del ADN. Después de centrifugar por 3 min a 13,000 RPM se adicionaron 100 µl de buffer AE para diluir el ADN. Al igual que el método anterior, el ADN se cuantificó en un Nanodrop ONE C. Para verificar la calidad (presencia



de ARN, proteínas o contaminantes) las muestras se sometieron a electroforesis sumergida en gel de agarosa al 1 % con un diferencial de voltaje de 80.

4.4.3. Método 3. Extracción de ADN con lisis celular/fenol-cloroformo-alcohol para *Dermatemys mawii*

Este método de extracción se realiza en un periodo de 3 días. A continuación, se describe la metodología: Se usó 1 mg de tejido de muestra colocando ésta en un tubo de microcentrífuga de 1.5 µL, se agregó a cada tubo 360 µL de EDTA 0.5M (pH8.0); 19 µl de SDS al 10%; 25 µL de Tris-HCL 0.1M (pH8.0) y 25 µL de Proteinasa K 10 mg/mL, agitando con vórtex durante 20 seg. Seguido de una incubación de 12 a 18 h. a 55°C. Posteriormente a cada tubo se le agregará 2.2 µL de RNAsa a una concentración de 10 mg/mL, incubando durante una hora a 37 °C. Seguido de una adición de 400 µL de acetato de amonio y agitando con vórtex 20 segundos, y una centrifugación 14,000 RPM a 4 °C. Se retiró el sobrenadante y éste se colocó en un tubo limpio que contenía 900 µL de alcohol puro frío y se dejó precipitar a -20°C durante 48 horas. Posteriormente se centrifugaron por 6 minutos a 14,000 RPM retirando el sobrenadante con cuidado para no perder el precipitado de ADN, añadiendo 125 µL de etanol al 80 %, para lavar el precipitado, seguido de una centrifugación a 14,000 RPM por 10 min. El etanol se eliminó por decantación y posteriormente se adicionó 111.2 µL de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico. Se retiró el sobrenadante y se colocó en tubos limpios. A continuación, se adicionaron 11.2 µL de acetato de sodio más 280 µL de alcohol absoluto frío y mezclando por inversión. Las muestras se dejaron precipitar a -20°C durante 12h. Seguido de un centrifugado por 10 min a 14,000 RPM. Se eliminó el alcohol y al precipitado resultante se le agregó 100 µL de etanol al 80% para resuspender el precipitado de ADN. Las muestras se centrifugaron durante 5 minutos a 14,000 RPM, eliminando el etanol, para acelerar este proceso se colocaron los tubos abiertos en estufa a 37°C por 24 h. Una vez transcurrido este tiempo, el ADN se disolvió con agua ultrapura estéril.

4.5. Prueba de Amplificación de ADN, por medio de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para *D. mawii* y *T. venusta*

Para verificar el aspecto más importante del ADN extraído que es la amplificación por medio PCR, se realizó una prueba de amplificación de ADN, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para verificar que el ADN extraído no tiene inhibidores de la PCR. Para esta amplificación seleccionamos el microsatélite



Dm3A-13, ya que este loci se encuentra en las dos especies evaluadas; usando la HotStarTaq® Master Mix Kit (QUIAGEN). Las amplificaciones fueron realizadas en un termociclador marca Bio-Rad T100 mediante las siguientes características de amplificación: 94 °C por 7 min, seguidos de 45 ciclos, que constaron de una desnaturalización a 92 °C por 1 min, un periodo de alineamiento a 50 °C, una extensión de 72 °C por 1 min, seguidos de una extensión final por 7 min, el volumen usado fue de 20 µl.

Después de varios aspectos en los tres métodos evaluados, como calidad, cantidad de ADN, reproducibilidad, tiempo de extracción, y especialmente resultados en las pruebas preliminares de amplificares; se seleccionó el método DNeasy Blood and Tissue kit (QIAGEN) (Valencia CA USA) para la extracción de ADN.

4.6. Cuantificación de ADN (Nanodrop)

El de ADN extraído con DNeasy Blood and Tissue kit (QIAGEN), fue cuantificado en un Nanodrop ONE C. (Thermo Scientific™ NanoDrop™ One)



4.7. Amplificación de ADN Genómico por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

4.7.1. Amplificación de ADN para *D. mawii*

El ADN de *D. mawii* fue amplificado usando 10 loci microsatélites (T4OLIGOS) (Tabla 5) previamente descritos como polimórficos para la especie *Dermatemys mawii* (González-Porter et al. 2013). Los primers o loci de microsatélites fueron fabricados por la empresa T4 Oligo, que para su conservación los envía liofilizados, por lo que antes de ser usados fueron disueltos con agua ultrapura libre de nucleasas (Invitrogen) hasta obtener una cantidad de 100 μM . Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen total de 22 μl , conteniendo: 100 ng del ADN molde, 15 μl de Platinum PCR® SuperMix (22 U/ml t Taq DNA polimerasa con el anticuerpo Platinum®, 22 mM Tris-HCl pH 8.4, 55 mM KCl, 1.65 mM MgCl_2 , 220 mM dGTP, 220 mM dATP, 220 mM dTTP, 220 mM dCTP, y estabilizadores; Invitrogen), y 200 nM de cada oligonucleótido o iniciador. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: para el locus Dm3A-72, una desnaturalización inicial a 94 °C por 7 min, seguido de una desnaturalización a 94 °C por 40 s, anillamiento 64 °C por 40 s, extensión a 72 °C por 45 s durante a 38 ciclos y una extensión final a 72 °C por 7 min. Las condiciones de amplificación para los otros primers fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 94 °C por 7 min, desnaturalización a 92 °C por 1 min, anillamiento a 50–65 °C por 1 min dependiendo del primer utilizado (Tabla en anexos), por 45 ciclos y una extensión final a 72 °C durante 1 min. Todas las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador T100 de (Biorad). Los productos de PCR se analizaron por electroforesis sumergida usando Agarosa de alta resolución al 3.4 % (UltraPure™ Agarose-1000, Invitrogen) (Roubos, Moustakas, & Aravanopoulos, 2010), teñidos con bromuro de etidio, a 70 V por 2 h, usando como marcador ladder DNA de (BioRad). Los geles fueron fotodocumentados usando un Molecular Imager® Gel Doc TM (Bio-Rad), y los fragmentos amplificados fueron analizados usando el analizador de imágenes Bio-Vision software (Vilber, US).



4.7.2. Amplificación del ADN de *T. venusta*

Para la amplificación del ADN de *T. venusta*, se usaron un total de 14 “primers” microsatélites, 13 de ellos descritos previamente como polimórficos para el género *Trachemys* (Simison et al., 2013), y uno (TSC-108) fue diseñado para esta investigación usando el programa Primer3 (Rozen y Skaletsky, 2000), a partir de la región microsatélite del mismo nombre reportada en el GeneBank <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. La reacción de PCR fue llevada a cabo en un volumen final de 20 µl, conteniendo: 20 ng de ADN, 2 µl de agua ultrapura (INVITROGEN), 100 µM de primer forward, 100 µM de primer reverse, 15 µl de HotStarTaq® Master Mix Kit (QUIAGEN) (la cual contiene 5 U/µl de polimerasa, 20 mM de TRIS-Cl, 100 mM de KCl, 0.1 mM EDTA y 400 µM de dNTPs). Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador T100 de Bio. Rad con las siguientes condiciones de amplificación: 94°C por 7min, seguidos de 45 ciclos compuestos por desnaturalización a 92°C por 1 min, anillamiento a 54 °C o 55 °C (temperaturas por primer en anexo) durante 1 min, extensión a 72°C por 1 min, y una extensión final a 72 °C por 7 min. Los productos de PCR se visualizaron por medio de una electroforesis sumergida en gel de agarosa (agarose 1000, INVITROGEN) a una concentración de 3.4 %, y finalmente los geles fueron digitalizados en un UV transiluminador Bio-print CX4 (VILBER LOUMAR) y su interpretación se llevó a cabo usando el programa BioVision (VILBER LOUMAR).



METODOLOGÍA

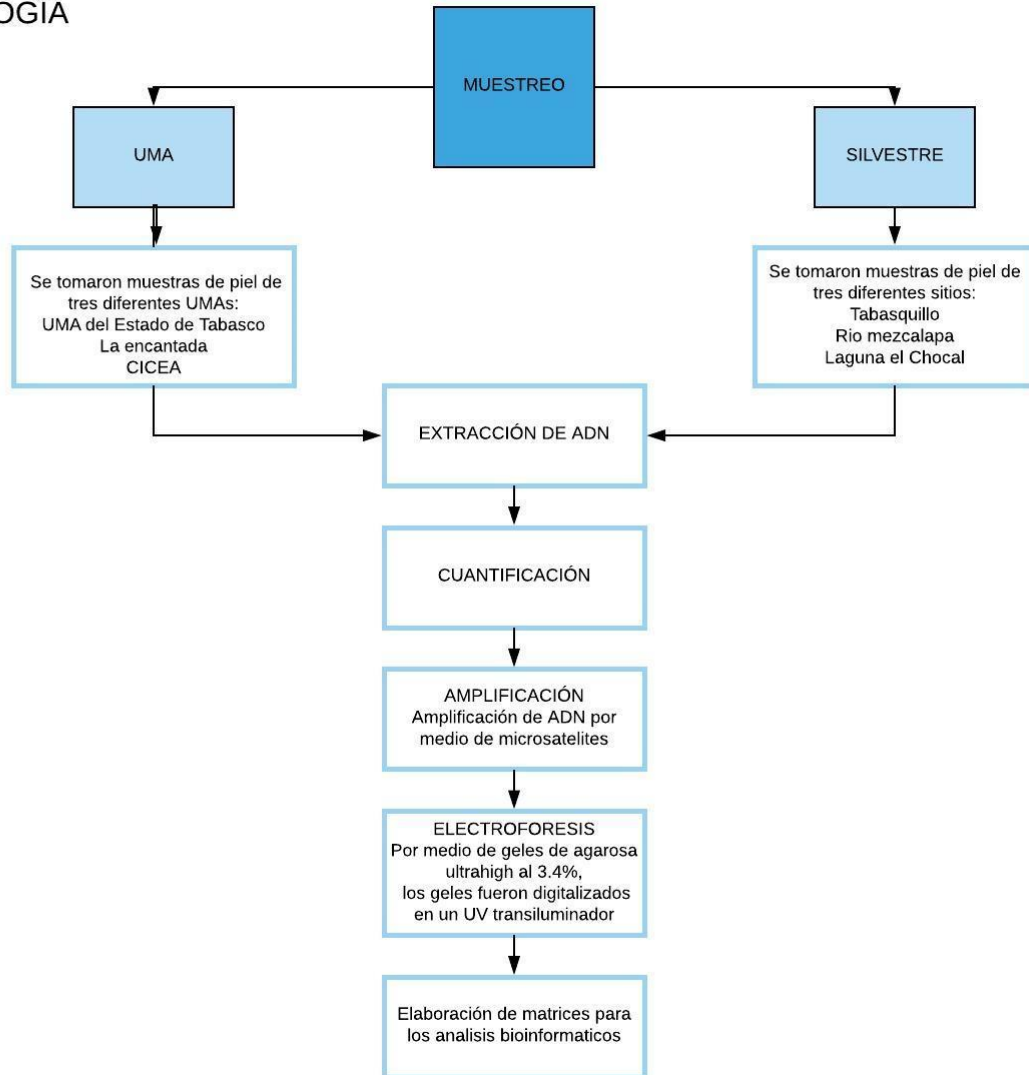


Figura 7. Diagrama de muestreo y procesamiento de muestras



5. ANÁLISIS DE DATOS

5.1. Diversidad Genética.

La Diversidad Genética fue estimada por medio del número de alelos (N_a), Número efectivo de alelos (N_E), Heterocigosidad observada (H_O), Heterocigosidad esperada (H_E) estos valores fueron obtenidos usando del programa GENALEX 6.502 (Peakall & Smouse, 2012) y el contenido de información polimórfica (PIC) usando el programa CERVUS 3.0.7 (Kalinowski, Taper & Marshall, 2007). El nivel de endogamia fue estimado usando tres parámetros diferentes: A nivel poblacional determinamos (1) El coeficiente de endogamia (F) usando el programa GENALEX 6.502; a nivel individual determinamos (2) Las relaciones internas (IR) entre los padres de un individuo (Amos et al. 2001) (los individuos sin relación presentan valores iguales o por debajo de cero, y los valores positivos indican alguna relación entre los padres con un valor máximo de 1) y (3) la homocigosidad por loci (HL), la cual es el índice de homocigosidad que valora la contribución de cada locus dependiendo de su variabilidad alélica (Aparicio et al. 2006), el rango va de 0 (cuando todos los loci son heterocigotos) a 1 (cuando todos los loci son homocigotos). Además, el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) por déficit de heterocigotos, el cual fue obtenido con el programa GENEPOP 4.0.10 (Raymond M. & Rousset, 1995; Rousset, 2008), y la presencia de alelos nulos para cada loci fue estimado con el programa FREENA (Chapuis & Estoup, 2007). Finalmente, evaluamos el tamaño efectivo de la población (N_e) usando el programa NEESTIMATOR 2.1 (Do et al. 2014) considerando el método de linaje de desequilibrio con la frecuencia alélica más baja a un nivel crítico de 0.05, y el método "jackknife" para evaluar el 95% del intervalo de confianza (CIs) como es recomendado por Waples y Do (2008). Para determinar un posible evento de cuello de botella, comparamos los niveles de H_E relativos con la heterocigosidad esperada en equilibrio (H_{eq}) usando el programa BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet y Luikart, 1996; Piry, Luikart y Cornuet, 1999). Consideramos dos modelos mutacionales: El modelo mutacional por pasos (SMM) y el modelo de dos fases (TPM) con el 95% de la mutación asumida en un solo paso para el modelo TPM y una varianza entre los múltiples pasos de 12 según lo recomendado por Piry et al. (1999). La significancia fue evaluada para la prueba de Wilcoxon de una cola que es más apropiada y potente para menos de 20 microsatélites (Piry et al. 1999). El evento de cuello de botella se considerará solo si ambos modelos (SMM y TPM) son significativos.



5.2. Estructura Genética

Para determinar el nivel de diferenciación genética en las dos especies de tortugas evaluadas en este proyecto (*D. mawii* y *T. venusta*), se estimaron los valores de F_{ST} con el programa GENALEX 6.502, considerando todos los grupos de parejas (UMAs y poblaciones silvestres). Para identificar la estructura genética más probable en las UMAs y las poblaciones silvestres, se aplicó un análisis Bayesiano con el programa STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard, Stephens y Donnelly, 2000). Este método permite determinar el número óptimo de grupos o clusters (K) y asignar cada individuo a un grupo (q_i). Se utilizaron los modelos de frecuencia correlacionada de mezcla y alelo, así también la opción LOCPRIOR, la cual utiliza la ubicación de muestreo para ayudar a identificar los grupos. Se recomienda esta opción cuando el nivel de la estructura de la población es débil (Hubisz et al. 2009; Hoffman et al. 2011). Para determinar el número óptimo de grupos, el programa se ejecutó diez veces para diferentes números de K (K de 1 a 7), y para cada ejecución se utilizó el algoritmo de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) con 100,000 pasos seguidos por 100,000 pasos. Utilizamos el método Evanno (método ΔK ; Evanno et al. 2005), implementado en el sitio web STRUCTURE HARVESTER (Earl & von Holdt, 2011) para determinar el mejor valor de K que se ajustaba a nuestros datos.

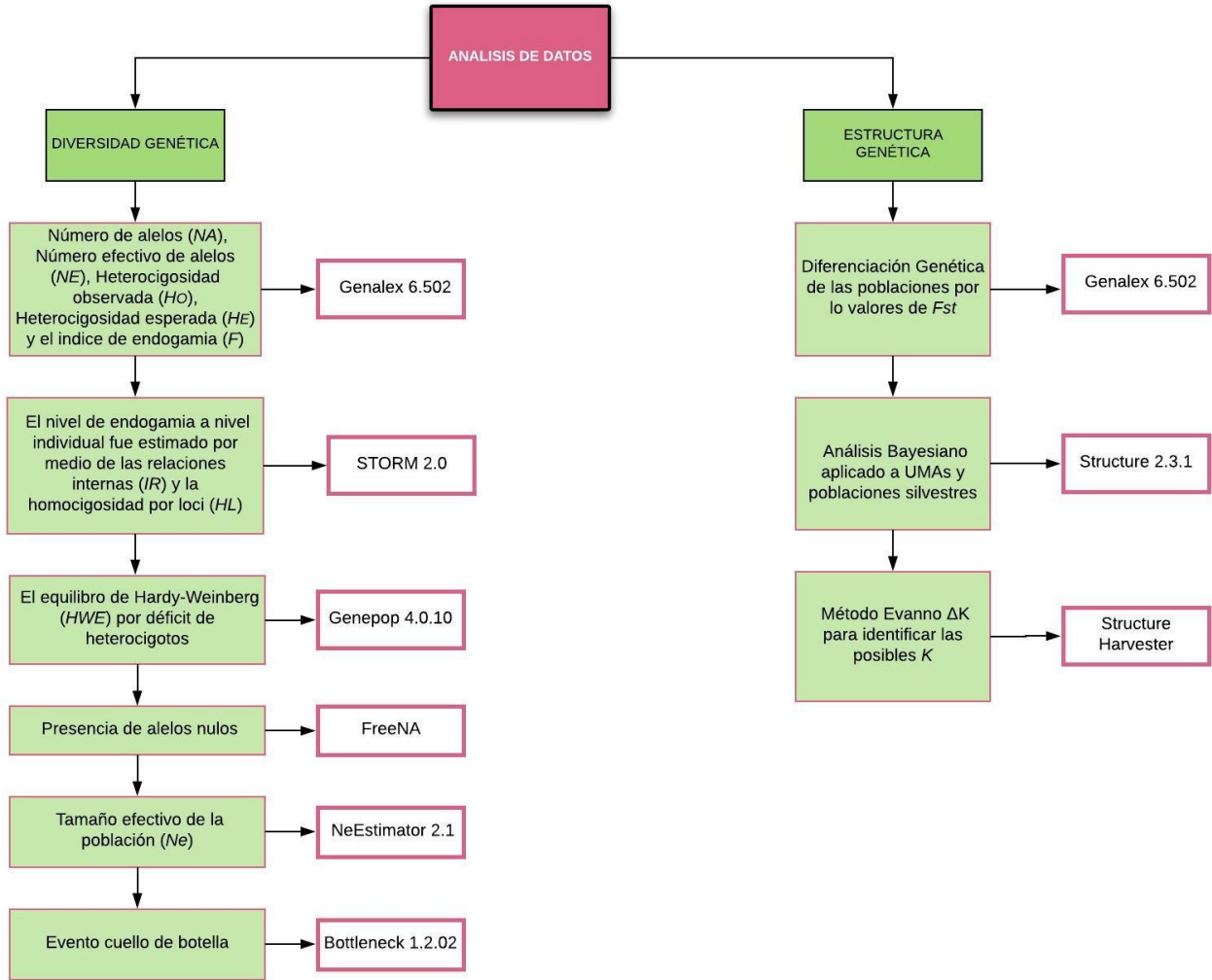


Figura 8. Diagrama de análisis de datos



5.3. Análisis de parentesco

Para evaluar las relaciones de parentesco en las UMAs, usamos los programas STORM y el ML-RELATE. El programa STORM permite probar una variedad de hipótesis respecto a los patrones de relación y una variedad de hipótesis con respecto a los patrones de parentesco y patrones de elección de pareja y/o compatibilidad de pareja dentro de una población. Estas funciones se basan en cuatro cálculos principales que se pueden realizar de forma independiente o en el marco de prueba de hipótesis: relación interna; homocigosidad por loci; relación por pares. El programa ML-RELATE (Kalinowski et al., 2006) calcula la probabilidad de cada tipo de relación para cada pareja considerando las siguientes relaciones genealógicas: no relacionadas (U), medio hermanos (HS), hermanos completos (FS) y padres-hijos (PO). Para cada pareja, el programa proporciona, de forma predeterminada, la mayor probabilidad y luego sugiere la relación más alta (Kalinowski et al. 2006). Basándose en estas relaciones para cada pareja (hembra-macho) en las UMAs, usamos el método de máxima verosimilitud para obtener el valor P: si P es pequeña ($P < 0.05$) la hipótesis alterna es rechazada y si P es grande ($P > 0.05$), las relaciones putativas o alternativas son consistentes con los datos que seleccionamos con las más bajas relaciones ($U < HS < FS < PO$) (Kalinowski et al. 2006). Además, el coeficiente de relación (r) entre cada pareja de las UMAs (tanto de *D. mawii* como en *T. venusta*) se evaluó mediante los programas STORM (Frasier, 2008) y ML-RELATE.

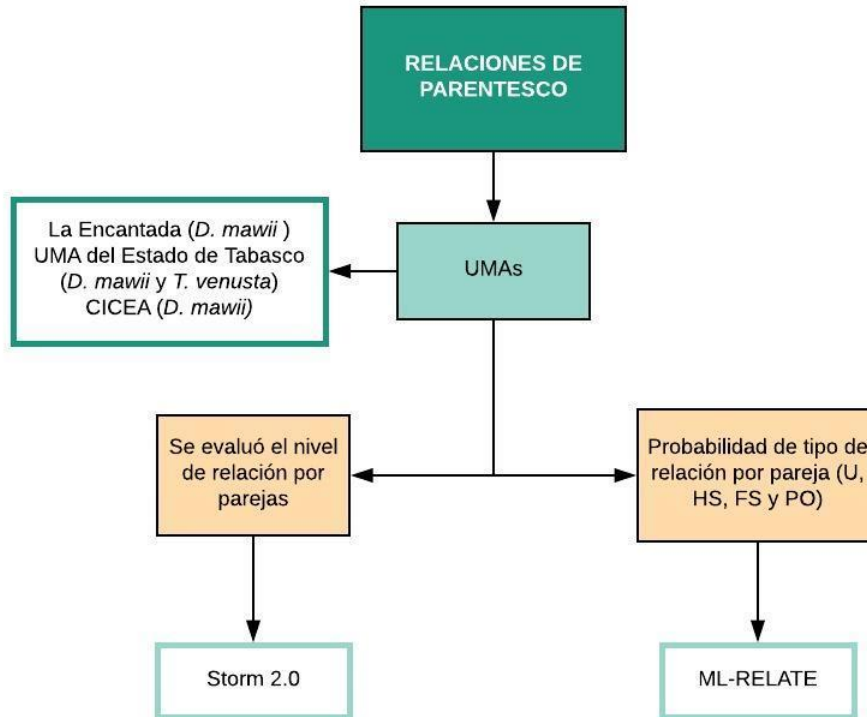


Figura 9. Diagrama de análisis de parentesco

6. RESULTADOS

6.1. *Dermatemys mawii*

6.1.1. Diversidad Genética de *Dermatemys mawii*.

Los parámetros de Diversidad Genética: Número promedio de alelos (N_a), Tamaño efectivo de la población (N_e), Heterocigosidad observada (H_o) y Heterocigosidad esperada (H_E), fueron ligeramente más altos para las UMAs que para las poblaciones silvestres. Las UMAs presentaron N_a de 8.2 y las poblaciones silvestres de 7.5. La UMA que presentó un valor mayor fue la UMA "La Encantada" con un valor promedio de 8, y la población silvestre que presentó valor promedio mayor de N_a fue la población de Tabasquillo 4.083. Los valores globales de Heterocigosidad esperada H_E para las UMAs fueron significativamente más altos (0.613) que los de las poblaciones silvestres (0.527). No se encontró diferencia significativa en los valores de H_E entre las poblaciones silvestres, mientras que



se observó una diferencia significativa entre las UMAs, en el que la UMA de “La Encantada” presenta el valor más elevado (0.786). El coeficiente de endogamia (F) fue más alto para las poblaciones silvestres (0.451) que para las UMAs (0.414) y casi todas las pruebas de Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) para deficiencia de heterocigotos fueron ($P < 0.001$; Tabla 3). Así también se detectó un evento de cuello de botella para las poblaciones del río Mezcalapa, y la UMA “La Encantada”. Por otro lado, la UMA que mostró mayor heterocigosidad observada (H_o) fue la UMA “La Encantada” con una H_o de 0.557. En cambio, la población silvestre con mayor H_o fue la población ubicada en el arroyo Tabasquillo (0.746). Las UMAs mostraron una mayor H_o global de 0.406 en comparación con las poblaciones silvestres donde se obtuvo una H_o de 0.387. El rango de valor de H_o va de 0 hasta 1; y se interpreta de la siguiente manera: el cero representa el valor mínimo de variabilidad genética y el 1 representa el valor máximo. Considerando este rango de valor, podemos decir que los valores globales de variabilidad genética en las UMAs y en las poblaciones silvestres de *D. mawii* son de moderado a bajo. El valor mayor en las poblaciones de las UMAs puede deberse a que en el momento de la formación de éstas, los valores de H_o y la diversidad genética eran mayores a los actuales (ya que los individuos fundadores provienen de vida silvestre). Esta situación nos puede indicar una pérdida en la diversidad genética como consecuencia de la pérdida de alelos, provocada por la disminución de las poblaciones, sea por la caza o por la pérdida de hábitat de esta especie. También se observó un elevado índice de fijación en las poblaciones analizadas. Los valores que puede tomar el índice de fijación son 1, 0 y -1. Cuando los valores son cercanos a 0 indican que no existe fijación de alelos, es decir, no existe endogamia, sin embargo, cuando el índice se acerca a 1 se considera que existe fijación de alelos (alelos que solo contienen esa población y la alejan genéticamente de las otras); lo que es provocado principalmente por endogamia en la población. Por otro lado, cuando el valor se acerca a -1 se menciona que existe problemas de exogamia, es decir, apareamientos entre individuos genéticamente distanciados. Debido a que los índices de fijación tanto en las UMAs como en poblaciones silvestres fueron de 0.414 y 0.451 respectivamente, es un indicativo de que estas poblaciones presentan fijación de alelos, lo que puede estar separando genéticamente las poblaciones cautivas de las silvestres.



Tabla 3. Valores de Diversidad Genética para UMAs y poblaciones silvestres de *Dermatemys mawii*.

	UMAs				Poblaciones silvestres			
	LE	GET	CICEA	Global	TAB	MEZ	CHO	Global
n	67	28	22	117	37	8	23	68
<i>N_a</i>	8.0	5.1	3.8	8.2	6.4	2.0	4.0	7.5
<i>NE</i>	5.245	3.052	2.565	5.138	4.083	1.673	2.806	4.926
<i>H_o</i>	0.557	0.358	0.304	0.406	0.496	0.158	0.346	0.387
<i>H_E</i>	0.786	0.551	0.501	0.613	0.746	0.310	0.545	0.527
<i>F</i>	0.314	0.343	0.360	0.414	0.330	0.479	0.368	0.451
<i>P_{HWE}</i>	***	***	***	***	***	***	***	***
<i>P_{TPM}</i>	**	ns	ns	ns	ns	**	ns	*
<i>P_{SMM}</i>	**	ns	ns	ns	ns	**	ns	*

n = número de individuos; *N_a* = número de alelos diferentes; *NE* = número efectivo de alelos; *H_o* = Heterocigosidad observada; *H_E* = Heterocigosidad esperada; *F* = coeficiente de endogamia; *P_{HWE}* = equilibrio de Hardy-Weinberg; *P_{TPM}* y *P_{SMM}* = probabilidad de un evento de cuello de botella. Llaves: ns = no significativo, * *P*<0.05, ** *P*<0.01, *** *P*<0.001. Simbología; UMAs = LE: "La Encantada"; GED: UMA del Estado de Tabasco, CICEA = CICEA-UJAT. Poblaciones silvestres = TAB: Tabasquillo; MEZ: río Mezcalapa; CHO: Laguna el Chochal.



6.1.2. Estructura Genética para *Dermatemys mawii*.

El valor global de diferenciación genética fue un F_{ST} de 0.131 lo cual indica que existe moderada diferenciación genética entre las poblaciones analizadas. El valor de F_{ST} tiene rangos de 0 hasta infinito, cuanto más cercano el valor es a 0 se interpreta que no existe diferenciación genética entre las poblaciones, valores de 0.05 a 0.25 indican una diferenciación genética moderada y a partir de valores de 0.25 se interpreta que existe una alta diferenciación genética.

Los valores de Diferenciación Genética aplicando datos pareados de las poblaciones silvestres (es decir comparando una población contra la otra) son más altos que los datos pareados para las UMAs (Tabla 4). Los valores más altos de diferenciación genética se encontraron entre la UMA de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco y la UMA "La Encantada" ($F_{ST} = 0.113$) y entre la Laguna del Chochal y el río Mezcalapa ($F_{ST} = 0.380$) en el caso de poblaciones silvestres. Cuando consideramos los datos pareados entre las UMAs y las poblaciones silvestres, las UMAs presentan una gran diferenciación genética con la población del río Mezcalapa y una baja diferenciación con la población del arroyo Tabasquillo (Tabla 4). Aplicando las asignaciones de probabilidad estimadas con el programa STRUCTURE, todos los individuos (UMAs y silvestres) se separaron claramente en dos grupos o clusters (Fig. 11A): Las UMAs (verde en la Fig. 10) y las poblaciones silvestres (azul en la Fig. 10). Sin embargo, cuando únicamente analizamos las UMAs el método ΔK sugiere tres grupos genéticos $K = 3$ (Fig. 11), en el cual se separa la UMA La Encantada, la cual tiene dos clusters bien definidos (verde y amarillo en la Fig. 11) las otras UMAs pertenecen a un tercer grupo (rojo en la Fig. 11). Cuando analizamos únicamente las poblaciones silvestres, el método ΔK sugiere una $K = 2$ (Fig. 12) la cual separa claramente las poblaciones de arroyo Tabasquillo con las del río Mezcalapa.



Tabla 4. F_{ST} pareadas para todas las poblaciones considerando UMAs y poblaciones silvestres de *Dermatemys mawii*.

		UMAs			Poblaciones Silvestres		
		LE	GET	CICEA	TAB	MEZ	CHO
UMAs	LE	-	0.072	0.113	0.077	0.228	0.152
	GDT	0.085	-	0.111	0.103	0.302	0.223
	CICEA	0.127	0.124	-	0.128	0.315	0.302

Poblaciones Silvestres	TAB	0.088	0.096	0.131	-	0.247	0.162
	MEZ	0.218	0.289	0.319	0.229	-	0.380
	CHO	0.168	0.236	0.324	0.176	0.370	-

Los valores bajo la diagonal gris son los valores F_{ST} sin el método de ajuste ENA y los valores arriba de la diagonal gris incluyen el método de ajuste ENA. Valores de 0-0.05 indican poca diferenciación genética, valores de 0.05-0.25 indican moderada diferenciación genética y valores > a 0.5 indican alta diferenciación genética. Los valores en negrita indican donde existió mayor diferenciación genética entre las poblaciones que se comparan. Simbología; UMA= LE: "La Encantada"; GET: estado de Tabasco, CICEA= CICEA-UJAT. Poblaciones silvestres= TAB: Tabasquillo; MEZ: río Mezcalapa; CHO: Laguna el Chochal.

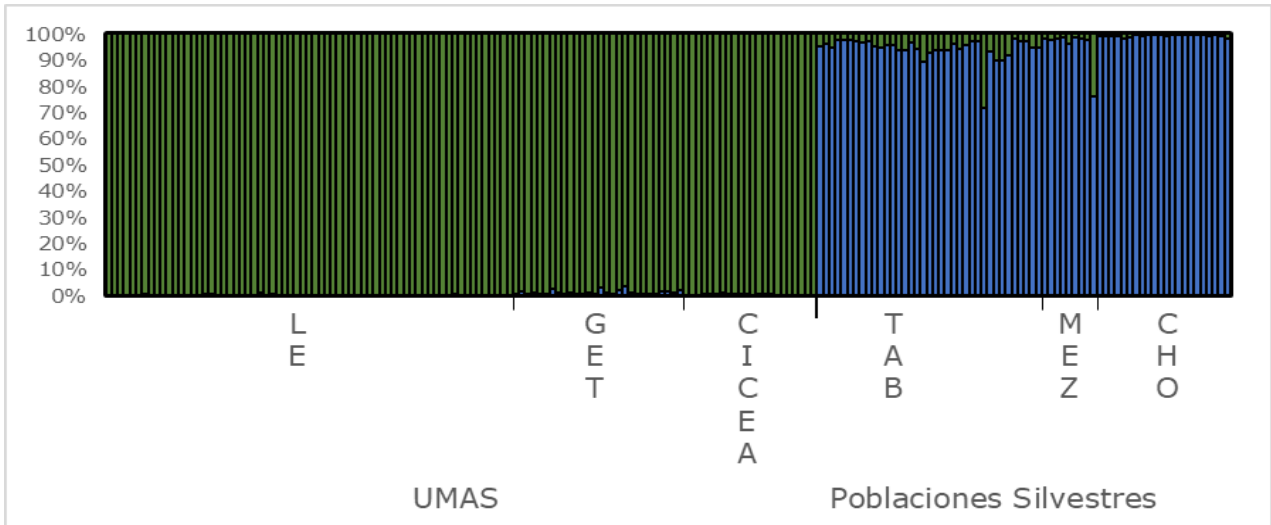


Figura 10 Grafico Structure entre UMAs y poblaciones silvestres de *Dermatemys mawii* donde se puede observar 2 grupos genéticos bien definidos. UMAs: LE: UMA "La Encantada"; GET: UMA del estado de Tabasco; CICEA: UMA CICEA. Poblaciones silvestres: CENT: Centla; MEZ: río Mezcalapa; CHO: Laguna el Chochal.

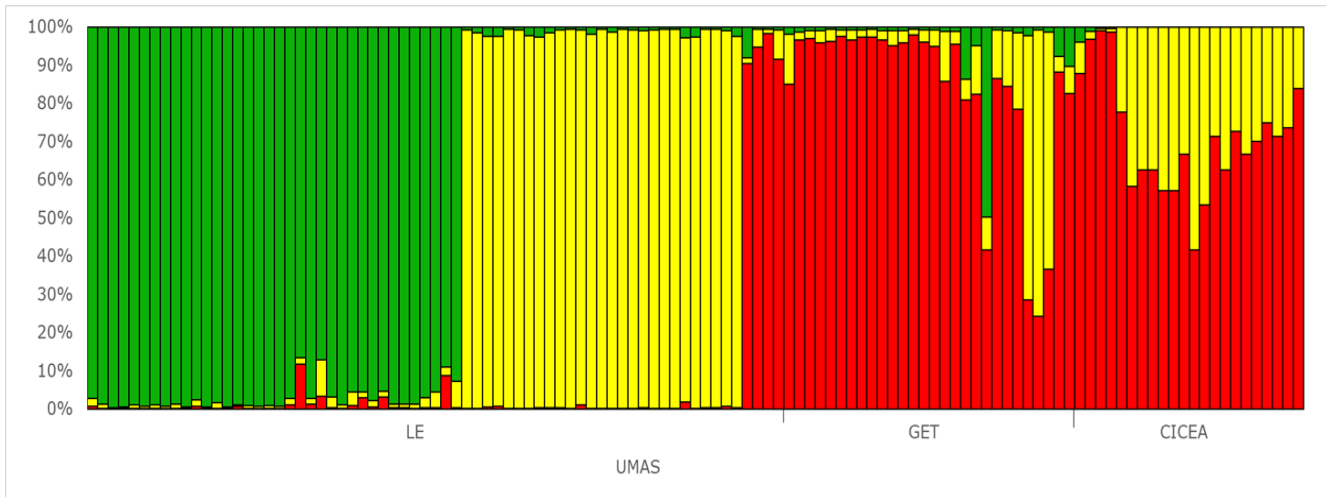


Figura 11. Gráfico Structure entre UMAs de *Dermatemys mawii* donde se puede observar 3 grupos genéticos bien definidos. UMAs: LE: UMA "La Encantada"; GET: UMA del estado de Tabasco; CICEA: UMA CICEA.



Figura 12. Gráfico Structure entre poblaciones silvestres de *Dermatemys mawii* donde se puede observar 2 grupos genéticos bien definidos. Poblaciones silvestres: CENT: Centla; MEZ: río Mezcalapa; CHO: Laguna el Chochal.



6.1.3. Análisis de parentesco de *D. mawii*

El coeficiente de relación (r), determinado por medio de los programas STORM y ML-RELATE demuestran que se presentan algunas relaciones de parentesco en los organismos fundadores de las UMAs. Los análisis llevados a cabo con STORM y ML-RELATE presentan valores desde -0.7450 a 0.948 y de 0 a 0.9195 respectivamente considerando todos los tipos de parejas (hembra x hembra, macho x macho, y hembra x macho). Usando el coeficiente de relación generado con STORM determinamos la proporción de cada relación en el pedigrí: padres-hijos, hermanos completos, medios hermanos, y sin relación basándonos en los criterios siguientes: valores ≤ 0 se consideran no relacionados, valores ≤ 0.25 son considerados medios hermanos, y los valores > 0.25 se consideran hermanos completos o padres-hijos sin distinción (Queller y Goodnight 1989; Kamel et al. 2012), con este estudio obtuvimos un total de 75 % de parejas sin relación ($n = 1833$), 13 % de medios hermanos ($n = 326$), y 11 % de hermanos completos o padres-hijos ($n = 271$).

Entre todas las UMAs, se pueden formar un total 2430 parejas, de las cuales de acuerdo con al análisis realizado en el programa ML-RELATE sólo 2048 parejas no están relacionadas. Al considerar sólo las parejas que se pueden formar en cada UMA, se observó que la UMA la Encantada puede formar 522 parejas de las cuales 406 no se encuentran relacionadas; la UMA del estado de Tabasco puede formar 192 de las cuales sólo 117 no se encuentran relacionadas y la UMA CICEA puede formar 96 parejas de las cuales 46 no están relacionadas.

Sin embargo, debido a que las parejas dentro de las UMAs mostraban un alto valor en el índice de HL (\geq a 0.4) y considerando que el manejo genético nos interesa para optimizar la reproducción, se realizó una nueva agrupación donde consideramos únicamente los mejores machos y las mejores hembras de todas las UMAs en términos de parentesco genético. En esta nueva agrupación, los resultados de ML-RELATE demostraron que sólo 41 hembras y 7 machos tienen un bajo valor en el índice de HL (<0.4), para formar un total de 287 parejas de las cuales 231 parejas no se encuentran relacionadas. La mayoría de los individuos mostraban algún tipo relación y solo se encontró que 5 hembras no se encuentran relacionadas con los 7 machos seleccionados y mostraron tener bajos valores de homocigosidad por loci (HL).

También realizamos una agrupación de los individuos que presentaban un alto valor en el índice de HL (\geq a 0.4). La agrupación está integrada 49 hembras y 20 machos para formar un total de 980 parejas potenciales de las cuales 807 no se



encuentran relacionadas. Esta última agrupación se recomienda con fines de aprovechamiento solamente. (Tablas en anexo parejas *D. mawii*)

6.2. *Trachemys venusta*

6.2.1. Diversidad Genética de *Trachemys venusta*.

En esta investigación se analizaron un total de 86 individuos de la población en cautiverio (UMA) y 45 individuos de vida silvestre, de los cuales su ADN fue exitosamente amplificado con 14 loci microsatélites. Sin embargo, cuatro de estos loci fueron identificados con alelos nulos, por lo que se tomó la decisión de eliminarlos del análisis, tomando únicamente 10 loci sin presencia de alelos nulos. Los parámetros de diversidad genética globales fueron mayores para la UMA que para las poblaciones de vida libre, consideramos que la diferencia observada entre las poblaciones silvestres se debe principalmente al tamaño de la muestra. El tamaño efectivo de la población (N_e) fue de 91.2 para la población en cautiverio y de 110 para las poblaciones silvestres. Tanto las poblaciones silvestres como las poblaciones de la UMA se encuentran equilibrio de Hardy-Weinberg debido a que todas mostraron una probabilidad menor a 0.05 ($p < 0.05$) (Tabla 1), el coeficiente de endogamia (F) presentó valores más bajos para la UMA en comparación con las poblaciones silvestres con valores de 0.129 y 0.342 respectivamente. A nivel individuo, los valores de la relación interna (IR) fueron bajos para la UMA y altos para las poblaciones silvestres, (este valor es un indicativo de las frecuencias alélicas de cada individuo) además con alta variabilidad individual con un rango -2.56 a 1 para la UMA y de -0.67 a 1 para las poblaciones silvestres. El nivel de homocigosidad por loci para la UMA fue de promedio de 33% de los loci son homocigotos y con un promedio de 55% de loci homocigotos para las poblaciones silvestres, los individuos silvestres muestran claramente una tendencia a tener valores elevados de homocigosidad. No se detectaron cuellos de botella recientes para ninguna población usando los modelos mutacionales (SMM and TPM), (Tabla 5).



Tabla 5. Diversidad genética de *Trachemys venusta* en la UMA del estado de Tabasco y las poblaciones silvestres.

	UMA	Poblaciones silvestres			
	Estado de Tabasco	Bosques de S.	La Venta	Miguel Hidalgo	Global
N	86	12	29	4	45
N_a	5.900	4.100	5.400	2.700	5.400
N_E	3.684	2.859	3.298	2.412	3.344
H_o	0.539	0.334	0.386	0.550	0.386
H_E	0.606	0.508	0.597	0.494	0.594
F	0.129	0.324	0.342	na	0.317
P_{HWE}	ns	***	***	na	***
P_{TPM}	0.187	0.527	0.312	na	0.422
P_{SMM}	0.384	0.628	0.422	na	0.500

Número de alelos individuales (N), Tamaño efectivo de la población (N_E), intervalo de confianza "jackknife (95% CIs), número promedio de alelos (N_a), Heterocigosidad observada (H_o), Heterocigosidad esperada (H_E), coeficiente de endogamia (F), Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE), Resultados de la prueba de test para dos modelos mutacionales: Modelo de mutación en dos fases (TPM) y modelo de mutación por pasos (SMM).



6.2.2. Estructura Genética para *Trachemys venusta*

Globalmente, los valores de F_{ST} mostraron una diferenciación genética moderada (< 0.085). Así también entre la comparación pareada de la población de la UMA y las poblaciones de vida libre, se observa gran diferenciación genética, así como en las poblaciones silvestres de Bosques de Saloya (BS) y Miguel Hidalgo (MH) (Tabla 6). Los resultados del análisis Bayesiano llevado a cabo con el programa STRUCTURE nos permite identificar dos grupos $K = 2$ se muestra además una separación perfecta entre individuos de la UMA (grupo verde) (Fig. 13) y los individuos de las poblaciones silvestres (Naranja en la Fig. 13). Un análisis subsecuente en STRUCTURE llevado a cabo para cada grupo no identifica ninguna subpoblación.

Tabla 6. Valores pareados de F_{ST} para *Trachemys venusta* entre UMA y poblaciones silvestres.

UMA-NAC	BOSQUES DE S.	LA VENTA	MIGUEL HIDALGO	
0.000	0.001	0.001	0.001	UMA-NAC
0.059	0.000	0.003	0.013	BOSQUES DE S.
0.056	0.033	0.000	0.063	LA VENTA
0.085	0.072	0.035	0.000	MIGUEL HIDALGO

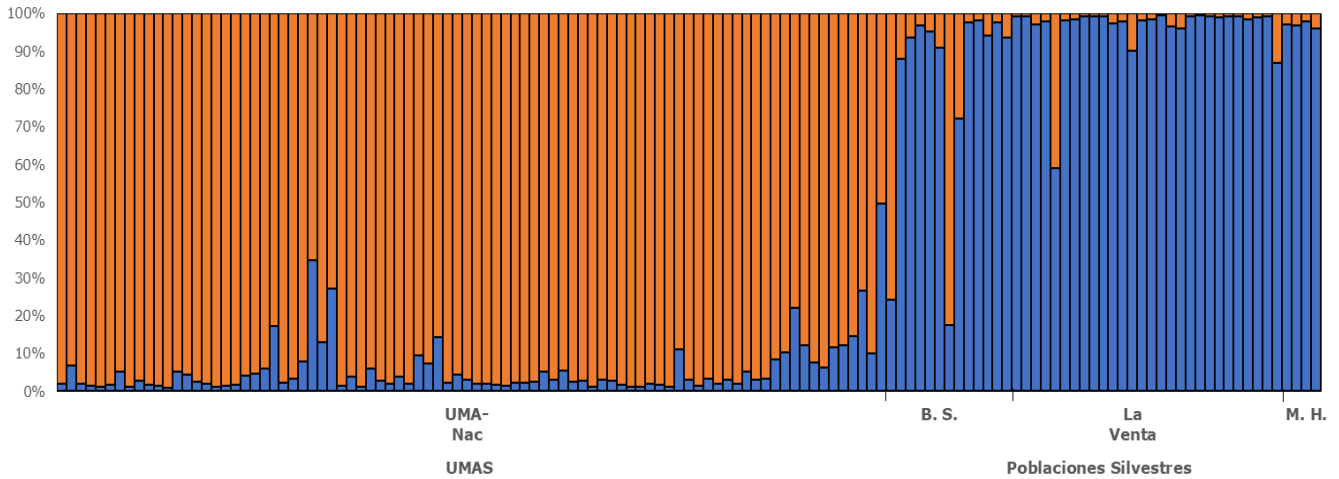


Figura 13. Análisis Bayesiano obtenido por STRUCTURE 2.3.3 usando una $K = 2$ para *Trachemys venusta*. Cada individuo está representado por una línea vertical, dividida entre los segmentos de su genotipo indicado para cada grupo. Simbología: UMA-Nac: UMA del estado de Tabasco. Poblaciones silvestres: B.S.: Bosques de Saloya; M.H.: Ranchería Miguel Hidalgo.



6.2.3. Análisis de parentesco de *T. venusta*

El coeficiente de relación (r), determinado por medio de los programas STORM y ML-RELATE demuestran sin lugar a duda que se presentan algunas relaciones de parentesco en los organismos fundadores de la UMA. Los análisis llevados a cabo con STORM y ML-RELATE presentan valores desde -4.78 a 0.67 y de 0 a 0.63 respectivamente, considerando todos los tipos de parejas (hembra x hembra, macho x macho, y hembra x macho). Usando el coeficiente de relación generado con STORM determinamos la proporción de cada relación en el pedigrí: padres-hijos, hermanos completos, medios hermanos y sin relación) basándonos en los criterios siguientes: valores ≤ 0 se consideran no relacionados, valores ≤ 0.25 son considerados medios hermanos y los valores > 0.25 se consideran hermanos completos o padres-hijos sin distinción (Queller y Goodnight 1989; Kamel et al. 2012), con este estudio obtuvimos un total de 45% de parejas sin relación ($n = 427$), 39% de medios hermanos ($n = 367$), y 16% de hermanos completos o padres-hijos ($n = 155$). Sin embargo, ya que el manejo genético nos interesa para optimizar la reproducción, consideramos únicamente los mejores machos y las mejores hembras en términos de parentesco genético. Los resultados de ML-RELATE demostraron que, de las 73 hembras fundadores de la UMA, únicamente 19 no tienen relación alguna con 13 de los machos y pueden ser usadas para implementar un programa de manejo genético. Las otras hembras evaluadas, tienen algún tipo de parentesco con los machos fundadores de la UMA, por lo que no se proponen dentro del programa de manejo genético. De acuerdo con la relación específica hembra-macho únicamente son viables (que producirán descendencia) 247 combinaciones de apareamiento, estas se pueden usar para crear una línea reproductora dentro la UMA, para minimizar el riesgo de depresión por endogamia en esta población. (Tabla 8 anexo).

7. RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS

7.1. *Dermatemys mawii*

En el estado de Tabasco, los lugareños se han alimentado de diferentes especies de quelonios, incluidos *D. mawii* y en la actualidad, se sigue consumiendo la especie, llegando a pagar por un ejemplar de 10 kilos precios entre 50 a 170 dólares. Esta especie ha formado parte de la dieta de las culturas mesoamericanas desde tiempos ancestrales, por ejemplo, en el análisis de la gran acrópolis de Comalcalco, Tabasco, se encontraron 9679 fragmentos de tortugas, en los cuales los restos de *D. mawii* representaron un 39.5% del total. (Guevara-



Chumacero, Pichardo-Fragoso & Martínez-Cornelio 2017). También se conoce que hace 25 años su venta aumentaba durante el tiempo de cuaresma, dándose en la región de Tenosique una venta extensiva, describen que se vendían costales llenos de tortuga blanca (Barragán Vázquez comunicación personal). Esta caza intensiva y la pérdida de hábitat han provocado los valores bajos de heterocigosidad y el cuello de botella reportado en esta investigación para las tortugas de vida libre.

La tortuga blanca está incluida en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN como "en peligro crítico" (Turtle Conservation Coalition, 2018). En México se clasifica como "en peligro de extinción" NOM-059-2010 y en Estados Unidos figura en el listado de la Endangered Species Act (ESA) (DOF, 2010; USFWS, 2016a). Esta situación fue provocada en gran medida por la destrucción y fragmentación de su hábitat, pero principalmente por la caza para el consumo de su carne. Para esta especie en México existe una veda permanente para su captura en los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, Quintana Roo, Yucatán (*Diario Oficial de la Federación, 1985*). Por lo que, las UMAs son alternativas viables que permiten la conservación, reproducción y propagación de esta especie. Los datos oficiales en México reportan 38 criaderos que incluyen a *D. mawii* con fines de conservación y aprovechamiento sustentable. Sin embargo, es importante tomar en cuenta consideraciones genéticas para mantener la variabilidad genética dentro de las UMAs (Turtle Conservation Coalition 2018).

En este estudio, los valores de la heterocigosidad observada y esperada estimados en las UMAs fueron similares a lo reportado previamente para la especie, pero los valores de estos mismos índices obtenidos en las poblaciones silvestres fueron ligeramente menores (González-Porter 2013). De igual manera, los valores de H_O y H_E , son similares a lo reportado en *Batagur baska* y *Elusor macrurus*, dos tortugas dulceacuícolas consideradas críticamente en peligro de extinción (Spitzweg et al. 2018; Schmidt, et al. 2018). Al comparar los valores globales de la diversidad genética, encontramos que los valores en las UMAs son ligeramente mayores a los de vida silvestre. Esta situación puede explicarse por las presiones humanas a la cuales está sometida la especie en vida libre como son la fragmentación y contaminación de su hábitat, así como a la caza para consumo humano y las introducciones dentro de las UMAs de organismos procedentes de decomisos llevados a cabo por PROFEPA. La literatura señala que el estado de Tabasco ha estado en un constante cambio de su paisaje debido a la implementación de diferentes actividades económicas como son la ganadería, la agricultura y la industria petroquímica, ocasionando un paisaje fragmentado, donde el estado ha perdido el 95% de sus selvas y varios de sus cuerpos de agua han sido contaminados (Tudela, 1992; Zavala & Castillo, 2002). A su vez, los individuos fundadores con valores altos en H_E y H_O se observaron en la UMA "La



Encantada". Una explicación para estos valores es la procedencia de los reproductores. La UMA "La Encantada" es manejada por una comunidad; sus dueños mencionan que sus individuos fundadores tienen diferentes procedencias. La UMA "La Encantada" en el momento de su fundación recibió individuos reproductores por parte de la UMA del Estado de Tabasco; también ha recibido donaciones de animales silvestres decomisados por PROFEPA, lo cual se evidencia a través de la mayor diversidad y estructura genética presentada donde se puede observar claramente dos grupos genéticos (Fig. 5). De igual modo, los valores en H_E y H_O obtenidos en las UMAs del estado de Tabasco y la UMA CICEA, puede explicarse por la procedencia de sus reproductores, la cual es menos variada. La UMA del estado de Tabasco, se fundó en 1978; sus individuos fundadores tienen un único origen, estos fueron capturados como adultos en el río Salinas en la frontera de México y Guatemala (Vogt comunicación personal); por otro lado, la UMA CICEA se fundó en el 2011 y obtuvo sus individuos fundadores principalmente por donaciones realizadas por PROFEPA y la UMA del Estado de Tabasco. De igual forma, la UMA "La Encantada" posee un mayor número de individuos fundadores (67), en comparación a las UMAs del estado de Tabasco y CICEA que iniciaron con 28 y 22 individuos fundadores respectivamente.

Con respecto a los valores de diversidad genética que mostraron las poblaciones silvestres, las poblaciones de Tabasquillo y Laguna el Chochal mostraron tener la mayor diversidad genética, en contraste con la población del río Mezcalapa, que presentó una diversidad genética menor. Estos datos obtenidos se pueden explicar por la localización geográfica de estas poblaciones. El arroyo Tabasquillo al igual que la Laguna el Chochal se encuentran ubicados dentro de la zona de amortiguamiento de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla. La Reserva de la Biosfera (RBPC) pantanos de Centla es un gran humedal, donde se encuentra una gran variedad de especies de plantas (737) y de vertebrados (506); de este último grupo cerca de 133 especies se encuentran en ubicadas con algún grado de vulnerabilidad (Guerra-Martínez & Ochoa-Gaona; 2008), como es el caso de *D. mawii*, por tal motivo la RBPC se ha convertido en un sitio importante para conservación biológica. Además, en un estudio previo realizado en el arroyo Tabasquillo, se logró detectar la presencia de *D. mawii* y la caracterización del este hábitat demostró que el sitio cuenta con una zona arbórea que le brinda un estado de conservación natural al sistema, lo cual que se relaciona positivamente para mantener poblaciones silvestres de tortugas (Joyal, McCollough & Hunter, 2001; Zenteno-Ruiz, Barba-Macias, Bello-Gutiérrez, & Ochoa-Gaona, 2010). Por último, tanto el arroyo Tabasquillo como la Laguna el Chochal se encuentran bajo el resguardo la comunidad local, por lo que el acceso a estas zonas solo puede ser con permiso de los locatarios.



Por su parte, la zona del río Mezcalapa, ha estado bajo una presión constante de perturbación humana. Esta área fue incluida dentro de una estrategia de producción a nivel nacional conocida como plan Chontalpa, donde se le dio prioridad al desarrollo de la agricultura y ganadería dentro del municipio, lo que provocó una alta tasa de deforestación y cambio de uso de suelo (Tudela, 1992); de igual forma la corriente natural de la cuenca del río Grijalva que pasa por este municipio fue modificada debido a la construcción de las presas: "Belisario Domínguez, La Angostura", "Manuel Moreno Torres, Chicoasén"; "Nezahualcóyotl, Malpaso" y "Ángel Albino Corzo, Peñitas" que se construyeron con el fin de producir energía eléctrica y administrar la distribución del agua en el sur de México. Así mismo, se ha reportado que, en esta región, los valores de DQO5 superan los máximos permisibles por la NOM-001-ECOL-1996 presenta un déficit de oxígeno de 4.7 mg/L; un SST de 8276.0 mg/L, así como una presencia de grasas y aceites más elevada que en las otras subregiones del estado de Tabasco (Ramos-Herrera, Broca-Martínez, Laines-Canepa & Carrera-Velueta, 2012).

Por otro lado, aunque se detectaron desviaciones al equilibrio de Hardy-Weinberg por déficit de heterocigotos para todas las poblaciones, creemos que esta desviación en las poblaciones silvestres se debe a la presencia de alelos nulos en las amplificaciones realizadas. A su vez, debido a que los individuos fundadores en las UMAs proceden de lugares diferentes, es probable que un efecto Wahlund se estaría presentando en las UMAs, lo que explicaría igualmente la desviación al equilibrio de Hardy-Weinberg. Los resultados de STRUCTURE y F_{ST} mostraron que no existe una diferencia genética entre los individuos fundadores de las UMAs. Parece posible que estos resultados se deban a las donaciones de individuos reproductores por parte de la UMA del estado de Tabasco que es la más antigua y la que por ley es la encargada de generar el pie de cría para las nuevas UMAs. Por lo tanto, es posible que las UMAs estén compartiendo un mismo pool genético común el cual procede de la UMA del estado de Tabasco. Además, otro factor que influye en la estructura genética encontrada es la asignación de un solo stock de una sola generación para funcionar como reproductores fundadores en las nuevas UMAs. Esta situación implica una menor variabilidad genética dentro del material fundador de la nueva colonia. A su vez, debido a que el pool genético que se ha mantenido en las UMAs ha sido el de la UMA del estado de tiene un solo punto de origen. Los valores de F_{ST} muestran una distancia moderada entre las poblaciones silvestres de río Mezcalapa y la laguna del Chochal y las UMAs. Los valores F_{ST} mostraron mayor cercanía con la población silvestre arroyo Tabasquillo, Centla; este resultado puede explicarse por el hecho de que, Centla, es uno de los lugares en Tabasco, donde mayores operativos realiza PROFEPA para decomisar aquellos individuos que son capturados en vida libre por medio de la caza ilegal. Posteriormente estos decomisos son trasladados a UMAs autorizadas siendo la



UMA "La Encantada" uno de los lugares que recibe frecuentemente este tipo de decomisos; por lo que es probable que alguna de las donaciones realizadas a las UMAs por parte de PROFEPA provenga de los decomisos realizados en el arroyo Tabasquillo, Centla. Por su parte, los valores F_{ST} entre las poblaciones silvestres mostraron que la población del río Mezcalapa es la más alejada a las otras poblaciones evaluadas, lo cual puede ser por las fuertes perturbaciones ecológicas humanas que ha sufrido la región de la Chontalpa (Tudela, 1992; Ramos-Herrera, Broca-Martínez, Laines-Canepa & Carrera-Velúeta, 2012), lo que puede estar provocando un aislamiento genético por fragmentación del hábitat como ha ocurrido en otras especies de tortugas como por ejemplo *Mesoclemmys dahli* (Gallego-García, Vargas-Ramírez, Forero Medina, & Caballero 2018). Los resultados de STRUCTURE mostraron que el arroyo Tabasquillo tiene una mayor representatividad de genotipos; lo que se puede atribuir a que en la zona de Centla confluyen las corrientes procedentes del sistema hídrico del Grijalva y del Usumacinta, por lo que esta zona se encontraría mejor conectada con otras poblaciones y existiría un mayor flujo genético en ella. Estos resultados tienen implicaciones importantes para el desarrollo de un manejo genético en las UMAs. En primer lugar, debido a que los individuos fundadores en las UMAs presentan un genotipo diferente a las poblaciones silvestres de Tabasco, no recomendamos utilizar estos individuos para producir crías con el objetivo de liberación a nivel local porque se corre la posibilidad de deprimir a las poblaciones locales por exogamia. En segundo lugar, debido a que las UMAs han logrado la reproducción en cautiverio y debido a que los individuos reproductores que poseen tienen una elevada diversidad genética, proponemos establecer un programa de cruzamiento para tener crías que puedan ser utilizadas con fines de investigación. Tercero, recomendamos crear un nuevo lote reproductor para poder enriquecer a las poblaciones silvestres de Tabasco de *D. mawii*, siendo la zona de Tabasquillo y la laguna el Chochal sitios de donde pueden proceder estos individuos. Cuarto, recomendamos realizar monitoreos cerca de Tenosique y Balancán para conocer si existen aún poblaciones de *D. mawii* y conocer la diversidad genética en las poblaciones de estas zonas. Quinto, desarrollar una serie de indicadores que permita identificar cambios epigenéticos en las poblaciones de *D. mawii* y la transferencia de esta impronta a los descendientes. Sexto, incluir en la normatividad lineamientos que incluyan obligatoriamente en el manejo genético en la UMA desde su creación.



7.2. *Trachemys venusta*.

Los marcadores moleculares son de gran utilidad para evaluar el estado de los programas de cría en cautiverio y los análisis genéticos desempeñan un papel fundamental en estos programas: monitorear la variación genética, identificar el origen de los individuos y asignar parentesco (Miller et al. 2018). Aproximadamente el 40% de las especies de quelonios se encuentran vulnerables o en peligro de extinción (Alacs et al. 2007) por lo que en los últimos años, se han creado varios programas de reproducción en cautiverio para la conservación de este grupo (Durrell, 1994, Cayot & Morillo, 1997, 1997, Quinn, 2002) y los investigadores dedicados a la preservación de las tortugas mencionan que es necesario incrementar los estudios genéticos con el objetivo de implementar acciones de conservación más efectivas. En el estado de Tabasco, el principal programa de cría en cautiverio para tortugas dulceacuícolas con fines de conservación, investigación y aprovechamiento sostenible se ha realizado en la UMA del estado de Tabasco. Esta UMA fue fundada hace 40 años, desde ese tiempo hasta la fecha, ha sido referencia en la crianza de tortugas dulceacuícolas; siendo la primera UMA en el estado en utilizar métodos semi-artificiales para nidos de *T. venusta* y *Staurotypus triporcatus* y en la actualidad, debido al éxito que tiene en la obtención de crías de las especies de tortugas dulceacuícolas que maneja, realiza las principales donaciones, capacitación y apoyo técnico al resto de las UMAs de tortugas que existen dentro del estado de Tabasco. En el 2008, esta UMA reportó una eclosión de 1650 individuos de *T. venusta* dentro de sus instalaciones y el censo fue de 4125 individuos (SEMARNAT, 2009). Pero, a pesar del tiempo que lleva operando este lugar, no se ha realizado ningún estudio genético con los individuos de *T. venusta* de esta UMA, por lo que los resultados presentados en esta investigación son los primeros para esta especie en este sitio. En este estudio, encontramos que los valores de H_D y H_E de los individuos fundadores de la UMA del estado de Tabasco, fueron más altos en comparación a los individuos de las poblaciones silvestres evaluadas; consideramos que esto puede deberse a que los organismos fundadores de la UMA proceden de diferentes localidades y por lo tanto la UMA tendría una mayor aportación de diversidad genética. Una situación parecida se ha reportado en la tortuga *Elusor macrurus*; donde la diversidad genética fue más baja en las poblaciones silvestres en comparación con los individuos que tienen en un programa de reproducción en cautiverio (Schmidt et al. 2017). De igual manera, consideramos que la diversidad genética encontrada en la UMA pudiera deberse a que tenían las poblaciones silvestres de *T. venusta* desde hace 4 décadas, las cuales tenían una diversidad genética más alta que las poblaciones silvestres actuales. Esto concuerda con lo reportado en el trabajo realizado en *Lithobates sevosus*, una rana del sureste de Estados Unidos, en donde se encontró que los individuos



fundadores del programa de reproducción en cautiverio son genéticamente representativos de las poblaciones naturales (Hinkson et al. 2016). Por otro lado, la diversidad genética de las poblaciones silvestres de *T. venusta* pudo haber decaído a causa de los procesos de pérdida y fragmentación del hábitat y la contaminación de aguas que ha sufrido el territorio tabasqueño (Tudela, 1992). En la población de vida libre capturada en Bosques de Saloya, la diversidad genética obtenida pudo verse afectada por procesos de fragmentación, debido a que este lugar es una zona conurbada perteneciente a la zona metropolitana de Villahermosa-Nacajuca y aunque existen aún numerosos cuerpos de agua, también se presentan asentamientos humanos, los cuales se mezclan con áreas destinadas a pastizales y potreros. Por otro lado, los cuerpos de agua del río Samaria, que están cerca de Bosques de Saloya, se encuentran contaminados a causa de la actividad petrolera desarrollada en este lugar (Gutiérrez et al. 2002). Por tal motivo, la contaminación y el crecimiento de la mancha urbana pudieran estar disminuyendo significativamente las poblaciones de *T. venusta* e influyendo por tanto de forma negativa en la diversidad genética. Se reconoce además que en Villahermosa y sus alrededores (municipios de Nacajuca, Comalcalco, Jalpa de Méndez y Cunduacán) alguna vez las tortugas dulceacuícolas fueron abundantes, pero en la actualidad es menos frecuente encontrar tortugas nativas como *T. venusta* (Reynoso, Vázquez-Cruz & Rivera-Arroyo, 2016). Las poblaciones silvestres de Tabasquillo y Miguel Hidalgo están localizadas en la zona de amortiguamiento de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, en esta región se realiza una extracción de quelonios constante para consumo y venta ilegal, por lo que esta actividad podrían estar mermando el tamaño de las poblaciones de *T. venusta*, y por ende la diversidad genética. El consumo de *T. venusta* es realizado desde tiempos prehispánicos en la región (Guevara-Chumacero et al. 2017) y es de las primeras opciones para ser consumida por los lugareños. De igual forma, la venta ilegal y el tráfico de especies, es algo que existe en el estado de Tabasco, y entre las tres principales rutas de tráfico de vida silvestre en México, el estado de Tabasco se ubica en la ruta del el Golfo de México y sursureste de México (Alvarado-Martínez, 2012). Además; una de las carreteras principales que comunica a Centla con el resto de Tabasco, es la carretera Villahermosa-Frontera y en este lugar se puede observar a personas vendiendo de forma ilegal diferentes tipos de tortugas incluida las especies *T. venusta* (PROFEPA 2014, 2015, Reynoso, Vázquez-Cruz & Rivera-Arroyo. 2016).

Los valores de diferenciación genética (F_{ST}) entre la UMA y las poblaciones silvestres muestran una diferenciación genética moderada entre las poblaciones cautivas y silvestres; esto es un motivo de preocupación, porque se ha dedicado mucho esfuerzo para criar esta especie en cautiverio. Sin embargo, la diferenciación genética es también evidente en los resultados obtenidos a partir de STRUCTURE, esto puede dificultar el uso de individuos criados en la UMA para



programas de repoblación. Desafortunadamente, la cría en cautividad a gran escala a menudo conduce a rasgos y/o individuos seleccionados artificialmente que sobreviven mejor en cautiverio, pero que pueden no prosperar cuando regresan a la naturaleza (Turtle Conservation Coalition, 2018).

7.3. Análisis de paternidad.

La mayoría de los proyectos de cría en cautiverio, no son genéticamente monitoreados y únicamente en los últimos años se ha puesto mayor atención en las relaciones de pedigrí y paternidad. Witzemberger y Hochkirch en 2011 revisaron 188 estudios donde se utilizan enfoques de conservación genética para programas de mejoramiento. La mayoría de los estudios aplican microsatélites y recomiendan usar tantos fundadores como sea posible, que además no estén relacionados entre ellos. Uno de los pocos estudios en tortugas en cautiverio fue llevado a cabo por Spitzweg et al. (2007), con el objetivo de reducir la endogamia. Ellos analizaron la diversidad genética y parentesco de la tortuga (*Batagur baska*), en un programa de cría en cautiverio, ellos usaron las relaciones de parentesco entre individuos fundadores y sus descendientes. Sus resultados indican que la mayoría de los individuos fundadores que provenían de vida silvestre, tenían un parentesco elevado.

En esta investigación se evaluó el coeficiente de relación para la población cautiva (UMA del estado de Tabasco) en donde encontramos que los individuos tienen bajos niveles de parentesco (tomando hembra-macho, hembra-hembra y macho-macho), lo cual puede ser un indicativo que los ejemplares de *T. venusta* fundadores tienen diferente procedencia o también puede deberse a que la población de procedencia era suficientemente grande para evitar o minimizar el parentesco. En los resultados que estamos presentando se consideraron únicamente las parejas hembra-macho. De acuerdo con los resultados obtenidos a partir de la hipótesis específica de los programas ML-RELATE y STORM, recomendamos un total de 247 parejas potenciales, las cuales fueron seleccionadas en base a su coeficiente de relación genética de cero, lo cual indica que los individuos no comparten alelos y presentan un bajo índice de homocigosidad por loci *HL*. Para evitar endogamia en las siguientes generaciones, es necesario que produzcan descendientes heterocigotos, es decir, que contengan alelos diferentes y mantengan una eficiente diversidad genética. Se ha reportado que los organismos criados en cautiverio a partir de un bajo número de individuos fundadores tienden a mostrar baja diversidad genética y un índice alto de endogamia. Un ejemplo de esto es el estudio llevado a cabo por Miller et al. (2018), los que evaluaron con un análisis de pedigrí tres estaciones del programa



de reproducción en cautiverio de la tortuga gigante de las Galápagos, la cual se consideraba extinta. En su investigación, observaron que la diversidad genética de la progenie se reducía en una sola generación y había una tendencia hacia la reducción de la forma física cuando se criaban más individuos relacionados. El número de organismos fundadores fue bajo (9), sin embargo, concluyen que, tomando las consideraciones necesarias, como evitar el apareamiento entre organismos relacionados, se logrará aumentar la diversidad genética en esta población. Por esta razón, consideramos que la UMA de tortugas del estado de Tabasco, está aún en tiempo para llevar a cabo un plan de manejo genético adecuado con estos individuos para producir organismos con una mejor diversidad genética y vale la pena mencionar que esto también es posible porque las tortugas tienen una larga vida reproductiva, que es aún mayor en cautiverio.

Además, creemos que es conveniente analizar la descendencia de los fundadores que ya están en la UMA para hacer un mejor uso de la población, seleccionando aquellos individuos que tengan una alta diversidad genética. Otra recomendación para considerar en la implementación de un programa de manejo genético para *T. venusta* es el almacenamiento de esperma y paternidad múltiple, ya que se ha reportado en varias especies de tortugas (Edwards et al., 2014) como una estrategia reproductiva que sirve para maximizar la diversidad genética de la descendencia de organismos de larga vida (Davy et al. 2011).

8. CONCLUSIONES

Las poblaciones cautivas de *D. mawii* y *T. venusta* evaluadas en esta investigación, presentan mayor diversidad genética que las poblaciones de vida libre, con valores más altos de número efectivo de alelos, heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada. En el caso de *D. mawii* entre las UMAs no hay diferenciación genética, debido a que la UMA del estado de Tabasco es la principal donadora de organismos fundadores para las nuevas UMAs. Sin embargo, la UMA "La Encantada" presenta valores más elevados de heterocigosidad.

Las poblaciones silvestres presentan una mayor endogamia, probablemente causada por la reducción en el tamaño de las poblaciones y la fragmentación del hábitat, que provoca aislamiento de las poblaciones y limitada la migración y por ende el flujo genético. La población del río Mezcalapa presenta evidencia de un cuello de botella, el cual puede ser provocado por una disminución drástica en el tamaño de la población; lo cual hace que esta población esté en un riesgo mayor



de extinción. La población de Tabasquillo presenta mejores valores de diversidad genética y en la estructura genética pueden observarse un número mayor de genotipos, por lo cual debe de considerarse como un sitio prioritario para la conservación de la especie. La estructura genética en las dos especies presenta una diferenciación entre las poblaciones cautivas con las de vida libre. Por lo anterior se debe evitar destinar a los individuos nacidos en cautiverio hasta el momento, para programas de reintroducción a vida silvestre, ya que pueden causar depresión genética por exogamia. Inclusive se ha reportado que los individuos cautivos de *D. mawii* presentan un comportamiento diferente a la especie en vida libre, como es la postura de huevos fuera del agua (este comportamiento se ha descrito en la UMA "La encantada" y la UMA CICEA, por comunicación personal). Se debe aclarar que este comportamiento si bien puede facilitar el manejo dentro de las UMAs, no es deseable si estos individuos se liberan en el medio silvestre, debido a que pueden hacer a los huevos más susceptibles al ataque por depredadores y/o deshidratación y lo tanto a presentar una menor viabilidad.

En la especie *Trachemys venusta*, se observó que la endogamia es más baja en las UMAs que en las poblaciones silvestres. Así también los organismos de vida libre presentan mayor homocigosidad. Debido a lo anterior las poblaciones de *Trachemys venusta* pueden estar en un riesgo mayor si se considera únicamente el número de individuos, ya que la homocigosidad y la endogamia puede provocar la disminución drástica de las poblaciones ante una eventualidad, como enfermedades o cambios drásticos ambientales, ya que no tendrían suficiente diversidad genética para sobrevivir. Se debe de implementar un plan de manejo genético para las dos especies evaluadas en las poblaciones cautivas, para incrementar la diversidad genética y posteriormente mantenerla lo más cercana posible a las poblaciones silvestres. Las poblaciones de las UMAs presentan altos índices de parentesco, con pocos individuos sin relación genética, lo que dificulta el plan de manejo en las UMAs. Por último, se recomienda ampliamente la captura de individuos de vida silvestre para el enriquecimiento de las UMAs, siendo los sitios Tabasquillo del municipio de Centla y Laguna Chochal del municipio de Jonuta áreas adecuadas para conseguir estos nuevos individuos.



9. REFERENCIAS O BIBLIOGRAFÍAS

Alacs, E. A., Janzen, F. J., & Scribner, K. T. (2007). Genetic issues in freshwater turtle and tortoise conservation. *Chelonian Research Monographs*, 4, 107.

Alvarado-Martínez, I. (2012). Delincuencia organizada ambiental en México, una nueva manifestación criminal del tráfico de especies. *Revista criminalidad*, 54(1), 283-311.

Amos B & Hoelzel AR. (1991). Long-term preservation of whale skin for DNA analysis. En: Genetic Ecology of Whales and Dolphins (eds Hoelzel AR, Donovan GP), pp. 99–103. The International Whaling Commission, Cambridge.

Amos, W., Wilmer, J. W., Fullard, K., Burg, T. M., Croxall, J. P., Bloch, D., & Coulson, T. (2001). The influence of parental relatedness on reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1480), 2021-2027.

Aparicio, J. M., Ortego, J., & Cordero, P. J. (2006). What should we weigh to estimate heterozygosity, alleles or loci? *Molecular Ecology*, 15(14), 4659-4665.

Ballou, J. D., & Lacy, R. C. (1995). Identifying genetically important individuals for management of genetic variation in pedigreed populations. *Population management for survival and recovery*, 76-111.

Calderón-Mandujano, R. R. (2008). Conocimiento y uso de la tortuga blanca (*Dermatemys mawii* Gray, 1847) en diez Ejidos en el sur de Quintana Roo, México. *Etnobiología*, 6: 42-55.

Cagle, F. R. (1950). The life history of the slider turtle *Pseudemys scripta trostii* (Holbrook). *Ecological monographs*, 20:31-54.

Cayot, L. J., & Morillo, G. E. (1997). Rearing and repatriation of Galapagos tortoises: *Geochelone nigra hoodensis*, a case study. In *Proceedings: Conservation, Restoration, and Management of Tortoises and Turtles, An International Conference* (pp. 178-183).

Chapuis, M. P., & Estoup, A. (2006). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular biology and evolution*, 24(3), 621-631.



Cornuet, J. M., & Luikart, G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144(4), 2001-2014.

Davy, C. M., Edwards, T., Lathrop, A., Bratton, M., Hagan, M., Henen, B., ... & Murphy, R. W. (2011). Polyandry and multiple paternities in the threatened Agassiz's desert tortoise, *Gopherus agassizii*. *Conservation Genetics*, 12(5), 1313.

Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J., & Ovenden, J. R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Molecular ecology resources*, 14(1), 209-214.

Diario Oficial de la Federación. (1985). Acuerdo que establece veda a la explotación de las especies de tortuga de agua dulce, 1 de octubre. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4768631&fecha=01/10/1985. (Accessed 8 November 2018).

Diario Oficial de la Federación. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-Semarnat -2010, Protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo, Diario Oficial de la Federación, 30 de diciembre de 2012, México.

Durrell, L. (1994) A is for Angonoka: the ploughshare tortoise project and the ABCs of species conservation. *Testudo*, 4(1).

Earl, D.A., & Von Holdt, B.M. (2011). STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetic Resources*, 4, 359–361.

Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.

Edwards, T., Cox, E. C., Buzzard, V., Wiese, C., Hillard, L. S., & Murphy, R. W. (2014). Genetic assessments and parentage analysis of captive Bolson tortoises (*Gopherus flavomarginatus*) inform their “rewilding” in New Mexico. *PloS one*, 9(7).



Flores-Villela, O., & Canseco-Márquez, L. (2004). Nuevas especies y cambios taxonómicos para la herpetofauna de México. *Acta zoológica mexicana*, 20(2), 115-144.

Frasier, T. R. (2008). STORM: software for testing hypotheses of relatedness and mating patterns. *Molecular Ecology Resources*, 8(6), 1263-1266.

Gallego-García, N., Vargas-Ramírez, M., Forero-Medina, G., & Caballero, S. (2018). Genetic evidence of fragmented populations and inbreeding in the Colombian endemic Dahl's toad-headed turtle (*Mesoclemmys dahli*). *Conservation Genetics*. 19, 221-233. <https://doi.org/10.1007/s10592-017-1021-z>.

González-Porter, G. P., Hailer, F., Flores-Villela, O., García-Anleu, R., & Maldonado, J. E. (2011). Patterns of genetic diversity in the critically endangered Central American river turtle: human influence since the Mayan age? *Conservation Genetics*, 12(5), 1229-1242.

González-Porter, G. P., Maldonado, J. E., Flores-Villela, O., Vogt, R. C., Janke, A., Fleischer, R. C., y Hailer, F. (2013). Cryptic Population Structuring and the Role of the Isthmus of Tehuantepec as a Gene Flow Barrier in the Critically Endangered Central American River Turtle. *PloS one*, 8(9), e71668.

Guerra-Martínez, V., Ochoa-Gaona, S. (2008). Evaluación del programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla en Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*. 24, 135-146.

Guzmán-Juárez, E. (2006). Caracterización del hábitat y distribución de las tortugas dulceacuícolas de la Reserva de la Biósfera de Pantanos de Centla, Tabasco. Tesis de Licenciatura en Biología. División Académica de Ciencias Biológicas-UJAT.

Guevara Chumacero, M., Pichardo Fragoso, A., & Martínez Cornelio, M. (2017). La tortuga en Tabasco: comida, identidad y representación. *Estudios de cultura maya*, 49, 97-122.

Gutiérrez, M. D. C., & Zavala, J. (2002). Rasgos hidromórficos de suelos tropicales contaminados con hidrocarburos. *Terra Latinoamericana*, 20(2).

Hinkson, K. M., Henry, N. L., Hensley, N. M., & Richter, S. C. (2016). Initial founders of captive populations are genetically representative of natural



populations in critically endangered dusky gopher frogs, *Lithobates sevosus*. *Zoo biology*, 35(5), 378-384.

Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular ecology resources*, 9(5), 1322-1332.

Iverson J. & Mittermeier R. (1980). Dermatemydidae. Tortugas de río. Catálogo de los anfibios americanos y Reptiles N° 237: 1-4.

Juárez-Sánchez A. D. A. (2008). Estimación de diferencias morfométricas de la Tortuga blanca (*D. mawii*) en el Petén. Universidad de San Carlos, Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias. 97p.

Joyal, L. A., McCollough, M., Hunter, M. L. (2001). Landscape ecology approaches to wetland species conservation: a case study of two turtle species in Southern Maine. *Conservation Biology*. 15: 1755-1762. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2001.98574.x>.

Kalinowski, S. T., Wagner, A. P., & Taper, M. L. (2006). ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes*, 6(2), 576-579.

Kalinowski, S. T., Taper, M. L., & Marshall, T. C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular ecology*, 16(5), 1099-1106.

Kamel, S. J., Hughes, A. R., Grosberg, R. K., & Stachowicz, J. J. (2012). Fine-scale genetic structure and relatedness in the eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series*, 447, 127-137.

Lee, J. C. (1996). The amphibians and reptiles of the Yucatán Peninsula. Cornell University Press. Ithaca, NY.

Macip-Ríos, R., Ontiveros, R., López-Alcaide, S., y Casas-Andreu, G. (2015). The conservation status of the freshwater and terrestrial turtles of Mexico: a critical review of biodiversity conservation strategies. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(4), 1048-1057.

Miller, J. M., Quinzin, M. C., Scheibe, E. H., Ciofi, C., Villalva, F., Tapia, W., & Caccone, A. (2018). Genetic pedigree analysis of the pilot breeding program for



the rediscovered Galapagos giant tortoise from Floreana island. *Journal of Heredity*, 1, 11.

Moll D. (1989). Food and Feeding Behavior of the Turtle, *Dermatemys mawii*, in Belize. *Journal of Herpetology*, Vol 23, No. 4 p. 445-447.

Peakall, R., & Smouse P.E. (2012). GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.

Piry, S., Luikart, G., & Cornuet, J.M. (1999). Computer Notes Simulation of Effects of. *Journal of Heredity*, 90, 502-503.

Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Proebstel B. S., Evas R. P., Shiozawa D. K., Williams R. N. (1993). Preservation of nonfrozen tissue samples from a salmonine fish *Brachymystax lenok* (Pallas) for DNA analysis. *J. Ichthyol.*, 32, 9-17.

PROFEPA. (2014). Asegura PROFEPA 30 tortugas en Tabasco. URL: http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/v/5687/1/mx.wap/asegura_profepa_30_tortugas_en_tabasco.html

PROFEPA. (2015) 1. Remite PROFEPA a MPF a sujeto en posesión de ejemplares de vida silvestre en situación de riesgo. URL: http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/v/7159/1/mx/remite_profepa_a_mpf_a_sujeto_en_posesion_de_ejemplares_de_vida_silvestre_en_situacion_de_riesgo.html

Queller, D. C., & Goodnight, K. F. (1989). Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*, 43(2), 258-275.

Quinn, H. (2002). Species Recovery Plan. Taxon Captive Management Plan and Field Action Plan. Species: Batagur baska, River Terrapin. Turtle Conservation Fund.

Ramos-Herrera, S., Broca-Martínez, L. F., Laines-Canepa, J. R., & Carrera-Velúeta, J. M. (2012). Tendencia de la calidad del agua en ríos de Tabasco, México. *Ingeniería*, 16(3).



Rangel-Mendoza, J., Weber, M., Zenteno-Ruiz, C. E., López-Luna, M. A., & Barba-Macías, E. (2009). Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. *Research in veterinary science*, 87(2), 313-318.

Raymond M. & Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal Heredity*, 86, 248-249.

Reynoso, V. H., Vázquez-Cruz, M. L. and Rivera-Arroyo R. C. (2016). Estado de conservación, uso, gestión, comercio y cumplimiento de los criterios de inclusión a los Apéndices de la CITES para las especies *Claudius angustatus* y *Staurotypus triporcatus*. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Informe final SNIBCONABIO, proyecto No. MM009. Ciudad de México.

Rousset, F. (2008). Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 103-106.

Rozen, S., & Skaletsky, H. (2000). Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In *Bioinformatics methods and protocols* (pp. 365-386). Humana Press, Totowa, NJ.

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (1997). Programa de conservación de la vida silvestre y diversificación productiva del sector rural: 1997-2000. Mexico City, Mexico.

SEMARNAT. (2009). Memorias del Taller de capacitación para la conservación y aprovechamiento sustentable de tortugas dulceacuícolas del sur-sureste de México. 25-27 marzo 2009. Catemaco, Veracruz. http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/SF408_T352009.pdf. (revisado el 8 de noviembre de 2018).

SEMARNAT. 2010. Plan de Manejo Tipo para la conservación y aprovechamiento sustentable de la Tortuga Blanca (*Dermatemys mawii*), Modalidad intensivo. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, D.F.

Simison, W. B., Sellas, A. B., Feldheim, K. A., & Parham, J. F. (2013). Isolation and characterization of microsatellite markers for identifying hybridization and genetic pollution associated with red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Conservation Genetics Resources*, 5(4), 1139-1140.



Schmidt, D. J., Espinoza, T., Connell, M., & Hughes, J. M. (2018). Conservation genetics of the Mary River turtle (*Elusor macrurus*) in natural and captive populations. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 28(1), 115-123.

Spitzweg, C., Praschag, P., DiRuzzo, S., Fritz, U. (2018). Conservation genetics of the northern river terrapin (*Batagur baska*) breeding project using a microsatellite marker system. *SALAMANDRA*. 54, 63-70.

Tudela, F. (1992). La modernización forzada del trópico: El caso de Tabasco, proyecto integrado del Golfo. IFIAS. México, D.F.

Turtle Conservation Coalition [Stanford, C. B., Rhodin, A. G. J., van Dijk, P. P., Horne, B. D., Blanck, T., Goode, E. V., Hudson, R., Mittermeier, R.A., Currylow, A., Eisemberg, C., Frankel, M., Georges, A., Gibbons, P.M., Juvik, J.O., Kuchling, G., Luiselli, L., Shi, H., Singh, S., and Walde, A. D. (Eds.)] (2018). *Turtles in trouble: The World's 25+ Most Endangered Tortoises and Freshwater turtles-2018*. Ojai, CA: IUCN SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group, Turtle Conservancy, Turtle Survival Alliance, Turtle Conservation Fund, Chelonian Research Foundation, Conservation International, Wildlife Conservation Society, and Global Wildlife Conservation, 80 pp.

Valdez, R., Guzmán-Aranda, J. G., Abarca, F. J., Tarango-Arámbula, L. A., & Clemente-Sánchez, F. (2006). Wildlife Conservation and Management in Mexico. *Wildlife Society Bulletin*, 34(2): 270-282.

Valiente-Banuet, A., Aizen, M. A., Alcántara, J. M., Arroyo, J., Cocucci, A., Galetti, M., ... & Medel, R. (2015). Beyond species loss: the extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional Ecology*, 29(3), 299-307.

USFWS. (2016). ECOS Environmental Conservation Online System, United States Fish and Wildlife Service. Washington, DC. In: <https://ecos.fws.gov/ecp/>. (revisado el 8 de noviembre de 2018).

Vogt, R. C. (1990). Reproductive parameters of *Trachemys scripta venusta* in southern Mexico. *Life History and Ecology of the Slider Turtle*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, USA, 162-170.



Waples, R. S., & Do, C. H. I. (2008). LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular ecology resources*, 8(4), 753-756.

Weber, M., García-Marmolejo, G., & Reyna-Hurtado, R. (2006). The tragedy of the commons: wildlife management units in southeastern Mexico. *Wildlife Society Bulletin*, 34(5), 1480-1488.

Williams, S. E., & Hoffman, E. A. (2009). Minimizing genetic adaptation in captive breeding programs: a review. *Biological conservation*, 142(11), 2388-2400.

Witzenberger, K. A., & Hochkirch, A. (2011). Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. *Biodiversity and Conservation*, 20(9), 1843-1861. <https://doi.org/10.1007/s10531-011-0074-4>

Zavala, C. J., & Castillo, A. O. (2002). Cambios de uso de la tierra en el estado de Tabasco. *Plan de uso sustentable de los suelos del estado de Tabasco*, 2, 38-56.

Zenteno R.C. (1993). Estudio de la reproducción de tres especies de tortugas de agua dulce en el estado de Tabasco, México. Tesis de Licenciatura. UJAT. Villahermosa, Tabasco.

Zenteno, R. C., Sánchez, A. M., Torres, R. E., & Cruz, R. M. (2001). Historia natural de las tortugas dulceacuícolas del Ejido Río Playa, Comalcalco, Tabasco. *Universidad y Ciencia*, 6(12), 12-22.

Zenteno, C. E., & Bouchot, C. (2001). Reproducción de la tortuga pinta (*Trachemys scripta venusta*) en una laguna de la planicie costera Veracruzana. *Universidad y Ciencia*, 17(33), 37-42.

Zenteno Ruiz, C. E., Barba Macias, E., Bello-Gutiérrez, J., & Ochoa-Gaona, S. (2010). Caracterización espacio-temporal del hábitat y presencia de *Dermatemys mawii* (Testudines: Dermatemydidae) en la cuenca del Grijalva-Usumacinta, Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 58(4), 1247-1260.

http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442010000400017&lng=en&nrm=iso.



10. ANEXOS

- 10.1. Tablas de apareamientos recomendados para *Dermatemys mawii* y *Trachemys venusta*
- 10.2. Presentaciones PowerPoint proyecto
- 10.3. Cuantificación de DNA *Dermatemys mawii* y *Trachemys venusta*
- 10.4. Correos de envío de artículo científico
- 10.5. Mapa localidades de muestreos
- 10.6. Noticia, saqueo UMA de tortugas del estado de Tabasco
- 10.7. Tabla de microsatélites
- 10.8. Programa de manejo genético *Dermatemys mawii*
- 10.9. Programa de manejo genético *Trachemys venusta*
- 10.10. Archivo fotográfico *Dermatemys mawii*
- 10.11. Archivo fotográfico *Trachemys venusta*
- 10.12. Archivo fotográfico general del proyecto

11. ÍNDICES DE FIGURAS, TABLAS Y MAPAS

Tabla 1 Número de individuos capturados por UMA y población silvestre para la especie <i>Dermatemys mawii</i>	14
Tabla 2. Número de individuos capturados por UMA y población silvestre para la especie <i>Trachemys venusta</i>	14
Mapa 1. Ubicación de los sitios de muestreo.....	15
Mapa 2. Ubicación de la UMA "La Encantada".....	16
Figura 1. Extracción de los individuos reproductores y fundadores de la especie <i>Trachemys venusta</i> utilizando la técnica conocida como "arrastre" con el uso de una red de pesca tipo trasmallo.....	17
Figura 2. Resguardo de individuos de <i>Trachemys venusta</i> en tinas para su posterior toma de muestra biológica.....	17
Figura 3. Liberación de organismos de <i>Trachemys venusta</i> a sus estanques..	18
Figura 4. Resguardo de individuos y marcaje de <i>Trachemys venusta</i>	18



Figura 5. Extracción de los individuos reproductores y fundadores de la especie <i>Dermatemys mawii</i> utilizando trampas de aros.....	19
Figura 6. Extracción de los individuos reproductores y fundadores de la especie <i>Dermatemys mawii</i> utilizando trampas de aros.....	19
Mapa 3. Ubicación de la UMA CICEA.....	22
Mapa 4. Ubicación de la UMA del estado de Tabasco.....	25
Figura 7. Diagrama de muestreo y procesamiento de muestras.....	36
Figura 8. Diagrama de análisis de datos.....	39
Figura 9. Diagrama de análisis de parentesco.....	41
Tabla 3. Valores de Diversidad Genética para UMAs y poblaciones silvestres de <i>Dermatemys mawii</i>	43
Tabla 4. F_{ST} pareadas para todas las poblaciones, considerando poblaciones cautivas UMAs y poblaciones silvestres de <i>Dermatemys mawii</i>	45
Figura 10. Gráfico Structure entre UMAs y poblaciones silvestres de <i>Dermatemys mawii</i> donde se puede observar 2 grupos genéticos bien definidos.....	46
Figura 11. Gráfico Structure entre UMAs de <i>Dermatemys mawii</i> donde se puede observar 3 grupos genéticos bien definidos.....	46
Figura 12. Gráfico Structure entre poblaciones silvestres de <i>Dermatemys mawii</i> donde se puede observar 2 grupos genéticos bien definidos.....	47
Tabla 5. Diversidad genética de <i>Trachemys venusta</i> en la UMA del estado de Tabasco y las poblaciones silvestres.....	50
Tabla 6. Valores pareados de F_{ST} valores para <i>Trachemys venusta</i> entre UMA y poblaciones silvestres.....	51
Figura 13. Análisis Bayesiano obtenido por STRUCTURE 2.3.3 usando $K=2$ para <i>Trachemys venusta</i>	52
Tabla 6. Relaciones de pedigrí para <i>Trachemys scripta</i>	Anexo 10.1
Tabla 7. Relaciones de pedigrí para <i>Dermatemys mawii</i>	Anexo 10.1
Tabla 8. Grupo 1 de reproductores adecuados para realizar un manejo genético en la UMA "La Encantada".....	Anexo 10.1
Tabla 9. Grupo 2 de reproductores adecuados para realizar un manejo genético en la UMA "La Encantada".....	Anexo 10.1
Tabla 10. Reproductores adecuados para realizar un manejo genético en la UMA del Estado de Tabasco.....	Anexo 10.1
Tabla 11. Reproductores adecuados para realizar un manejo genético en la UMA CICEA.....	Anexo 10.1
Tabla 12. Concentración y Pureza del ADN extraído a <i>D. mawii</i> de los individuos de la UMA La Encantada.....	Anexo 10.3



Tabla 13. Concentración y Pureza del ADN extraído a <i>D. mawii</i> de los individuos de la UMA del estado de Tabasco.....	Anexo 10.3
Tabla 14. Concentración y Pureza del ADN extraído a <i>D. mawii</i> de los individuos de la UMA CICEA.....	Anexo 10.3
Tabla 15. Concentración y Pureza del ADN extraído a <i>D. mawii</i> de los individuos pertenecientes a la población Tabasquillo.....	Anexo 10.3
Tabla 16. Concentración y Pureza del ADN extraído a <i>D. mawii</i> de los individuos pertenecientes a la población Huimanguillo.....	Anexo 10.3
Tabla 17. Concentración y Pureza del ADN extraído a <i>D. mawii</i> de los individuos pertenecientes a la población Jonuta.....	Anexo 10.3
Tabla 18. Concentración total y Pureza del ADN extraído a <i>T. venusta</i> de los individuos pertenecientes a la Granja del estado del Tabasco.....	Anexo 10.3
Tabla 19. Información de 10 microsatélites usados para <i>Dermatemys mawii</i>	Anexo 10.7
Tabla 20. Información de 14 microsatélites usados para <i>Trachemys venusta</i>	Anexo 10.7

10.1. Tablas apareamiento recomendados para *Dermtemys mawii* y *Trachemys venusta*.

Tablas de apareamiento recomendados para *Trachemys venusta*

Tabla 7. Relaciones de pedigrí para todas las parejas hembra x macho (n = 949) de las UMA determinadas por ML-RELATE. Se indican tres tipos de parentesco: medios hermanos (HS), hermanos completos (FS), y padres-hijos (PO). Los valores de HS resaltados corresponden a las probabilidades más exactas, las letras en gris indican aquellos que cambian a sin relación, después de aplicar la prueba de "likelihood ratio test". Las hembras en gris no tienen ninguna relación de parentesco los 13 machos. Se recomiendan para el manejo genético, las hembras que no tengan ningún tipo de relación con los machos y se tomaron todos los machos, ya que hay pocos machos fundadores en la UMA.

		Machos													
		ID	10	13	21	22	25	31	35	37	46	47	60	75	83
		ID UMA	29	82	133	259	307	779	290	403	301	75	176	701	179
Hembras		HL	0.40	0.27	0.38	0.34	0.25	0.26	0.11	0.23	0.60	0.50	0.48	0.47	0.14
ID	ID UMA														
1	52	0.52									HS		FS		HS
2	194	0.13										HS			
3	14	0.40					HS								
4	174	0.23	HS							HS					
5	42	0.49	HS		HS							HS	HS		
6	93	0.11		HS					HS	HS	HS				
7	69	0.13	HS									HS			
8	38	0.36	HS				HS						HS		
9	7	0.25	HS	HS						HS					HS

43	129	0.41		HS			PO			HS					
44	250	0.35							HS			HS	HS		
45	116	0.23								FS	PO	HS	HS		HS
48	3	0.62										HS	FS		
49	202	0.27			HS						HS	PO			
50	526	1.00									FS				
51	65	0.51									HS				
52	199	0.22										FS			
53	1	0.36											HS		
54	112	0.49													
55	106	0.36										FS			
56	44	0.49						HS				HS	HS		
57	23	0.49				HS						HS			
58	61	0.11				HS		HS				HS	HS		
59	36	0.11				HS	HS	FS		HS		HS			
61	6	0.36					HS	FS				HS			
62	123	0.34								HS	HS		FS		
63	2	0.22			HS						HS				
64	19	0.36									HS	FS	HS		
65	47	0.47													
66	143	0.40										FS	FS		
67	109	0.68									HS		HS		
68	29	0.49							HS						
69	85	0.49										FS		HS	
70	13	0.28										HS	HS		

ID Machos		Tabla 8.- Relaciones de pedigrí de las parejas hembra-macho para <i>D. mawii</i> en tres UMAS del Estado de Tabasco con bajo índice de homocigosidad (< 0.4 <i>HL</i>) y que serían las adecuadas para mantener en un sistema de reproducción en cautiverio. U= No relacionados, HS= Medios hermanos, FS=Hermanos completos, PO= Padres-Hijos. Hembras sombreadas no presentan parentesco con los machos.							
		Proyecto	ENC-014	ENC-021	ENC-045	ENC-051	ENC-052	NAC-118	CICEA-005
UMA		207	S/M	S/M	S/M	204	118	101	
ID Hembras		<i>HL</i>	0.31	0.20	0.28	0.30	0.28	0.38	0.20
Proyecto	UMA								
ENC-004	269	0.24	U	U	U	U	U	U	U
ENC-022	S/N	0.38	U	U	U	U	U	U	U
ENC-023	201	0.38	U	U	U	U	U	U	U
ENC-058	156	0.37	U	U	U	U	U	U	U
ENC-065	164	0.18	U	U	U	U	U	U	U

Tablas de apareamiento recomendados para *D. mawii*

Tabla 9. Grupo 1 de reproductores adecuados para realizar un manejo genético en la UMA "La Encantada".

		ID Machos	Proyecto	ENC-008	ENC-013	ENC-014	ENC-019
			UMA	S/M	205	207	149
ID Hembras			<i>HL</i>	0.58	0.42	0.31	0.47
Pro	UMA						
ENC-022	S/M	0.38	U	U	U	U	
ENC-023	201	0.38	U	U	U	U	
ENC-024	S/M	0.38	U	U	U	U	
ENC-026	244	0.41	U	U	U	U	
ENC-027	172	0.41	U	U	U	U	
ENC-028	179	0.76	U	U	U	U	
ENC-029	3	0.13	U	U	U	U	
ENC-030	219	0.52	U	U	U	U	
ENC-031	197	0.39	U	U	U	U	
ENC-032	266	0.32	U	U	U	U	
ENC-034	S/M	0.23	U	U	U	U	
ENC-037	153	0.41	U	U	U	U	
ENC-038	253	0.39	U	U	U	U	
ENC-039	S/M	0.41	U	U	U	U	
ENC-040	237	0.42	U	U	U	U	
ENC-041	208	0.48	U	U	U	U	

ENC-042	264	0.36	U	U	U	U
ENC-043	183	0.41	U	U	U	U
ENC-044	160	0.38	U	U	U	U
ENC-046	232	0.58	U	U	U	U
ENC-047	222	0.33	U	U	U	U
ENC-049	S/M	0.34	U	U	U	U
ENC-050	241	0.37	U	U	U	U
ENC-053	191	0.28	U	U	U	U
ENC-054	174	0.35	U	U	U	U
ENC-055	203	0.25	U	U	U	U
ENC-056	212	0.42	U	U	U	U
ENC-057	262	0.22	U	U	U	U
ENC-058	156	0.37	U	U	U	U
ENC-059	S/M	0.37	U	U	U	U
ENC-060	170	0.11	U	U	U	U
ENC-061	S/M	0.26	U	U	U	U
ENC-062	S/M	0.55	U	U	U	U
ENC-064	157	0.28	U	U	U	U
ENC-065	164	0.18	U	U	U	U
ENC-066	175	0.22	U	U	U	U
ENC-067	221	0.38	U	U	U	U

Tabla 10. Grupo 2 de reproductores adecuados para realizar un manejo genético en la UMA "La Encantada".

		ID Machos	Proyecto	ENC-021	ENC-045	ENC-048	ENC-051	ENC-052	
			UMA	S/M	S/M	158	S/M	204	
ID Hembras		Pro	UMA	<i>HL</i>	0.2	0.28	0.52	0.3	0.28
ENC-001	145								
ENC-002	170	0.42	U	U	U	U	U	U	
ENC-003	164	0.42	U	U	U	U	U	U	
ENC-004	269	0.24	U	U	U	U	U	U	
ENC-005	193	0.32	U	U	U	U	U	U	
ENC-006	6	0.37	U	U	U	U	U	U	
ENC-007	254	0.44	U	U	U	U	U	U	
ENC-010	154	0.42	U	U	U	U	U	U	
ENC-011	4	0.38	U	U	U	U	U	U	
ENC-012	185	0.28	U	U	U	U	U	U	
ENC-015	171	0.34	U	U	U	U	U	U	
ENC-016	152	0.24	U	U	U	U	U	U	
ENC-017	181	0.42	U	U	U	U	U	U	
ENC-018	S/M	0.49	U	U	U	U	U	U	
ENC-022	S/M	0.38	U	U	U	U	U	U	
ENC-023	201	0.38	U	U	U	U	U	U	
ENC-025	176	0.42	U	U	U	U	U	U	

ENC-035	203	0.31	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U
ENC-038	253	0.39	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U

Tabla 12. Reproductores adecuados para realizar un manejo genético en la UMA CICEA.

		ID Machos	Pro	CICEA-004	CICEA-005	CICEA-007	CICEA-23	CICEA-108	CICEA-10
			UMA	141	101	Prof	23	108	10
ID Hembra		Pro	HL	0.44	0.2	0.48	1	0.73	0.78
			UMA						
ENC-004	269	0.24	U	U	U	U	U	U	U
ENC-005	193	0.32	U	U	U	U	U	U	U
ENC-006	6	0.37	U	U	U	U	U	U	U
ENC-011	4	0.38	U	U	U	U	U	U	U
ENC-012	185	0.28	U	U	U	U	U	U	U
ENC-015	171	0.34	U	U	U	U	U	U	U
ENC-016	152	0.24	U	U	U	U	U	U	U
ENC-029	3	0.13	U	U	U	U	U	U	U
ENC-031	197	0.39	U	U	U	U	U	U	U
ENC-032	266	0.32	U	U	U	U	U	U	U
ENC-033	S/M	0.31	U	U	U	U	U	U	U
ENC-034	S/M	0.23	U	U	U	U	U	U	U
ENC-035	203	0.31	U	U	U	U	U	U	U

10.3. Cuantificación de DNA *Dermatemys mawii* y *Trachemys venusta*

Tabla 13. Concentración y Pureza del ADN extraído a *D. mawii* de los individuos de UMA "la Encantada".

Número Muestra	ng/ μ l totales de ADN	PUREZA (260-280)
1	897.5	1.457
2	1911.5	1.93
3	1727.5	1.707
4	2459.8	1.85
5	2577.1	1.923
6	2218.5	2.132
7	1736.5	1.867
8	1531.9	2.307
9	1240	1.633
10	1414.4	1.638
11	1664.5	1.848
12	2624.1	1.912
13	1668.8	1.574
14	936.7	1.811
15	1973.8	1.723
16	1307.9	1.481
17	3481.6	1.92
18	2679.3	1.793
19	2011.7	1.927
20	1985.7	1.787
21	1255.5	1.367
22	2323.1	1.68
23	3892.8	1.784
24	1190.7	1.543
25	4399.6	1.885
26	4006.7	1.738
27	3738.9	1.857
28	9032.3	2.071
29	2104.1	2.187
30	4274.9	2.001
31	3051.1	1.995

32	943.3	1.515
33	4616.9	2.083
34	4136.4	2.01
35	3915.7	1.941
36	3389.9	2.114
37	4529.9	2.184
38	6573.6	2.416
39	4959.7	2.163
40	4318.8	2.28
41	5310.7	1.977
42	5159.4	2.14
43	4333.6	1.988
44	4099.4	2.057
45	4145.7	2.004
46	6982.3	2.052
47	4439.5	2.035
48	2089.4	1.708
49	3049.7	2.167
50	3908.3	2.115
51	2798.6	1.826
52	3898.4	2.083
53	4142.5	2.186
54	4931.8	2.304
55	3484.3	2.107
56	2874.9	2.683
57	3692.1	1.966
58	4226.9	2.382
59	2516.3	2.022
60	3851.9	2.431
61	2456.2	1.67
62	3836.5	2.303
63	4584.8	2.162
64	3909.7	2.224
65	1948.6	2.244
66	2954	2.356
67	897.5	1.457
D.m: <i>Dermatemys mawii</i> , ng: nanogramos, µl: microlitros.		

Tabla 14.- Concentración y Pureza del ADN extraído a *D. mawii* de los individuos de la UMA del estado del Tabasco

TOTAL DE MUESTRAS	ng/μl totales de ADN	PUREZA (260-280)
1	29275.5	1.877
2	13887.3	1.737
3	7669.8	1.916
4	11086.8	2.074
5	13521.3	2.067
6	22262.4	2.016
7	9729.6	1.938
8	23436.9	1.704
9	25949.7	1.799
10	14316	1.85
11	5010.6	1.69
12	3939.9	1.659
13	11093.4	1.809
14	3905.4	1.607
15	12344.1	1.754
16	11206.2	1.677
17	8523	1.634
18	3118.2	1.662
19	13594.5	1.737
20	30021	1.699
21	1815.6	1.37
22	31929	1.81
23	3977.1	1.457
24	17600.1	1.631
25	9255.3	1.761
26	13508.4	1.701
27	14373.6	1.64
28	12563.4	1.799
D.m: <i>Dermatemys mawii</i> , ng: nanogramos, μl: microlitros.		

Tabla 15.- Concentración y Pureza del ADN extraído a *D. mawii* de los individuos de la UMA CICEA.

Número Muestra	ng/μl totales de ADN	PUREZA (260-280 nm)
1	7462	1.876
2	12184	1.5
3	7223	1.653
4	28700	1.991
5	10211	1.879
6	13613	1.685
7	6686	1.859
8	6757	1.772
9	15605	1.641
10	13743	1.436
11	2978	1.234
12	25390	1.694
13	59840	2.14
14	5307	1.832
15	78048	1.972
16	70849	1.995
17	30480	1.935
18	60062	2.012

Tabla 16.- Concentración y Pureza del ADN extraído a *D. mawii* de los individuos pertenecientes a la población Tabasquillo

Número Muestra	ng/μl totales de ADN	PUREZA (260-280 nm)
1	2321	1.837
2	38883	1.206
3	28790	1.277
4	10759	1.296
5	28302	1.557
6	46383	1.473
7	27060	1.467
8	29156	1.408
9	59008	1.439
10	1731	1.289
11	6189	1.474

12	5300	1.049
13	7402	1.993
14	9299	2.112
15	1345	1.608
16	5844	1.828
17	7126	2.526
18	2637	2.341
19	2038	2.151
20	2520	2.098
21	1196	1.824
22	937	1.137
23	3101	1.029
24	1227	2.607

Tabla 17.- Concentración y Pureza del ADN extraído a *D. mawii* de los individuos pertenecientes a la población Huimanguillo. Nota: Las muestras 7 y 8 no mostraron registro de ADN en el nanodrop, sin embargo, estas muestras si mostraron amplificación.

Número Muestra	ng/μl totales de ADN	PUREZA (260-280 nm)
1	1298	1.98
2	742	1.742
3	549	1.549
4	2554	2.549
5	179	1.79
6	16123	16.123
7	-	-
8	-	-

Tabla 18.- Concentración y Pureza del ADN extraído a *D. mawii* de los individuos pertenecientes a la población Jonuta

Número Muestra	ng/μl totales de ADN	PUREZA (260-280 nm)
1	5162	1.616
2	4129	1.414
3	5631	1.516
4	1918	1.64
5	1506	1.559
6	1826	1.78
7	6132	1.575
8	2115	1.571

9	5200	1.552
10	2766	1.56
11	2297	1.626
12	4077	1.618
13	2206	1.427
14	3901	1.557
15	8467	1.448
16	272	1.602
17	4552	1.768
18	1005	1.14
19	8056	1.727
20	1047	1.678
21	5835	1.812
22	425	1.71
23	1058	1.748

Cuantificación *Trachemys venusta*

Tabla 19.- Concentración total y Pureza del ADN extraído a *T. venusta* de los individuos pertenecientes a la UMA del estado de Tabasco.

Número de muestra	ng/μl totales de ADN	PUREZA (260-280)
1	2462.8	1.801
2	2942.8	1.769
3	7217.4	2.209
4	6522.1	1.881
5	4208.4	1.993
6	4620.9	1.973
7	3485.4	1.863
8	1665.1	1.582
9	4843.9	1.997
10	2379.6	1.652
11	2902.1	1.891
12	1949.6	1.847
13	5082.8	2.103
14	2968.8	1.947

15	3623.6	1.995
16	6727.2	2.115
17	4541.4	2.351
18	1816.7	2.168
19	5968.4	2.149
20	2160.4	2.261
21	4550.4	2.349
22	3312.9	2.279
23	4021.7	2.239
24	3283.5	1.901
25	5223.8	2.085
26	5514	2.083
27	5338.1	2.056
28	6739.6	2.037
29	3157.3	2.069
30	2884.5	2.111
31	8650.8	1.976
32	1361.6	2.003
33	4000.4	1.973
34	5735.7	1.657
35	9028.7	2.057
36	3264	1.872
37	7640.1	2.039
38	4696	1.947
39	1236	1.982
40	4717.3	2.041
41	3798.5	2.003
42	4147.4	2.033
43	4309.7	1.982
44	4038.6	2.07
45	3902.5	2.051
46	4388.2	2.015
47	7651.6	2.006
48	4542.4	1.945

49	3328	1.898
50	4079.5	1.876
51	3378.2	1.981
52	7179.5	1.992
53	4895.2	1.934
54	3460.2	1.962
55	5886.3	2.033
56	3320.1	2.005
57	2167.8	1.989
58	4844.7	1.987
59	4674.9	2.066
60	6411.4	2.057
61	5223	2.019
62	5254.9	2.01
63	2630.4	1.892
64	4277.8	1.985
65	5456.3	2.037
66	3286.6	2.007
67	2623.5	1.996
68	2357.3	2.047
69	3342.9	2.018
70	4501.4	2.029
71	3999	1.996
72	3783.8	2
73	4103.2	2.02
74	4412.4	2.03
75	5807.5	2.067
76	3173.8	2.05
77	5962	2.004
78	4158.8	2.042
79	4292	1.968
80	11375.6	1.578
81	1750.7	1.977
82	1532.9	1.795

83	2705.9	1.99
84	3590.7	1.946
85	7462.6	2.023
86	9380.6	2.052
87	5686.4	2.069
88	6636.4	2.006
89	6153	2.023
90	5954.6	2.031
91	4530.1	1.966
92	9914.4	1.775
93	3878.1	2.027
94	5826.6	2.066
95	4652.8	2.063
96	3826.3	2.048
97	4043.7	2.015
98	3921.3	1.962
99	2882.9	1.921
100	5126.6	2.026
101	5763.4	2.069
102	3038	2.071
103	5563.9	2
104	3764.8	1.944
105	8005.5	1.994
106	3784.6	1.901

Tv: *Trachemys venusta*, ng: nanogramos, µl: microlitros.

10.5 Mapa localidades de muestreos



10.6. Noticia, saqueo UMA de tortuga del estado de Tabasco

14 | DIARIO DE TABASCO | Sábado 18 de marzo de 2017

Comunidad + Municipios

Búscanos en: @DiarioDeTabasco | diariodetabasco

ANTE LA FALTA DE MAYOR VIGILANCIA

Se roban quelonios de granja de tortugas

Se desconoce cuántos animales de conchas se robaron, las autoridades indagán

Alex Almonte/Nacajuca

Diario de Tabasco

La falta de vigilancia de la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) ubicada sobre el libre comercio de Nacajuca, y a unas pocas horas de la Fiscalía General de Justicia (FGJ), fue visitada esta semana por los amantes de lo ajeno quienes sustrajeron varios quelonios de la reserva.

Y es que pese a que se solicitó el auxilio de la policía local, este accedió al llamado pero desafortunadamente no logró detener a nadie, las autoridades ya iniciaron el procedimiento correspondiente, por la pérdida de los animales de concha en la reserva ecológica.

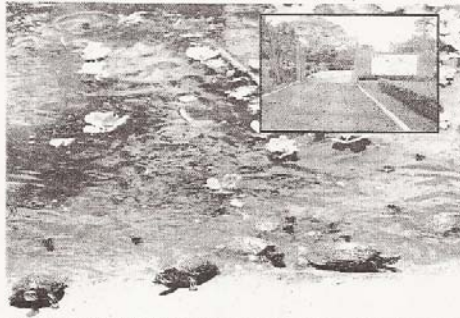
De acuerdo a los datos obtenidos, el saqueo se registró a las 10:00 de la noche, en donde los desconocidos se introdujeron en la parte trasera de la UMA, con conchas, machetes y al parecer pinzas, el vehículo que se encontraba de guardia vio que dentro de los montes asaltaron la bodega de maiz, y de inmediato dio aviso a la policía local después la patrulla 2244, pero cuando llegó estos ya se habían esfumado con varios cientos al horizonte de animales de concha.

El vecedor explicó a la prensa, que logró visualizar a uno de cinco quien fue que se adelantó al escape que tal vez en el momento se movieron a 300 que conchas de agua dulce, del cual al proceder a revisar, únicamente lograron encontrar conchas y algunas conchas alrededor de la reserva.

Al respecto, el biólogo José del Carmen Jiménez López, encargado de la Granja de tortugas de Nacajuca, indicó que el reporte se dio el viernes, y el caso encargado dio parte ante la FGJ para que iniciaran el procedimiento, por lo que desconoce aún en cómo cuentas hicieron se habría llevado, ya que esto lo detemina

el juez de lo criminal, para posteriormente hacer el parte correspondiente por ser enviado ante la Secretaría de Energía, Recursos Naturales y Protección Ambiental, SEDENAPAMA.

Se presume que los tortugos fueron robados para ser vendidos de manera ilegal en esta temporada de cuarenta, por lo que las autoridades municipales investigan el asunto, ya que fueron varios cuarentas de animales de concha los que se sustrajeron de los estanques de preservación de estos quelonios.



UMA en Nacajuca. Desafortunadamente no se logró detener a nadie, las autoridades ya iniciaron el procedimiento correspondiente, por la pérdida de los animales de concha en la reserva ecológica.

Los amantes de lo ajeno se llevaron varios costales de animales de concha los que sustrajeron de los estanques de preservación de estos quelonios. Visitador de la Reserva.



CABALGATA EN HONOR A SAN JOSÉ EN LA FERIA DE CATAZAJÁ, CHIAPAS
La alcaldesa de este municipio chiapaneco, María Fernanda Dorantes Núñez, invitó a los festejos que según el programa que se lleva en la Feria Catazajá 2017, para este sábado 18 se tiene previsto la Cabalgata en honor a San José, presentación del ballet folclórico municipal de Catazajá y el 19 en el cierre de los festejos, la presentación del ballet folclórico de la UIAT de Villahermosa, Tabasco.
Por Miriam García/Catazajá, Chiapas

10.7. Tabla de microsatelites

Tabla 20. Información de 10 microsatélites usados para *Dermatemys mawii*

locus	Secuencia del Primer (5'→3')	T_a (°C)	Tamaño del Fragmento (bp)
Dm3A-32	F: CAAATGTACATACTCGGAACCTTTTG R: ACCACCAGCTCCCTCTTCTT	55	155-167
Dm3A-37	F: CCTGCCACTAGTGATGAGA R: GGAGCTTTTCCCTTCTTCAA	55	88-96
Dm3A-58	F: TGAAAAATCCAGGAAAAACAA R: TGCTCACATCACTTCTGACA	50	81-115
Dm3A-17	F: ACAGCAGGGGAGTGGTGATA R: CCTGAGGCAGAAGGTAGTCG	50	154-167
Dm3A-13	F: CTCAGCACCTTGCAGAATGA R: ACTGAGGGCAGACTTCAGGA	50	244--254
Dm3A-72	F: CATTGAGAGACCATCTGTTTTCA R: AGCAGAAGCCCAAATTGTTC	65	98-108
Dm3A-42	F: GTCGCCAGTGTTTAAAAGG R: TGGGAGAGGATCATGGAAAG	55	212-226
DM3A-43	F: ACTGCATTTCCAGGTGAA R: CAGATGTTCTGGCAGAC	55	162
Dm3A-61	F: AGTGGAGCGACCCATC R: AGCTGACCCCAAGTAATTTT	55	187
Dm4A-11	F: AGCTGCTGTCTCAGCTTACT R: CTCTACAAAGCAGCATGAAA	55	155

Tabla 21. Información de 14 microsatélites usados para *Trachemys venusta*

locus	Secuencia del Primer (5'→3')	T_a (°C)	Tamaño del Fragmento (bp)
TSC108 ^a	F: CGCAGTCAAACACCTTCAG R: TTCACCTCCCCAGATCTCAC	55	203-263
TSC169 ^a	F: TAAAATGGGCCTCAACAAGG R: GGATTGTTTGGTCAAAGAAGTTG	55	210-250
TSC241 ^a	F: GGTTTTTCTCCATCCCGAAT R: TTCATTTTGAAAGGTTAGCTCGT	55	193-213
TSC243 ^a	F: GCAAAACCTGGAGATTTTCAA R: TTTCGATGGAAAATGGCTTT	55	92-168
TSC252 ^a	F: CCATACACCCTCTGACAGCA R: TTCCCAAGACAAGAAACACCTT	55	190-238
TSC260 ^a	F: TGCAAATGGAGTTGCAAGA R: TCCATTTGAACCTGGGAGAA	55	150-214
TSC263 ^a	F: TGTGCACGGGAGTTGTATG R: TTCTATTTGCCAAAATTGCAT	55	111-173

TSC288 ^a	F: ACAAGATTGGCACCCACTTC R: AGTATGGGGATGCATGTGTG	55	150-184
TSC299 ^a	F: CCATGTGCCATCTGTCTACCT R: GATCAAGGGATGAGGGTCAA	55	236-300
TSC302 ^a	F: ACTGGCCAGCAGGAGTAATG R: TGGGGCACAACTACTAGGG	55	161-201
TSC323	F: TGTAATAATTGATTAGGACCTCTCTGA R: TGCAATCTATCACATGACTGCAT	54	201-237
TSC328 ^a	F: TGGATTGCATTATTAGAAATGGT R: CCCACCAACCACCATAATTC	54	179-243
TSC330 ^a	F: TGGCTTATTTTGCAGCCTGA R: CCAACTTTCCTCCATTGC	55	216-270
TSC-108 ^b	F: AATTCATTTGCCTTGAGAAA R: GTCGTGATTTGGTTAAAAG	55	189