



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

COMPARACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE POBLACIONES DE TORTUGAS *Kinosternon* EN LA CUENCA DEL RÍO BALSAS Y RÍO PÁNUCO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(SISTEMÁTICA)

P R E S E N T A

Víctor Hugo Sustaita Rodríguez

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Gustavo Casas Andreu

COMITÉ TUTOR: Dr. José Martín García Varela
Dr. José Jaime Zúñiga Vega

MÉXICO, D.F.

MAYO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 25 de febrero de 2012, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMÁTICA)** del alumno **SUSTAITA RODRÍGUEZ VÍCTOR HUGO** con número de cuenta **96328592** con la tesis titulada **"COMPARACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE POBLACIONES DE TORTUGAS *Kinosternon* EN LAS CUENCAS DEL RÍO BALSAS Y RÍO PÁNUCO"**, realizada bajo la dirección del **DR. GUSTAVO CASAS ANDREU**:

Presidente: DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA
Vocal: DR. ALEJANDRO SALDÍVAR RIVERÓN
Secretario: DR. EDUARDO OCTAVIO PINEDA ARREDONDO
Suplente: DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VARELA
Suplente: DR. JOSÉ JAIME ZÚNIGA VEGA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 12 de abril de 2012.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al **Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM**. Por ende a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme estudiar desde la Escuela Nacional Preparatoria 6, la Facultad de Ciencias y el Instituto de Biología.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (**CONACYT**) por otorgarme la beca que permitió la realización de mis estudios de posgrado (No. de becario 233879).

Al Doctor Gustavo Casas Andreu por permitirme trabajar en este proyecto y por ser parte importante en el mismo. Por dirigir esta tesis y lo más importante por su amistad y compañerismo.

Al Doctor Martín García Varela por ser miembro de mi comité tutorial y aportar grandes comentarios para el desarrollo de este trabajo, y por su gran ayuda en la parte molecular del mismo.

Al Doctor Jaime Zúñiga Vega por ser miembro de mi comité tutorial y aportar grandes comentarios para el desarrollo de este trabajo, sobre todo en la parte morfométrica.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

En primer lugar quiero agradecer a los miembros del jurado que aportaron valiosos comentarios y sugerencias para enriquecer este trabajo: Dr. Fernando Álvarez Noguera, Dr. Alejandro Zaldivar Riverón, Dr. Eduardo Octavio Pineda Arredondo, Dr. José Martín García Varela y Dr. José Jaime Zúñiga Vega.

De nueva cuenta al Dr. Gustavo Casas Andreu por permitirme trabajar en el laboratorio de Herpetología 1, compartir pláticas y buenas tardes de café para desarrollar este trabajo.

A mis compañeros de campo: Biól. Gabriel Barrios Quiroz, Dr. Rodrigo Macip Ríos y Biól. Pablo Brauer Robleda, por esas salidas y gran esfuerzo para colaborar con este trabajo que también les pertenece.

A la M. en C. Laura Márquez Valdelamar encargada de la unidad de Biología Molecular del Instituto de Biología de la UNAM, por apoyarme en el trabajo de laboratorio y por las secuencias obtenidas.

A la gran secretaria Rocío González Acosta por estar al pendiente de todos los trámites que tenemos que realizar y sobre todo por nunca desesperarse por tantas preguntas.

Durante el trabajo de campo deseo agradecer a Don Aurelio padre e hijo (Tonatico), a Don Lucas (El Bordonal, Playa Azul), Don Tomas Macedo (Las Moras, Tejupilco), al Sr. Raúl Pontón (Deguedo) al Sr. Salvador Barrera (V. Guerrero), que permitieron coleccionar tortugas en sus predios. Al Biól. Mario Barrios y al H. ayuntamiento de Nuevo Urecho Michoacán por las facilidades prestadas. Al Sr. Ricardo Mariño y al M. en C. Ricardo Mariño Pérez por brindarme estadía en su casa en Tecamatlán así mismo a la Sra. Paty Morales por su ayuda y a la presidencia ejidal de La Noria, Hidalgo.

A mis compañeros de laboratorio: Gabriel Barrios, Rodrigo Macip, Angélica Lizarraga, Anahí Güizado, Sandra Chávez y Guillermo Morales, además a Armando Escobedo, Saúl López, Ángeles Romero y Alejandro Valdez, que han hecho que los días de trabajo sean más agradables. A los profesores que me dieron clases y a todos mis compañeros durante la maestría. Al Dr. Oscar Francke por sus ánimos y comentarios.

A mis amigos de toda la vida: César Navarro y Rodrigo Rivera. A mis amigos y compañeros: Alberto Tinoco, Carlos Valencia, Tomas Valencia, Alejandro Tinoco, David Rivera, Hiram Neyra, Julio Vázquez, Marvin Irvin que siguen tras la pelota conmigo.

A mi Madre Estela Rodríguez, a mi hermano Alberto Sustaita, claro con Emiliano Sustaita Espinosa, Concepción Espinosa y Héctor Espinosa. A mi familia Guzmán-Hernández por su apoyo incondicional y ánimos. A la familia Vaylón-Chávez (con Trufa incluida) por su apoyo. A todos los miembros de la familia Sustaita y familia Rodríguez claro está.

Por último... ***“Por el placer de no ser”***... gracias Lintzy Vaylón Chávez.

ÍNDICE

Índice de Figuras y Tablas	VII
Resumen	X
Abstract	XI
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
2.1 Descripción de la familia Kinosternidae y la especie <i>Kinosternon integrum</i>	2
2.2 Taxonomía y estudios filogenéticos sobre kinostérnidos	5
3. Objetivo	8
3.1 General	8
3.2 Particulares	8
4. Hipótesis	9
5. Área de estudio	10
5.1 Cuencas para el estudio de <i>Kinosternon integrum</i>	10
5.1.1 Cuenca del Balsas	10
5.1.2 Cuenca del Pánuco	11
5.2 Poblaciones de la cuenca del río Balsas	11
5.2.1 Playa Azul (Michoacán)	11
5.2.2 Nuevo Urecho (Michoacán)	12
5.2.3 Tejupilco (Estado de México)	12
5.2.4 Tonicato (Estado de México)	13
5.3 Poblaciones de la cuenca del río Pánuco	14
5.3.1 La Noria (Hidalgo)	14
5.3.2 Vicente Guerrero (Querétaro)	14
5.3.3 Tecomatlán (Hidalgo)	15
5.3.4 San José Deguedo (Estado de México)	16
6. Método	18
6.1 Trabajo de campo	18
6.2 Análisis de los datos	19
6.3 Trabajo de laboratorio	20
7. Resultados	25
7.1 Comparación macroecológica	25
7.2 Comparación morfológica	26

7.3 Comparación morfométrica	37
7.4 Análisis molecular	40
8. Discusión	46
8.1 Comparación macroecológica	46
8.2 Comparación morfológica	47
8.3 Comparación morfométrica	49
8.4 Análisis molecular	50
9. Conclusiones	52
10. Literatura citada	54

Índice de Figuras y Tablas

- Figura 1. Área de distribución de *Kinosternon integrum* en la República Mexicana, en gris. A) La distribución de *K. alamosae*; B) la distribución de *K. chimalhuaca* y C) la distribución de *K. oaxacae* (Tomado y modificado de Iverson, *et al.* 1998). 7
- Figura 2. Mapa que muestra las poblaciones (en Rojo) de la cuenca del Balsas: Tejupilco, Tonatico, Nuevo Urecho y Playa Azul; de la cuenca del Pánuco: Deguedo, La Noria, Tecamatlán y Vicente Guerrero; en círculo la cuenca del Balsas y en cuadro la cuenca del Pánuco. 17
- Figura 3. Medidas del carapacho. Donde: A= largo de carapacho; B= ancho de carapacho; C= tamaño de los escudos marginal 9, marginal 10 y marginal 11; D= tamaño de los escudos marginal 1 y marginal 2; V1-V5= escudos vertebrales 1 y 5; elipse gris= contacto entre los escudos Marginal 2 y central. 22
- Figura 4. Medidas del plastrón donde: A= largo del plastrón; B= ancho del plastrón; C= ancho del lóbulo plastral anterior; D= ancho del lóbulo plastral posterior; E= largo del lóbulo plastral posterior; F= largo de la sutura del escudo interfemoral; LPe= largo del puente; elipse gris= Contacto Axilar Inguinal. 23
- Figura 5. Clave para el marcado de tortugas. 23
- Figura 6. Coordenadas anatómicas (“landmarks”) del carapacho con los puntos en color negro (Tomado y Modificado de Claude, *et al.* 2003). 24
- Figura 7. Coordenadas anatómicas (“landmarks”) del plastrón con los puntos en color negro (Tomado y Modificado de Claude, *et al.* 2003). 24
- Figura 8. Variación entre el largo del carapacho de tortugas *Kinosternon* por población y sexo. Los resultados de la ANOVA son: Sexo (F(46,4765), 1 g.l., $p < 0.0001$). Poblaciones (F(11,1647), 9 g. l., $p < 0.0001$) pero resultó estadísticamente no significativa la interacción entre población y sexo (F(1,8833), 9 g. l., $p = 0.0592$). Las barras verticales denotan +/- error *standard*. 30
- Figura 9. Variación entre el largo del plastrón de tortugas *Kinosternon* por población y sexo. Los resultados de la ANOVA son: Sexo (F(16,9233), 1 g. l., $p < 0.0001$). Poblaciones (F(20,8029), 9 g. l., $p < 0.0001$) pero resultó estadísticamente no significativa la interacción entre población y sexo (F(1,4460), 9 g. l., $p = 0.1744$). Las barras verticales denotan +/- error *standard*. 30

Figura 10. Resultado del análisis discriminante (*Lambda de Wilks*, $F=3.8328$; $p<.0001$), entre las medidas con valor taxonómico y las poblaciones de las cuencas del río Balsas y río Pánuco. Donde: Poblaciones del Balsas: círculo azul= Nuevo Urecho; círculo anaranjado= Playa Azul; círculo morado= Tejupilco; círculo amarillo= Tonatico. Poblaciones del Pánuco: círculo verde-claro= Tecamatlán; círculo rojo= Deguedo; círculo verde= La Noria; círculo azul-agua= Vicente Guerrero.

31

Figura 11. Resultado del análisis discriminante (*Lambda de Wilks*, $F=6.2229$; $p<.0001$), entre las medidas con valor taxonómico y las poblaciones de las cuencas del río Balsas, río Pánuco y de las especies *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*. Donde: círculo verde= Chamela (*K. chimalhuaca*); círculo rojo= Chacalapa (*K. oaxacae*); Poblaciones del Balsas: círculo rosa= Tonatico; círculo azul-agua= Tejupilco; círculo verde-agua= Nuevo Urecho; círculo morado= Playa Azul; Poblaciones del Pánuco: círculo azul= Deguedo; círculo amarillo= Tecamatlán; círculo anaranjado= La Noria y círculo verde-claro= Vicente Guerrero.

32

Figura 12. Muestra las medias de las poblaciones en los *Relatives warps* RW1 y RW2, que son los ejes principales de la forma de variación del género *Kinosternon*. Estas dos variables representan el 41.2% del total de la variación en la forma del carapacho. Los números identifican a las poblaciones, en donde: 1 Nuevo Urecho; 2 Playa Azul; 3 Tejupilco; 4 Tonatico (cuenca del río Balsas); 5 Deguedo; 6 La Noria; 7 Tecamatlán; 8 Vicente Guerrero (cuenca del río Pánuco); 9 Chamela (*K. chimalhuaca*); 10 Chacalapa (*K. oaxacae*); 11 Tres Palos (cerca de la localidad tipo de *K. integrum*).

38

Figura 13. Muestra las medias de las poblaciones en los *Relatives warps* RW1 y RW2, que son los ejes principales de la forma de variación del género *Kinosternon*. Estas dos variables representan el 43% del total de la variación en la forma del plastrón. Los números identifican a las poblaciones, en donde: 1 Nuevo Urecho; 2 Playa Azul; 3 Tejupilco; 4 Tonatico (cuenca del río Balsas); 5 Deguedo; 6 La Noria; 7 Tecamatlán; 8 Vicente Guerrero (cuenca del río Pánuco); 9 Chamela (*K. chimalhuaca*); 10 Chacalapa (*K. oaxacae*); 11 Tres Palos (cerca de la localidad tipo de *K. integrum*).

39

Figura 14. Filograma de la familia Kinosternidae generado con el gen Citocromo-b. Máxima Parsimonia.- Se muestra el "árbol de consenso estricto" con 850 pb, 217 caracteres informativos, 838 pasos $IC=0.57$; $IR=0.72$. En donde se muestra en Rojo a las poblaciones del Balsas; en Verde las poblaciones del Pánuco; en Gris a la especie *K. chimalhuaca*; y, en Azul a la especie *K. oaxacae*. Los números de arriba de las ramas muestran los valores de *bootstrap*.

42

Figura 15. Filograma (850 pb) de la familia Kinosternidae generado con el gen Citocromo-b. Se muestra el Filograma de Máxima Verosimilitud - In 6266.50950. En donde se muestra en Rojo a las poblaciones del Balsas; en Verde las poblaciones del Pánuco; en Gris a la especie <i>K. chimalhuaca</i> ; y, en Azul a la especie <i>K. oaxacae</i> . Los números de arriba de las ramas muestran los valores de <i>bootstrap</i> .	43
Figura 16. Filograma (850pb) de la familia Kinosternidae generado con el gen Citocromo-b. Análisis bayesiano, se muestra el “árbol” MAP. En donde se muestra en Rojo a las poblaciones del Balsas; en Verde las poblaciones del Pánuco; en Gris a la especie <i>K. chimalhuaca</i> ; y, en Azul a la especie <i>K. oaxacae</i> . Los números de arriba de las ramas muestran las probabilidades posteriores bayesianas.	44
Tabla 1. Comparación Macroecológica entre las áreas de estudio.	26
Tabla 2. Análisis discriminante entre las medidas con valor taxonómico y las poblaciones (análisis intra-poblacional). Los datos resaltados en negritas, son estadísticamente no significativos ($p=0.05$).	33
Tabla 3. Contactos morfológicos usados para distinguir especies de <i>Kinosternon</i> en México. N= número de individuos. (Tomado y modificado de Berry <i>et al.</i> 1997).	34
Tabla 4. Medidas morfológicas con valor taxonómico, usadas para distinguir especies de <i>Kinosternon</i> en México. N= número de individuos; ALPA= ancho del lóbulo plastral anterior; ALPP= ancho del lóbulo plastral posterior; Lpe= largo del puente; LH/LSEF= largo del lóbulo plastral posterior/largo de la sutura del escudo interfemoral. (Tomado y modificado de Berry <i>et al.</i> 1997).	36
Tabla 5. Especies y poblaciones para el análisis filogenético. N= Número de muestras por población. Las secuencias generadas para este trabajo se realizaron en conjunto para el trabajo de Macip-Ríos (2010).	41
Tabla 6. Se muestran las distancias genéticas que hay entre las poblaciones de kinostérnidos, en negritas la población de Nuevo Urecho.	45

Comparación morfológica y molecular de poblaciones de tortugas *Kinosternon* en las cuencas del Río Balsas y Río Pánuco.

Resumen

En este trabajo se abordó el aspecto morfológico y molecular de varias poblaciones consideradas como *K. integrum*, en las cuencas del río Balsas y Pánuco. Se obtuvieron medidas de un total de 163 individuos, en la cuenca del río Balsas y en la cuenca del río Pánuco, además de obtener medidas de otras especies como *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*. Se realizó un análisis discriminante con las diferentes variables morfológicas resultando diferencias estadísticamente significativas en caracteres de importancia taxonómica ($F=6.2229$; $p<.0001$). También, se analizaron 82 fotografías del carapacho y plastrón, se realizó un análisis de componentes principales obteniendo resultados estadísticamente distintos tanto en tamaño y forma del carapacho y del plastrón. En la parte molecular se obtuvieron 31 secuencias del gen Citocromo-b pertenecientes a las siguientes poblaciones de *K. integrum*: Deguedo, Tejupilco, Tonatico, Nuevo Urecho, Playa Azul, Nanchititla, Tres Palos (localidad tipo), y a las especies *K. chimalhuaca*, *K. oaxacae* y *K. scoriodes cruentatum*. Por último, se obtuvieron secuencias de Cytb de la base del *genbank* para usarlas como grupo externo. Se realizaron hipótesis filogenéticas, con los métodos de máxima parsimonia, máxima verosimilitud e inferencia bayesiana, resultando con topologías similares. La mayor parte de las poblaciones se ubicaron en una posición dentro del clado de *K. integrum*, sobresaliendo la población de Nuevo Urecho, que se ubicó en una posición diferente a la posición en donde se ubican las otras poblaciones de la misma especie. La especie *K. chimalhuaca* se agrupa en otro clado diferente a las otras poblaciones y especies que se analizaron. Caso contrario a la especie *K. oaxacae*, que se ubicó dentro del clado de *K. integrum*, sugiriendo que es la misma especie. Concluyendo que la población de Nuevo Urecho que actualmente es considerada como *K. integrum* es una especie distinta a esta especie.

Palabras clave: *Kinosternon*; *Kinosternon integrum*; comparación morfológica; comparación molecular; morfometría; importancia taxonómica; filogenia.

**Morphological and molecular comparison of turtle's populations
Kinosternon in the basin of the Balsas River and Panuco River.**

Abstract

In this work dealt with the morphological and molecular aspect of various populations considered as *K. integrum* in the basin of the Balsas river and Panuco river. We obtained measures of a total of 163 individuals, in the basin of the Balsas river and in the Pánuco river basin, in addition to obtain measures of other species such as *K. chimalhuaca* and *K. oaxacae*. He was a discriminant analysis for different variables morphological resulting statistically significant differences in the characters of taxonomic importance ($F = 6.2229$; $p < .0001$). Also, 82 photographs of carapace and plastron were analyzed, the results obtained with the analysis of main components, were statistically different both in carapace as in the plastron. The molecular side got 31 sequences of the gene cytochrome-b belonging to the following populations of *K. integrum*: Deguedo, Tejupilco, Tonatico, Nuevo Urecho, Playa Azul, Nanchititla, Tres Palos (type locality), and the species *K. chimalhuaca*, *K. oaxacae* and *K. scorpiodes cruentatum*. Finally, Cytb from the base of the genbank sequences were obtained for use as outgroup. Were hypothesis phylogenetic using the methods of maximum parsimony, maximum likelihood and Bayesian inference, which were with similar topologies. Most of the populations that were analyzed were placed in a position within the clade of *K. integrum*, excelling the population of Nuevo Urecho located in a different position to the position where the other populations of the same species. The position of *K. chimalhuaca* which is separated from the rest of the populations and the other species that were analyzed. Otherwise the position to keep the species *K. oaxacae*, which was located within the clade of *K. integrum*, this suggests that it is the same species. It can be concluded that the population of Nuevo Urecho is currently considered *K. integrum* is a distinct species to specie.

Keywords: *Kinosternon*; *Kinosternon integrum*; Morphological comparison; Molecular comparison; Morphometry; Taxonomic significance; Phylogeny.



1. Introducción

El territorio mexicano alberga alrededor de 46 especies de tortugas, de las cuales 39 son dulceacuícolas y pertenecen a las familias: Chelydridae, Dermatemyiidae, Emydidae, Kinosternidae y Trionychiidae, y dentro de estas familias, se encuentran alrededor de 13 géneros (Liner, 2007). El grupo mejor representado en el país es el de los kinostérnidos, con 18 especies, de las cuales 14 pertenecen al género *Kinosternon* (Liner y Casas-Andreu, 2008).

Dada la complejidad taxonómica del género *Kinosternon*, se han reconocido complejos de especies dentro de este. Uno de ellos es el complejo *K. scorpioides*, siendo las especies de este complejo las que más variación morfológica presentan, ocupando la mayor parte del altiplano central mexicano (Berry, 1978; Iverson y Berry, 1979; Iverson, 1981, 1992); las siete especies reconocidas para este complejo son: *K. scorpioides*, *K. acutum*, *K. alamosae*, *K. creaseri*, *K. integrum*, *K. oaxacae* y *K. chimalhuaca* (Berry *et al.* 1997)

Además, México es el país considerado como el centro de radiación para este género (Pritchard y Trebbau, 1894; Iverson, 1991; Ernst *et al.* 1994). Las especies de *Kinosternon* se encuentran desde ambientes lóticos hasta lénticos, es decir, desde pequeñas charcas estacionales y arroyos muy pequeños, hasta ríos muy caudalosos como el río Balsas en la vertiente del Océano Pacífico, o el río Papaloapan en el Golfo de México (Pritchard y Trebbau, 1984). De las 14 especies de tortugas de agua dulce que pertenecen al género *Kinosternon*, *K. integrum*, sobresale por ser endémica de México (Ernst y Babour, 1989), y por ser la especie de tortuga de agua dulce más ampliamente distribuida en el país (Iverson, 1999). Se puede encontrar desde el sur de Sonora, hasta el centro de Oaxaca, ocurriendo en todo el Altiplano Mexicano y una gran parte de la costa del océano Pacífico, penetrando al continente vía la cuenca del río Balsas (Casas-Andreu, 1982), por lo cual, debido a la compleja historia geológica del área donde se distribuye, existe la duda si se trata de una sola especie, de un conjunto de especies o de subespecies. Evidencia de lo anterior son los casos de *K. alamosae*, *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*, especies que se distribuyen en la costa del océano

Pacífico y que eran consideradas como *K. integrum* (Berry *et al.* 1997; Iverson *et al.* 1998).

Dentro de la taxonomía de las tortugas dulceacuícolas de México, en específico del género *Kinosternon*, en años recientes, *K. chimalhuaca* se describió como una nueva especie (Berry *et al.* 1997), y tres subespecies fueron elevadas a la categoría de especie, *K. arizonense*, *K. duranguense* y *K. flavescens* (Serb *et al.* 2001).

2. Antecedentes

2.1 Descripción de la familia Kinosternidae y la especie *Kinosternon integrum*

La familia Kinosternidae es exclusiva del continente americano, está compuesta por tortugas pequeñas y medianas con una distribución que abarca desde el sur de Canadá hasta el norte de Argentina (Pritchard y Trebbau, 1894; Ernst y Barbour, 1989). Se considera que México es su centro de diversificación, existiendo por lo menos tres zonas de endemismo (Ernst y Barbour, 1989; Ernts *et al.* 1994; Ippi y Flores, 2001). Además, México es la región en donde se dio la primera radiación adaptativa de la familia para después migrar hacia el norte, siendo México el país con la mayor diversidad de kinosternidos (Pritchard y Trebbau, 1894; Iverson, 1991; Ernst *et al.* 1994). La principal característica de la familia es la presencia de una o dos bisagras o charnelas que tiene el plastrón (excepto en *Claudius angustatus*), las cuales se dividen en tres lóbulos, anterior, medio y posterior, de los cuales el primero y el último son móviles y cierran la concha permitiendo en algunas especies la protección de las zonas blandas del cuerpo (Pritchard y Trebbau, 1984; Ernst y Barbour, 1989). Estas tortugas presentan además glándulas de almizcle asociadas al puente o la cloaca, las cuales emiten un olor desagradable al ser molestadas (Ernst y Barbour, 1989; Pough *et al.* 2004). Las características anatómicas generales de esta familia son: reducción en el número de los escudos del plastrón presentando 10 u 11; reducción de los escudos marginales y en el carapacho tienen 10 huesos periféricos, uno nucal y 23 marginales (Ernst *et al.* 1994); ausencia de entoplastrón en toda la subfamilia



Kinosterninae, un cráneo alargado con un hocico de forma cónica que presenta unas mandíbulas fuertes y puntiagudas y papilas en barbilla (Pritchard y Trebbau, 1984).

La familia Kinosternidae, se divide en dos subfamilias, Staurotypinae, con los géneros *Claudius* y *Staurotypus*, y la familia Kinosterninae con los géneros *Kinosternon* y *Sternotherus* (también considerado como sinónimo de *Kinosternon*, Ernst y Barbour, 1989). Se han reconocido 25 especies en toda la familia, una para el género *Claudius*, dos para *Staurotypus*, cuatro para *Sternotherus* y 18 para *Kinosternon* (Ernst y Barbour, 1989; Ernts *et al.* 1994; Bickham *et al.* 2007).

El género *Kinosternon* tiene entre 17 a 19 especies, según el autor que se consulte (Pritchard y Trebbau, 1894; Ernst y Barbour, 1989; Pough *et al.* 2004). Las especies de este género, presentan una distribución que comprende el sur de Canadá, hacia México, Centroamérica y parte de Sudamérica. En México podemos encontrar tres géneros de esta familia, *Staurotypus* con dos especies, *Claudius* (*C. angustatus*) y *Kinosternon* con 14 especies (Liner y Casas-Andreu, 2008). Su distribución en México se observa desde el noroeste, centro y sur, desde Sonora hasta Oaxaca y en la planicie costera del Golfo de México (Ernst y Barbour, 1989). *K. integrum* es una especie de tamaño relativamente grande con respecto a las demás especies de su género. Los machos alcanzan medidas de hasta 223 mm en el largo del carapacho (Macip-Ríos, 2005), mientras que las hembras llegan a medir 195 mm como máximo (Iverson *et al.* 1998) y las crías alrededor de 27 mm (Ernst y Barbour, 1989). Los machos presentan una larga y gruesa cola con una especie de uña en la parte terminal, mientras que en las hembras la cola está muy reducida al igual que su uña terminal; esta característica sirve para diferenciar a hembras de machos cuando son adultos (Iverson *et al.* 1998). La temporada de reproducción de *K. integrum* se realiza entre los meses de mayo y septiembre, teniendo de una a cuatro nidadas y ponen de tres a 12 huevos por nidada (Iverson, 1999).

El color castaño oscuro es el que predomina en la porción dorsal de la cabeza, extremidades y cola en esta especie; el pico córneo en la mandíbula de los machos tiene barras dorsoventrales claras y oscuras, mientras que los lados y porción ventral de la cabeza tienen una retícula de líneas oscuras sobre

fondo claro; en las hembras el pico córneo es claro casi en su totalidad y los lados de la cabeza también tienen una retícula de líneas oscuras más gruesas que en los machos, ocasionalmente este patrón alcanza la porción dorsal de la cabeza, algunas hembras muestran una línea clara por debajo del ojo que corre diagonalmente hacia atrás hasta el margen inferior de la membrana timpánica; ventralmente, la cabeza de los machos muestra un patrón semejante al de los lados, pero predomina un fondo blanco, mientras que en las hembras las manchas son escasas y casi toda la superficie es clara; las partes ventrales, con excepción de la caja, son amarillo rozado (Casas-Andreu, 1982; Iverson *et al.* 1998).

Dorsalmente el carapacho es verde olivo o castaño oscuro y los escudos se encuentran marginados de negro. Ventralmente, los escudos del plastrón y carapacho son amarillos claros en las hembras y algunos machos, en otros son castaños claros y con manchas amarillas; el margen de los escudos ventrales es levemente oscuro en las hembras y negro en los machos (Casas-Andreu, 1982; Iverson *et al.* 1998).

Kinosternon integrum presenta de dos a seis papilas en la región del mentón y la cola tiene a su vez áreas papilosas; el carapacho con tres quillas longitudinales no bien definidas y 11 escudos marginales a cada lado. Ventralmente el plastrón tiene dos bisagras que lo dividen en tres lóbulos, anterior, medio y posterior, de los cuales el primero y el último son móviles y cierran la concha, el lóbulo posterior presenta una escotadura en el margen trasero; 11 escudos plastrales, puente con dos escudos inframarginales (axilar e inguinal) siendo más largo el inguinal y ambos se encuentran en contacto hacia la región media del puente, los dedos de las extremidades se encuentran unidos por amplias membranas y portan cinco uñas las anteriores y cuatro las posteriores. La anchura del carapacho al nivel de la región femoral es aproximadamente el doble que la del plastrón al mismo nivel (Casas-Andreu, 1982; Iverson *et al.* 1998).

Kinosternon integrum es la tortuga dulceacuícola con mayor distribución en México (Iverson, 1999). Esta especie habita desde el nivel del mar hasta los 2,220 msnm (Iverson *et al.* 1998). Su distribución en México abarca desde el sur de Sonora y el extremo sur occidental de Chihuahua, hacia el sur a lo largo de la vertiente del Pacífico hasta el centro de Oaxaca, y también se encuentra



en la meseta desde Durango y el sur de Nuevo León hasta el centro de Oaxaca, y se le puede encontrar al este en la región sur occidental de Tamaulipas, así como en las Islas Marías (Ernst y Barbour, 1989) (Figura 1). *K. integrum*, no se encuentra en la planicie costera del Golfo de México, donde se distribuyen *K. herrerae* y *K. scorpioides*. Generalmente la especie en mención es confundida en la literatura con especies como *K. alamosae* y *K. hirtipes* (Iverson, 1981). Webb (1984) sugirió que la meseta mexicana y las poblaciones de las partes bajas del Pacífico son subespecíficamente distintas a *K. integrum*, sin embargo, un análisis morfométrico de Berry (1978) contradice esta hipótesis. Asimismo Sustaita-Rodríguez (2007), realizó un análisis morfológico a dos poblaciones de tortugas consideradas como *K. integrum* en el Estado de México, en donde se muestran diferencias morfológicas entre esas poblaciones y otras poblaciones de *K. integrum* en el país. Las poblaciones en la costa de Jalisco y Colima que se encontraban en este taxón representan una especie distinta (Berry, 1978; Berry *et al.* 1997; Iverson, 1991), siendo *K. chimalhuaca* la que se distribuye por esa zona (Berry *et al.* 1997); en la porción de la costa de Sonora fue remplazada por *K. alamosae* (Iverson, 1990); este mismo fenómeno ocurre en Oaxaca, donde *K. oaxacae* ocupa una zona en el suroeste de Oaxaca (Iverson, 1986). La especie *K. integrum* se encuentra considerada bajo la categoría de “sujeta a protección especial” (Pr) en la NOM-059-ECOL-2001 por ser endémica de México.

2.2 Taxonomía y estudios filogenéticos sobre kinostérnidos

Las descripciones de nuevas especies dentro de la familia Kinosternidae incluyen en gran medida caracteres que hacen referencia a proporciones entre las longitudes de escudos, escamas u otras partes del carapacho y plastrón (Ernst, 1989; Smith y Smith, 1993). Estudios sobre taxonomía de los kinostérnidos han sido abordados por Seidel y Lucchino (1981) en los cuales realizaron una comparación morfológica del género *Sternotherus* incluyendo a las especies *S. carinatus*, *S. depressus* y *S. minor*, concluyendo que son morfológicamente distintas. Por otro lado, trabajos más recientes son principalmente los de Iverson y Berry, dentro de ellos se encuentra una serie de comparaciones morfológicas, obteniendo el porcentaje de varias medidas como el largo del carapacho y plastrón, derivándose de esas comparaciones las

descripciones de nuevas especies como: *K. alamosae*, *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*, especies que se distribuyen en la costa del Océano Pacífico y que eran consideradas como *K. integrum* (Berry *et al.* 1997; Iverson *et al.* 1998).

Seidel *et al.* (1986) realizaron un estudio aloenzimático con 18 especies de kinostérnidos. En este trabajo se concluyó que los Kinosterninae son una subfamilia divergente y monofilética de *Claudius* y *Staurotypus* y además de que el género *Kinosternon* es un taxón parafilético. Por otro lado, los estudios realizados sobre hipótesis filogenéticas de kinostérnidos, muestran una evidencia importante en las relaciones del grupo, las cuales han determinado que el género *Sternotherus* es monofilético además de la no sinonimia con el género *Kinosternon* (Iverson, 1991, 1998). En estos trabajos se incluyen unas hipótesis *a priori*, que los resultados no soportan, como que la posición de *K. herrerae* en la base del grupo, o que las especies *K. alamosae*, *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae* son derivadas de *K. integrum*. Los estudios realizados por Iverson (1991, 1998) muestran una falta de resolución hacia algunos grupos, como en el complejo *scorpiodes*, en donde no se incluyeron a especies como *K. creaseri* y *K. oaxacae*, así como los problemas en la resolución en el “clado” de la parte de Centroamérica y el norte de América del Sur con la especie *K. angustipons* y las subespecies de *K. scorpiodes*.

Walter *et al.* (1998) efectuaron un análisis molecular de la especie *S. depressus*, la cual estaba postulada como una especie nueva gracias a diferencias morfológicas con otras especies dentro del género, confirmando molecularmente la identidad taxonómica de *S. depressus*. Serb *et al.* (2001) trataron de resolver el estatus de las subespecies de *K. flavescens*: *K. f. arizonense*, *K. f. durangoense*, *K. f. flavescens* y *K. f. spooneri*. En este trabajo se determinó que dentro del complejo de *K. flavescens*, tres de las cuatro subespecies se elevaban a la categoría de especie, resultando: *K. arizonense* en el desierto de Sonora-Arizona, *K. durangoense* dentro de la cuenca del río Nazas en el desierto Chihuahuense y *K. flavescens* en las planicies centrales de Estados Unidos. La hipótesis filogenética propuesta por Iverson *et al.* (2007) mantuvo la incertidumbre del complejo *scorpiodes*, ya que se incluyeron a *K. sonoriense*, *K. hirtipes* y *K. herrerae*, especies del Altiplano Mexicano, norte de México y Golfo de México respectivamente, siendo *K. herrerae* la que no se



ubicó en la base del grupo como lo esperaba Iverson (1998), además de que las relaciones entre *K. alamosae*, *K. chimalhuaca*, y *K. oaxacae* con *K. integrum* no se resolvieron.

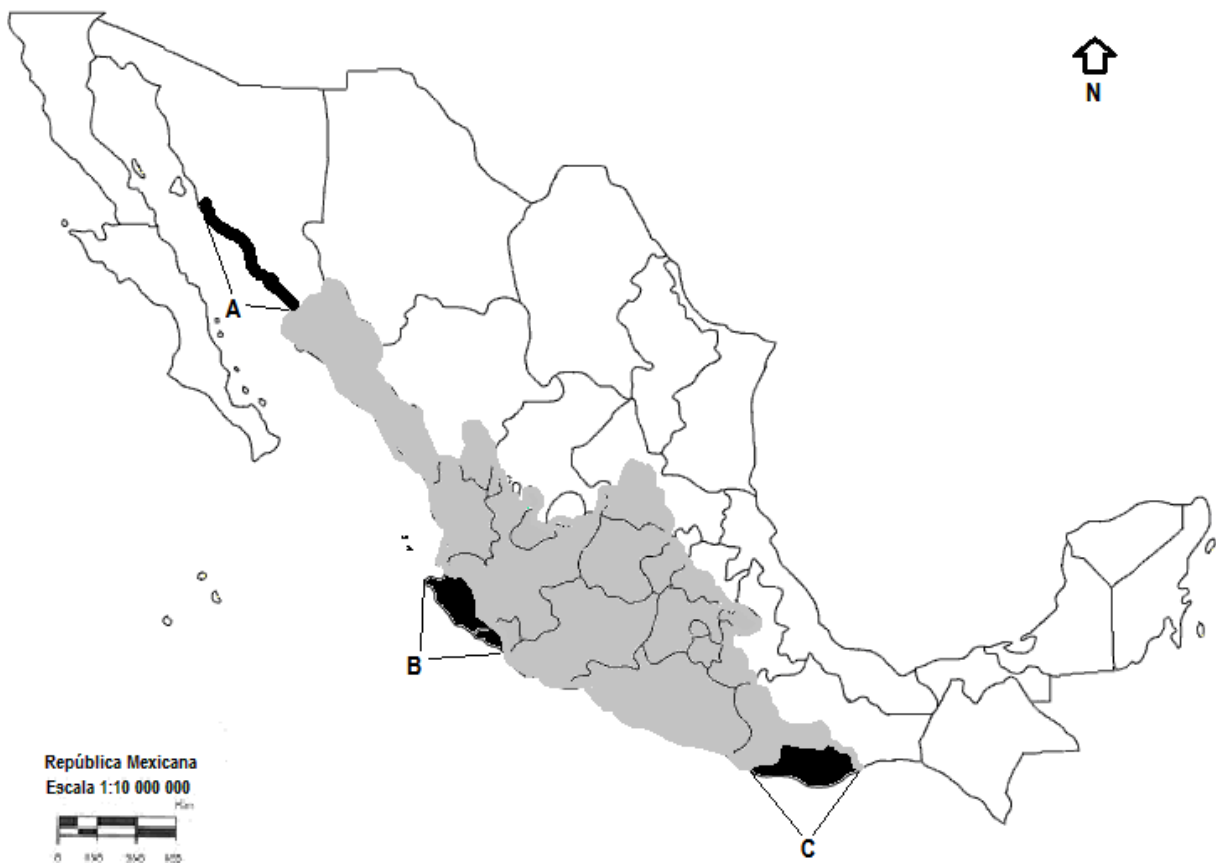


Figura 1. Área de distribución de *Kinosternon integrum* en la República Mexicana en gris. A) La distribución de *K. alamosae*; B) la distribución de *K. chimalhuaca* y C) la distribución de *K. oaxacae*. (Tomado y modificado de Iverson et al. 1998).

3. Objetivo

General

- Caracterizar morfológicamente y molecularmente a las poblaciones de *K. integrum* de las cuencas del río Balsas y río Pánuco.

Particulares

- Describir si hay o no diferencias macroecológicas como: clima, tipo de vegetación, altitud (msnm), temporada de lluvias y temporada de heladas así como la temperatura media anual entre las áreas de estudio.
- Comparar las medidas morfológicas con valor taxonómico como: ancho del lóbulo plastral posterior, ancho del lóbulo plastral anterior, largo del puente, largo del lóbulo plastral posterior y largo de la sutura del escudo interfemoral entre las tortugas de las diferentes poblaciones.
- Analizar si existen diferencias morfométricas entre las poblaciones de las cuencas del río Balsas y río Pánuco.
- Investigar la variación de un fragmento del gen citocromo b (Cytb), entre las poblaciones examinadas.

4. Hipótesis

Tomando en cuenta la distribución de las poblaciones de tortugas de la especie *Kinosternon integrum* en territorio mexicano, la presencia de cuencas hidrológicas dentro de esta distribución y las barreras geográficas que se presentan, las posibilidades de dispersión y flujo génico entre poblaciones deben de ser muy reducidas, por lo que es posible inferir que existen diferencias fenotípicas y genotípicas entre ellas, así como en sus condiciones macroecológicas, que pudieran sugerir una diferenciación a nivel específico.

5. Áreas de estudio

5.1 Cuencas para el estudio de *Kinosternon integrum*

5.1.1 Cuenca del Balsas

El río Balsas es la cuenca hidrológica más importante de la vertiente del Pacífico mexicano y una de las cuencas más importantes en el país. La cuenca limita por el norte con el Eje Volcánico Transversal, por el este el Sistema Montañoso del norte de Oaxaca y por el sur y el oeste la Sierra Madre del Sur, orografía que circunda la depresión del Balsas, que contuvo un gran lago, para que después dicha depresión pasara a ser la cuenca hidrográfica del río Balsas (Feria-Arroyo, 2001). La cuenca cubre una superficie hidrológica total de 117,045 km² (Toledo y Bozada, 2002). Abarca porciones de las regiones geoeconómicas del Pacífico sur, centro, centro-sur y occidente de la República Mexicana (Feria-Arroyo, 2001) y los estados que comprenden la cuenca hidrológica son porciones de Oaxaca, Tlaxcala, Puebla, Guerrero, Estado de México, Michoacán y Jalisco, así como la totalidad del estado de Morelos (Feria-Arroyo, 2001).

El alto Balsas con un promedio de 2,000 a 1,800 msnm, el medio Balsas entre los 1,800 y 1,000 msnm y el bajo Balsas con una altura inferior a los 1,000 msnm son las tres subregiones en las que se divide la cuenca del Balsas. La cuenca del río Balsas tiene gran riqueza y diversidad biológica además de una gran variedad de organismos marinos, estuarinos y dulceacuícolas que lo utilizan como hábitat (Toledo y Bozada, 2002).

Dentro de la geología de la cuenca, a principios del Cenozoico fue cuando se generaron los plegamientos de la Sierra Madre del Sur y el Sistema Volcánico Transversal, quedando entre ellos la Depresión del Balsas que actualmente tiene unos 64,128.60 km², y es considerada como una provincia biótica, ubicada dentro de la región Caribeña y el reino Neotropical (Aguilar, 1998), pero que por algún tiempo fue una cuenca cerrada, pero los movimientos orogénicos en la Sierra Madre del Sur originaron las fracturas por donde ahora fluye el río Balsas hacia el Océano Pacífico (Correa, 1974).

5.1.2 Cuenca del Pánuco

La cuenca del río Pánuco se encuentra en la región centro-este de México. El río Pánuco tiene en conjunto 66,300 km² de superficie de captación en tres posiciones, el altiplano, región montañosa y superficie costera, abarcando desde el centro-este hasta el Golfo de México (Mercado-Silva, 1999), y comprende parte de las entidades federativas de: Hidalgo, Estado de México, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz y una pequeña parte de Nuevo León (S.A.R.H. 1980; 1987). La cuenca drena por tres regiones fisiográficas, La Meseta Central, la Sierra Madre Oriental y la Llanura Costera del Golfo. El relieve de la cuenca es más grande en las porciones centrales de la cuenca, con varias crestas en la Sierra Madre Oriental que exceden los 3,000 metros (Hendrickson, *et. al.* 2003).

El río Pánuco pertenece a la RH 26, la cual es una de las más importantes del país, pues ocupa el cuarto lugar en superficie abarcada y el quinto en volumen de escurrientes (INEGI, 1986), además el río Pánuco nace en el Estado de México, siendo los ríos Tamesí y Moctezuma sus principales afluentes (Secretaría de Marina, 2000). La cuenca se puede dividir en dos zonas, la planicie costera y la zona de sierra, en esas regiones existen varios tipos de climas debido a sus diversas altitudes y conformaciones topográficas, predominando el clima cálido húmedo, sub-húmedo, y dentro de esas zonas se divide en alto Pánuco, bajo Pánuco y río Guayalejo. La temperatura fluctúa entre los 26 °C y 28 °C en la planicie costera y de 18 °C en la zona de la sierra (S.A.R.H. 1980).

5.2 Poblaciones de la Cuenca del río Balsas

5.2.1 Playa Azul (Michoacán)

Playa Azul pertenece al municipio de Lázaro Cárdenas, al sur del estado de Michoacán en las costas de Océano Pacífico; en las coordenadas 18° 00' 25.2" norte y 102° 18' 48.6" oeste y con una altitud de 0 a 100 msnm (Figura 2). Limita al norte con Arteaga, al este con el Estado de Guerrero, al sur con el Océano Pacífico y al oeste con Aquila. Esta localidad tiene un clima Cálido

subhúmedo A(w) con lluvias en verano (Köppen modificado por García, 1973), y con una temperatura media anual de 28 °C y tiene una precipitación pluvial anual de 1,276 milímetros (Gobierno del Estado de Michoacán).

La vegetación que se presenta es una combinación de manglar en la costa y bosque tropical caducifolio tierra adentro, pero este tipo de vegetación se encuentra perturbada, debido al cultivo de palma coco y a tierras para el pastoreo. Su hidrografía se constituye por los ríos Balsas, Chuta y Habillal; los arroyos del Colomo y Verde; y la presa José María Morelos (Gobierno del Estado de Michoacán).

5.2.2 Nuevo Urecho (Michoacán)

Este municipio se localiza al sureste del estado de Michoacán, entre las coordenadas 19° 10' 49" norte y las coordenadas 101° 51' 48" oeste, limitando al norte con Teratan, al sur con La Huacana, al este con Ario de Rosales y al oeste con Gabriel Zamora, la altitud promedio es de 600 msnm (Figura 2). El clima de esta localidad es Cálido Húmedo A(w) con lluvias en verano (Köppen modificado por García, 1973), siendo la temperatura media anual de 28 °C. Tiene una precipitación pluvial anual de 1,000 milímetros (Gobierno del Estado de Michoacán).

La vegetación predominante en esta localidad es de tipo Selva Baja Caducifolia, aunque, se encuentra muy perturbada por el cultivo de mango. Además también cuenta con Bosque de Galería (a lo largo del cauce de los ríos). La localidad de Nuevo Urecho forma parte del inicio de la Sierra Madre del Sur, lo que hace que esta localidad se conforme por cerros y vertientes. (Gobierno del Estado de Michoacán).

5.2.3 Tejupilco (Estado de México)

Tejupilco se ubica al suroeste del Estado de México, colinda al norte con Oztolapan, Zacazonapan, Temascaltepec y San Simón de Guerrero, al sur con Amatepec y Sultepec y al oeste con los estados de Michoacán y Guerrero. Está comprendido entre las coordenadas 18° 50' 37" norte y 100° 08' 47" oeste (Figura 2). Esta localidad está compuesta por una serie de valles rodeados por cerros de una altitud 1,300 a 800 msnm. El clima de esta localidad puede variar

entre un cálido sub-húmedo A(w) a Cálido Húmedo A(m) (Köppen modificado por García, 1973), con lluvias en verano y con una temperatura media anual de 22 °C (Gobierno del Estado de México, 2000).

La vegetación original posiblemente era de bosque tropical caducifolio, aunque podría mezclarse con especies arbóreas perennes debido a una mayor humedad, pudiéndola clasificar como bosque tropical subcaducifolio, además de vegetación secundaria y vegetación introducida como pirules y eucaliptos (Gobierno del Estado de México, 2000).

5.2.4 Tonatico (Estado de México)

Tonatico se localiza en la parte sur del Estado de México entre los paralelos 18° 48' norte y 99° 40' oeste (Figura 2), y se ubica a los 1,650 msnm. Limita al norte y al poniente con el municipio de Ixtapan de la Sal, al sur con Pilcaya, Guerrero, y al oriente con el municipio de Zumpahuacán (Gobierno del Estado de México, 2000).

El tipo de clima que se presenta en Tonatico es semicálido subhúmedo con lluvias en verano A(w) (Köppen modificado por García, 1973) con una temperatura media anual de 28 °C. La hidrografía está compuesta por el río San Jerónimo y el río San Joaquín que sirve como lindero entre Tonatico y Zumpahuacán. Dentro del municipio hay varios arroyos perennes. Bajo el suelo del territorio del terrero hay agua y eso permite los pozos de reata, aunque el agua no sea potable en un 100%. En el lado norte del municipio están los manantiales de aguas termales. Todos estos volúmenes de agua se unen en "La Junta de los Ríos", que más adelante se une al río San Jerónimo y al Tlapalla en el Amacuzac (Gobierno del Estado de México, 2000).

Pertenece a la región hidrológica RH 18 del Río Balsas y la vegetación predominante es la selva baja caducifolia en diferentes estados de conservación. También hay bosques de galería y matorral xerófilo, así como campos de cultivo y pastizales secundarios (Gobierno del Estado de México, 2000).

5.3 Poblaciones de la Cuenca del río Pánuco

5.3.1 La Noria (Hidalgo)

La Noria pertenece al municipio de Alfajayucan, que se encuentra al occidente dentro del Valle del Mezquital en el Estado de Hidalgo a los 20° 26' 31.1" norte y 99° 25' 46.3" oeste y se encuentra a una altura de 1,880 msnm. Sus colindancias son: al norte con los municipios de Huichapan, Tecozautla y Tasquillo; al este con Tasquillo, Ixmiquilpan y Chilcuautila; al oeste con Chapantongo y Huichapan y al sur con Chilcuautila y Chapantongo (Figura 2).

El clima, en un 29.80% de la superficie municipal es templado subhúmedo con lluvia en verano, mientras que en el 70.20% prevalece el clima semiseco templado C(w) (Köppen modificado por García, 1973). Tiene una temperatura media anual de 17 °C y con una precipitación pluvial media anual de 510 mm. La vegetación en este municipio está formada principalmente por matorral espinoso como el garambullo, palma, nopal; en algunas comunidades predomina la zona de bosque, en el cual existen árboles de encino, pino, sabino, mezquite, jacaranda, oyamel y árboles de pirúl (Anuario Estadístico Hidalgo Edición 2000).

El municipio contiene un río que cruza el territorio de norte a sur llamado río Alfajayucan, el cual es un afluente del río Moctezuma; el territorio de este municipio es atravesado también por el río Santa María, así mismo, lo integran las presas de Dolores, La Peña y Vicente Aguirre, perteneciendo este sistema a la cuenca del río Pánuco (Anuario Estadístico Hidalgo Edición 2000).

5.3.2 Vicente Guerrero (Querétaro)

La localidad de Vicente Guerrero, se encuentra en el Municipio de Cadereyta de Montes, se localiza en la parte este del estado de Querétaro a los 20° 42' 16" norte y los 99 ° 45' 42.7" oeste (Figura 2). Sus colindancias son: al norte con los municipios de Peñamiller, Pinal de Amoles y San Joaquín; al este con Pacula y Zimapán, Hidalgo; al sur con Ezequiel Montes y el Estado de Hidalgo; y al oeste con los municipios de Ezequiel Montes y Tolimán y tiene una altitud de 2,070 msnm (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005).

Los climas que se presentan en el municipio son el seco y el estepario del tipo semi-seco, que se caracterizan por un invierno seco, con régimen de lluvias en verano C(w) (w) (Köppen modificado por García, 1973), temperatura media anual de 16.7 °C, llegando a presentarse temperaturas máximas de hasta 38 °C. La oscilación anual de temperatura media es extremosa, entre 7 °C y 14 °C, siendo junio el mes más caliente y con una precipitación pluvial de 480 mm y una mala distribución durante la temporada de lluvias. Dentro de la vegetación que se presenta en el municipio, podemos encontrar una gran diversidad de cactáceas, tales como magueyes, tres variedades de órganos gigantes, cardonal y nopaleras (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005).

La región Hidrológica a la que pertenece el municipio es la Región Pánuco y la red hidrológica superficial de Cadereyta drena en su totalidad a la vertiente del Golfo de México, siendo el más importante el río Moctezuma Pánuco, con una longitud de 70 kilómetros, con sentido de sur a norte, que alimenta la Presa de Zimapán (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005).

5.3.3 Tecamatlán (Hidalgo)

La localidad de Tecamatlán pertenece al municipio de Ajacuba y se localiza al suroeste del estado de Hidalgo, a los 20° 10' norte y 99° 00' 40.3" oeste (Figura 2). Se encuentra a una altura de 2,180 msnm. Sus límites son: al norte, con los municipios de Mixquiahuala de Juárez, Francisco I Madero y San Salvador; al este Actopan y San Agustín Tlaxiaca; al oeste Atitalaquia, Tetepango y Mixquiahuala de Juárez; al sur San Agustín Tlaxiaca, Atotonilco de Tula, Atitalaquia y el Estado de México (Anuario Estadístico Hidalgo Edición 2000).

El clima del municipio es variable de acuerdo a la estación, frío y seco en invierno y parte del otoño, en verano seco y caluroso, se caracteriza por un clima templado y húmedo C(w) (w) (Köppen modificado por García, 1973), con una temperatura media anual de 17 °C y una precipitación pluvial media anual de 900 milímetros, el municipio es semiplano al este del valle, al oeste los cerros y mesetas y al sur una superficie plana y con barrancas. La vegetación

original caracterizada principalmente por matorrales espinosos así como cactus, nopales, magueyeras, escasos bosques de encino y en zonas urbanas encontramos una gran cantidad de árboles de pirul. Este municipio cuenta con un sistema hidrológico que por su ubicación y zonas con cerros, cuenta con manantiales de agua termal, así como presas y pozos existentes en cerros que son propiedad privada, este sistema hidrológico, pertenece a la cuenca del Río Pánuco (Anuario Estadístico Hidalgo Edición 2000).

5.3.4 San José Deguedo (Estado de México)

San José Deguedo pertenece al Municipio de Soyaniquilpan de Juárez, el cual se encuentra en la parte noroccidental del Estado de México, colinda al oeste con el estado de Hidalgo y al norte, este y sur con el municipio de Jilotepec (Figura 2). La zona de estudio se ubica al noroeste de la cabecera municipal entre las coordenadas 20° 04' 37" norte y los 99° 34' 24" oeste, a una altura de 2,450 msnm (CETENAL, 1978).

El clima de esta área de estudio se clasifica dentro del templado sub-húmedo con lluvias en verano C(w2) (w) (Köppen modificado por García, 1973), la precipitación pluvial es de 700 mm promedio anual, se presenta una temporada de heladas que comienza en octubre y termina en marzo, la temperatura media anual es de 18 °C. La vegetación que predomina es el bosque de encino, del cual, las especies que prevalecen son árboles del genero *Quercus* (encinos, robles). El municipio de Soyaniquilpan cuenta con un sistema hidrológico de gran importancia, debido a su extensión y ubicación territorial y pertenece a la región hidrológica RH 26, del río Panuco (Gobierno del Estado de México, 2000).

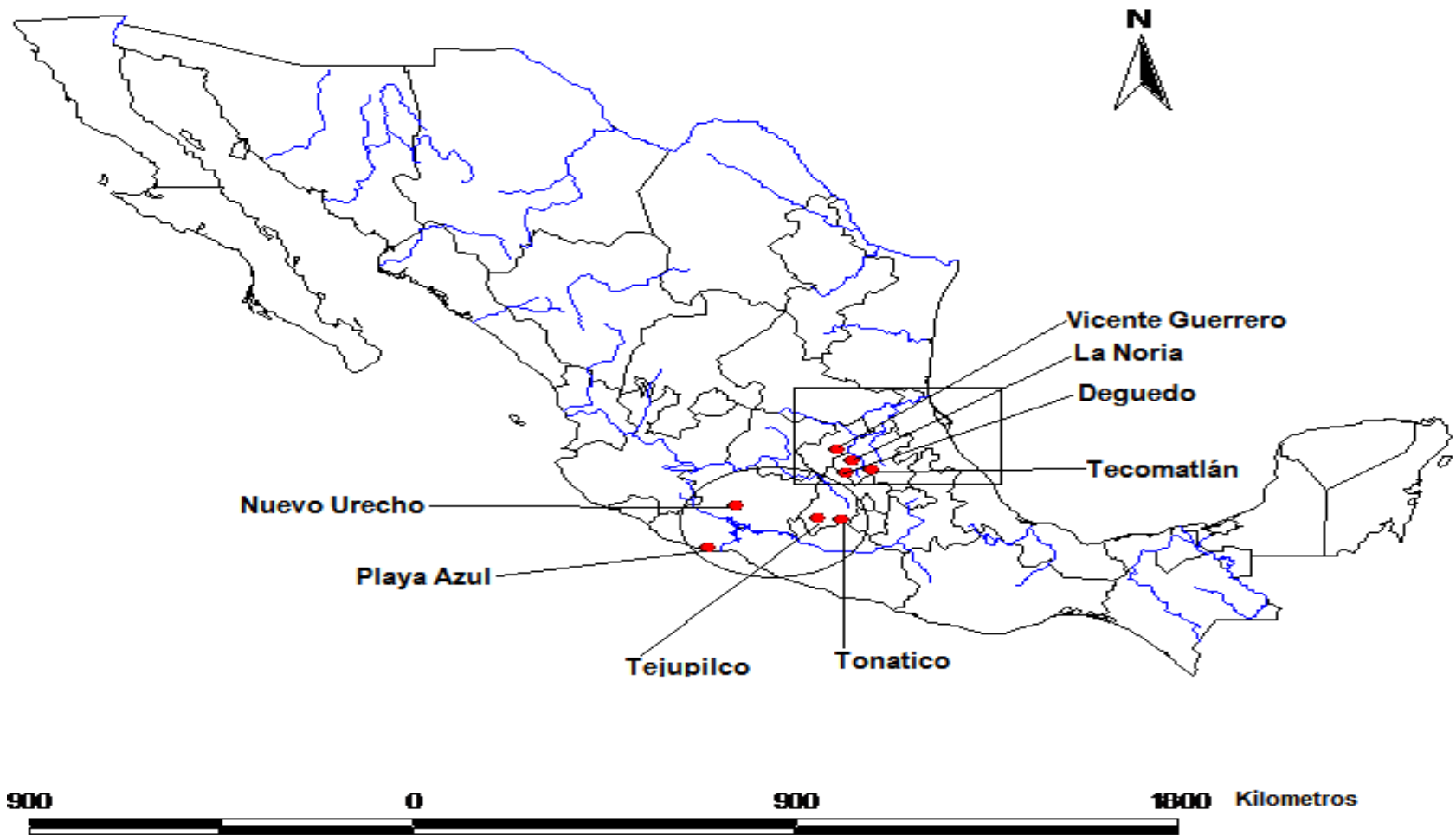


Figura 2. Mapa que muestra las poblaciones (en Rojo) de la cuenca del Balsas: Tejupilco, Tonicato, Nuevo Urecho y Playa Azul; de la cuenca del Pánuco: Deguedo, La Noria, Tecomatlán y Vicente Guerrero; en círculo la cuenca del Balsas y en cuadro la cuenca del Pánuco.

6. Método

6.1. Trabajo de campo

A) Se llevaron a cabo salidas de campo durante el periodo de junio a octubre de 2007 y 2008 para realizar un muestreo en la parte de la cuenca del río Balsas, recolectando datos de cuatro diferentes poblaciones: Tonatico y Tejupilco en el Estado de México y Nuevo Urecho y Playa Azul en Michoacán, y en el periodo de septiembre a octubre de 2010 para la cuenca del río Pánuco, recolectando datos de cuatro poblaciones distintas; Deguedo en el Estado de México, La Noria y Tecomatlán en Hidalgo y Vicente Guerrero en Querétaro. Además se muestrearon poblaciones de *K. chimalhuaca* en Jalisco y *K. oaxacae* en Oaxaca, con el objetivo de capturar organismos para medirlos morfológicamente y obtener tejidos de los organismos para la comparación molecular, por último, se obtuvieron algunos organismos de la población de Tres Palos, Acapulco (cerca de la localidad tipo de *K. integrum*). Se tomaron fotos del carapacho y plastrón de los organismos capturados para realizar un análisis morfométrico. La captura de organismos se realizó por medio de trampas de embudo (Plummer, 1979; Casas-Andreu *et al.* 1991) y con un chinchorro de 1.20 m x 9 m, con luz de red de 2.5 cm. Asimismo los datos de las variables macroecológicas se basaron en la literatura y se realizaron tablas comparativas entre las poblaciones.

B) Una vez colectadas las tortugas, a cada individuo se le tomaron los siguientes datos: localidad, fecha, sexo (H/M), edad (adulto, cría o juvenil), así como medidas morfológicas: largo curvo del carapacho, ancho de carapacho en la parte más ancha, largo del plastrón, ancho del plastrón en la zona más ancha, alto de la concha (Figura 3), las medidas se realizaron con una cinta métrica de plástico de 150 cm de largo. Se tomaron medidas de caracteres con importancia taxonómica de acuerdo con Berry *et al.* (1997), como lo son: ancho del lóbulo plastral posterior, ancho del lóbulo plastral anterior, largo del puente, largo del lóbulo plastral posterior, largo de la sutura del escudo interfemoral (Figura 4), las medidas se tomaron con un calibrador tipo vernier.

Se anotó la presencia/ausencia del contacto axilar inguinal, presencia/ausencia del contacto entre los escudos Marginal 2 y central, forma

de escudos vertebrales: vertebral 1 y vertebral 5 (V1-V5), y tamaño entre los escudos marginales: marginal 1 mayor o menor al marginal 2 (M1-M2), y marginales 10 y 9 mayores o menores que el escudo marginal 11 (M10/9-11) (Figura 3). Cada individuo fue marcado por medio de muescas en los escudos marginales de la concha (Figura 5) (Ferner, 1979; Plummer, 1979), esto con el fin de evitar que los individuos fueran medidos en varias ocasiones. Se tomaron fotografías digitales del carapacho y plastrón de los organismos capturados, en cada fotografía se puso al lado de la tortuga una cinta métrica como referencia de medición y para evitar posibles diferencias de escala en los análisis posteriores (Zuñiga, *et al.* 2011). Por último las tortugas fueron liberadas en el mismo punto de captura. Para la colecta de tejidos, se tomaron muestras de la membrana interdigital de algunos individuos y otros se sacrificaron para tomar la muestra de tejido muscular o de hígado, los tejidos frescos fueron preservados en etanol absoluto a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.2 Análisis de los datos

Para evaluar la posible presencia de dimorfismo sexual y variación intrapoblacional se llevaron a cabo las pruebas de ANOVA de dos vías en el paquete estadístico Statistica v8 (StatSoft 2007) y un análisis discriminante entre las poblaciones de las cuencas del Balsas y Pánuco, otro análisis incluyó a las especies *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*, así como análisis individuales entre una población con otra, todos se llevaron a cabo con el paquete estadístico JMP ver 7.0 (SAS Institute, 2007). Para el análisis morfométrico, se anotaron 42 coordenadas anatómicas (*landmarks*) para el carapacho y 25 coordenadas anatómicas para el plastrón (Figuras 6 y 7). Estas coordenadas anatómicas fueron propuestas por Claude *et al.* (2003). Todas las fotografías se procesaron con el programa TPSdig software version Win 3.1 (<http://life.bio.sunysb.edu/morph>). Sobre la base de estos puntos de referencia de dos dimensiones, el tamaño del centroide (una medida geométrica del tamaño del cuerpo y una forma consenso) y un conjunto de variables de la forma, se calcularon para cada tortuga utilizando el método “*thin-plate spline*” (Zelditch, *et al.* 2004). El software TPSrelw Versión 1.11 para Windows 3.1[tpsRelw v1.11] (Rohlf, 2005), fue utilizado para este propósito, TPSrelw calcula dos medidas de la variación de la forma de cada tortuga siendo la

primera un conjunto de componentes de forma uniforme, que describen los cambios en la forma en que son geométricamente uniforme a través de todo el cuerpo de las tortugas, es decir, un aumento general de la longitud o anchura a un medio o forma consenso; y la segunda medida es un conjunto de deformaciones parciales (*partial warps*) que describen cambios no uniformes en la posición de un subconjunto de puntos de referencia relativos a otros puntos de interés. Posteriormente se realizó un análisis de componentes principales para reducir la dimensión de estos datos uniformes y no uniformes. Esto dio lugar a un conjunto de resultados relativos de deformaciones (*Relative Warps*) para cada individuo. Los *Relative Warps* fueron utilizados como insumos para las comparaciones estadísticas entre las poblaciones. Al final se generó una gráfica que se deriva directamente de los *Relative Warps*, de esta manera, el software TPSrelw genera presentaciones gráficas de las diferencias morfológicas entre las poblaciones (Zuñiga-Vega, *et al.* 2011). Todas las pruebas estadísticas se realizaron con una $p=0.05$ (Zar, 1999) y se llevaron a cabo en el paquete estadístico Statistica v8 (StatSoft 2007).

6.3 Trabajo de laboratorio

Se realizó la extracción de DNA genómico con la técnica de Fenol-Cloroformo con Proteinasa K. El DNA genómico fue visualizado en geles de agarosa 1X en una cámara de electroforesis para determinar su cantidad y calidad, el cual se preservó a 4 °C en alícuotas de 200 µL de agua bidestilada. Se amplificó un fragmento de 791 pb del Citocromo-b utilizando los siguientes oligonucleótidos (*primers*): Mta (F): CTC-CCA-GCC-CCA-TCC-AAC-ATC-TCA-GCA-TGA-TGA-AAC y L (R): TCT-TTC-ACT-GGT-TGT-CCT-CCG-ATT-CA (Engstrom *et al.*, 2007). El programa de PCR empleado fue: 30 ciclos de 94 °C 5 minutos, 94 °C 30 segundos, 50 °C 30 segundos, 72 °C 1 minuto y 72 °C 7 minutos. La purificación del producto de PCR se llevó a cabo con *Kits* de purificación Quiagen (QIAquick PCR Purification Kit No. cat. 28106) y Millipore (Millipore Technical Publications). La reacción de secuenciación se realizó con los productos de PCR purificados utilizando *Sephadex* en columnas giratorias. Todas las muestras fueron enviadas a la unidad de Biología Molecular del Instituto de Biología de la UNAM para su secuenciación en secuenciador automático (Applied Biosystems ABI Prism 3100). También se tomaron las

siguientes secuencias del *Genbank* para su inclusión en los análisis como grupos externos: *Chelydra serpentina* (U81357.1), *Dermatemys mawii* (U81364.1), *Staurotypus triporcatus* (U813489) y *Sternotherus odoratus* (U81350). También se tomaron de Iverson (1998) las secuencias publicadas de Citocromo b de los siguientes kinostérnidos: *C. angustatus*, *K. acutum*, *K. alamosae*, *K. bauri*, *K. dunni*, *K. flavescens*, *K. hirtipes*, *K. integrum*, *K. leucostomun*, *K. sonoriense*, *K. subrubrum*, *K. s. hippocrepis*, *K. s. steindachneri*, *S. carinatus* y *S. minor*. La incorporación de estas últimas secuencias, originó una disparidad en el largo de los fragmentos, los cuales fueron tratados como datos faltantes. La incorporación de más unidades taxonómicas operativas, aún con datos faltantes, mejora el resultado del análisis y proporciona topologías con mejores resultados (Wiens, 2006).

Los análisis de los datos obtenidos de la PCR (secuencias), se procesaron con los programas BioEdit versión 7.0.9 (Hall, 2011). La reconstrucción de los cladogramas se realizó con análisis de máxima parsimonia utilizando el paquete WinClada ver. 10.00.08. La búsqueda heurística utilizó parsimonia de pesos iguales como el criterio de selección, y TBR (Tree-bisection and reconnection) para el intercambio de ramas, usando las condiciones por *default*. El soporte de las ramas se midió con valores de *bootstrap* (Felsenstein, 1985). Las búsquedas de *bootstrap* se llevaron a cabo con 10,000 réplicas utilizando TBR, con 1,000 árboles guardados por réplica. El software jModeltest (Posada, 2008) se utilizó para la selección del mejor modelo de sustitución para los datos, para esto se utilizó el criterio de selección de *Akaike* (AIC). Para el análisis de Máxima Verosimilitud se utilizó el software PAUP* ver. 4 y posteriormente se realizó una rutina de *bootstrap* con 100 re-muestreos para determinar el soporte de las relaciones filogenéticas encontradas previamente (Swofford, 2003). Para el análisis Bayesiano, se utilizó el software MrBayes v3.2 para *Windows* (Huelsenbeck, J. y F., Ronquist, 2001), al cual se le implementaron los siguientes atributos de la búsqueda: 1,000,000 de generaciones y muestreando cada 1,000 generaciones; se utilizó el método de Kimura 2 parámetros para obtener las distancias genéticas obtener las distancias genéticas que hay entre las poblaciones de las dos cuencas y de otras especies de kinostérnidos, utilizando el software PAUP*

ver. 4 por último se utilizó el programa Fig Tree v1.3.1 (Rambaut, 2006) para la edición de los filogramas obtenidos.

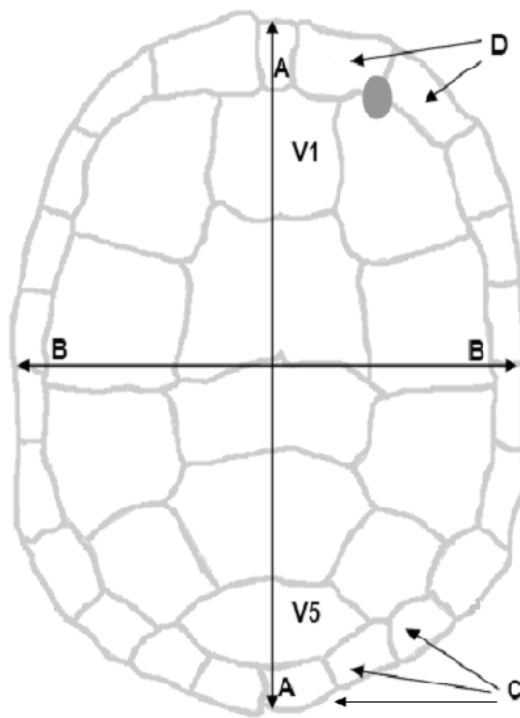


Figura 3. Medidas del carapacho. Donde: A= largo de carapacho; B= ancho de carapacho; C= tamaño de los escudos marginal 9, marginal 10 y marginal 11; D= tamaño de los escudos marginal 1 y marginal 2; V1-V5= escudos vertebrales 1 y 5; elipse gris= contacto entre los escudos Marginal 2 y central.

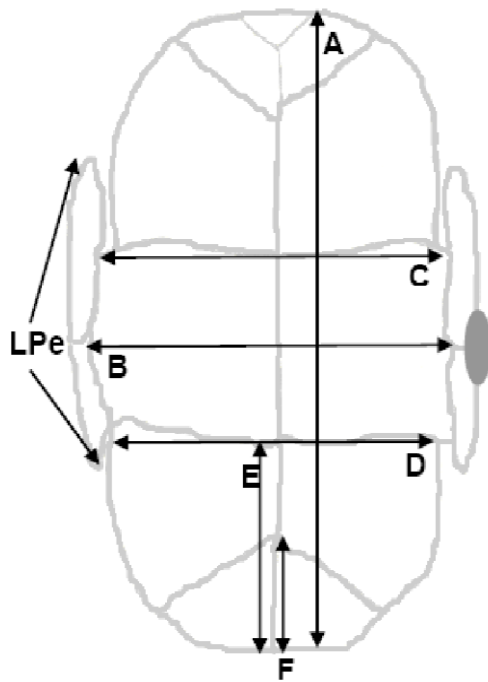


Figura 4. Medidas del plastrón donde: A= largo del plastrón; B= ancho del plastrón; C= ancho del lóbulo plastral anterior; D= ancho del lóbulo plastral posterior; E= largo del lóbulo plastral posterior; F= largo de la sutura del escudo interfemorales; LPe= largo del puente; elipse gris= Contacto Axilar Inguinal.

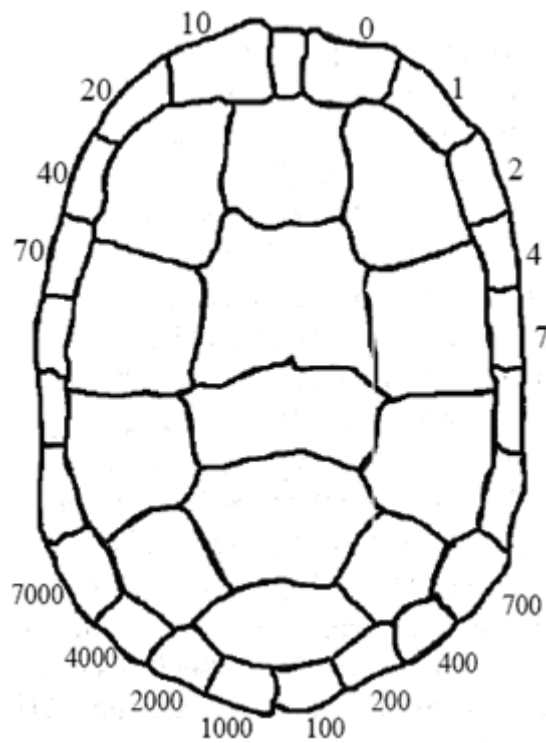


Figura 5. Clave para el marcado de tortugas.

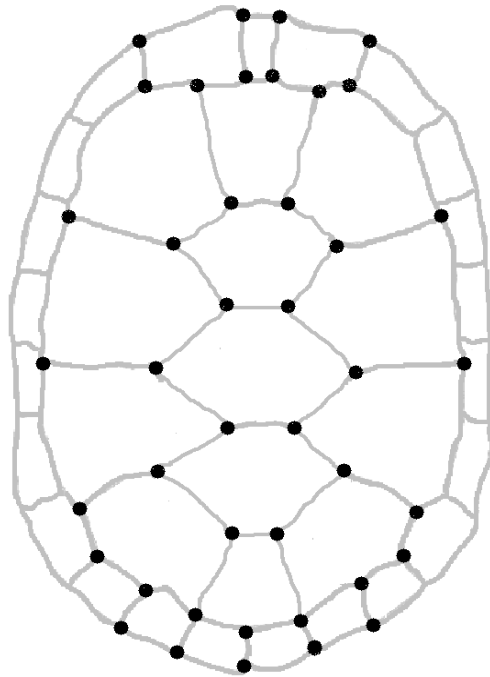


Figura 6. Coordenadas anatómicas (“*landmarks*”) del carapacho con los puntos en color negro (Tomado y Modificado de Claude, *et al.* 2003).

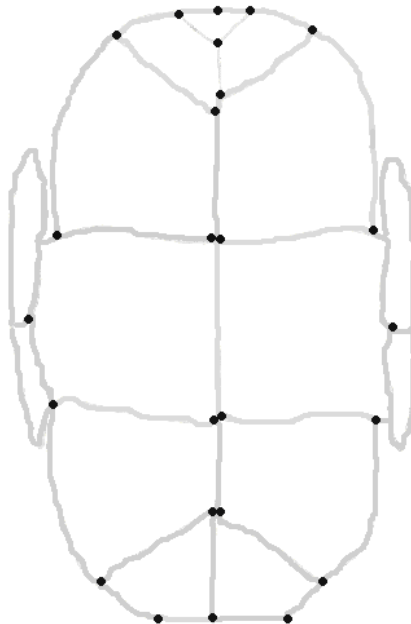


Figura 7. Coordenadas anatómicas (“*landmarks*”) del plastrón con los puntos en color negro (Tomado y Modificado de Claude, *et al.* 2003).

7. Resultados

7.1 Comparación Macroecológica

En la comparación macroecológica de las distintas áreas de las cuencas de estudio se encontraron diferencias en el clima, temperatura, temporada de lluvias, altitud y vegetación; siendo la zona de la cuenca del río Balsas la que presenta mayor similitud entre las variables ambientales. El clima para las áreas de estudio del río Balsas es similar entre ellas, que va desde el cálido húmedo, cálido subhúmedo y semicálido subhúmedo; encontramos mayor variación en las áreas de estudio de la cuenca del Pánuco, presentando climas como templado y húmedo, templado subhúmedo, semiseco templado y estepario del tipo semiseco. Se encontraron diferencias de temperatura entre las áreas de ambas cuencas, particularmente una diferencia de 11.3 °C en la temperatura media anual entre todas las poblaciones, la temperatura mínima se presentó en la localidad de Vicente Guerrero en la cuenca del Pánuco con 16.2 °C y la temperatura máxima se presentó en la cuenca del Balsas en la localidad de Nuevo Urecho con 28 °C.

La temporada de lluvias empieza en la cuenca del Pánuco en el mes de abril y termina en junio, mientras que en la cuenca del Balsas empieza en junio y termina en septiembre; la localidad de Deguedo es la única que presenta temporada de heladas (octubre a marzo); se encontró diferencia altitudinal de 2,350 msnm que va desde los 0-100 msnm en la población de Playa Azul (Balsas) hasta los 2,450 msnm en la población de Deguedo (Pánuco). Principalmente el tipo vegetación para las áreas del río Balsas es de selva baja caducifolia, aunque cada una de ellas presenta vegetación secundaria; las áreas de la cuenca del Pánuco presentan una vegetación distinta entre ellas y a las áreas de la cuenca del Balsas, encontramos bosque de encino en la localidad de Deguedo y matorral espinoso para las poblaciones de La Noria, Tecamatlán y Vicente Guerrero (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación macroecológica entre las áreas de estudio.

Población	Clima	Temperatura	Lluvias/pp	Heladas	Altitud	Vegetación
Nuevo Urecho (Balsas)	Cálido húmedo A(m)	Media anual de 28 °C	julio - septiembre/ 1,000 mm	No se presentan	600 msnm	Selva baja caducifolia y bosque de galería. Vegetación secundaria (cultivo de mango)
Playa Azul (Balsas)	Cálido Sub-húmedo A(w)	Media anual de 28 °C	julio - septiembre/ 1,276 mm	No se presentan	0/100 msnm	Selva baja caducifolia y manglar en la costa. Vegetación secundaria (cultivo de coco)
Tejupilco (Balsas)	Cálido Sub-húmedo A(w) Cálido Húmedo A(m)	Media anual de 22 °C	julio - septiembre/ 1,250 mm	No se presentan	800/1,300 msnm	Selva baja caducifolia/ Subcaducifolia. Vegetación secundaria (eucaliptos y pirules)
Tonatico (Balsas)	Semicálido Sub-húmedo A(w)	Media anual de 28 °C	junio – septiembre/ 1,050 mm	No se presentan	1,650 msnm	Selva baja caducifolia, campos de cultivo y pastizales secundarios
Deguedo (Pánuco)	Templado Sub-húmedo C(w2)(w)	Media anual de 18 °C	junio – octubre / 700 mm	octubre - marzo	2,450 msnm	Bosque de encino y vegetación secundaria
La Noria (Pánuco)	Semiseco templado C(w)	Media anual de 17 °C	junio – agosto / 510 mm.	No se presentan	1,880 msnm	Matorral espinoso (nopaleras)
Tecomatlán (Pánuco)	Templado y húmedo C(w) (w)	Media anual de 17 °C	abril – junio / 900 mm	No se presentan	2,180 msnm	Matorral espinoso (nopaleras)
Vicente Guerrero (Pánuco)	Estepario del tipo semi seco C(w) (w)	Media anual de 16.7 °C	abril – junio / 480 mm	No se presentan	2,070 msnm	Matorral espinoso (magueyeras-nopaleras)

7.2 Comparación Morfológica

Se obtuvieron medidas de los siguientes 163 individuos: en Tejupilco 16; Tonicaco 24; Nuevo Urecho 21 y Playa Azul 16, dentro de la zona del río Balsas y en el río Pánuco, San José Deguedo 20, La Noria 14, Tecomatlán 10 y Vicente Guerrero con 16; para *K. chimalhuaca* (Chamela) con 28 y *K. oaxacae* (Chacalapa) con 16.

La prueba de ANOVA de dos vías por sexo/población para el largo de carapacho resultó estadísticamente significativa en lo que respecta al sexo ($F(46,4765)$, 1 g. l., $p < 0.0001$) y a las poblaciones ($F(11,1647)$, 9 g. l., $p < 0.0001$) pero resultó estadísticamente no significativa la interacción en conjunto de población y sexo ($F(1,8833)$, 9 g. l., $p = 0.0592$, Figura 8) y para el largo de plastrón también resultó estadísticamente significativa en sexo ($F(16,9233)$, 1 g. l., $p < 0.0001$) y a las poblaciones ($F(20,8029)$, 9 g. l., $p < 0.0001$) pero resultó estadísticamente no significativa la interacción de población y sexo ($F(1,4460)$, 9 g. l., $p = 0.1744$, Figura 9).

Los resultados muestran que las tortugas presentan dimorfismo sexual, en el largo de carapacho y largo del plastrón, siendo los machos más grandes que las hembras en todas las poblaciones. Además tanto machos como hembras de la población de Nuevo Urecho, resultaron ser los más grandes de todas las poblaciones seguidos de la población de Playa Azul. Caso contrario, los individuos que resultaron más pequeños fueron las hembras de las poblaciones de Deguedo y Tejupilco, en los machos la población de Tejupilco es en donde se presentan los individuos más pequeños.

El análisis discriminante de los caracteres morfológicos de importancia taxonómica: ancho del lóbulo plastral posterior, ancho del lóbulo plastral anterior, largo del puente, largo del lóbulo plastral posterior y largo de la sutura del escudo interfemoral, entre las poblaciones de las dos cuencas, mostró que las poblaciones son estadísticamente diferentes ($F = 3.8328$; $p < 0.0001$; Figura 10). Las poblaciones del río Balsas son las que difieren comparadas entre ellas y con las poblaciones del río Pánuco, sobresaliendo las poblaciones de Nuevo Urecho y Playa Azul, ambas de la cuenca del río Balsas y del estado de

Michoacán. Otro análisis discriminante entre las poblaciones de la cuenca del Balsas, del Pánuco y en donde se incluyeron las especies *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*, resultó estadísticamente significativo ($F=6.2229$; $p<0.0001$, Figura 11), además se observó que la especie *K. chimalhuaca* (Chamela) se aleja de las otras poblaciones y de *K. oaxacae* (Chacalapa), pero esta última especie se aglomera con las poblaciones de *K. integrum* del río Balsas, pero principalmente del río Pánuco.

Comparación morfológica intra-poblacional

Con el análisis discriminante entre una población con otra, se obtuvieron un total de 45 resultados, dentro de los cuales 34 son estadísticamente significativos ($p\leq 0.05$) y 11 estadísticamente no significativos. Entre los resultados no significativos están las poblaciones de la cuenca del río Pánuco, ya que entre todas las poblaciones de esta cuenca no hay diferencias estadísticamente significativas en el análisis realizado. Además, *K. oaxacae*, que pertenece a la población de Chacalapa, no presentó diferencias estadísticamente significativas con poblaciones de la cuenca del Pánuco, siendo estas, Deguedo y Tecamatlán. Dentro de la cuenca del Balsas, las únicas poblaciones que no presentaron una diferencia estadística fueron las pertenecientes al Estado de México, Tejupilco con Tonatico, ambas no siendo estadísticamente diferentes con una población de la cuenca del Pánuco, Vicente Guerrero (Tabla 2).

Contactos morfológicos y tamaños de los escudos marginales

Por otra parte, el porcentaje del contacto entre el escudo marginal 2 y el escudo central, fue del 100% en poblaciones como Tonatico y Tejupilco en el así como las poblaciones en la parte del río Pánuco como Deguedo, Tecamatlán y Vicente Guerrero y con un 92.8% en La Noria y en Nuevo Urecho con el 14.28% y Playa Azul con el 18.7%. Otro contacto que presentó variables fue el Contacto Axilar Inguinal (CAI) en donde los porcentajes en las distintas poblaciones fueron los siguientes: en la cuenca del río Balsas.- Nuevo Urecho 71.4%; Playa azul 68.7%; Tonatico 44% y Tejupilco 43.7%. En la cuenca del río

Pánuco.- Tecamatlán 80%; Vicente Guerrero 37.5%, La Noria 21.4% y Deguedo 20% (Tabla 3). El tamaño entre los escudos marginales: el escudo marginal 1 resultó mayor en todas las poblaciones que el marginal 2 (M1-M2), y los escudos marginales 9 y 10 resultaron mayores que el escudo marginal 11 (M10/9-11).

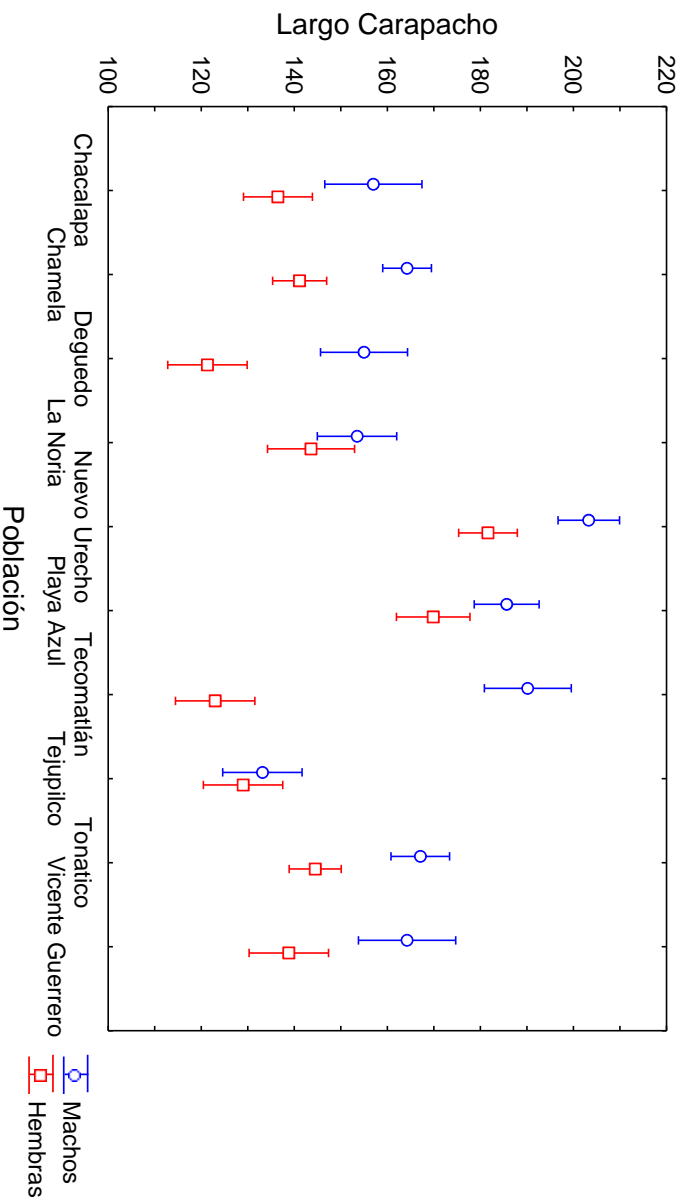


Figura 8. Variación entre el largo del carapacho de tortugas *Kinosternon* por población y sexo. Los resultados de la ANOVA son: Sexo ($F(46,4765)$, 1 g.l., $p<0.0001$). Poblaciones ($F(11,1647)$, 9 g.l., $p<0.0001$) pero resultó estadísticamente no significativa la interacción entre población y sexo ($F(1,8833)$, 9 g.l., $p=0.0592$). Las barras verticales denotan \pm error *standard*.

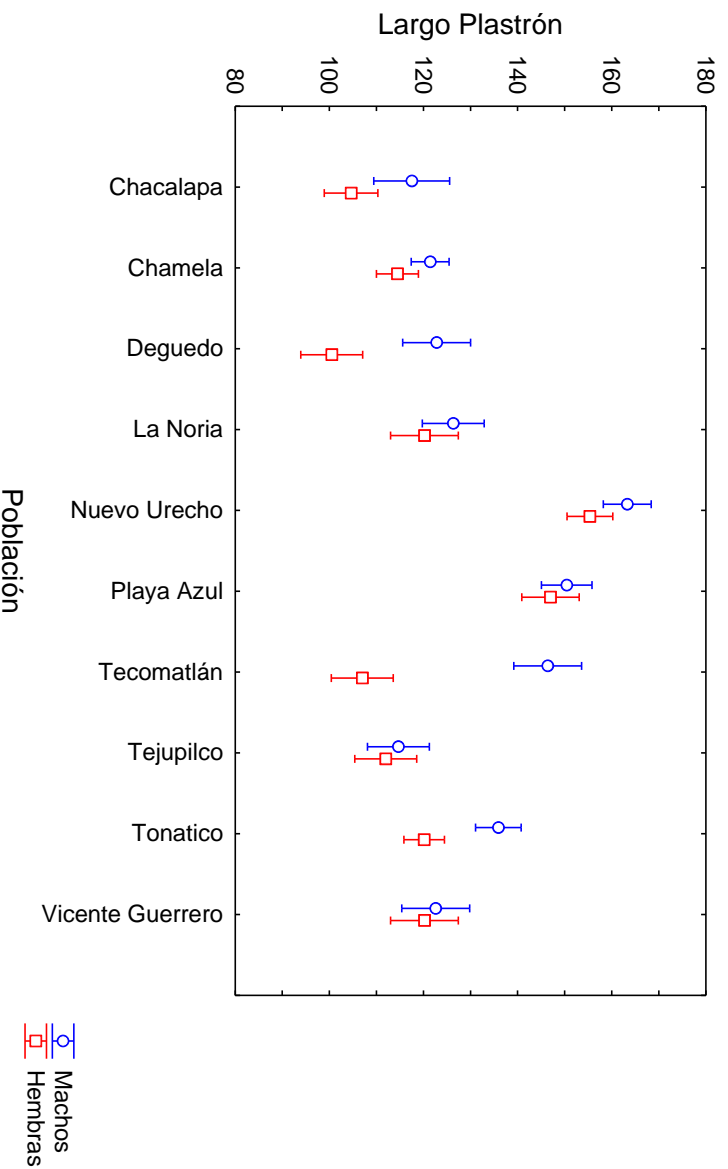


Figura 9. Variación entre el largo del plastrón de tortugas *Kinosternon* por población y sexo. Los resultados de la ANOVA son: Sexo ($F(16,9233)$, 1 g.l., $p<0.0001$). Poblaciones ($F(20,8029)$, 9 g.l., $p<0.0001$) pero resultó estadísticamente no significativa la interacción de población y sexo ($F(1,4460)$, 9 g.l., $p=0.1744$). Las barras verticales denotan \pm error *standard*.

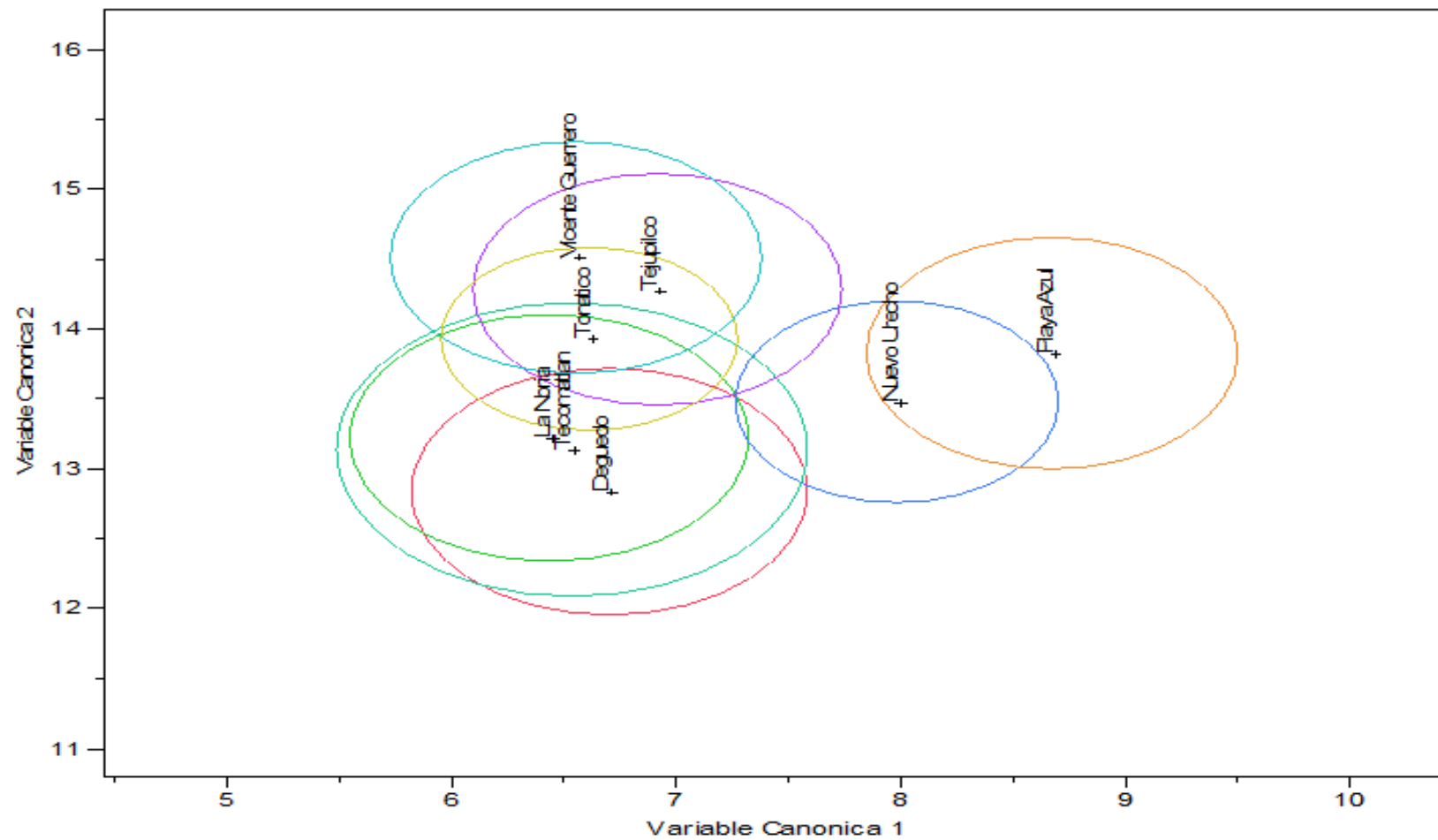


Figura 10. Resultados del Análisis discriminante (*Lambda de Wilks*, $F=3.8328$; $p<.0001$), entre las medidas con valor taxonómico y las poblaciones de las cuencas del río Balsas y río Pánuco. Donde: Poblaciones del Balsas: círculo azul= Nuevo Urecho; círculo anaranjado= Playa Azul; círculo morado= Tejupilco; círculo amarillo= Tonatico. Poblaciones del Pánuco: círculo verde- claro= Tecomatlán; círculo rojo= Deguedo; círculo verde= La Noria; círculo azul-agua= Vicente Guerrero.

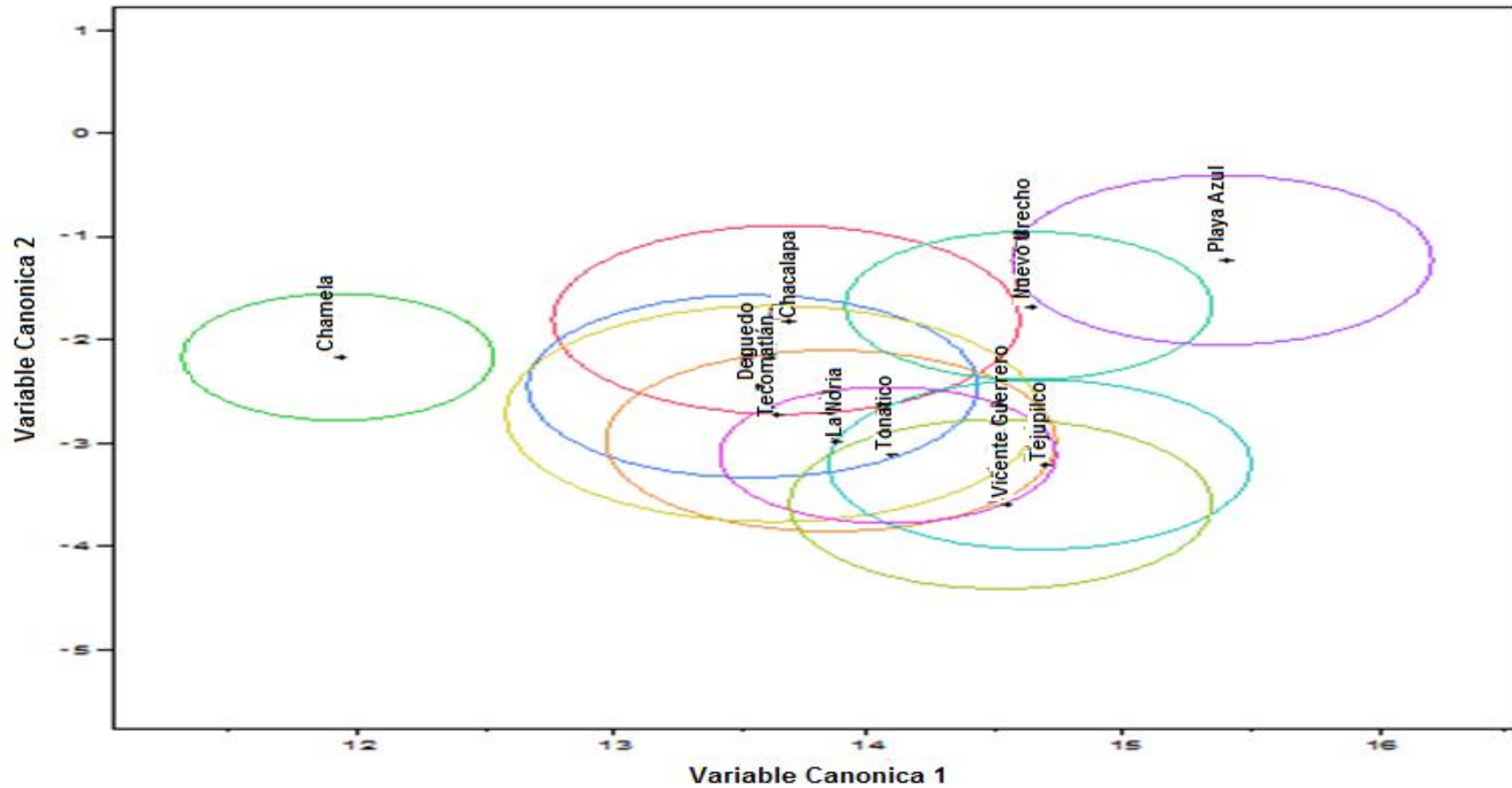


Figura 11. Resultado del Análisis discriminante (*Lambda de Wilks*, $F=6.2229$; $p<.0001$), entre las medidas con valor taxonómico y las poblaciones de las cuencas del río Balsas, río Pánuco y de las especies *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*. Donde: círculo verde= Chamela (*K. chimalhuaca*); círculo rojo= Chacalapa (*K. oaxacae*); Poblaciones del Balsas: círculo rosa= Tonicato; círculo azul-agua= Tejupilco; círculo verde-agua= Nuevo Urecho; círculo morado= Playa Azul; Poblaciones del Pánuco: círculo azul= Deguedo; círculo amarillo= Tecomatlán; círculo anaranjado= La Noria y círculo verde-claro= Vicente Guerrero.

Tabla 2. Análisis discriminante entre las medidas con valor taxonómico y las poblaciones (análisis intra-poblacional). Los datos resaltados en negritas, son estadísticamente no significativos ($p=0.05$).

	Tonatico (Balsas)	Nuevo Urecho (Balsas)	Playa Azul (Balsas)	Deguedo (Pánuco)	Chacalapa (K. <i>oaxacae</i>)	Chamela (K. <i>chimalhuaca</i>)	La Noria (Pánuco)	Tecomatlán (Pánuco)	Vicente Guerrero (Pánuco)	Tejupilco (Balsas)
Tonatico (Balsas)	*****									
Nuevo Urecho (Balsas)	F=16.545 p<.0001	*****								
Playa Azul (Balsas)	F=9.118 p<.0001	F=5.4250 p=0.0011	*****							
Deguedo (Pánuco)	F=2.951 p=0.018	F=4.828 p=0.001	F=3.990 p=0.006	*****						
Chacalapa (K. <i>oaxacae</i>)	F=11.507 p<.0001	F=7.2855 p=0.0002	F=7.357 p=0.0003	F=1.0450 p=0.4112	*****					
Chamela (K. <i>chimalhuaca</i>)	F=18.080 p<.0001	F=36.029 p<.0001	F=34.40 p<.0001	F=9.144 p<.0001	F=14.019 p<.0001	*****				
La Noria (Pánuco)	F=3.6068 p=0.0103	F=6.2187 p=0.0005	F=3.5748 p=0.0148	F=0.5337 p=0.7485	F=4.3991 p=0.0068	F=11.759 p<.0001	*****			
Tecomatlán (Pánuco)	F=3.5362 p=0.0128	F=4.3410 p=0.0056	F=3.6895 p=0.0158	F=1.9182 p=0.1411	F=1.8489 p=0.1568	F=7.0408 p<.0001	F=1.3501 p=0.2888	*****		
Vicente Guerrero (Pánuco)	F=0.9620 p=0.4542	F=5.1737 p=.0014	F=3.1177 p=0.0246	F=2.3841 p=0.0685	F=8.9693 p<.0001	F=20.164 p<.0001	F=1.3212 p=0.2887	F=1.8870 p =0.141	*****	
Tejupilco (Balsas)	F=2.3086 p=0.0650	F=8.7569 p<.0001	F=4.655 p=0.003	F=4.176 p=0.005	F=9.737 p<.0001	F=18.49 p<.0001	F=3.0213 p=0.0297	F=6.5346 p<.0009	F=2.3164 p=0.0724	*****

Tabla 3. Contactos morfológicos usados para distinguir especies de *Kinosternon* en México. N= número de individuos. (Tomado y modificado de Berry *et al.* 1997).

Población	N	Contacto Axilar Inguinal %	Contacto Marginal 2 Central %
Tonatico (Balsas)	25	44	100
Tejupilco (Balsas)	16	43.7	100
Nuevo Urecho (Balsas)	21	71.4	14.2
Playa Azul (Balsas)	16	68.7	18.7
Deguedo (Pánuco)	20	20	100
La Noria (Pánuco)	14	21.4	92.8
Tecomatlán (Pánuco)	10	80	100
Vicente Guerrero (Pánuco)	16	37.5	100

Comparación entre diferentes especies y/o poblaciones del complejo *Kinosternon scorpioides*

Se compararon las medidas de importancia taxonómica con poblaciones y especies del trabajo de Berry *et al.* (1997), resultando diferentes en porcentaje todas las poblaciones de este trabajo comparadas con las poblaciones del trabajo antes mencionado. En particular destacan los porcentajes del ancho del lóbulo plastral anterior con un intervalo entre 40.5% a 51.2% en las poblaciones examinadas en este trabajo, siendo diferente al porcentaje de las poblaciones del trabajo de Berry *et al.* La otra medida que resultó diferente entre las poblaciones examinadas y las publicadas por Berry *et al.* (1997) fueron el ancho de lóbulo plastral posterior, con una diferencia de 32.1% entre la población con el porcentaje más alto y la población con el menor porcentaje. El largo del puente tiene un intervalo que va desde el 31% en la población de *K. scorpioides* (Berry *et al.* 1997) hasta un 18.7% en la población de Vicente Guerrero (*K. integrum*).

Se obtuvieron porcentajes en el largo del lóbulo plastral anterior entre largo de la sutura del escudo interfemoral, desde 39.6% en la población de Deguedo (*K. integrum*), hasta un 6.7% en la especie *K. scorpioides* (Berry *et al.* 1997) El contacto axilar-inguinal resultó con un 100% en tres poblaciones, y el porcentaje mínimo lo presentó la población de *K. scorpioides* (Berry *et al.*) con un 4.2%. Por último el porcentaje del contacto del escudo marginal 2 con el escudo central tuvo como intervalo desde el 100% como máximo porcentaje en cinco poblaciones de este trabajo y como mínimo el 9.5% en *K. chimalhuaca* (Berry *et al.* 1997) como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Medidas morfológicas con valor taxonómico, usadas para distinguir especies de *Kinosternon* en México. N= número de individuos; ALPA= ancho del lóbulo plastral anterior; ALPP= ancho del lóbulo plastral posterior; Lpe= largo del puente; LH/LSEF= largo del lóbulo plastral posterior/largo de la sutura del escudo interfemoral. (Tomado y modificado de Berry *et al.* 1997).

ESPECIE Localidad	N	ALPA %	ALPP %	Lpe %	LH/LSEF %	Contacto Axilar Inguinal (%)	Contacto Marginal 2 Central (%)
<i>K. chimalhuaca</i> Barra de Navidad- Río Cihuatlán (Berry)	83	62.1	56.9	20.7	29.5	100	9.5
<i>K. chimalhuaca</i> Río Purificación- Tomatlán (Berry)	28	61.5	56.9	20.5	32.1	100	17.9
<i>K. integrum</i> Río Armería- Colima (Berry)	102	71.1	67.6	24.4	26.3	82.4	50.3
<i>K. integrum</i> Río Ameca (Berry)	16	75.0	65.8	24.7	26.3	65	86.6
<i>K. oaxacae</i> (Berry)	39	66.4	57.2	23.6	30.9	100	97.3
<i>K. scorpioides</i> Río Tehuantepec (Berry)	73	76.7	67.6	31.0	6.7	4.2	70.2
<i>K. integrum</i> Nuevo Urecho (Balsas)	21	40.6	36.2	25	24.9	71.4	14.28
<i>K. integrum</i> Playa Azul (Balsas)	16	41.5	35.5	26.7	23.7	68.7	18.7
<i>K. integrum</i> Tejupilco (Balsas)	16	42.9	38.9	21.9	26	43.7	100
<i>K. integrum</i> Tonatico (Balsas)	25	51.2	48.8	20.3	24.8	44	100
<i>K. integrum</i> Deguedo (Pánuco)	20	45.8	43.1	23.2	39.6	20	100
<i>K. integrum</i> La Noria (Pánuco)	14	40.53	35.1	19.9	24.3	21.4	92.8
<i>K. integrum</i> Tecomatlán (Pánuco)	10	39.2	34.3	20.1	21.9	80	100
<i>K. integrum</i> Vicente Guerrero (Pánuco)	16	43.2	39	18.7	25.3	37.5	100

7.3 Comparación Morfométrica

Se analizaron 82 fotografías del carapacho y plastrón de hembras y machos de tortugas *Kinosternon*. En el análisis en conjunto los *Relative Warp* 1 y 2, explican el 41.2% de la variación total de en forma del carapacho, resultando estadísticamente no significativas ($F(10, 58)=,57370$, $p=0.82861$) y en donde las poblaciones de Tonicico (Balsas), Deguedo y La Noria (Pánuco), y la población de Chamela (*K. chimalhuaca*) son relativamente similares a la forma consenso. Las poblaciones Tejupilco (Balsas), Tecamatlán (Pánuco) y Chacalapa (*K. oaxacae*) presentaron variación en la tamaño del escudo central 5 y los escudos marginales 9, 10 y 11 con mayor separación entre ellos. Las poblaciones de Nuevo Urecho y Playa Azul presentaron estos mismos escudos más juntos que la forma consenso, muy similar a la población de Tres Palos, (Acapulco, cerca de la localidad tipo de *K. integrum*), por último la población de Vicente Guerrero presentó el escudo marginal 11 más reducido que las demás poblaciones (Figura 12).

Para el plastrón, en conjunto los *Relative Warp* 1 y 2, explican el 43% de la variación total en forma, aquí se presentó la diferencia más notoria en forma y estadísticamente significativa ($F(10,60)=2.2377$, $p=0.02713$), en donde las poblaciones de Tonicico, Playa Azul (Balsas), Chamela (*K. chimalhuaca*) y Chacalapa (*K. oaxacae*) y Tres Palos (Acapulco, cerca de la localidad tipo de *K. integrum*) presentaron los valores positivos más altos y son relativamente similares a la forma consenso; las poblaciones de Nuevo Urecho y Tejupilco, presentaron los valores positivos en el eje Y pero negativo para el eje X. Las poblaciones de Tecamatlán, Deguedo, La Noria y Vicente Guerrero, todas de la cuenca del Pánuco, presentaron los valores negativos.

Las poblaciones de la cuenca del Balsas y las poblaciones de Chamela (*K. chimalhuaca*) y Chacalapa (*K. oaxacae*) se separan por completo de las poblaciones de la cuenca del río Pánuco, siendo las poblaciones de la cuenca del Pánuco más anchas en las medidas de ancho del lóbulo plastral anterior y ancho del lóbulo plastral posterior, presentando un plastrón más grande que las demás poblaciones (Figura 13).

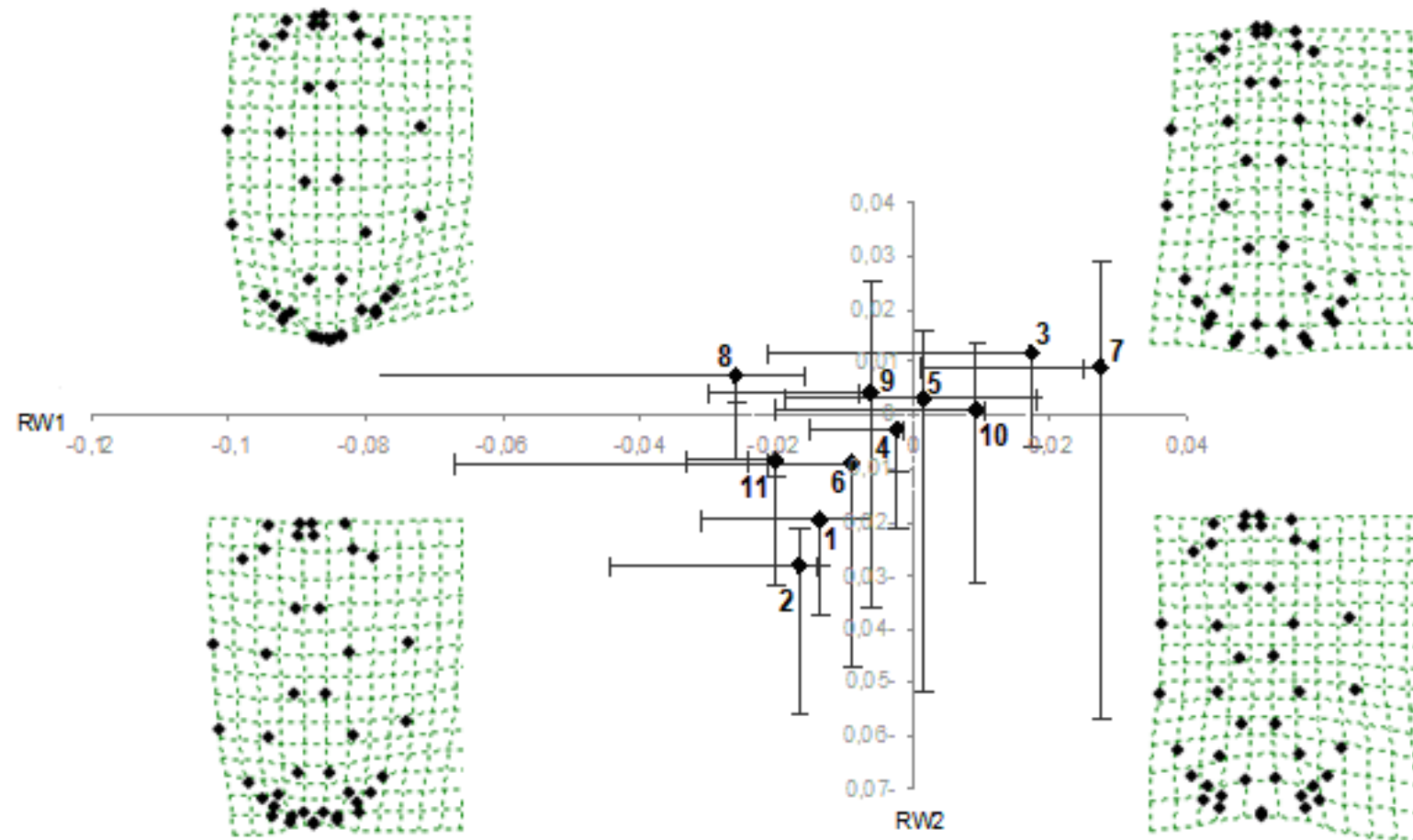


Figura 12. Muestra las medias de las poblaciones en los *Relative warps* RW1 y RW2, que son los ejes principales de la forma de variación del género *Kinosternon*. Estas dos variables representan el 41.2% del total de la variación en la forma del carapacho. Los números identifican a las poblaciones, en donde: 1 Nuevo Urecho; 2 Playa Azul; 3 Tejupilco; 4 Tonicato (cuenca del río Balsas); 5 Deguedo; 6 La Noria; 7 Tecamatlán; 8 Vicente Guerrero (cuenca del río Pánuco); 9 Chamela (*K. chimalhuaca*); 10 Chacalapa (*K. oaxacae*); 11 Tres Palos (cerca de la localidad tipo de *K. integrum*).

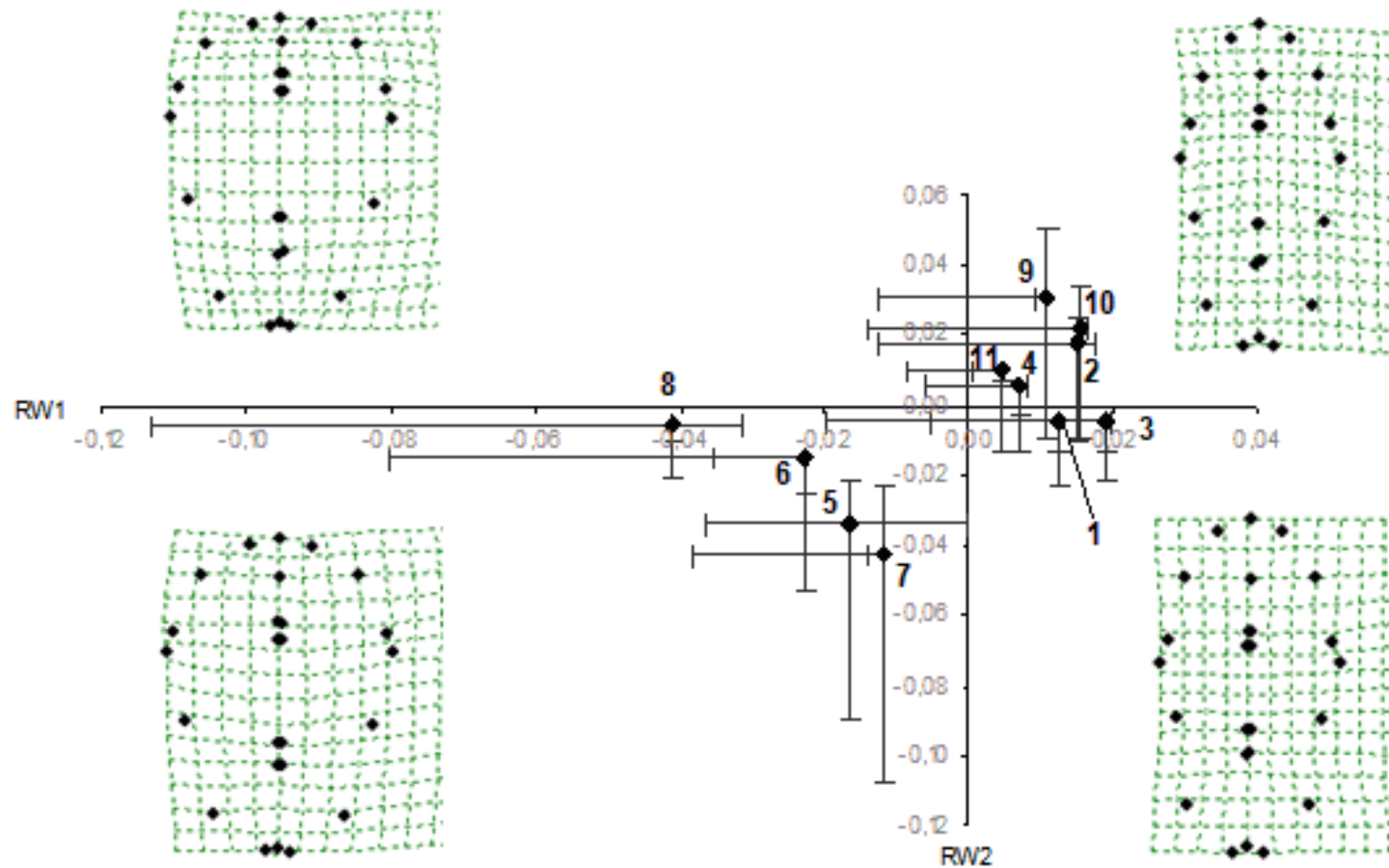


Figura 13. Muestra las medias de las poblaciones en los *Relative warps* RW1 y RW2, que son los ejes principales de la forma de variación del género *Kinosternon*. Estas dos variables representan el 43% del total de la variación en la forma del plastrón. Los números identifican a las poblaciones, en donde: 1 Nuevo Urecho; 2 Playa Azul; 3 Tejupilco; 4 Tonicato (cuenca del río Balsas); 5 Deguedo; 6 La Noria; 7 Tecamatlán; 8 Vicente Guerrero (cuenca del río Pánuco); 9 Chamela (*K. chimalhuaca*); 10 Chacalapa (*K. oaxacae*); 11 Tres Palos (cerca de la localidad tipo de *K. integrum*).

7.4 Análisis Molecular

Se obtuvieron 31 secuencias de un fragmento de 850 pb del gen Cytb con 850 pb, pertenecientes a las siguientes especies y poblaciones: Deguedo 3; Tejupilco 4; Tonatico 2; Nuevo Urecho 4; Playa Azul 2; Nanchititla 1; Tres Palos 5; *K. chimalhuaca* 5; *K. oaxacae* 4 y *K. scorpiodes cruentatum* 1. Además se anexaron 16 secuencias de Cytb del trabajo de Iverson (1998) y se obtuvieron cuatro secuencias de Cytb del *genbank* para usarlas como grupo externo (Tabla 5). Se analizaron en total 51 secuencias, las cuales tuvieron 217 caracteres informativos.

El árbol de consenso estricto obtenido tuvo una longitud de 838 (IC=0.57; IR=0.72; Figura 14). El método de máxima verosimilitud obtuvo un árbol con un valor de -ln 6266.50950 (Figura 15). Además, se utilizó el método bayesiano, representado por el “árbol MAP” (Figura 16). Por último las distancias genéticas que hay entre las poblaciones de las dos cuencas y de otras especies de kinostérnidos, resultaron en que la población de Nuevo Urecho (Balsas) tuvo los valores arriba de 4% comparado con las otras poblaciones y con un valor de 3.1% comparado con la especie *K. chimalhuaca* (Tabla 6), valores con buen porcentaje para separar especies de tortugas (Avisé *et al.* 1992)

Tabla 5. Especies y poblaciones para el análisis Filogenético. N= Número de muestras por población. Las secuencias generadas para este trabajo se realizaron en conjunto para el trabajo de Macip-Ríos (2010).

Especie	Población	N	Referencia No. de acceso Genbank
<i>K. integrum</i>	Deguedo, Estado de México	3	En proceso
<i>K. integrum</i>	Tejupilco, Estado de México	4	En proceso
<i>K. integrum</i>	Tonatico, Estado de México	2	En proceso
<i>K. integrum</i>	Nuevo Urecho, Michoacán	4	En proceso
<i>K. integrum</i>	Playa Azul, Michoacán	2	En proceso
<i>K. integrum</i>	Nanchititla, Estado de México	1	En proceso
<i>K. integrum</i>	Tres Palos, Guerrero	5	En proceso
<i>K. chimalhuaca</i>	Chamela, Jalisco	5	En proceso
<i>K. oaxacae</i>	Chacalapa, Oaxaca	4	En proceso
<i>K. s. cruentatum</i>	Yucatán, Merida	1	En proceso
<i>Sternotherus carinatus</i>	Oklahoma	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon minor</i>	Florida	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon bauri</i>	Florida	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon subrubum</i>	Carolina del Norte	1	Iverson, 1998
<i>K. s. hippocrepis</i>	Florida	1	Iverson, 1998
<i>K. s. steindachneri</i>	Florida	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon leucostomum</i>	Costa Rica	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon dunni</i>	Colombia	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon alamosae</i>	Sonora	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon acutum</i>	Sin datos	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon hirtipes</i>	Chihuahua	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon sonoriense</i>	Arizona	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon integrum</i>	Sin datos	1	Iverson, 1998
<i>Kinosternon flavescens</i>	Nebraska	1	Iverson, 1998
<i>Claudius angustatus</i>	Sin datos	1	Iverson, 1998
<i>Sternotherus odoratus</i>	Sin datos	1	Iverson, 1998
<i>Sternotherus odoratus</i>	Sin datos	1	U81350
<i>Staurotypus triporcatus</i>	Sin datos	1	U813489
<i>Dermatemys mawii</i>	Sin datos	1	U81364.1
<i>Chelydra serpentina</i>	Sin datos	1	U81357.1

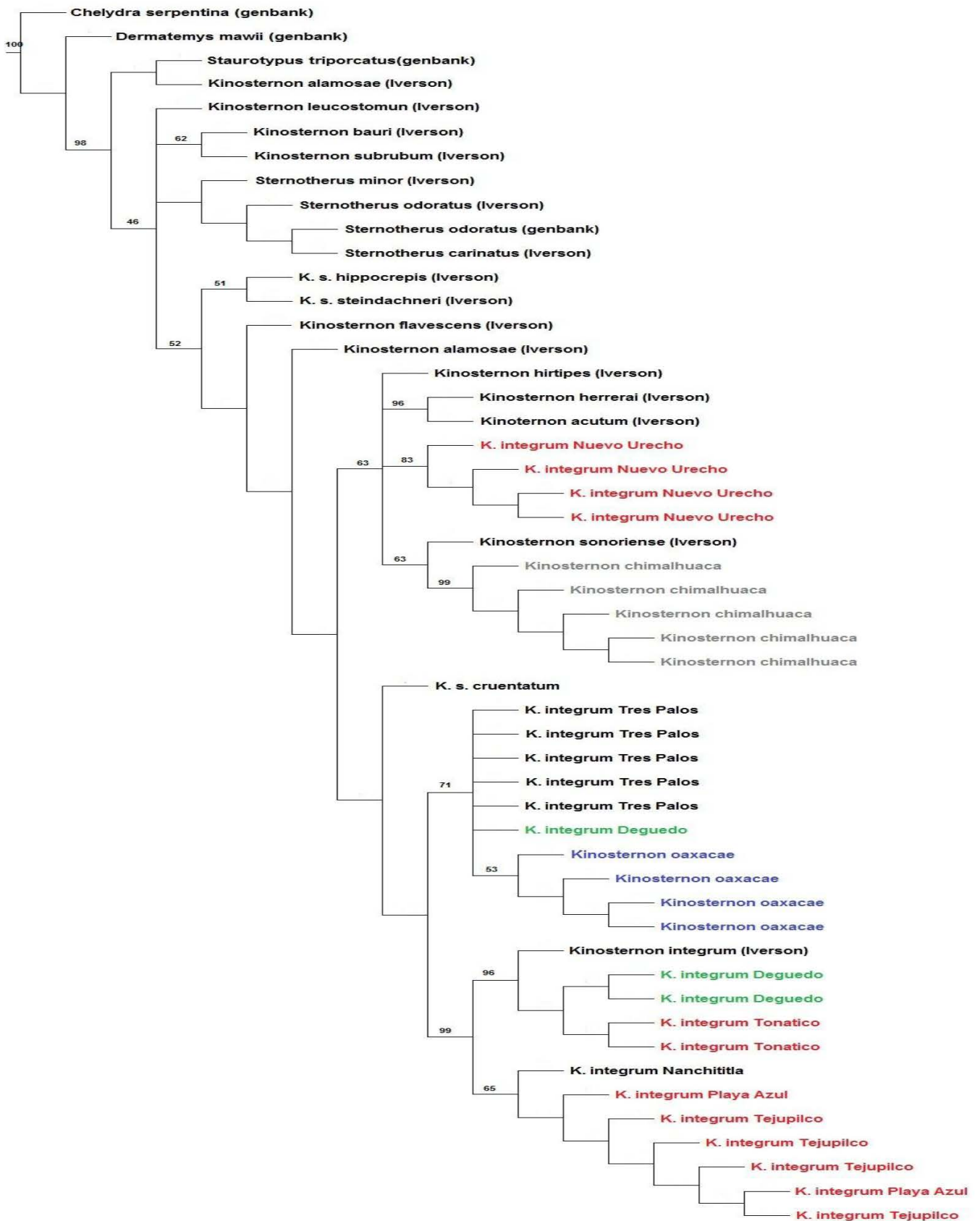


Figura 14. Filograma de la familia Kinosternidae generado con el gen Citocromo-b. Máxima Parsimonia.- Se muestra el “árbol de consenso estricto” con 850 pb, 217 caracteres informativos, 838 pasos IC=0.57; IR=0.72. En donde se muestra en Rojo a las poblaciones del Balsas; en Verde las poblaciones del Pánuco; en Gris a la especie *K. chimalhuaca*; y, en Azul a la especie *K. oaxacae*. Los números de arriba de las ramas muestran los valores de *bootstrap*.

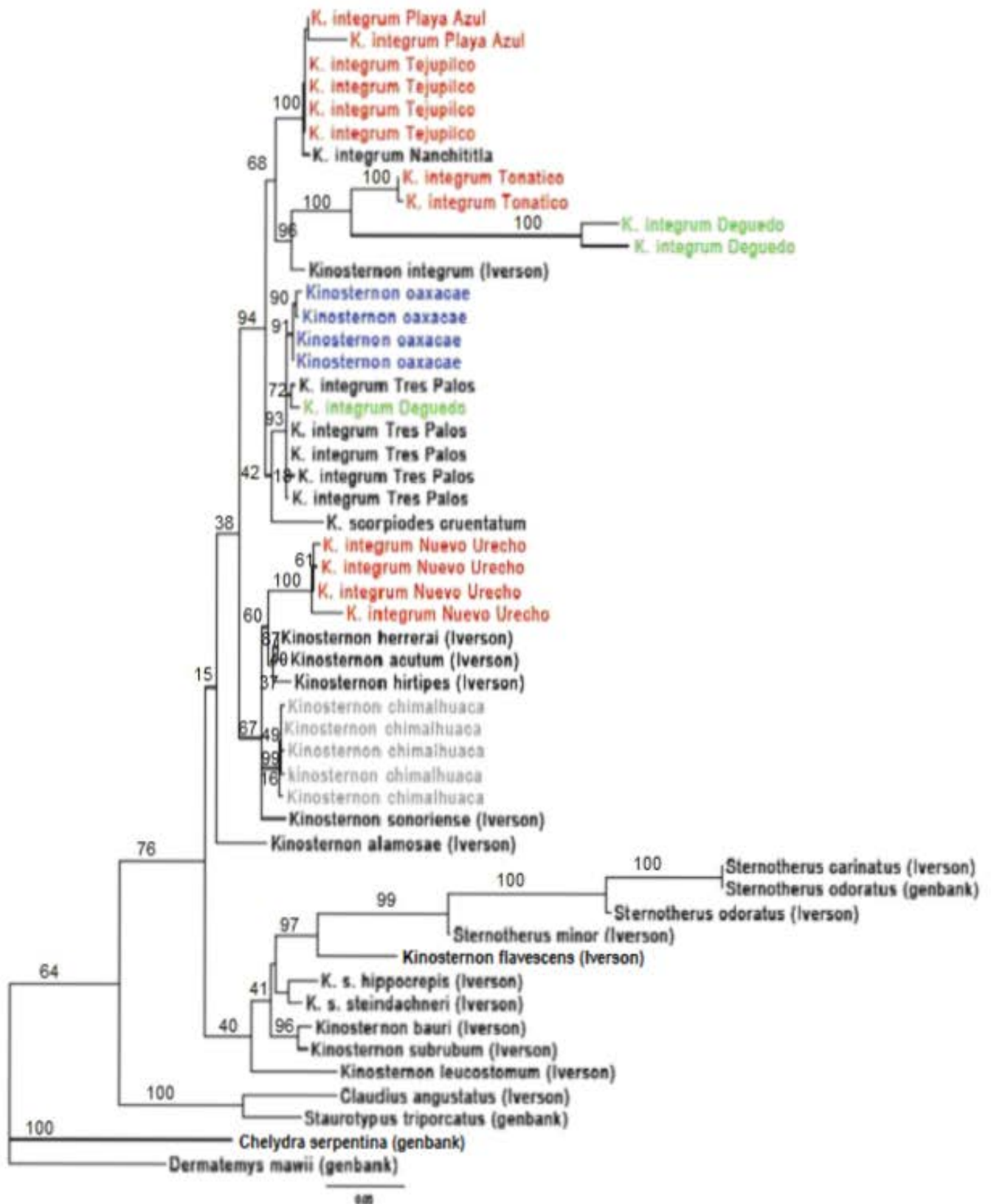
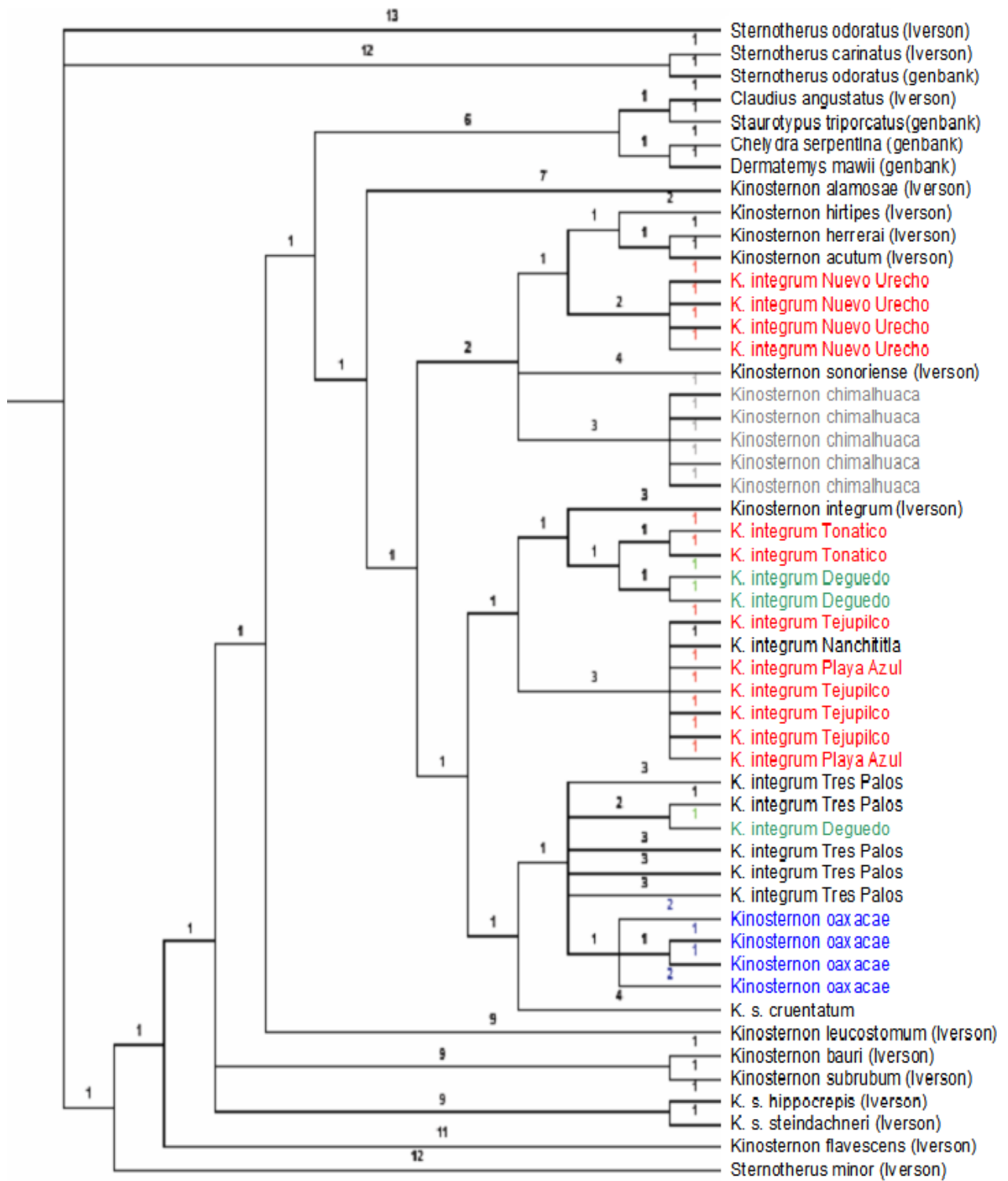


Figura 15. Filograma (850 pb) de la familia Kinosternidae generado con el gen Citocromo-b. Se muestra el Filograma de Máxima Verosimilitud -ln 6266.50950. En donde se muestra en Rojo a las poblaciones del Balsas; en Verde las poblaciones del Pánuco; en Gris a la especie *K. chimalhuaca*; y, en Azul a la especie *K. oxaxcae*. Los números de arriba de las ramas muestran los valores de *bootstrap*.



20

Figura 16. Filograma (850pb) de la familia Kinosternidae generado con el gen Citocromo-b. Análisis bayesiano, se muestra el “árbol” MAP. En donde se muestra en Rojo a las poblaciones del Balsas; en Verde las poblaciones del Pánuco; en Gris a la especie *K. chimalhuaca*; y, en Azul a la especie *K. oaxacae*. Los números de arriba de las ramas muestran las probabilidades posteriores bayesianas.

Tabla 6. Se muestran las Distancias genéticas que hay entre las poblaciones de kinostérnidos, en negritas la población de Nuevo Urecho.

	Tonatico	Tejupilco	Nanchi- titla	Playa Azul	Tres Palos	Nuevo Urecho	Deguedo	<i>K.</i> <i>oaxacae</i>	<i>K.</i> <i>creaseri</i>	<i>K.</i> <i>scorpiooides</i>
Tonatico	-									
Tejupilco	3.3	-								
Nanchititla	3.4	0.2	-							
Playa Azul	3.3	0.1	0.3	-						
Tres Palos	2.4	2.6	2.7	2.7	-					
N. Urecho	4.8	5.6	5.7	5.7	4.4	-				
Deguedo	2.3	2.5	2.6	2.6	0.1	4.3	-			
<i>K. oaxacae</i>	2.8	3.0	3.0	3.0	0.7	4.9	0.5	-		
<i>K. creaseri</i>	3.5	3.5	3.7	3.6	2.6	4.9	2.5	3.3	-	
<i>K. scorpiooides</i>	5.0	5.4	5.5	5.5	4.0	6.0	3.9	4.5	4.6	-
<i>K. chimalhuaca</i>	5.0	5.3	5.4	5.3	4.6	3.1	4.2	4.9	4.9	6.2

8. Discusión

8.1 Comparación Macroecológica

La cuenca del río Balsas limita por el norte con el Eje Volcánico Transversal, por el este el Sistema Montañoso del norte de Oaxaca y por el sur y el oeste la Sierra Madre del Sur, orografía que circunda la depresión del Balsas, la cual es considerada como una provincia biótica, ubicada dentro de la región Caribeña y el reino Neotropical (Aguilar, 1998). Esta orografía sirve como barrera geográfica entre las poblaciones de tortugas del género *Kinosternon* que se presentan en este estudio, permitiendo un aislamiento reproductivo entre poblaciones y entre cuencas, en este caso con la cuenca del río Pánuco propiciando que el modo de especiación de tipo alopátrida o geográfica sea la que se presente ya que las poblaciones se encuentran aisladas físicamente (Criscil y Morrone, 1989).

En el Estado de México, se examinaron tres poblaciones en este estudio, Deguedo, Tejupilco y Tonicato. Este estado se encuentra dentro de las dos cuencas hidrológicas (Balsas y Pánuco) y es la frontera de dos grandes regiones biogeográficas denominadas Neártica y Neotropical (Gobierno del Estado de México, 2000). En el sur del Estado se encuentra la cuenca del río Balsas que comprende la región Neotropical, y, en el norte del Estado de México en donde se localiza la cuenca del río Pánuco, perteneciente a la región Neártica (Morrone y Márquez, 2003). La región Neotropical corresponde a los climas tropicales sub-húmedo y semiárido, siendo la selva baja caducifolia la vegetación predominante en ésta región, misma vegetación que se reportó para las poblaciones de: Nuevo Urecho, Playa Azul, Tejupilco y Tonicato, siendo este tipo de vegetación la que impera en la distribución de *K. integrum* en México. La región Neártica básicamente corresponde a las áreas con clima templado-frío, este clima predomina en las poblaciones del río Pánuco: Deguedo con vegetación de bosque de encino, La Noria, Tecamatlán y Vicente Guerrero con vegetación de matorral espinoso, las cuales son diferentes a la vegetación que predomina en la distribución de *K. integrum*.

Se encontró una diferencia de 11.3 °C entre la población con la temperatura más elevada y la de menor temperatura, tres de las cuatro poblaciones de la cuenca del río Balsas registraron una temperatura media anual de 28 °C, solamente Tonatico registró una temperatura de 22 °C; las poblaciones de la cuenca del río Pánuco tuvieron una temperatura menor que va desde los 18 °C en Deguedo hasta los 16.7 °C en Vicente Guerrero. Se observó que la temporada de lluvias en las poblaciones del río Balsas empieza en el mes de junio-julio y termina en septiembre para todas las poblaciones, caso contrario a lo que pasa en la otra cuenca, la cual tiene un inicio en el mes de abril para las poblaciones de Tecamatlán y Vicente Guerrero, en el mes de junio inicia la temporada de lluvias en Deguedo y La Noria. En lo que respecta al término de la temporada de lluvias, también se presenta una diferencia, siendo la localidad de Deguedo la que presenta un mes más de duración (termina en octubre) que las localidades del río Balsas; dentro de las poblaciones del río Pánuco hay diferencias notables en el mes de término de la temporada de lluvias, agosto para La Noria y junio para Tecamatlán y Vicente Guerrero.

Iverson (1999), reporta una distribución altitudinal para *K. integrum* de que va de los 0 a 2,220 msnm. En este trabajo se reporta una fuerte diferencia altitudinal que va desde los 0 msnm hasta los 2,450 msnm, destacando que la población de Deguedo se encuentra 230 msnm más arriba que la altitud reportada para *K. integrum*. Estas diferencias ambientales permiten que las poblaciones tengan un periodo de actividad distinto, temporadas de anidación distintas y aislamiento reproductivo.

8.2 Comparación morfológica.

En kinostérnidos se ha reportado el dimorfismo sexual en la talla, en medidas del largo del carapacho y largo del plastrón, los casos reportados son: *K. scorpioides* (Pritchard y Trebbau, 1984), *K. oaxacae* (Iverson, 1986), *K. herrerae* (Carr y Mast, 1988), *K. creaseri* (Iverson, 1988), *K. alamosae* (Iverson, 1989, 1990), *K. hirtipes* (Iverson, et al. 1991), *K. chimalhuaca* (Casas-Andreu, 2002), *C. angustatus* (Espejel-González 2004) y *K. integrum* (Macip-Ríos, 2005). En los resultados de este trabajo, las diferencias morfológicas entre

machos y hembras de todas las poblaciones se dieron en el largo del cuerpo como el largo de carapacho y largo de plastrón, en tanto se muestra que los machos son más grandes, característica del dimorfismo sexual que presentan las tortugas. Es común que en tortugas semiacuáticas o semiterrestres los machos sean más grandes que las hembras, el tamaño es importante debido a que los machos compiten entre ellos para tener acceso a las hembras y aparearse, asimismo de la territorialidad ejercida por estos (Wilbur y Morin, 1994).

Los resultados encontrados en este trabajo difieren entre las poblaciones del río Balsas y las del río Pánuco con relación a lo realizado por Berry *et al.* (1997), en donde muestran una comparación de porcentajes entre los caracteres morfológicos de varias poblaciones de tortugas, entre las que se encuentran *K. chimalhuaca*, *K. integrum*, *K. oaxacae* y *K. scorpioides*. El porcentaje del contacto entre el escudo marginal 2 y el escudo central, fue del 100% en poblaciones como Tonatico y Tejupilco en el Estado de México, así como las poblaciones en la parte del río Pánuco como Deguedo en el Estado de México, Tecamatlán en Hidalgo y Vicente Guerrero en Querétaro y con un 92.8% en La Noria, Hidalgo y en Nuevo Urecho con el 14.28% y Playa Azul con el 18.7%, contrario a lo reportado por Berry *et al.* (1997), donde dos poblaciones de *K. chimalhuaca* presentaron un 9.5% y 17.9%, dos poblaciones de *K. integrum* con 50.3% y 86.6%, *K. oaxacae* con 97.3% y a *K. scorpioides* con un 70.2%. Otro contacto que presento variables fue el Contacto Axilar Inguinal (CAI) en donde los porcentajes en las distintas poblaciones fueron los siguientes: en la cuenca del río Balsas.- Nuevo Urecho 71.4%; Playa azul 68.7%; Tonatico 44% y Tejupilco 43.7%. En la cuenca del río Pánuco.- Tecamatlán 80%; Vicente Guerrero 37.5%, La Noria 21.4% y Deguedo 20%.

Los análisis realizados en el presente trabajo determinaron que las diferencias entre las poblaciones de estudio fueron en el porcentaje de largo de carapacho por las medidas del plastrón: lóbulo plastral posterior, ancho del lóbulo plastral anterior, largo del puente, largo del lóbulo plastral posterior, largo de la sutura del escudo interfemoral (Berry *et al.* 1997). En este trabajo se apoyaron las medidas con un análisis discriminante y no solamente con los

porcentajes de las medidas respecto al carapacho, observándose que las medidas morfológicas con importancia taxonómica como ancho del lóbulo plastral posterior, ancho del lóbulo plastral anterior, largo del puente, largo del lóbulo plastral posterior, largo de la sutura del escudo interfemoral, resultaron diferentes estadísticamente entre las poblaciones, indicando que se trata de tortugas morfológicamente distintas. Resaltando que dentro del análisis discriminante, entre las medidas con valor taxonómico y las poblaciones de las cuencas del río Balsas y río Pánuco, nos muestra que las poblaciones de Nuevo Urecho y Playa Azul pertenecientes a la cuenca del río Balsas son las que se separan del resto de las poblaciones.

El análisis discriminante en donde se incluye a las especies *K. chimalhuaca* y *K. oaxacae*, se pudo observar claramente como se separa la especie *K. chimalhuaca* de las otras poblaciones de tortugas consideradas como *K. integrum* y que *K. oaxacae*, al ser otra especie, se esperaba que en el análisis se separara de las otras poblaciones consideradas como *K. integrum*, pero esto no sucedió y *K. oaxacae* se encuentra dentro de todas las poblaciones consideradas como *K. integrum*.

8.3 Comparación Morfométrica.

Claude *et al.* (2003), mencionan que el carapacho de las tortugas es una estructura taxonómica confiable, ya que la homología entre los elementos del carapacho es fácil de identificar los distintos taxones. Como el número de los escudos de la epidermis y las placas óseas se han mantenido constantes durante la evolución de los Testudinoidea, el carapacho proporciona numerosos lugares para colocar las coordenadas anatómicas (“*landmarks*”) para representar las variaciones morfológicas de una manera realista; partiendo de este punto los resultados que se obtuvieron en este trabajo reportan que: con el análisis, la forma del carapacho no difiere estadísticamente entre las poblaciones de tortugas. Los autores antes mencionados no reportan si el plastrón nos proporciona información valiosa o no, pero en este trabajo, dado que las medidas morfológicas del plastrón tienen una importancia taxonómica muy fuerte, los análisis morfométricos apoyan a

estas medidas, resultando estadísticamente distintos entre las poblaciones de tortugas.

Las diferencias encontradas para el carapacho en los análisis morfométricos muestran una diferencia en la población de Vicente Guerrero en la cuenca del río Pánuco y una variación importante en las poblaciones de Nuevo Urecho y Playa Azul ambas en la cuenca del río Balsas. Con respecto al plastrón, las hembras de la población de La Noria y la población de Vicente Guerrero, ambas en la cuenca del Pánuco son distintas a las otras poblaciones.

Las poblaciones de Nuevo Urecho y Playa Azul difieren de las demás en la forma del carapacho sobresaliendo la forma y tamaño del escudo central 5, el cual es más pequeño y cóncavo, además de que los escudos marginales 9, 10 y 11 presentaron diferencias. El plastrón es la parte que mayor peso tiene en cuestiones morfológicas para los kinostérnidos y en los análisis morfométricos resultó una herramienta igual de importante, el plastrón presentó distintas formas, resaltando las poblaciones de la cuenca del Balsas que son totalmente diferentes a las del Pánuco y que dentro de estas poblaciones del río Pánuco los individuos de las poblaciones de La Noria y Vicente Guerrero son los individuos con el plastrón más ancho de los analizados en este trabajo, además la forma y el tamaño del plastrón en la especie *K. chimalhuaca* difiere. Por otro lado, la especie *K. oaxacae* no es distinta en ninguno de los análisis de las poblaciones consideradas como *K. integrum*.

8.4 Análisis molecular

Las diferentes hipótesis filogenéticas obtenidas para el gen citocromo-b realizadas con los métodos de máxima parsimonia, máxima verosimilitud e inferencia bayesiana, resultaron con topologías similares. Las poblaciones de la cuenca del Balsas se ubicaron en una posición dentro del clado de *K. integrum*. Así como la población de Deguedo, la cual también se colocó dentro del clado de *K. integrum*, lo mismo que la población de Tres Palos la cual está cercana a la localidad tipo de *K. integrum*. Una similitud a lo reportado por Iverson (1998) es la posición de *K. chimalhuaca* la cual se separa del resto de las poblaciones de la cuenca del Balsas, del Pánuco y de las otras especies y poblaciones que

se analizaron. Caso contrario a la posición que guardo la especie *K. oaxacae*, la cual no se encuentra en los análisis realizados por Iverson (1998), pero en estos resultados la posición de esta especie es dentro del clado de *K. integrum*, lo que puede sugerir que se trate de la misma especie. La población de *K. integrum* en Nuevo Urecho, Michoacán, se ubicó en una posición diferente a la posición en donde se ubican las otras poblaciones de la misma especie, Nuevo Urecho se ubica más cercana a *K. chimalhuaca* y a otras especies de kinostérnidos que a *K. integrum*, así que, tomando en cuenta el concepto de especie filogenético que utilizó Serb *et al.* (2001), el cual le permitió resolver el estatus de las subespecies de *K. flavescens*, estaríamos hablando de que la población de tortugas de Nuevo Urecho, no se trata de la especie *K. integrum*, sino de una nueva especie.

Para muchos quelonios la divergencia de la secuencia de 0.4% es aceptado para el gen citocromo b (Avise *et al.* 1992). La distancia genética que se presenta en la población de Nuevo Urecho (Balsas), tuvo los valores arriba de 4% comparado con las otras poblaciones y con un valor de 3.1% comparado con la especie *K. chimalhuaca*, valores con buen porcentaje para separar especies.

Avise *et al.* (1992) trabajaron con la tortuga verde *Chelonia mydas*, reportando una distancia genética que oscila desde el 0% hasta el 1.4% de divergencia para dos grupos distintos que corresponden exactamente a las cuencas oceánicas del Atlántico (incluido el Mediterráneo) en comparación con las poblaciones de los océanos Índico y Pacífico. Barth *et al.* (2004) reportan que las distancias genéticas entre subespecies de tortuga *Mauremys mutica* oscilaron entre el 0.5% y entre las subespecies de *M. caspica* entre el 1.1% y ambas subespecies reportaron un 20.2% con respecto al grupo externo *Emys orbicularis* y *Malayemys subtrijuda*.

Por último, se mantiene la incertidumbre sobre el complejo *scorpiodes*, el cual al igual que en la hipótesis generada por Iverson *et al.* (2007), las especies de este complejo no se agrupan en un solo clado o por lo menos en clados cercanos, ni mantienen relaciones más o menos claras, y *K. herrerae*, tampoco se colocó en la base del grupo, como lo sugiere Iverson (1991, 1998).

9 Conclusiones

1. Las diferencias en clima, temperatura, temporada de lluvias, temporada de heladas, altitud y vegetación son el producto de una cadena montañosa, que divide a las dos cuencas hidrológicas, la del río Balsas y el río Pánuco, provocando que se presente dos regiones biogeográficas, Neártica y Neotropical, así las diferentes cadenas montañosas funcionan como barrera geográfica entre las poblaciones de tortugas y el modo de especiación que se puede estar presentando es alopátrida.
2. En todas las poblaciones de tortugas los machos fueron significativamente más grandes que las hembras (utilizando las medidas usuales del carapacho y plastrón) presentando dimorfismo sexual.
3. Se presentaron diferencias en medidas taxonómicas importantes como el ancho del lóbulo plastral posterior, ancho del lóbulo plastral anterior, largo del puente, largo del lóbulo plastral posterior y largo de la sutura del escudo interfemoral entre las tortugas del género *Kinosternon* de las áreas de estudio, sugiriendo que la población de Nuevo Urecho es morfológicamente distinta a *K. integrum*.
4. Las tortugas presentaron una variación morfométrica en la forma del carapacho. La forma del plastrón presentó una variación morfométrica entre las poblaciones de las dos cuencas, las cuales se separan por completo, siendo las poblaciones de la cuenca del Pánuco más anchas.
5. Las hipótesis filogenéticas presentan una topología similar, resaltando que la población de Nuevo Urecho tiene una posición fuera del clado de *K. integrum*.
6. *K. chimalhuaca* es una especie diferente a *K. integrum*, no así *K. oaxacae*, que en la hipótesis filogenética se posiciona dentro del clado de *K. integrum*, además la evidencia morfológica también nos lleva a

este mismo desenlace, sugiriendo que tal vez *K. oaxacae* sea una sinonimia nomenclatural de *K. integrum*.

7. Tenemos evidencia morfológica, morfométrica y molecular para inferir que la población de Nuevo Urecho, Michoacán, es una especie diferente a *K. integrum* y a *K. chimalhuaca*, por consiguiente es una nueva especie dentro del género *Kinosternon*.

10. Literatura citada

Aguilar, Z. C. 1998. Clasificación biogeográfica del Territorio Mexicano con base a cuatro sistemas generados a partir de taxa y criterios distintos. Tesis profesional. FES Zaragoza, UNAM. México, D. F.

Anuario Estadístico Hidalgo Edición 2000 [Gobierno del Estado de Hidalgo (Secretaría de Desarrollo Social) INEGI].

Awise, J., B. Bowen, T. Lamb, A. Meylan y E. Bermingham. (1992). Mitochondrial DNA Evolution at a Turtle's Pace: Evidence for low Genetic Variability and Reduced Microevolutionary in the testudines. *Mol. Biol. Evol.* 9(3): 457-473.

Barth, D., D. Bernhard, G. Fritsch y U. Fritz. (2004). The freshwater turtles genus *Mauremys* (Testudines, Geoemydidae) – a textbook example of an east-west disjunction or a taxonomic misconception? *Zoologica Scripta.* 33, 3, pp 213-221.

Berry, J. F. 1978. Variation and systematics in the *Kinosternon scorpioides* and *K. leucostomum* complexes (Reptilia: Testudines: Kinosternidae) of Mexico and Central America. Ph. D. Diss., University of Utah, Salt Lake City.

Berry, J. F., y J. M. Legler. 1980. A new turtle (genus *Kinosternon*) from Sonora, Mexico. *Contrib. Science Natural History Museum. Los Angeles Co.* (325): 1-12.

Berry, J. F., e Iverson, J. B. 1980. A new species of mud turtle, genus *Kinosternon*, from Oaxaca, México. *Journal Herpetology.* 14:313-320.

Berry, J. F., y Berry, C. M. 1984. A re-analysis of geographic variation and systematics in the yellow mud turtle, *Kinosternon flavescens* (Agassiz). *Ann. Carnegie Mus.* 53:185-206.

Berry, J. F., M. E. Seidel y J. B. Iverson. 1997. A new species of mud turtle (Genus *Kinosternon*) from Jalisco and Colima, México, with notes on its natural history. *Chelonian Conservation and Biology.* 2(3):329-337.

Bickham, J. W., J. B. Iverson, J. F. Paraham, H. D. Philippen, A. G. Rhodin, H. B. Shaffer, P. Q. Spinks y P. P. van Dijk. 2007. An annotated list of modern turtle terminal taxa with comments on areas of taxonomic instability and recent change. *Chelonian Research Monographs*. 4:179-179.

Carr, J. L. y R. B. Mast. 1988. Natural History observations of *Kinosternon herrerae* (Testudines: Kinosternidae). *Trianea*. 1:87-97.

Casas-Andreu, G. 1982. Anfibios y Reptiles de la Costa Suroeste del Estado de Jalisco, con aspectos sobre su Ecología y Biogeografía. Tesis de doctorado. UNAM Facultad de Ciencias. pp. 316.

Casas-Andreu, G. 2002 *Kinosternon chimalhuaca* (Berry, Seidel & Iverson 1997). Casquito, casquito de burro. pp. 267-268. En Noguera, F. A., J H. Vega-Rivera, A.

CETENAL. 1978. Carta topográfica 1:50,000 Tula de Allende.

Claude, J., E. Paradis, H Tong y J-C Auffray. 2003. A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. *Biological Journal of the Linnean Society*. 79, 485-501.

Correa, P. G. 1974. Geografía del Estado de Michoacán. Tomo 1. Geografía Física. Gobierno del Estado de Michoacán.

Criscil, J. V. y Morrone, J .J., 1989. En busca del paraíso perdido: la biogeografía histórica. *Ciencia Hoy*, vol. 1, N° 5, pp. 26-34.

Engstrom, T. N., T. Edwards, M. F. Osentoski y E. M. Myers. 2007. A Compendium of PCR Primers for mtDNA, Microsatellite, and Other Nuclear Loci for Freshwater Turtles and Tortoises. *Chelonian Research Monographs*. No. 4. pp. 124-141.

Ernst, C. H. y R. W. Barbour. 1989. Turtles of the world. Smithsonian Institution Press. Washington. pp. 578.

Ernst, C. H., J. E. Lovich y R. W. Barbour. 1994. Turtles of the United States and Canada. Smithsonian Institution Press. Washington. pp. 578.

Espejel-González, V. E. 2004. Aspectos Biológicos del manejo del Chopontil, *Claudius angustatus* (Tetudines: Staurotypidae). Tesis de Maestría, Instituto de Ecología A. C. Jalapa, México. pp. 62.

Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*. 125: 1-15.

Feria-Arroyo, T. A. 2001. Patrones de distribución de las aves residentes de la cuenca del Balsas. Tesis de Maestría (Maestría en ciencias biológicas) (Biología Animal)-UNAM, Facultad de Ciencias. pp. 83.

Ferner, J. 1979. A review of marking techniques for amphibians and reptiles. *Herpetological Circular* No. 9. Society for the Study of amphibians and reptiles. pp. 41.

Gobierno del Estado de México. 2000. "Secretaría de Ecología Información para la Gestión Ambiental" <http://www.edomexico.gob.mx>

Hendrickson, D. A., P. F., Hudson, R., R. Rodiles-Hernández y W. L., Minckley. 2003. Mexican Atlantic Slope Rivers. En Hernández-Hernández, H. 2005. Análisis geoquímica de núcleos de sedimentos adyacentes a la desembocadura del río Pánuco. Tesis de Maestría, UNAM, Instituto de Geología.

INEGI, 1986. Síntesis Geográfica del Estado de Michoacán. Dirección General de Cartografía. S. P. P. México.

INEGI, Marco Geoestadístico Nacional 2005 en:
www.cuentame.inegi.org.mx/mapas

Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005. Gobierno del Estado de Querétaro.

Ippi, S. y V. Flores. 2001. Las tortugas neotropicales y sus áreas de endemismos. *Acta Zoológica Mexicana*. (n. s.) 84:49-63.

Iverson, J. B. 1981. Biosystematics of the *Kinosternon hirtipes* species group (Testudines: Kinosternidae). *Tulane Studies Zoology y Botanic*. 23:1-74.

Iverson, J. B. 1986. Notes of the natural history of the Oaxaca mud turtle, *Kinosternon oaxacae*. *Journal of herpetology*. 20(1):119-123.

Iverson, J. B. 1988. Distribution and status of Creaser's mud turtle, *Kinosternon creaseri*, *herpetological Journal*. 1:285-291.

Iverson, J. B. 1989. Natural history of the Alamos mud turtle, *Kinosternon alamosae* (Kinosternidae). *Southwest. Natualistr*. 34(1):134-142.

Iverson, J. B. 1990. Nesting and Parental care in the mud turtle, *Kinosternon flsvescens*. *Canadian Journal of Zoology*. 68:230-233.

Iverson, J. B. 1991. Phylogenetic Hypotheses for the evolution of modern Kinosternine turtles. *Herpetological Monographs*. 5:1-27.

Iverson, J. B. 1992. A Revised Checklist with Distribution Maps of Turtles of the World. Richmond. En: Privately printed. pp. 363.

Iverson, J. B. 1998. Molecules, morphology, and mud turtle phylogenetics (Family Kinosternidae). *Chelonian Conservation and Biology*. 3:113-117.

Iverson, J. B. 1999. Reproduction in the Mexican mud turtle *Kinosternon integrum*. *Journal of Herpetology*. 33(1):145-149.

Iverson, J. B. y Berry, J. F. 1979. The genus *Kinosternon* in northeastern México. *Herpetologica*. 35:318-324.

Iverson, J. B., E. L., Barthelmess, G. R., Smith, y C. E., Derivera. 1991. Growth and reproduction in the mud turtle *Kinosternon hirtipes* in Chihuahua, Mexico. *Journal Herpetology*. 25:64-72.

Iverson, J. B., C. A. Young y J. F. Berry. 1998. *Kinosternon integrum* (LeConte). Mexican Mud Turtle. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles*. 652:1-6.

Liner, E. A. 2007. A checklist of the Amphibians and Reptiles of México. *Occasional Papers of the Museum of Natural Science*. No. 80. Louisiana State University.

Liner, E. A. y Casas-Andreu. 2008. Nombres estándar en español e inglés y nombres científicos de los anfibios y reptiles de México. Segunda Edición. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. pp. 162

Macip-Ríos, R. 2005. Ecología poblacional e historia de vida de la tortuga *Kinosternon integrum* en la localidad de Tonatico, Estado de México. Tesis de Maestría, UNAM Instituto de Biología.

Macip-Ríos, R. 2010. Esfuerzo reproductor en kinosternidos La variación temporal de ambiente como promotor de su evolución. Tesis de Doctorado, UNAM Instituto de Biología.

Mercado-Silva, S. 1999. La ictiofauna como indicadora de la calidad ambiental en ríos de la Cuenca del Panuco. Tesis de Licenciatura (Biología)- UNAM Facultad de Ciencias.

Millipore. Millipore Technical Publications. PCR Purification with Montage PCR Filter Units.

Morrone, J. J. y J. Márquez. 2003. Aproximación a un Atlas Biogeográfico Mexicano: Componentes bióticos principales y provincias biogeográficas, pp. 217-220. En: J. J. Morrone, y J. Llorente Bousquets (eds.). Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía. México, Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM.

Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, 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. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Pough, F. H., R. M. Andrews, J. E. Cadle, M. L. Crump, A. H. Savitzky y K. D. Wells. 2004. Herpetology, 3rd ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. pp. 612.

Pritchard, P. C. y Trebbau. 1984. The turtles of Venezuela. Society for the study of amphibians and reptiles. pp. 466.

Plummer, M. V. 1979. Collecting and marking. pp. 45-55. En Harless M. Y H. Morlock, 1979 (eds.). Turtles: perspectives and research. John Wiley and Sons. New York. pp. 696.

Quiagen QIAquick PCR Purification Kit Número de catalogo 28106.

S. A. R. H. 1980. Monografía de la cuenca baja del Río Panuco. México. pp. 78.

Secretaria de Marina. 2000. "Estudio de la contaminación marina en mar territorial y zonas costeras de la República Mexicana, de Punta de Juárez, Tamaulipas a Laguna de Tamiahua, Veracruz, 1999". Fase III, Dirección general de Oceanografía Naval p 1-62.

Seidel, M. E. y R. V. Lucchino. 1981. Allozytic and Morphological variation among the Musk Turtles *Sternotherus carinatus*, *S. Depressus* y *S. Minor*. *Copeia*. 1981: 119-128.

Seidel, M. E., J. B. Iverson y M. D. Adkins. 1986. Biochemical Comparisons and Phylogenetic relationships in the family Kinosternidae (Tustudines). *Copeia*. 1986: 285-294.

Serb, J. M., C. A. Phillips y J. B. Iverson. 2001. Molecular Phylogenetics and Biogeography of *Kinosternon flavescens* Based on Complete Mitochondrial Control Region Sequences. *Mol. Phyl. Evol.* 18(1): 149-162.

Secretaría de Gobernación, Gobierno del Estado de Michoacán, Centro Nacional de Desarrollo Municipal, Centro Estatal de Estudios Municipales: Los Municipios de Michoacán, 532 págs.

Sustaita-Rodríguez, V. H. 2007. Comparación morfológica de dos poblaciones de tortugas del género *Kinosternon* en el Estado de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México.

Toledo, A. y L. Bozada. 2002. El Delta del Río Balsas. Medio Ambiente, pesquerías y sociedad. INE-SEMARNAT-El Colegio de Michoacán. México.

Webb, R. G. 1984. Herpetogeography in the Mazatlán-Durango region of the Sierra Madre Occidental, México. pp. 217-241. En R. A. Seigel, L. E. Hunt, J. L. Knigh, L. Malaret, y N. L. Zuschlag (eds.). *Vertébrate Ecology and Systematics. A Tribute to Henry S. Fitch.* University Kansas Museum Natural History Spec. Publ. No. 10. Lawrence Kansas.

Walter, D. Ortí, G. y J. Avise. 1998. Phylogenetic Distinctiveness of a Threatened Aquatic Turtle (*Sternotherus depressus*). *Consrvation Biology.* 12:639-645.

Wilbur, H. M. y P. J. Morin. 1994. Life History Evolution in Turtles. En. Gans, C. y R. B. Huey. 1994 (Eds.). *Biology of Reptilia. Volume 16. Ecology B. Defense and life history.* New York.

[www.http://life.bio.sunysb.edu/morph](http://life.bio.sunysb.edu/morph)

www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank

Zar, J. H. 1999. *Bioestatistical Análisis.* 4ª edición. Prentice Hall: New Jersey. pp. 662.

Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. & Fink, W. L. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press.

Zuñiga-Vega, J. J., M. Suárez-Rodríguez, H. Espinoza-Pérez y J. B. Jonson. 2011. Morphological and reproductive variation among populations of the Pacific molly *Poecilia butleri*. *Journal of fish Biology* (2011) 79, 1029-1046.

Programas/Software.

Hall, T. 2011. BioEdit versión 7.0.9.

<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>

Huelsenbeck, J. y F., Ronquist. 2001. Mr bayes: Bayesian Inference of Phylogeny *Biometrics* 17: 754-755. MrBayes v3.2 para Windows.

Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256. Version 0.1.1

Rambaut, A. 2006. FigTree: Tree Figure Drawing Tool. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/>

Rohlf, F, J. 2005. TPSdig© y TPSrelw©.

SAS, Institute Inc.2007.JMP.Statistical Discovery Software. Ver. 7.0. Cary, USA.

StatSoft. 2007. Statistica v8. Tulsa, Oklahoma, USA.

Swofford, D. L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony* (and other methods), version 4.0. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

WinClada: Nixon, K. C. 1999-2002. WinClada ver. 1.0000 Published by the author, Ithaca, NY, USA.