



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**Diversidad y estructura genética poblacional
del tiburón bironche *Rhizoprionodon longurio*
(Jordan y Gilbert, 1882) en el Pacífico Oriental
Tropical**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN MANEJO DE
RECURSOS MARINOS

PRESENTA

B.M. Juan Andrés Sánchez Cota

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DE 2019



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14
REP 2017

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de LA PAZ, B.C.S. siendo las 12:0 horas del día 21 del mes de Noviembre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de: CICIMAR

para examinar la tesis titulada: "DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DEL TIBURÓN BIRONCHE *Rhizoprionodon longurio* (Jordan y Gilbert, 1882) EN EL PACÍFICO ORIENTAL TROPICAL"

por el (la) alumno (a):

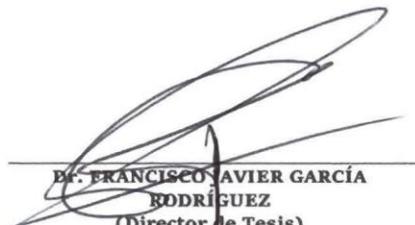
Apellido Paterno:	SÁNCHEZ	Apellido Materno:	COTA	Nombre (s):	JUAN ANDRÉS
-------------------	---------	-------------------	------	-------------	-------------

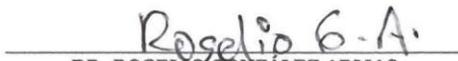
Número de registro: A 1 8 0 5 3 3

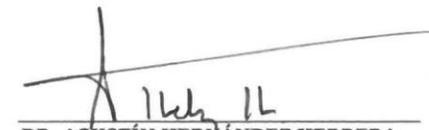
Aspirante del Programa Académico de Posgrado: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de la lectura y revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **NO APROBAR** la tesis, en virtud de los motivos siguientes: "SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES"

Comité tutorial


 DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ
 (Director de Tesis)
 14282-EJ-19 - PROFESOR COLEGIADO


 DR. ROGELIO GONZÁLEZ ARMAS
 14609-EI-19/6 - PROFESOR COLEGIADO


 DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA
 11662-EG-16/6 - PROFESOR COLEGIADO


 DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA
 (2º. Director de Tesis)
 13784-EJ-18/6 - PROFESOR COLEGIADO


 DR. SEBASTIÁN IGNACIO HERNÁNDEZ MUÑOZ
 PROFESOR - OTRA INSTITUCIÓN

Presidente del Colegio de Profesores


 DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO



I.P.N.
CICIMAR
DIRECCIÓN



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 04 del mes de Diciembre del año 2019

El (la) que suscribe BM. JUAN ANDRÉS SÁNCHEZ COTA Alumno (a) del Programa
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro A180533 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ Y DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA

y cede los derechos del trabajo titulado:

"DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DEL TIBURÓN BIRONCHE

Rhizoprionodon longurio (Jordan y Gilbert, 1882) EN EL PACÍFICO ORIENTAL TROPICAL

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: jasanchezcota@gmail.com - fj_gr@yahoo.com - galvan.felipe@gmail.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

J.A. SANCHEZ
BM. JUAN ANDRÉS SÁNCHEZ COTA

Nombre y firma del alumno

Dedicatoria

Con todo mi corazón a mi Abuelo Andrés Cota Galvánt.

A mi familia que siempre ha estado a mi lado apoyándome especialmente a mis padres y a mi hermano que me han llevado de la mano y me han servido de pilares a lo largo de mi vida. Los quiero mucho y siempre tratare de brindarles un poco de lo tanto que me han dado.

A mi novia Lara que me da su apoyo y amor incondicional cada día que pasa. Que me alienta ser una mejor persona tanto en el ámbito profesional como como en el personal. Te Amo.

Agradecimientos

Agradezco al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN), por darme la oportunidad continuar con mi formación académica y de desarrollar mis estudios de maestría dentro sus instalaciones.

A mis directores, Dr. Francisco J. García Rodríguez y Dr. Felipe Galván Magaña por su constante y valioso apoyo durante el desarrollo de mi trabajo de tesis. Agradezco sus consejos, comentarios y el tiempo dedicado a la revisión del trabajo.

A los integrantes de la comisión revisora: Dr. Rogelio Gonzales Armas, Dr. Agustín Hernández Herrera y Dr. Sebastián Hernández Muñoz, por el tiempo dedicado a la revisión del trabajo a su compromiso con el mismo.

Un agradecimiento especial al Dr. David Corro Espinosa y Dr. Javier Tovar Ávila de los Centros Regionales de Investigación de Acuicultura y Pesca (CRIAP) de los estados de Sinaloa y Nayarit, por las muestras proporcionadas para el desarrollo del trabajo. Al igual que al Dr. Sebastián Hernández Muñoz por proporcionarnos las muestras provenientes de las localidades de Costa Rica y Panamá.

Por último un agradecimiento a todos los compañeros y amigos que aportaron a la realización de esta tesis.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABLAS.....	ii
GLOSARIO.....	iii
RESUMEN.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	5
3. JUSTIFICACIÓN.....	7
4. PREMISAS.....	7
5. HIPÓTESIS.....	7
6. OBJETIVOS.....	8
6.1. Objetivo general.....	8
6.2. Objetivos particulares.....	8
7. ÁREA DE ESTUDIO.....	8
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
8.1. Trabajo de campo.....	11
8.2. Trabajo de laboratorio.....	11
8.3. Análisis de datos.....	12
9. RESULTADOS.....	16
9.1. Diversidad genética.....	16
9.2. Estructura genética y filogeografía.....	17
9.3. Demografía Histórica.....	21
10.DISCUSIÓN.....	25
10.1. Diversidad Genética.....	25
10.2. Estructura Genética y patrones filogeográficos.....	27
11.CONCLUSIONES.....	31
12.RECOMENDACIONES.....	31
LITERATURA CITADA.....	32

LISTA DE FIGURAS

- Fig.1.** Tiburón Bironche, *Rhizoprionodon longurio* (Jordan y Gilbert, 1882) (Foto tomada de Mexican-Fish.com.)..... 2
- Fig.2.** Sitios de muestreo en el Océano Pacífico Oriental Tropical: Santa Rosalía, B.C.S. (amarillo); La Paz, B.C.S. (azul); La Reforma, Sinaloa (rojo); Bahía de Banderas, Nayarit (rosa); Oaxaca (verde); Costa Rica (gris) y Panamá (morado)..... 10
- Fig.3.** Red de mínima expansión (*median joining*) basada en las frecuencias haplotípicas de las secuencias de la región control de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical; Santa Rosalía (amarillo); La Paz, B.C.S. (azul); La Reforma, Sinaloa (rojo); Bahía de Banderas, Nayarit (rosa); Oaxaca (verde); Panamá (morado) y Costa Rica (gris)..... 19
- Fig.4.** Análisis jerárquico de estructura genética poblacional realizado con hierBAPS. El eje “Y” representa a los organismos (del individuo 1 al 128) y el eje “X” muestra los sitios polimórficos. Los colores muestran las bases nitrogenadas: Adenina (azul), Citosina (amarillo), Guanina (rojo) y Timina (verde)..... 20
- Fig.5.** Distribución de los clados encontrados mediante el análisis jerárquico realizado en hierBAPS en cada sitio de muestreo a lo largo el Pacífico Oriental Tropical. Clado 1 (Azul) y Clado 2 (Naranja)..... 20
- Fig.6.** Distribución de frecuencia de las diferencias pareadas “Mismatch Distributions” de la Región Control de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical. La línea naranja representa las diferencias pareadas observadas, mientras la línea azul representa las frecuencias calculadas..... 23

LISTA DE TABLAS

- Tabla I.** Medidas de diversidad genética de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical. Incluye el número de individuos (n), número de haplotipos (N), sitios segregantes (S), diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π)..... 16
- Tabla II.** Comparaciones pareadas entre las localidades del Pacífico Oriental Tropical; Santa Rosalía, B.C.S. (SR); La Paz, B.C.S. (LP); La Reforma, Sinaloa (SN); Bahía de Banderas, Nayarit (BB); Oaxaca (OAX); Panamá (PA) y Costa Rica (CR). Debajo de la diagonal se encuentran los valores de Φ_{st} , y sobre la diagonal encontramos los valores de P correspondientes a cada comparación..... 17
- Tabla III.** Comparaciones pareadas de hembras maduras y juveniles de ambos sexos en el Pacífico Oriental Tropical: Santa Rosalía, B.C.S. (SR); La Paz, B.C.S. (LP); La Reforma, Sinaloa (SN); Oaxaca (OAX); Costa Rica (CR) y Panamá (PA). Debajo de la diagonal se encuentran los valores de Φ_{st} , y sobre la diagonal encontramos los valores de P correspondientes a cada comparación..... 18
- Tabla IV.** Pruebas de neutralidad de “ D ” de Tajima y “ F_s ” de Fu, y los valores de las sumas de las desviaciones cuadradas del análisis de la distribución de las diferencias pareadas bajo el modelo de expansión repentina para las localidades de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical. Dentro del paréntesis se muestran los valores de P 21
- Tabla V.** Valores de tau, edad en generaciones después de la expansión (τ) y tiempo en años después de la expansión (T)..... 24

GLOSARIO

ADNmt: Material genético contenido dentro de las mitocondrias, encargado de la codificación del RNA, así como proteínas presentes en la respiración y la generación de energía. Es una molécula de forma circular de alrededor de 16,500 pares de bases.

AMOVA: Análisis de Varianza Molecular. Método para explicar la diferenciación genética poblacional basado directamente en los datos moleculares.

Corrección de Bonferroni: Procedimiento no paramétrico el cual es empleado para corregir el error tipo I (rechazar una hipótesis nula verdadera) cuando se realizan múltiples pruebas o comparaciones.

Cuello de Botella: Reducción drástica del tamaño de la población, que provoca que la variabilidad genética se vea reducida. Esta baja variabilidad puede durar cientos o miles de años, incluso cuando el tamaño de la población se haya recuperado.

Diversidad haplotípica (h): Mide la probabilidad de que dos haplotipos seleccionados al azar en una muestra sean diferentes.

Diversidad nucleotídica (π): Mide la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos seleccionados al azar sean diferentes.

Estructura genética poblacional: Esta se refiere a como se encuentran organizadas las poblaciones en términos genéticos a través del tiempo y el espacio. La diferenciación se da cuando existe una disminución del flujo genético entre ellas.

Evolución Molecular Neutral: Modelo que sugiere que la mayoría de los cambios evolutivos a nivel molecular son causados por la deriva genética de mutaciones selectivamente neutras.

Filopatría: Tendencia de los individuos de permanecer o regresar periódicamente al sitio donde nacieron para parir a sus crías.

Haplotipo: Si hablamos del ADNmt un haplotipo es una secuencia de nucleótidos única que es heredado por la madre.

Índice de fijación F_{st} : Índice de fijación de Wright, que indica el grado de diferenciación genética existente en las poblaciones analizadas.

Nucleótido: Unidades orgánicas fundamentales de los ácidos nucleicos, formados por una base nitrogenada (Purina o Pirimidina), un grupo fosfato y un azúcar.

Población: Grupo de organismos de la misma especie que habitan en un área geográfica restringida y que tienen la capacidad de reproducirse con cualquier otro miembro de dicho grupo.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Método utilizado para realizar copias de segmentos específicos de ADN (amplificar). El ADN es desnaturalizado por temperaturas elevadas, se añaden regiones flanqueantes (iniciadores) y la secuencia se copia por medio de la enzima Taq polimerasa termoestable. Al final de este proceso se obtienen un aproximado de 100 millones de copias del segmento seleccionado.

Sverdrup (Sv): Es una unidad de medida del flujo de volumen por unidad de tiempo. Equivale a 10^6 metros cúbicos por segundo. Se usa principalmente en la oceanografía para medir la cantidad de agua transportada por las corrientes oceánicas.

RESUMEN

Las especies del género *Rhizoprionodon* representan un valioso recurso pesquero alrededor del mundo. En el Océano Pacífico Oriental solo se encuentra una especie perteneciente a este género, *Rhizoprionodon longurio*, el cual es de talla pequeña ($\leq 1.50\text{m}$ de longitud total) y presenta hábitos costeros; preferentemente en sitios con fondos fangosos. Tiene una reproducción vivípara placentaria y es considerado depredador terciario con hábitos alimenticios generalistas. Esta especie es capturada en el Océano Pacífico Oriental Tropical por la flota pesquera de al menos cuatro países: México, Honduras, Costa Rica y Panamá. En el presente estudio se aborda un análisis sobre la estructura genética poblacional de *R. longurio* a partir del análisis de la Región Control del ADNmt. Se obtuvieron muestras de cinco sitios en el litoral mexicano, uno en Costa Rica y uno en Panamá. En total se analizaron 128 secuencias. Se calcularon los índices de diversidad genética, obteniendo un total de 63 haplotipos, una diversidad haplotípica (h) de 0.9557 y nucleotídica (π) de 0.004652. Estos valores son relativamente altos con respecto a los reportados para otras especies de elasmobranquios de hábitos costeros. Para tratar de evidenciar algún nivel de estructura poblacional se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), el cual indicó una ausente diferenciación genética entre los sitios de muestreo ($\Phi_{st} = 0.01854$; $P = 0.06061 \pm 0.00628$). Un AMOVA adicional basado en hembras-juveniles tampoco indicó diferencias significativas, indicando la falta de evidencias para sugerir un patrón filopátrico asociado a hembras. El análisis de demografía histórica, basada en la cuantificación de las diferencias nucleotídicas pareadas (Mismatch) y pruebas de neutralidad indica la ocurrencia de un evento de expansión repentina durante el Pleistoceno, como ha sido reportado para otras especies distribuidas en la misma área geográfica o especies filogenéticamente relacionadas con *R. longurio*. Se recomienda el uso de marcadores adicionales, altamente polimórficos (ej. Microsatélites) para fortalecer la información reportada en el presente estudio. Mientras esta información no se encuentre disponible, se sugiere considerar que *R. longurio* está representado por una sola población.

Palabras Clave: ADNmt, AMOVA, haplotipo, nucleótido, estructura genética.

1. INTRODUCCIÓN

El tiburón bironche *Rhizoprionodon longurio* (Jordán y Gilbert, 1882) (Fig. 1) pertenece a la familia Carcharinidae y al género *Rhizoprionodon*, el cual cuenta con siete especies reconocidas. Es la única especie del género presente en el Océano Pacífico, particularmente distribuido a lo largo del Pacífico Tropical, desde el sur de California hasta las costas de Perú. Es una especie de talla pequeña y de hábitos costeros, con preferencia por las zonas con sustrato fangoso (Ebert, 2003; Castro, 2011). Su mayor abundancia ha sido registrada en las costas del Golfo de California, principalmente en los estados de Baja California Sur, Sonora y Sinaloa (Bizzarro *et al.*, 2009).

Los integrantes del género *Rhizoprionodon* son conocidos como Sharpnose Sharks debido a que presentan un hocico largo y puntiagudo. *Rhizoprionodon longurio* puede diferenciarse del resto de los carchariniformes del Pacífico Tropical debido a que cuenta con pliegues labiales muy largos y el inicio de la segunda aleta dorsal está por detrás del inicio de la aleta anal. Su coloración es café cobriza en la zona dorsal, mientras que en la parte ventral es blanca, pasando por tonos grisáceos en los costados (Compagno *et al.*, 1995; Castro, 2011).

Es un depredador terciario con hábitos generalistas, cuya alimentación se basa principalmente en cefalópodos como los argonautas y peces epipelágicos y bentónicos (Conde, 2009; Osuna-Peralta *et al.*, 2014). Son vivíparos placentarios que presentan una temporada reproductiva de marzo a junio y un periodo de gestación de 10 a 12 meses. Las camadas son de 4 a 12 crías (promedio = 7.4) y las crías nacen con una longitud aproximada de 31 cm (Márquez-Farías *et al.*, 2005; Salomón-Aguilar *et al.*, 2009).

Esta especie alcanza la madurez reproductiva a la talla de 80 a 100 cm en las costas del Pacífico mexicano y una vez alcanzada la madurez sexual su periodo reproductivo es continuo, ya que al expulsar una camada comienza un nuevo ciclo reproductivo iniciando con la gestación de una nueva camada (Corro-Espinosa *et al.*, 2011). A lo largo del Golfo de California se han descrito posibles áreas de crianza para la especie, desde el Golfo de Santa Clara, Son.; hasta Mazatlán, Sin.; incluyendo zonas

intermedias como Puerto Peñasco, Son. y la Bahía de La Paz, B.C.S. (Salomón-Aguilar *et al.*, 2009).

En contraste con la mayoría de las especies de elasmobranquios, el tiburón bironche presenta una longevidad relativamente corta (6-8 años), una maduración temprana entre los 2 y 3 años de edad, y un número de descendientes relativamente alto. Debido a estas características se ha sugerido que, si se maneja manera adecuada, podría soportar una pesca dirigida a través de los años (Corro-Espinosa *et al.*, 2011).



Fig.1. Tiburón Bironche, *Rhizoprionodon longurio* (Jordan y Gilbert, 1882) (Foto tomada de Mexican-Fish.com.).

Los elasmobranquios son un valioso recurso pesquero alrededor del mundo. En algunos países, principalmente los tiburones, son el sustento de importantes pesquerías y representan una valiosa fuente de proteína de fácil acceso y de bajo costo para la subsistencia de algunas comunidades costeras. Los tiburones han sido explotados desde hace siglos, sin embargo en las últimas décadas la evolución de las pesquerías, así como la demanda de sus productos derivados han llevado a poner en riesgo las poblaciones de algunas especies debido a la pesca desmedida y a gran escala a las cuales las especies están sujetas (Vannuccini, 1999).

Según la FAO del año 1950 al 2000 las capturas mundiales de tiburón se triplicaron, alcanzando su pico más alto en el año 2000 (888,000 toneladas). A partir de este punto las capturas fueron disminuyendo gradualmente hasta que en el año 2010 se registraron capturas correspondientes al 89% (790,000 toneladas) con respecto a ese

máximo registrado a nivel mundial. Debido a esta disminución algunos países empezaron a implementar medidas de manejo basadas en la designación de una talla mínima de captura y el establecimiento de periodos de veda temporales o permanentes para la protección de las especies. Estas y otras medidas de conservación se han estado estableciendo de manera exitosa durante años recientes llegando a existir incluso convenios regionales e internacionales para la protección de las especies de tiburones (FAO, 2015; CONAPESCA, 2018).

Dentro del Pacífico Oriental Tropical el establecimiento de estas medidas de conservación no fue la excepción. México, que se encuentra dentro de los primeros 10 países en cuanto a capturas de tiburón a nivel mundial, implementó en 2004 un plan de manejo de los recursos tiburones y rayas. En 2006 se publicó la norma oficial mexicana 029 (Nom-029-2006), donde se estipula que el aleteo queda prohibido, así como la pesca de algunas especies como el tiburón ballena, tiburón blanco y el grupo de las mobulas. Por último en 2012 se establecieron periodos de veda para tiburones y rayas tanto en las costas del Pacífico como en las del Atlántico.

Por su parte en Centro América en 2011, se creó el Plan de Acción Regional para la Ordenación y Conservación de los Tiburones en Centroamérica (PAR-TIBURON) donde están incluidos todos los países centroamericanos: Belice, Guatemala, Honduras, Costa Rica, El Salvador, Nicaragua y Panamá. Este plan de acción busca armonizar las medidas de ordenación de los siete países, tomando en cuenta las especies compartidas y las que se consideran que deben tener un cuidado de protección especial, como el pez sierra, el tiburón ballena y los tiburones martillos (OSPESCA, 2011).

Para crear este tipo de planes y normativas es importante tener el mayor conocimiento posible de las especies que se están explotando para así poder realizar un manejo apropiado de los recursos. Información relevante sobre la estructura poblacional e historia de vida aportan una parte primordial para soportar planes de manejo y detectar unidades de manejo a lo largo de su distribución (Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003).

Una herramienta fundamental para identificar el grado de aislamiento reproductivo que presentan las especies es mediante análisis genéticos. Parte primordial de los estudios genéticos en animales son los marcadores empleados los cuales son basados en el ADN nuclear (ADNn), que se heredan de manera biparental, y en el ADN mitocondrial (ADNmt), que heredan de forma monoparental, específicamente matrilineal (Grant *et al.*, 1999).

Los marcadores genéticos más comúnmente empleados en estudios de microevolución son los microsatélites (ADNn) y un segmento del ADNmt conocido como Región Control. Los microsatélites, debido a su origen biparental, a que están expuestos a eventos de entrecruzamiento durante la reproducción y a que tienen una elevada tasa de mutación, son altamente polimórficos, y en consecuencia son utilizados principalmente para análisis de genética poblacional y pruebas de paternidad.

La región control del genoma mitocondrial se emplea principalmente en estudios de demografía, filogeografía y de estructura poblacional, ya que su tasa de mutación también es elevada; más que la del resto del genoma mitocondrial. Consecuentemente genera un elevado polimorfismo que es útil para detectar diferencias entre individuos filogenéticamente cercanos. Debido a que el ADNmt no está expuesto a cambios por recombinación, se espera que los cambios por mutación encontrados en los linajes maternos sean principalmente influenciados por la separación y el aislamiento reproductivo de las poblaciones (Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003; Arif y Khan, 2009).

El tiburón bironche es una especie de interés comercial y a la fecha se carece de información que permita soportar la existencia de poblaciones biológicas o stocks desde una perspectiva de aprovechamiento pesquero. En este estudio se llevó a cabo un análisis poblacional enfocado a inferir la diversidad genética y el nivel de estructuración genética poblacional de esta especie de cazón. Las muestras analizadas provienen de sitios que cubren su principal área de distribución. Todos los análisis fueron basados en secuencias de la región control del ADNmt.

2. ANTECEDENTES

Los estudios sobre la estructura genética poblacional en el noreste de México han incluido diversas especies de elasmobranchios y en la mayoría de estos estudios fueron detectadas diferencias poblacionales. Por ejemplo Sandoval-Castillo *et al.* (2004), encontraron evidencias de un aislamiento críptico de la guitarra blanca *Rhinobatos productus* en el Golfo de California. Ellos compararon muestras de Bahía Almejas, B.C.S., y Bahía de Kino, Son., y encontraron altos niveles de divergencia entre los individuos de las dos zonas, lo que fue asociado a la presencia de barreras físicas y oceanográficas en la región.

Ramírez-Amaro (2009), analizó muestras del tiburón angelito *Squatina californica* en ambas costas de la península de Baja California mediante la región control del ADNmt. Este autor encontró 29 haplotipos no compartidos entre las zonas de muestreo evidenciando una clara segregación geográfica. El resultado del análisis de varianza molecular (AMOVA) indicó diferencias significativas entre localidades soportando que el tiburón angelito se encuentra integrado en dos poblaciones, una en la costa occidental de la Península y la otra en el Golfo de California. Ambos estudios atribuyen las causas de las diferencias encontradas a los procesos oceanográficos que tienen lugar en la boca del golfo, producidos por la convergencia de tres diferentes masas de agua, así como a las grandes profundidades (>3000 m) que presentan algunas cuencas oceánicas presentes en la zona, que evitan la dispersión de los organismos.

Otros estudios sobre la estructura genética poblacional han sido realizados a partir de muestras colectadas en un área más extensa, que incluye gran parte del Pacífico Oriental Tropical. Castillo-Olguín *et al.* (2012) realizaron un análisis de la estructura genética poblacional de *Sphyrna lewini* con el interés de identificar unidades de conservación en el Pacífico mexicano. Ellos analizaron la región control de ADNmt y emplearon cinco loci microsatélites. Con las secuencias mitocondriales, no fue posible detectar diferencias entre sitios; sin embargo, a partir de los microsatélites ellos mostraron una notable divergencia genética entre la población de Baja California con respecto al resto de las localidades, así como diferencias significativas entre las regiones del norte y centro del Pacífico mexicano.

Galván-Tirado *et al.* (2013) infirieron la historia demográfica y estructura genética poblacional de *Carcharhinus falciformis* mediante la región control del ADNmt en el Océano Pacífico. Los resultados que encontraron soportaron la existencia de un bajo, pero significativo, nivel de diferenciación genética entre la zona este y oeste, constituyendo la primera evidencia de la presencia de dos poblaciones distintas. Sus resultados también soportaron la idea de que la especie se expandió desde el este hacia el oeste del Océano Pacífico. Chabot *et al.* (2015), estudiaron el efecto de las barreras biogeográficas y filogeográficas sobre el flujo genético de *Mustelus henlei* en el noreste del Pacífico. Basados en los resultados obtenidos del análisis de la región control y seis loci microsatélites soportaron la presencia de tres poblaciones: una norteña (San Francisco), una central (Santa Barbara, Santa Catalina, Punta Lobos y San Felipe) y una sureña (Costa Rica).

Con respecto a *Rhizoprionodon longurio*, no existen estudios documentados sobre un análisis de la estructura genética poblacional. El conocimiento existente más relacionado con esta especie proviene de estudios realizados en el Atlántico de dos especies del mismo género. Basados en la región control del ADNmt, Mendonça *et al.* (2009) detectaron una débil estructura poblacional en *Rhizoprionodon lalandii* en las costas de San Paolo; una área de estudio relativamente pequeña. Sin embargo, en 2013, estos mismos autores publicaron resultados encontrados para esta misma especie a partir de datos procedentes de un área mucho más amplia, que incluyó muestras de las Costas de Brasil y del Caribe. Los resultados de este último estudio soportaron una fuerte diferenciación genética entre estas dos regiones y sugieren una posible filopatría por parte de las hembras. Estos mismos autores (Mendonça *et al.*, 2011) analizaron la diversidad y estructura genética de *Rhizoprionodon porosus* empleando secuencias de ADNmt. Ellos encontraron un total de 54 haplotipos y dos poblaciones bien diferenciadas como consecuencia de un flujo genético limitado por la corriente Ecuatorial, incidiendo en la integración de una población en el Caribe y otra en las costas de Brasil. Basado en estos resultados los autores sugieren considerar estas poblaciones como dos unidades de manejo.

3. JUSTIFICACIÓN

Para llevar a cabo el aprovechamiento de los recursos es importante tener un conocimiento adecuado de la biología y ecología de las especies de interés, de tal manera que la implementación de las medidas de manejo, basadas en la información científica obtenida, impida afectaciones irreversibles en las poblaciones. Debido a la importancia económica del recurso tiburón alrededor del mundo y a las grandes variantes de historias de vida que se presentan entre las especies de este grupo, es importante hacer inferencias sobre la dinámica y la estructura de sus poblaciones (Riddle *et al.*, 2000; FAO, 2015). El tiburón bironche se encuentra dentro de las primeras cinco especies de talla pequeña más capturadas en el Pacífico mexicano. Además, esta especie se encuentra dentro del PAR-TIBURON de Centroamérica ya que es un recurso que es aprovechado por la mayoría de los países que forman parte de este plan de acción regional (Bizarro *et al.*, 2007; OSPESCA, 2011). Por lo anterior, es importante generar información adecuada para que se pueda llevar a cabo un plan de manejo multinacional y la pesquería se mantenga a través del tiempo.

4. PREMISAS

- Las especies de talla pequeña tienen una capacidad de dispersión limitada, por lo cual tienden a formar poblaciones diferentes.
- Las especies con distribuciones amplias suelen formar agrupaciones con los individuos más cercanos, lo cual propicia formación de diferentes poblaciones.
- En el noroeste de México se han detectado diferencias poblacionales en algunas especies de tiburones.

5. HIPÓTESIS

Considerando las características biológicas de la especie y las diferentes condiciones ambientales a lo largo de la distribución de *R. longurio* se espera encontrar una estructura genética poblacional significativa a lo largo de las costas del Océano Pacífico Oriental Tropical.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General

Estimar la diversidad y estructura genética poblacional de *R. longurio* en las costas del Pacífico Oriental Tropical mediante análisis de secuencias del ADNmt.

6.2. Objetivos Particulares

- Determinar la diversidad genética de *R. longurio* en diferentes sitios de su área de distribución.
- Determinar la estructura genética poblacional de *R. longurio* a lo largo de los distintos sitios de recolecta.
- Inferir los procesos de demografía histórica para *R. longurio*.

7. ÁREA DE ESTUDIO

El Océano Pacífico Oriental Tropical es una zona que presenta una serie de características oceanográficas únicas debido a las cuales existe una gran productividad y riqueza biológica, haciéndolo un ecosistema muy particular. Estas características dependen de la variabilidad temporal de las condiciones atmosféricas generadas dentro y fuera de la región (Lavin *et al.*, 2006). Las características atmosféricas están relacionadas con el intercambio de calor y humedad aire-mar, teniendo influencia directa sobre la temperatura y salinidad superficial del mar, lo que a su vez puede modificar las condiciones de la termoclina e influir en la profundidad a la que se encuentra la capa de mezcla. Los vientos también pueden inyectar impulso al mar y mediante el transporte de Ekman producir afloramientos tanto en la costa como en aguas abiertas, así como la generación de frentes y remolinos (Fielder y Talley, 2006; Willet *et al.*, 2006).

Wyrtki (1965) describió tres patrones principales asociados a las corrientes y su interacción en el Pacífico Oriental Tropical. El primer patrón, es el más estable y se produce de agosto a diciembre, cuando la Contracorriente Ecuatorial, sumada a la Corriente Ecuatorial del Sur, se desarrolla totalmente. El agua de la Contracorriente Ecuatorial fluye alrededor del Domo de Costa Rica, integrándose a la Corriente

Costera de Costa Rica y adentrándose hasta la Corriente Ecuatorial del Norte, aproximadamente a los 20°N. Durante este periodo la Corriente de California es débil y retrocede hacia la costa de Baja California cerca de los 25°N. En el mes de enero la Contracorriente Ecuatorial empieza a perder fuerza a la vez que la Corriente de California comienza a recuperarse ganando terreno hacia el sur.

El segundo patrón de circulación se produce de febrero a abril. En este periodo la Corriente de California es fuerte y se mueve hacia el sur, desplazando a la Corriente Ecuatorial del norte. La Contracorriente Ecuatorial desaparece completamente. Frente a la costa de Centroamérica se forman dos giros de gran tamaño uno ciclónico y otro anticiclónico. El tercer patrón de circulación se desarrolla de mayo a junio. Durante este periodo la Corriente de California aun es fuerte y la Contracorriente Ecuatorial se forma nuevamente.

La mayor parte de la Contracorriente se mueve hacia el norte a través de la Corriente Costera de Costa Rica que durante ese periodo va de Centroamérica hasta Cabo Corrientes. El afluente principal de la Corriente Ecuatorial del Norte es la Corriente de California que llega lejos al sur pero no penetra hacia Centroamérica. Durante julio y agosto la Corriente de California progresivamente pierde fuerza y la Corriente Ecuatorial del Norte recibe cada vez más agua de la Contracorriente Ecuatorial.

Para el presente estudio se llevó a cabo la recolecta de muestras en siete zonas a lo largo del Pacífico Oriental Tropical, desde el Golfo de California hasta las Costas de Panamá (Fig. 2).

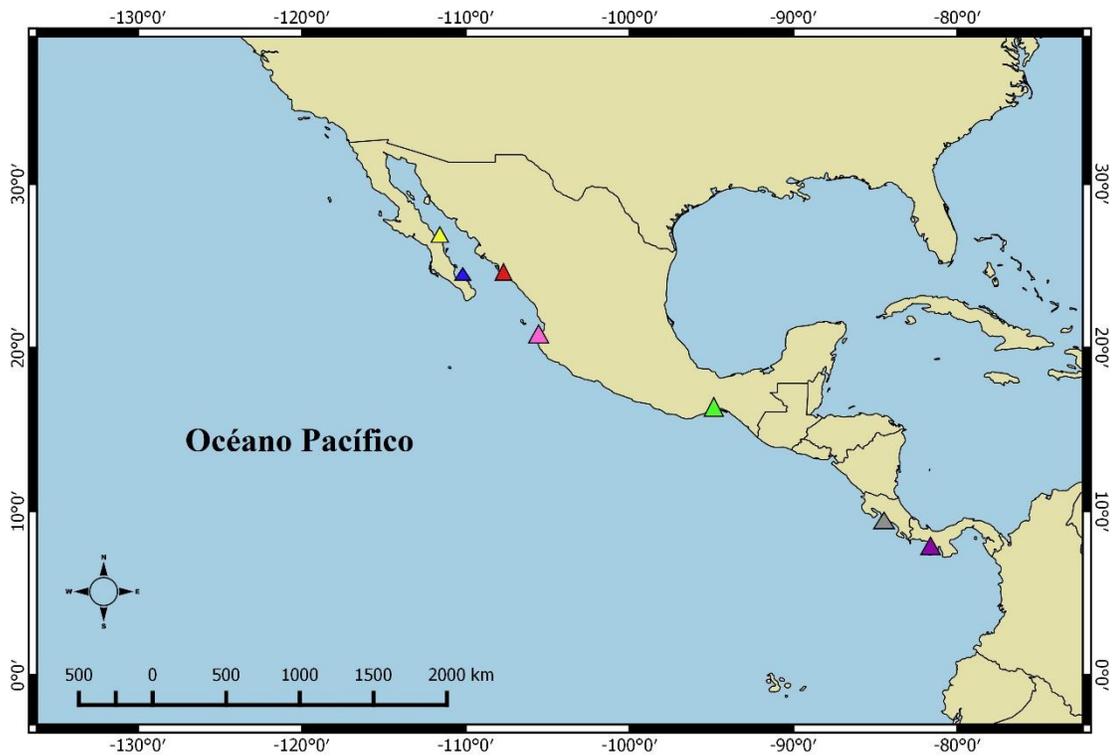


Fig.2. Sitios de muestreo en el Océano Pacífico Oriental Tropical: Santa Rosalía, B.C.S. (amarillo); La Paz, B.C.S. (azul); La Reforma, Sinaloa (rojo); Bahía de Banderas, Nayarit (rosa); Oaxaca (verde); Costa Rica (gris) y Panamá (morado).

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1. Trabajo de campo

Las muestras se recolectaron en 2018 y principios de 2019 con ayuda de la flota artesanal a lo largo de las costas de Baja California Sur. Las muestras provenientes de Mazatlán, Sinaloa y Bahía de Banderas, Nayarit fueron obtenidas y proporcionadas por los Centros Regionales de Investigación Acuícola y Pesquera (CRIAP) correspondientes a estas zonas y las muestras correspondientes a Costa Rica y Panamá fueron colectadas y proporcionadas por el Laboratorio BIOMOL de la Universidad de Veritas en Costa Rica. De cada individuo se tomaron la longitud total, el peso, se registró el sexo y se obtuvo aproximadamente un cm³ de tejido muscular de la parte dorsal, el cual fue preservado en etanol al 95 o 100%.

8.2. Trabajo de laboratorio

Se realizó la extracción del ADN mediante el Kit de extracción Qiagen siguiendo los pasos descritos por el fabricante. La calidad del ADN extraído se comprobó mediante una electroforesis empleando geles de agarosa al 1% teñidos con GelRed (Uribe-Echeverry *et al.*, 2013). Los geles fueron revelados a través de un transiluminador de rayos UV.

Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificó un fragmento de la región control del genoma mitocondrial empleando inicialmente los iniciadores diseñados por Mendonça (2009) para las especies del género *Rhiziprionodon* en el Atlántico. A partir de estas secuencias, se diseñaron iniciadores específicos (RlongRC-F TCATTAATCGATATTCCCCTATATCA y RlongRC-R GCATGGCACTGAAGATGCTA) con la intención de lograr una amplificación exitosa en todos los individuos. Los iniciadores fueron diseñados en el programa *PRIMER3* (Untergasser *et al.*, 2012), y el fragmento obtenido fue de aproximadamente 900 pb (pares de bases).

Para el diseño de los iniciadores se consideró que la longitud de los iniciadores estuviera entre 15 y 21 pb, el porcentaje de purinas y pirimidinas fuera similar

(G+C≈50-70%), los iniciadores no fueran complementarios entre si y que la temperatura de alineamiento estuviera entre 50 y 65°C (Abd-Elsalam, 2003).

El protocolo utilizado para la PCR fue el mismo para ambos pares de iniciadores. Se preparó un mezcla para cada reacción con un volumen de 25 µl, el cual contenía: 5 µl de BSA (Albumina) (0.22%), 5 µl de Buffer Taq (5x), 0.5 µl de dNTP's (10 mM), 1.2 µl de cada uno de los iniciadores (10 µM), 4 µl de MgCl₂ (50 mM), 6.85 µl de H₂O-milliQ, 0.25 µl de Taq polimerasa (5 U/µl) y 1 µl de nuestro ADN extraído.

Los tiempos que se establecieron para la reacción fueron de 94°C durante 4 min para la desnaturalización, posteriormente 30 ciclos que incluían una desnaturalización de 94°C durante 30 s, un alineamiento de 30 s a 53°C y una extensión de 1 min a 72°C. Se realizó una extensión final durante 5 min a 72°C. Se verificó la calidad y la longitud del segmento amplificado de las muestras mediante una electroforesis (30 min a 100 V) en un gel de agarosa al 1% teñido con GelRed, para posteriormente ser revelados en el transiluminador de rayos UV.

El producto de las amplificaciones fue secuenciado en ambas direcciones (Macrogen, Corea) utilizando los mismos iniciadores empleados en las amplificaciones.

8.3. Análisis de datos

La edición de las secuencias se realizó empleando el programa Chromas Pro v1.7.7 (Technelysium Pty, Ltd) y una vez editadas se les realizó alineamiento múltiple empleando el algoritmo Clustal W (Thompson *et al.*, 1997) incluido en el programa Mega v6 (Tamura *et al.*, 2013) usando los ajustes por defecto.

Para determinar la diversidad genética se obtuvo el número de haplotipos, el número de sitios segregantes (S) y la variabilidad genética a partir de la diversidad haplotípica (h) y la diversidad nucleotídica (π). La primera (h) mide la probabilidad de que dos haplotipos seleccionados al azar de una muestra sean diferentes y la segunda (π) evalúa la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos seleccionados al azar sean diferentes (Nei, 1987). Estos parámetros fueron estimados utilizando el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer, 2011).

Para inferir la estructura poblacional de *R. longurio* se empleó un Análisis de varianza molecular (AMOVA) global considerando todos los sitios de muestreo con el fin de cuantificar el porcentaje de varianza producido dentro y entre las poblaciones y soportar estadísticamente la presencia de una estructura genética poblacional.

Tratando de identificar un patrón filopátrico asociado a las hembras, también se realizó un AMOVA empleando únicamente las hembras adultas y organismos juveniles. La inclusión de juveniles sin importar el sexo en este último análisis fue debido a que se consideró que a esta edad los organismos aún no se han separado de su área de crianza y en consecuencia reflejan los linajes maternos presentes en esa zona.

Considerando que el marcador genético empleado es de herencia materna se esperaba encontrar una mayor señal de una estructura poblacional en el grupo hembras-juveniles si el origen de la diferenciación fuera debido a un patrón filopátrico asociado a las hembras.

Posteriormente, se calculó el índice de fijación (Φ_{st}) mediante comparaciones pareadas entre todos los sitios con la intención de detectar los principales causante de potenciales diferencias genéticas (Excoffier *et al.*, 1992; Meirmans y Hedrick, 2011). Estas estimaciones fueron realizadas en el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer 2011).

Se ajustó el nivel de significancia (P) para tratar de minimizar el error causado por las comparaciones pareadas, aplicando el ajuste de Bonferroni (Rice, 1989). Considerando que la diversidad nucleotídica, el AMOVA y las comparaciones pareadas representan parámetros que consideran distancias moleculares, se buscó el modelo de sustitución nucleotídica que mejor representara los datos. Este análisis se realizó en el programa jModelTest 0.1.1. (Posada, 2008). El modelo que mejor se ajustó a los datos fue elegido mediante el criterio de información de Akaike (CIA) y el criterio de información Bayesiana (CIB).

El modelo elegido fue el de Tamura & Nei (TrN+I+G), el cual contempla diferentes tasas evolutivas entre las transiciones (A-G, C-T) mientras que a las transversiones

les asigna la misma tasa evolutiva, sin embargo esta puede variar dependiendo a qué tipo de transición estén ligadas (Tamura y Nei, 1993).

Para determinar una posible estructuración geográfica de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical se utilizó el programa BAPS 6.0 (Bayesian Analysis of Population Structure; Corander et al., 2008), que permite agrupar las secuencias en unidades poblacionales genéticamente homogéneas mediante un método de inferencia bayesiana, donde el número de grupos está dado bajo el modelo de mezcla. Las estimaciones se hicieron incluyendo las coordenadas geográficas por sitio de muestreo obtenidas de Google Earth™. El análisis se realizó suponiendo grupos (K) de 1, 3, 5 y 10, con cinco réplicas para cada valor de K. Obteniéndose un valor de K correspondiente al número teórico de poblaciones en las que están divididas nuestras muestras. Se estima la probabilidad posterior ($\ln Pr(i/K)$) de que el individuo (i) provenga de una población (K).

Se realizó un análisis fileogeográfico global con base en una red de mínima expansión generada en el programa Netwok 4.2.0.1 (www.fluxusengineering.com/sharenet.htm). Este esquema integra relaciones entre haplotipos, tomando en cuenta sus frecuencias y su procedencia geográfica. De esta manera, es posible evaluar visualmente, la relación filogenética entre los linajes y si dichos linajes proceden de la misma o distinta región geográfica. Por último, utilizando el programa hierBAPS (Corander et al., 2008), se buscó soportar la presencia del patrón fileogeográfico mediante el análisis de datos de manera jerárquica empleando probabilidades bayesianas (Cheng et al., 2013).

Utilizando el programa Isolation By Distance (Bohonak, 2002) se buscó evidencia del modelo de aislamiento por distancia a partir de una prueba de Mantel considerando una matriz de distancias genéticas y una matriz de distancias geográficas empleando 10,000 permutaciones. Las distancias genéticas fueron representadas por los valores de Φ_{st} transformados de acuerdo con Rousset's (1997): $\Phi_{st}/(1 - \Phi_{st})$. Las distancias geográficas entre los sitios de muestreo fueron obtenidas de GoogleEarth™.

Los patrones globales de demografía histórica de *R. longurio* fueron inferidos mediante el análisis de la distribución de las diferencias nucleotídicas pareadas de las secuencias (Mismatch Distribution).

La prueba estadística para soportar el ajuste de los datos a modelos de expansión fue basada en la suma de las desviaciones cuadradas (SSD). Si los valores de las SSD son elevados la distribución tiende a ser multimodal lo que estaría reflejando que la población ha permanecido estable, en cambio si dichos valores son bajos o cercanos a cero, la distribución tiende a ser unimodal y sugeriría que dicha población ha pasado por un proceso de expansión demográfica repentina (Rogers y Harpending, 1992; Schneider y Excoffier, 1999).

Se realizaron las pruebas de neutralidad D de Tajima y la F de Fu con la finalidad de evaluar la desviación de los datos con respecto a los modelos de evolución molecular neutral. Ambos análisis se prueban bajo la generación de muestras aleatorias bajo la hipótesis de una selección neutral en una población en equilibrio. En el caso de Tajima D se utiliza un algoritmo de simulación coalescente. Si obtenemos valores significativos de D pueden indicar una posible expansión poblacional, cuellos de botella o heterogeneidad en las tasas de mutación. El estadístico F de Fu tiende a ser sensible a los procesos de expansión demográfica (Tajima, 1993; 1996; Fu, 1997). Ambos análisis se realizaron a partir de 1000 simulaciones en el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer 2011).

Por último se calculó el tiempo transcurrido desde la expansión poblacional de la especie, para las muestras en general y para cada uno de los sitios de colecta a partir de la fórmula $\tau = 2ut$ (Rogers y Harpending, 1992), en donde tau (τ) es el valor máximo de la distribución, u representa la tasa de mutación y t es el tiempo desde la expansión. La tasa de mutación fue inferida a partir de la tasa de divergencia (0.8% mda⁻¹) estimada para *Sphyrna lewini* a partir de la distancia genética encontrada entre poblaciones transistmicas del Atlántico y Pacífico (Duncan *et al.*, 2006).

9. RESULTADOS

Se obtuvieron 128 secuencias de un fragmento de la Región Control del ADNmt de los individuos recolectados lo largo del Océano Pacífico Oriental Tropical. La longitud editada y analizada de este fragmento fue de 780 pb.

9.1. *Diversidad Genética*

Se encontró un total de 63 haplotipos con un promedio de 11.4 de transiciones, 1.5 de transversiones y 13 sustituciones. Los valores de diversidad fueron relativamente elevados y similares en los siete sitios de muestreo. La localidad con la diversidad haplotípica más elevada fue Costa Rica (0.9827), mientras que la más baja fue Bahía de Banderas (0.8929). La diversidad nucleotídica fue mayor en Panamá (0.005601) y de nuevo los valores más bajos se presentaron en Bahía de Banderas (0.003810) (Tabla I). Los bajos valores de diversidad encontrados en Bahía de Banderas pueden estar relacionados con el bajo número de muestras obtenido en la zona.

Tabla I. Medidas de diversidad genética de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical. Incluye el número de individuos (n), número de haplotipos (N), sitios segregantes (S), diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π).

Localidad	n	N	S	h	π
<i>Santa Rosalía</i>	27	17	17	0.9430	0.004720
<i>La Paz</i>	21	15	14	0.9667	0.004554
<i>Sinaloa</i>	18	13	14	0.9477	0.005109
<i>Bahía Banderas</i>	8	6	8	0.8929	0.003810
<i>Oaxaca</i>	19	16	11	0.9825	0.004434
<i>Costa Rica</i>	22	18	11	0.9827	0.004342
<i>Panamá</i>	13	11	15	0.9744	0.005601

9.2. Estructura Genética y filogeografía

Para evidenciar una posible estructura genética de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical se realizaron dos Análisis de Varianza Molecular; el primero fue un análisis global y el segundo se realizó solo con las hembras maduras y organismos juveniles. El análisis global no reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($\Phi_{st} = 0.0154$; $P = 0.06061$). Cuando se realizaron las comparaciones pareadas se encontraron diferencias entre las localidades de Oaxaca y Bahía de La Paz ($P = 0.00488$) (Tabla II). Sin embargo, después de aplicar el ajuste de Bonferroni la significancia de la prueba no soportó las diferencias ($P < 0.00238$).

Tabla II. Comparaciones pareadas entre las localidades del Pacífico Oriental Tropical; Santa Rosalía, B.C.S. (SR); La Paz, B.C.S. (LP); La Reforma, Sinaloa (SN); Bahía de Banderas, Nayarit (BB); Oaxaca (OAX); Costa Rica (CR) y Panamá (PA). Debajo de la diagonal se encuentran los valores de Φ_{st} , y sobre la diagonal encontramos los valores de P correspondientes a cada comparación.

	SR	LP	SN	BB	OAX	CR	PA
SR		0.59668	0.36426	0.61328	0.12402	0.34570	0.39844
LP	-0.00828		0.08789	0.77148	0.00488	0.09180	0.41602
SN	0.00327	0.03495		0.42285	0.10938	0.05859	0.18457
BB	-0.01893	-0.03606	-0.00253		0.05566	0.17871	0.45898
OAX	0.02945	0.07549	0.03604	0.08567		0.24609	0.20410
CR	0.00372	0.03124	0.04249	0.03496	0.01454		0.43945
PA	-0.00002	0.00023	0.02409	-0.01134	0.02189	-0.00117	

Para el análisis de hembras y juveniles se utilizaron 86 secuencias, se excluyó la zona de Bahía Banderas ya que no se cuenta con la información de la longitud y el sexo de los organismos. Los resultados de este análisis tampoco soportaron diferencias significativas entre las localidades ($\Phi_{st} = 0.01625$; $P = 0.14858$). Al realizar las comparaciones pareadas entre las localidades incluidas en este análisis tampoco se encontraron diferencias entre ellas (Tabla III).

Tabla III. Comparaciones pareadas de hembras maduras y juveniles de ambos sexos en el Pacífico Oriental Tropical: Santa Rosalía, B.C.S. (SR); La Paz, B.C.S. (LP); La Reforma, Sinaloa (SN); Oaxaca (OAX); Costa Rica (CR) y Panamá (PA). Debajo de la diagonal se encuentran los valores de Φ_{st} , y sobre la diagonal encontramos los valores de P correspondientes a cada comparación.

	SR	LP	SN	OAX	CR	PA
SR		0.55078	0.24219	0.23926	0.61230	0.30273
LP	-0.01068		0.05957	0.16309	0.18555	0.23535
SN	0.01852	0.05610		0.17773	0.08594	0.13281
OAX	0.01581	0.02870	0.02968		0.34668	0.63770
CR	-0.01325	0.02215	0.05000	0.00370		0.51172
PA	0.01389	0.02797	0.06286	-0.03514	-0.01772	

El análisis bayesiano realizado en BAPS indicó que la partición con mayor probabilidad fue $K=1$ (log (marginal likelihood) promedio de -887.9354), y en consecuencia se soportó la agrupación de las 128 secuencias analizadas en un grupo único.

La red de mínima expansión del Pacífico Oriental Tropical no mostró un patrón filogeográfico que soportara la presencia de una estructura genética poblacional (Fig.3). En cada localidad se encontraron algunos haplotipos únicos pero éstos ocurrieron en bajas frecuencias. El haplotipo que se encontró con mayor frecuencia (*Hap_1*) estuvo representado por 18 secuencias y ocurrió en los siete sitios de muestreo.

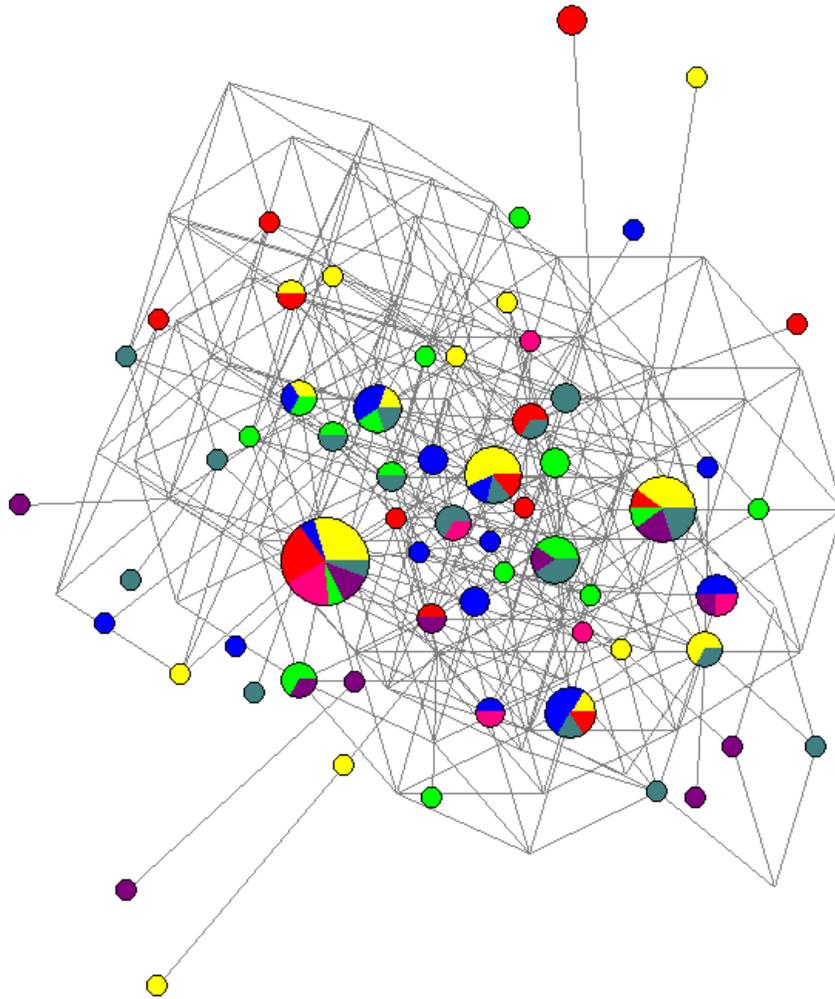


Fig.3. Red de mínima expansión (*median joining*) basada en las frecuencias haplotípicas de las secuencias de la región control de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical; Santa Rosalía B.C.S. (amarillo); La Paz, B.C.S. (azul); La Reforma, Sinaloa (rojo); Bahía de Banderas, Nayarit (rosa); Oaxaca (verde); Panamá (morado) y Costa Rica (gris).

Como resultado de agrupación jerárquica por medio de hierBAPS, se detectaron dos clados (Fig.4). Sin embargo, los individuos procedentes de los distintos sitios mostraron una distribución relativamente similar entre los clados (Fig.5), lo cual soportó la ausencia de un patrón filogeográfico claro dada la presencia de ambos clados a lo largo de todo el Pacífico Oriental Tropical.

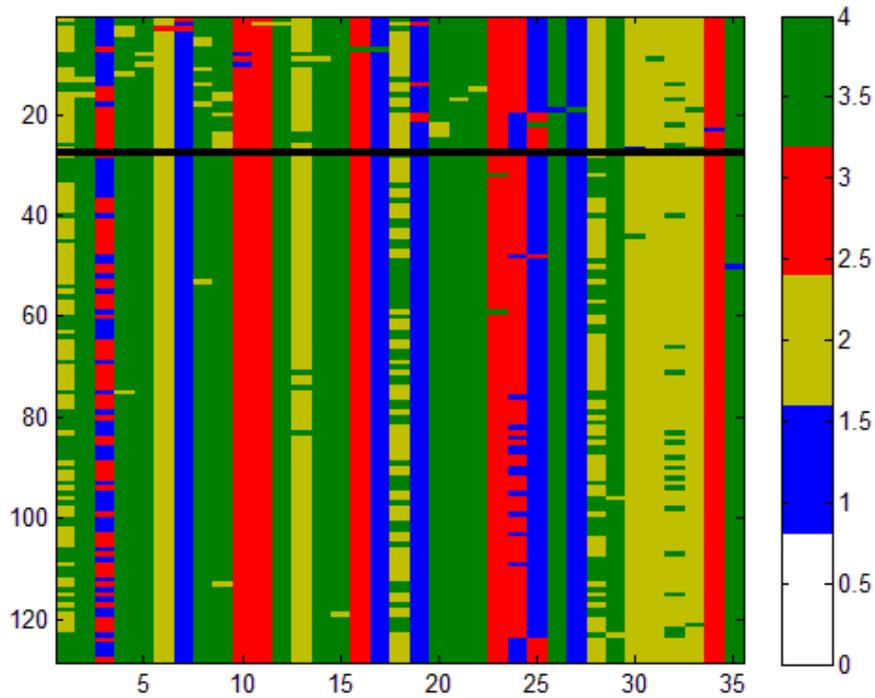


Fig.4. Análisis jerárquico de estructura genética poblacional realizado con hierBAPS. El eje “Y” representa a los organismos (del individuo 1 al 128) y el eje “X” muestra los sitios polimórficos. Los colores muestran las bases nitrogenadas: Adenina (azul), Citosina (amarillo), Guanina (rojo) y Timina (verde).

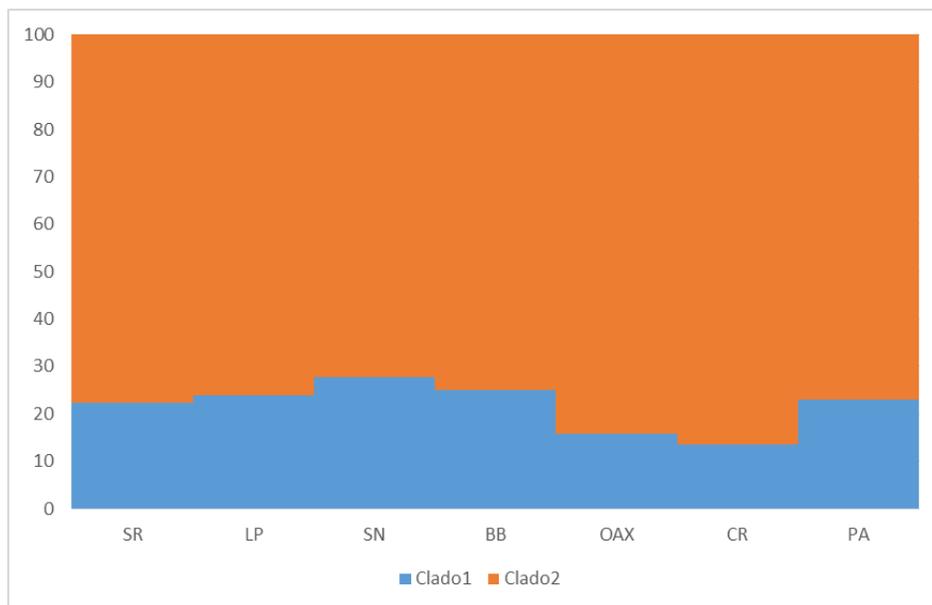


Fig.5. Distribución de los clados encontrados mediante el análisis jerárquico realizado en hierBAPS en cada sitio de muestreo a lo largo el Pacífico Oriental Tropical. Clado 1 (Azul) y Clado 2 (Naranja).

El análisis de aislamiento por distancia indicó una ausente correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas ($r=0.1616$, $P=0.2069$) podemos concluir que las distancias genéticas entre nuestros individuos no están relacionadas con la distancia geográfica que existe entre ellas.

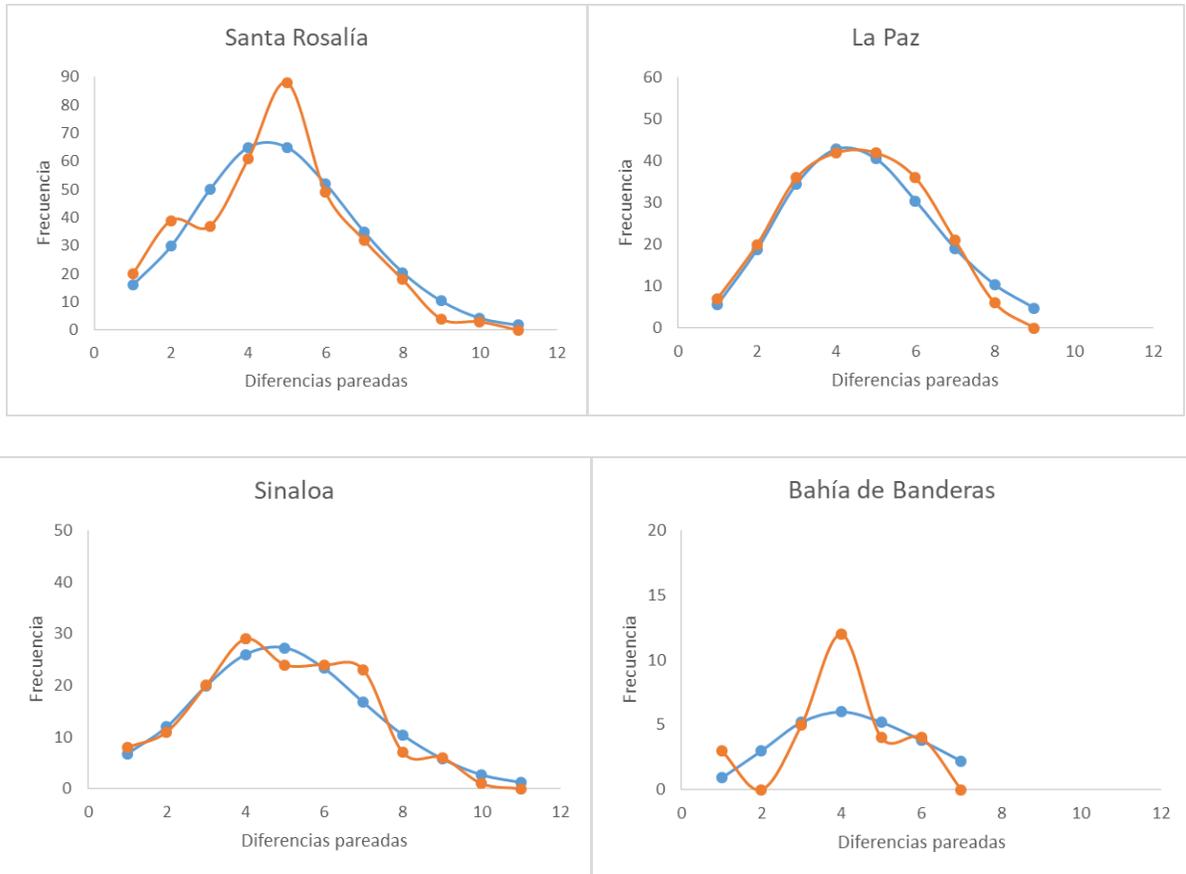
9.3. Demografía histórica

La prueba “D” de Tajima no fue significativa para ninguna de las localidades ($P > 0.05$). La “Fs” de Fu presentó valores negativos en todas las localidades y con excepción de la localidad de Bahía de Bandera, los valores fueron estadísticamente diferentes a los esperados en un estado de neutralidad ($P < 0.05$) soportando eventos de expansión demográfica. Las sumas de las desviaciones cuadráticas (SSD) no fueron significativamente diferentes del modelo de expansión y en ese sentido también soportaron un evento histórico de crecimiento demográfico repentino (Tabla IV).

Tabla IV. Pruebas de neutralidad de “D” de Tajima y “Fs” de Fu, y los valores de las sumas de las desviaciones cuadradas (SSD) del análisis de la distribución de las diferencias pareadas bajo el modelo de expansión repentina para las localidades de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical. Dentro del paréntesis se muestran los valores de P.

Localidad	"D" de Tajima	"Fs" de FU	SSD
<i>Santa Rosalía</i>	-0.62794(0.290)	-9.00070(0.000)	0.00757(0.349)
<i>La Paz</i>	-0.36810(0.413)	-8.64089(0.000)	0.00142(0.789)
<i>Sinaloa</i>	-0.14958(0.499)	-5.99148(0.003)	0.00321(0.798)
<i>Bahía Banderas</i>	-0.24580(0.432)	-1.66576(0.084)	0.06460(0.094)
<i>Oaxaca</i>	0.29278(0.658)	-12.45451(0.000)	0.00755(0.330)
<i>Costa Rica</i>	0.35717(0.683)	-14.90835(0.000)	0.00275(0.688)
<i>Panamá</i>	-0.47669(0.331)	-5.27486(0.006)	0.00618(0.720)

A partir del análisis de las diferencias pareadas se puede observar una tendencia unimodal en la mayoría de las localidades, exceptuando Bahía de Banderas y Panamá. En el caso de Bahía de Banderas podría deberse al bajo número de muestras mientras que en el caso de Panamá podría ser debido a una población relativamente más estable (Fig.6).



Continúa en la siguiente página...

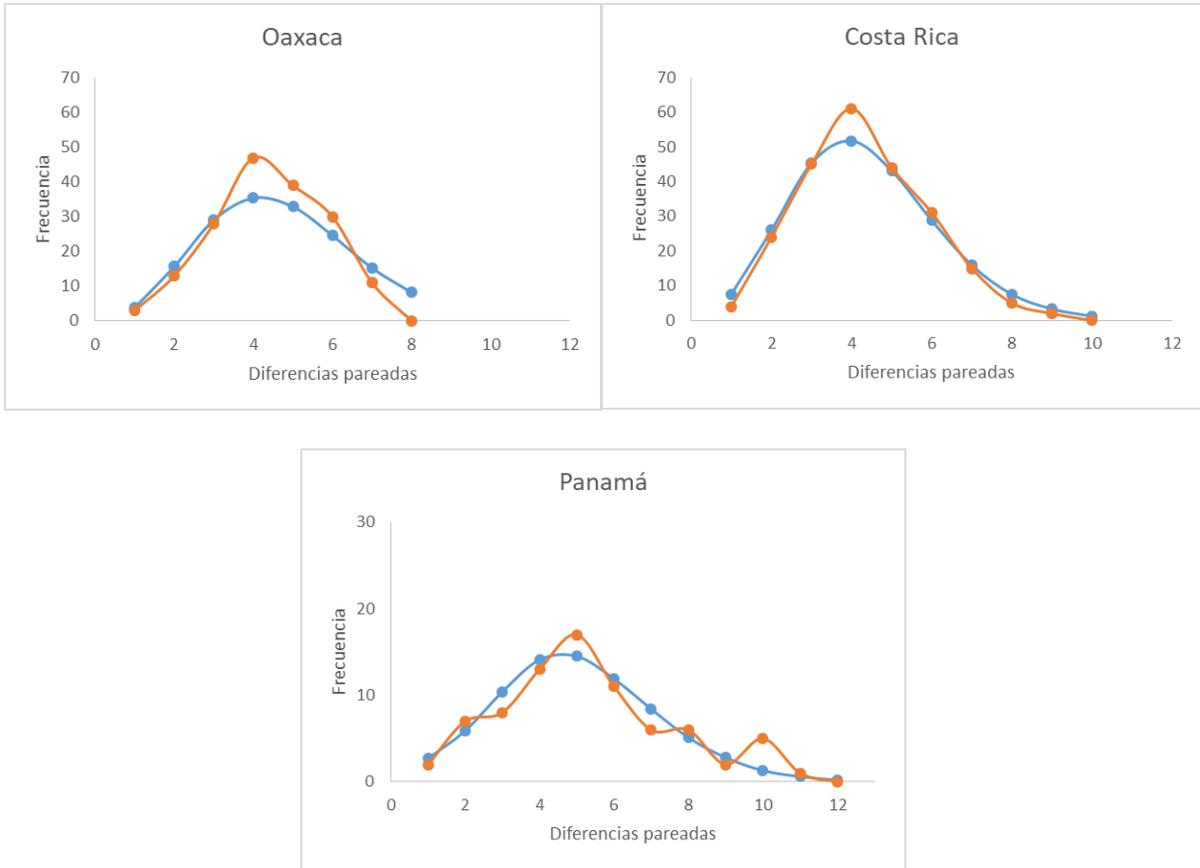


Fig.6. Distribución de frecuencia de las diferencias pareadas “Mismatch Distributions” de la Región Control de *R. longurio* en el Pacífico Oriental Tropical. La línea naranja representa las diferencias pareadas observadas, mientras la línea azul representa las frecuencias calculadas.

Los tiempos de expansión demográfica obtenidos a partir del valor de τ (τ) fueron estimados entre 540,000 – 696,000 años. Panamá fue la localidad con el proceso de expansión más antiguo mientras que Costa Rica presentó el proceso expansión relativamente más reciente (Tabla V). El tiempo de expansión para todas nuestras localidades es ubicado en el Pleistoceno.

Tabla V. Valores de tau, edad en generaciones después de la expansión (τ) y tiempo en años después de la expansión (T).

Localidad	τ	$\tau = \tau/(2u)$	T(años)
<i>Santa Rosalía</i>	4.10547	219,309	657,928
<i>La Paz</i>	3.76562	201,155	603,465
<i>Sinaloa</i>	3.68945	197,086	591,258
<i>Bahía de Banderas</i>	3.46289	184,983	554,950
<i>Oaxaca</i>	3.68945	197,086	591,258
<i>Costa Rica</i>	3.37305	180,184	540,553
<i>Panamá</i>	4.33789	231,725	695,175

10.DISCUSIÓN

10.1. *Diversidad genética*

A partir de las 128 secuencias de la Región Control (ADNmt) de *R. longurio* se identificaron 63 haplotipos y se encontró una diversidad haplotípica (h) de 0.9557 y una nucleotídica (π) 0.004652. Estos valores de diversidad son relativamente elevados si se comparan con los valores obtenidos para otras especies con similares hábitos costeros estudiadas con el mismo marcador molecular. Por ejemplo, el tiburón *Carcharias taurus* (Stow *et al.*, 2006) presentó valores de diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica respectivamente de 0.458 y 0.0031. Los valores de diversidad encontrados también fueron más altos que los publicados para especies del mismo género. Mendonça *et al.*, (2011) reportó para *Rhizoprionodon porosus* valores de $h = 0.881$ y $\pi = 0.00278$. Estos mismos valores fueron reportados por Mendonça *et al.* (2013) para *R. lalandii*.

Los altos valores de diversidad encontrados en *R. longurio* son similares a los reportados para especies oceánicas con amplio rango de distribución y altamente migratorias como *Rhincodon typus* (Castro *et al.*, 2007) o *Carcharinus falciformis* (Clarke *et al.*, 2015). Para estas especies los valores encontrados fueron superiores a 0.96 para la diversidad haplotípica, y para la diversidad nucleotídica fueron 0.011 y 0.600, respectivamente. En su estudio publicado en el Karl *et al.* (2011), plantean la idea de que las especies pequeñas y de hábitos costeros tienden a presentar valores de diversidad considerablemente más bajos que los presentados por las especies con hábitos pelágicos y de mayor tamaño.

Esta condición se debe a que las especies pequeñas tienen una menor capacidad de desplazamiento, lo que podría dificultarles la tarea de librar obstáculos o barreras geográficas e incidir en el fortalecimiento de un aislamiento geográfico y consecuentemente en la formación de pequeñas poblaciones a lo largo de su distribución. En cambio, las especies migratorias de gran tamaño pueden transportar sus linajes a lo largo de su distribución lo que produce una mayor diversidad genética.

En el caso de *R. longurio* a pesar de ser una especie de talla pequeña ($\leq 1.5\text{m}$) y de hábitos costeros, presentó niveles de diversidad relativamente elevados. Lo anterior

debe ser resultado de una distribución geográfica relativamente continua y un gran tamaño poblacional, de una mayor capacidad de desplazamiento de la que podría esperarse debido a sus características físicas o del efecto combinado de esos factores.

Los movimientos de los individuos podrían ser influidos por las condiciones oceanográficas presentes en el Pacífico Oriental Tropical, las cuales son provocadas por las interacciones entre las corrientes a lo largo del año. De febrero a abril los individuos podrían moverse de Norte a Sur con aguas de la Corriente de California que penetran hasta el Golfo de Tehuantepec y llegar más al sur cuando la Corriente Ecuatorial del Norte se encuentra debilitada. Caso contrario podría suceder de agosto a diciembre cuando la Contracorriente Ecuatorial toma fuerza y penetra hacia el norte permitiendo a las aguas de la Corriente Ecuatorial del Norte llegar hasta las costas de la península de Baja California, facilitando que los organismos de Centro América transporten su linaje a la porción norte del continente (Wyrski, 1965; Lavin *et al.*, 2006).

Considerando los altos valores de diversidad genética estimados en este estudio, se podría inferir que la población del tiburón bironche se encuentra estable, que no ha pasado por un reciente proceso de cuello de botella que pudiera haber reducido la diversidad de la población, tal como se sugiere sucedió con *C. falciformis* (Galván-Tirado *et al.*, 2013) cuya reducción drástica de la población incidió en la presencia de bajos niveles de diversidad genética ($h = 0.48$; $\pi = 0.00009$). Hoazel (2006) y Taguchi (2014), indican que los eventos de cuello de botella afectan de manera más frecuente a organismos con hábitos alimenticios especialistas, como el propio *C. falciformis* (Cabrera-Chavéz-Costa *et al.*, 2010) y *Cetorhinus maximus*, ya que cuando los recursos alimentarios de los que dependen se ven disminuidos, se produce una disminución considerable en el tamaño poblacional durante el proceso de estabilización de la especie.

Por otro lado, las especies con hábitos alimenticios generalistas u oportunistas como *Prionace glauca* (Markaida y Sosa-Nishizaki, 2010) y el mismo *R. longurio* (Conde, 2009; Osuna-Peralta *et al.*, 2014), al no tener preferencias por un solo tipo de presa, sino por su incidencia en una mayor variedad de presas potenciales, le permite mantener una población saludable y altos valores de diversidad genética.

Estructura genética y patrones filogeográficos

Salomón-Aguilar (2009) realizó una compilación de las zonas de crianza y temporadas de reproducción para las especies de tiburones presentes dentro del Golfo de California. En este trabajo, se identificaron cuatro áreas de crianza para *R. longurio*: El Golfo de Santa Clara, Son.; Puerto Peñasco, Son.; San Francisquito, B.C. y Mazatlán, Sin. La información contenida en ese estudio indica que las hembras preñadas y los organismos neonatos se encuentran de febrero a junio. Una zona de crianza adicional en la Bahía de La Paz fue propuesta por Trejo-Ramírez (2016).

La presencia de estas áreas de crianza podría sugerir la existencia de poblaciones genéticamente distintas o el establecimiento de un comportamiento filopátrico asociado a las hembras, como ha sido sugerido por Félix-López *et al.* (2019) para *S. lewini* en el Pacífico mexicano mediante el análisis de secuencias de ADNmt. Sin embargo, los resultados obtenidos del AMOVA no soportaron estadísticamente la presencia de una especie estructurada en poblaciones ($\Phi_{st} = 0.01854$; $P = 0.06061$). El AMOVA perteneciente al grupo de hembras y juveniles tampoco aportó evidencia de una estructura genética ($\Phi_{st} = 0.01625$; $P = 0.14858$).

La ausencia de una estructura genética poblacional en el tiburón bironche se soportó también mediante los resultados encontrados a partir del modelo de mezcla empleando análisis Bayesianos, que asignaron a los individuos en un grupo único. Tampoco se encontró un patrón filogeográfico claro mediante la red de mínima expansión ni a partir del análisis en el HierBAPS, el cual soportó la existencia de dos clados, pero ambos estuvieron presentes en todos los sitios de muestreo. Los resultados anteriores no son compatibles con los reportados para otras especies del mismo género.

Mendonça *et al.*, (2011 y 2013) detectaron que tanto en *Rhizoprionodon porosus* como en *R. lalandii* se encontraron dos poblaciones ($\Phi_{st} = 0.237$, $P < 0.0001$; $\Phi_{st} = 0.254$, $P < 0.0001$, respectivamente), una al norte, en el Caribe venezolano y otra al sur, en el Atlántico brasileño. Según los autores, las causas de esta estructura poblacional se debe a la bifurcación que se produce de la Corriente Ecuatorial del sur en el Océano Atlántico. Esta corriente, al impactar con las costas brasileñas forma dos corrientes en

sentidos opuestos, una que se dirige al norte y que se transforma en la corriente de Brasil del norte (32Sv) y otra que se dirige al sur y que conforma la corriente de Brasil (11Sv), desplazándose hasta costas antárticas. Ambas corrientes resultantes llegan a tener velocidades de hasta 1.0ms^{-1} (Castro *et al.*, 1998). Las condiciones que se presentan en este sitio ya han sido reportadas como barrera geográfica para la dispersión de las especies de peces marinos en el Atlántico Sur (Santos *et al.*, 2003; Rocha *et al.*, 2007).

En el Pacífico Oriental Tropical la dinámica de las corrientes marinas pueden ser relevantes para explicar la ausencia de una estructura poblacional bien delimitada de *R. longurio* debido a que las condiciones de las corrientes presentes en la zona (Corriente de California, Corriente Ecuatorial y la Contracorriente Ecuatorial) y su estacionalidad podrían favorecer el desplazamiento de los individuos y una relativamente elevada conectividad a lo largo de su área de distribución.

Este patrón, que caracteriza la ausencia de una evidente estructura genética, también ha sido observado en el tiburón martillo *Sphyrna zigaena* (Bolaño-Martínez *et al.*, 2019) a partir del análisis de secuencias de ADNmt. En esta especie no se detectaron diferencias a lo largo del Pacífico Mexicano, desde la costa occidental de la península de Baja California hasta las costas del estado de Chiapas.

Los resultados encontrados por Castillo-Olguín (2012) en *S. lewini* tampoco soportaron diferencias poblacionales a partir de la Región control del ADNmt, sin embargo ellos identificaron tres poblaciones cuando basaron sus análisis en microsatélites (ADNn). En ese sentido, la no detección de una estructura genética poblacional mediante secuencias del ADNmt también puede ser debido a la ausente fijación de mutaciones diferentes en las poblaciones, debido a procesos de divergencia recientes o relativamente lentos que se pueden apreciar de mejor manera con la ventana de tiempo que aportan los microsatélites (Arif y Khan, 2009).

Los resultados encontrados en el presente estudio tampoco permitieron soportar una filopatria por parte de las hembras en el tiburón bironche. En consecuencia, y hasta que otros marcadores no lo contradigan, estos datos podrían indicar que las hembras grávidas se podrían desplazar a diferentes áreas de crianza en el Pacífico mexicano,

hasta encontrar un sitio adecuado para parir a sus crías. Estudiando las poblaciones de *Carcharinus limbatus*, en las zonas del golfo de México, norte de Yucatán y el mar Caribe, Kenney *et al.* (2005) encontraron diferencias genéticas entre las áreas de crianza de esta especie empleando ADNmt y microsatélites. Considerando el alto nivel de estructura genética encontrado mediante el ADNmt estos autores sugieren la existencia de un patrón filopátrico asociado a las hembras. Debido a que en el tiburón bironche no fueron detectadas diferencias genéticas, la presencia de un patrón filopátrico de las hembras no fue soportada.

Los valores negativos del índice F_u y el nivel de significancia estadística obtenido sugieren que la población de *R. longurio* atravesó por un proceso de expansión poblacional repentina (Fu, 1996). Estos resultados fueron también soportados mediante el análisis de la frecuencia de las diferencias nucleotídicas (Mismatch distribution) ya que la distribución de los valores observados se aproximó a los valores esperados mediante el modelo de expansión, descrito de manera general por una distribución unimodal.

Según el análisis realizado, la expansión poblacional sucedió durante el Pleistoceno. Diversos autores mencionan que las glaciaciones que ocurrieron durante el Pleistoceno son los eventos más importantes para la filogeografía del ADN mitocondrial y la estructura poblacional de las especies de peces marinos (Beheregaray *et al.*, 2002; Grunwald *et al.*, 2002; Mendonça *et al.*, 2011; Chabot *et al.*, 2015), ya que al generar cambios drásticos en los patrones ecológicos, modificando la temperatura superficial del mar, la dirección de las corrientes oceánicas y el nivel de los océanos, propician procesos de extinción, colonización y expansión poblacional (Grant y Bowen, 1998; Alvarado-Bremer *et al.*, 2005).

Durante los periodos interglaciares del Pleistoceno las condiciones climáticas fueron optimas, pudiendo así haber influido en la recuperación y dispersión de *R. longurio* a lo largo de las costas del Pacífico Oriental Tropical. Otras especies de elasmobranquios como *Sphyrna lewini*, *S. tiburo* y *S. zygaena* han sido impactados de manera similar por estos procesos climáticos (Castillo-Olguín *et al.*, 2012; Escatell-Luna *et al.*, 2015; Felix-Lopez *et al.*, 2019). Procesos similares de períodos de

expansión también han sido reportados en el Atlántico para *R. porosus* (Mendonça *et al.*, 2011). Se ha sugerido que las especies con mayor capacidad de movimiento fueron capaces de buscar condiciones aptas para sobrevivir durante los periodos glaciares y cuando las condiciones eran favorables durante los periodos interglaciares pudieron expandir sus poblaciones, ocupando nuevos hábitats disponibles (Mendonça *et al.*, 2011; Felix-López *et al.*, 2019).

11. CONCLUSIONES

R. longurio presentó valores de diversidad relativamente altos. Además estos fueron similares a lo largo del Océano Pacífico Oriental Tropical.

A partir del análisis de la Región Control del genoma mitocondrial no fue posible soportar una estructura poblacional en *R. longurio*. Tampoco se soportó la existencia de un patrón filopátrico asociado a las hembras.

Los análisis de demografía histórica indican procesos demográficos relativamente similares a lo largo del área de distribución de la especie. Estos análisis sugieren que *R. longurio* pasó por un evento de expansión poblacional repentina ocurrida en el Pleistoceno.

Mientras no se cuente con nueva información, se sugiere considerar que esta especie carece de una estructura genética y que se encuentra integrada por una sola población.

12. RECOMENDACIONES

Debido a que no fue detectada una estructura poblacional para *R. longurio* en el Océano Pacífico Oriental Tropical utilizando el marcador molecular del ADNmt se recomienda ampliar el número de muestras y llevar a cabo un análisis con otros marcadores altamente polimórficos como los microsatélites (ADNn), cuyo potencial para evidenciar procesos de divergencia a una menor escala temporal es alto.

Con estos nuevos análisis se permitirá apoyar de manera más robusta la definición de Unidades de Manejo enfocadas a realizar una pesca sustentable y responsable.

LITERATURA CITADA

- Abd-Elsalam, K. A. 2003. Bioinformatic tools and guideline for PCR primer desing. *African Journal Biotechnology*. 2(5):91-95.
- Alvarado-Bremer, J.R., J. Viñas, J. Metujo, B. Ely & C. Pla. 2005. Comparative phylogeography of Atlantic bluefin tuna and swordfish: The combined effects of vicariance, secondary contact, introgression, and population expansion on the regional phylogenies of two highly migratory pelagic fishes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 36: 169–187.
- Amador, J.A., E.J. Alfaro, O.G Lizano & V.O. Magaña. 2006. Atmospheric forcing of the eastern tropical Pacific: a review. *Progress in Oceanography* 69 (2–4), 101–142
- Arif, I.A. & H.A. Khan. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32(1): 9-17.
- Beheregaray, L.B., P. Sunnucks & D.A. Briscoe. 2002. A rapid fish radiation associated with the last sea level changes in the southern Brazil: the silverside *Odontesthes perugiae* complex. *Proc Soc Lond Ser B Biol Sci*, 269: 65-73.
- Bergoeing, J.P. 2011. Los dos últimos periodos glaciares y la constitución de sackungs en Talamanca, Costa Rica. *Revista Geográfica*, 149:47-65.
- Bizzarro, J. J., W. D. Smith, R. E. Hueter, J. Tyminski, J. F. Márquez-Farías, L. J. L. Castillo-Géniz, G. M. Cailliet & J. C. Villavicencio-Garayzar. 2007. El estado actual de los tiburones y rayas sujetos a explotación comercial en el Golfo de California: una investigación aplicada al mejoramiento de su manejo pesquero y conservación. *Laboratorios Marinos de Moss Landing*. Traducción por: J. Leonardo Castillo-Géniz. *Moss Landing Marine Laboratories, Tech. Pub.* 2009–02.
- Bohonak, A. J. 2002. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity*, 93: 153-154.
- Bolaño-Martínez, N., S. Hernández-Muñoz, M. Uribe-Alcocer, F. Galván-Magaña, P.A. Ritchie, F.J. García-De León & P. Díaz-Jaimes. 2019. Population genetic

divergence as consequence of past range expansion of the smooth hammerhead shark *Sphyrna zygaena*. *Hydrobiologia*. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-3957-0>.

Cabrera-Chavéz-Costa, A.A., F. Galván-Magaña & O. Escobar-Sánchez. 2010. Food habits of the silky shark *Carcharinus falciformis* (Muller & Henle, 1839) off the western coast of Baja California Sur, Mexico. *Journal of Applied Ichthyology*, 26: 499-503. doi:10.1111/J.1439-0426.2010.01482.X

Castillo-Olguín E., M. Uribe-Alcocer & P. Díaz-Jaimes. 2012. Evaluación de la estructura genética poblacional de *Sphyrna lewini* para la identificación de unidades de conservación en el Pacífico mexicano. *Ciencias Marinas*. 38(4): 635-625.

Castro, A.L.F., B.S. Stewart, S.G. Wilson, R.E. Hueter, M.G. Meekan, P.J. Motta, B.W. Bowen & S.A. Karl. 2007. Population genetic structure of Earth's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*). *Molecular Ecology*, 16: 5183-5192. Doi: 10.1098/rsbl.2006.0441

Castro, B.M., F.P. Brandini, A.M.S. Pires-Vanin & L.B. Miranda. 2006. Multidisciplinary oceanographic processes on the western Atlantic continental shelf between 4°N and 34°S. Chapter 8, In: *The Sea*, Vol.14 The Global Coastal Ocean: Interdisciplinary Regional Studies and Syntheses.

Castro J. I. 2011. *The Sharks of North America*. Oxford University Press, USA. 613 p.

Chabot C. L., M. Espinoza, I. Mascareñas-Osorio & A. Rocha-Olivares. 2015. The effect of biogeographic and phylogeographic barriers on gene flow in the brown smoothhound shark, *Mustelus henlei*, in the northeastern Pacific. *Ecology and Evolution* 5 (8): 1585-1600.

Clarke, C.R., S.A. Karl, R.L. Horn, A.M. Bernard, J.S. Lea, F.H. Hazin, P.A. Prodöhl & M.S. Shivji. 2015. Global mitochondrial DNA phylogeography and population structure of the silky shark, *Carcharinus falciformis*. *Mar. Biol.*, 162: 945-955. Doi: 10.1007/s00227-015-2636-6.

- Conapesca. 2018. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca 2017. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 300p.
- Conde, M. 2009. Ecología trófica del tiburón bironche, *Rhizoprionodon longurio* (Jordan y Gilbert, 1882), en dos áreas del Pacífico mexicano. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos. 94p.
- Compagno, L. J. V.; Krupp, F. & W. Schneider. 1995. Tiburones. 647-743pp. In: Fischer W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter & V.H. Niem. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Orienta. Volumen II. Vertebrados – Parte 1. FAO. Roma. 1995. Vol. II: 647 – 1200 p.
- Corro-Espinosa, D., J.F. Márquez-Farías & A. Muhlia-Melo. 2011. Size at maturity of the Pacific sharpnose shark *Rhizoprionodon longurio* in the Gulf of California, Mexico. *Ciencias Marinas*, 37(2): 201-214.
- Corro-Espinosa, D. 2011. Dinámica Poblacional del Tiburón Bironche, *Rhizoprionodon longurio* (Jordan y Gilbert, 1882), en el Golfo de California. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias de Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 152p.
- Ebert D. A. 2003. Sharks, Rays and Chimaeras of California. California Natural History Guides No. 71. Los Angeles, California. 284.
- Escatel-Luna, E., D.H. Adams, M. Uribe-Alcocer, V. Islas-Villanueva & P. Díaz-Jaimes. 2015. Population genetic structure of the Bonnethead Shark, *Sphyrna tiburo*, from the western North Atlantic Ocean base on mtDNA sequences. *Journal of Heredity*, 106: 355-365.
- Excoffier L., P. E. Smouse & J. M. Quattro. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics Society of America*. 131: 479-491.
- Excoffier L. & H. Lischer. 2011. Arlequin Ver. 3.5 An Integrate Software Package for Populations Genetics Data Analysis. *Swiss Institute of Bioinformatics*. 171p.

- FAO. 2015. Plan de Acción Internacional para la conservación y gestión de las poblaciones de tiburones. <http://www.fao.org/ipoa-sharks/background/es/>
- Félix-López, D.G., N. Bolaño-Martínez, P. Díaz-Jaimes, E.C. Oñate-González, J. S. Ramírez Pérez, E. García-Rodríguez, D. Corro-Espinosa, J.E. Osuna-Soto & N. Saavedra-Sotelo. 2019. Possible female philopatry of the smooth hammerhead shark *Sphyrna zygaena* revealed by genetic structure patterns. *Fish Biology*. DOI: 10.1111/jfb.13949
- Fiedler, P.C. & L.D. Talley. 2006. Hydrography of the eastern tropical Pacific: a review. *Progress in Oceanography* 69 (2–4), 143–180.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth and background selection. *Genetics*. 147: 915-925.
- Galván-Tirado C., P. Díaz-Jaimes, F. J: García-de León, F. Galván-Magaña & M. Uribe-Alcocer. 2013. Historical demography and genetic differentiation inferred from the mitochondrial DNA of the silky shark (*Carcharinus falciformis*) in the Pacific Ocean. *Fisheries Research*. 147: 36-46.
- Grant, W.S. & B.W. Bowen. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J. Hered.* 89: 415-425.
- Grant, W.S., J.L. García-Marín & F.M. Utter. 1999. Defining Population Boundaries for Fishery Management. 27-72, In: Mustafa, S. Genetics in Sustainable Fisheries Management. *Fishing News Books*. London.
- Grunwald, C. J. Stabile, J.R. Waldman, R. Gross & I. Wirgin. 2002. Population genetics of shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* based on mitochondrial DNA control region sequences. *Mol Ecol*, 11: 1885-1898.
- Hoelzel, R.A., M.S. Shivji, J. Magnussen & M.P. Francis. 2006. Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*). *Biology Letters*, 2: 639-642. doi:10.1098/RSBL.2006.0513
- Karl, S.A., A.L.F. Castro, J.A. Lopez, P. Charvet & G.H. Burgess. 2011. Phylogeography and conservation of the bull shark (*Carcharinus leucas*) inferred

from mitochondrial and microsatellites DNA. *Conserv. Genet.*, 12: 371-382. Doi: 10.1007/s10592-010-0145-1

Keeney, D.B., M.R. Heupel, R.E. Hueter & J. Heist. 2005. Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of the genetic structure of blacktip shark (*Carcharinus limbatus*) nurseries in the northwestern Atlantic, Gulf of Mexico, and Caribbean Sea. *Molecular Ecology*, 14: 1911-1923. Doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02549.x

Lavín M.F., P.C. Fiedler, J.A. Amador, L.T. Ballance, J. Färber-Lorda & A.M. Mestas-Nuñez. A review of the eastern tropical Pacific oceanography: Summary. *Progress in Oceanography*, 69: 391-398.

Markaida, U. & O. Sosa-Nishizaki. 2010. Food and feeding habits of the blue shark *Prionace glauca* caught off Ensenada, Baja California, Mexico, with a review on its feeding. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90: 977-994. doi:10.1017/S0025315409991597.

Martin A.P. & S.R. Palumbi. 1993. Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:4087–4091.

Márquez-Farias, J.F., D. Corro-Espinosa & J.L. Castillo-Géniz. 2005. Observation on the Biology of the Pacific Sharpnose Shark (*Rhizoprionodon longurio*, Jordan and Gilbert, 1882), Captured in Southern Sinaloa, México. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 35: 107-114. doi: 10.2960/J.v35.m506.

Meirmans, P. G. & P. W. Hedrick. 2011. Assessing populations structure: *Fst* and related measures. *Molecular Ecology Resources*. 11 (1) 5-18.

Mendonça F.F., C. Oliveira, O.B.F. Gadig & F. Foresti. 2009. Populations analysis of the Brazilian Sharpnose Shark *Rhizoprionodon lalandii* (Chondrichthyes: Carcharhinidae) on the São Paulo coast, Southern Brazil: inferences from mtDNA sequences. *Neotropical Ichthyology* 7: 213–216.

Mendonça F.F., Oliveira C., O.B.F. Gadig & F. Foresti. 2013 Diversity and genetic population structure of the Brazilian Sharpnose Shark *Rhizoprionodon lalandii*.

Aquatic Conservation: *Marine and Freshwater Ecosystems*. Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/aqc.2342.

Mendonça F.F., C. Oliveira, O.B.F. Gadig & F. Foresti. 2011. Phylogeography and genetic population structure of Caribbean sharpnose shark *Rhizoprionodon porosus*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 21: 799–814.

OSPESCA. 2011. Plan de Acción Regional para la Ordenación y Conservación de los Tiburones en Centroamérica (PAR-TIBURON). Grupo Técnico Regional de Tiburones (GTRT) de la Organización del Sector Pesquero y Acuícola del Istmo Centroamericano (OSPESCA), 26p.

Osuna-Peralta, Y.R., D. Voltolina, R.E. Morán-Angulo & J.F. Márquez-Farías. 2014. Stomach contents of the Pacific sharpnose shark, *Rhizoprionodon longurio* (Carcharhiniformes, Carcharhinidae) in the southeastern Gulf of California. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 42(3): 438-444.

Posada, D. 2008. jModeTest: Phylogentec Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7): 1253-1256.

Ramírez-Amaro. 2009. Variabilidad de la región control del ADN mitocondrial del tiburón Angelito (*Squatina californica*) en el Golfo de California y la costa occidental de la Península de Baja California Sur. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Para obtener el grado de Licenciado en Biología Marina. 86pp.

Rice, W. R. 1989. Analyzing Table of Statistical Tests. *Evolution*, 43 (1): 223-225.

Riddle B. R., D. J. Hafner, L. F. Alexander & J. R. Jaeger. 2000. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert Biota. *PNAS*, 97(26): 14438-14443.

Rocha, L.A., M.T. Craig & B.W. Bowen. 2007. Phylogeography and the conservation of coral reef fishes. *Coral Reefs*, 26: 501-512.

Rocha-Olivares, A. & J.R. Sandoval-Castillo. 2003. Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Ciencias Marinas*, 29(2): 197-209.

- Rogers, A.R. & H. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology Evolution*. 9: 522-569.
- Salomón-Aguilar, C.A., C.J. Villavicencio-Garayzar & H. Reyes-Bonilla. 2009. Sharks breeding grounds and seasons in the Gulf of California: Fishery management and conservation strategy. *Ciencias Marinas*, 35(4): 369-388.
- Sandoval-Castillo J. & A. Rocha-Olivares. 2004. Cryptic isolation of Gulf of California shovelnose guitarfish evidence by mitochondrial DNA. *Marine Biology*. 145: 983-988.
- Santos, S., H. Schneider & I. Sampaio. Genetic differentiation of *Macrodon ancylodon* (Scianidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. *Genetics and Molecular Biology*, 26: 151-161.
- Schneider, S. & L. Excoffier. 1999. Estimation of demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: Application to human mitochondrial DNA. *Genetics*. 152: 1079-1089.
- Shultz, J.K., K.A. Feldheim, S.H. Gruber, M.V. Ashley, T.M. McGovern & B.W. Bowen. 2008. Global phylogeography and seascape genetics of the lemon sharks (genus *Negaprion*). *Molecular Ecology*, 17: 5336-5348.
- Stow, A., K. Zenger, D. Briscoe, M. Gillings, V. Peddemors, N. Otway & R. Harcourt. 2006. Isolation and genetic diversity of endangered grey nurse shark (*Carcharias Taurus*) populations. *Bio. Lett.*, 2: 308-311, doi: 10.1098/rsbl.2006.0441.
- Tajima, F. 1993. Measurement of DNA polymorphism. In: *Mechanisms of Molecular Evolution*. Introduction to Molecular Paleopopulation Biology. Edited by Takahata, N. and A.G. Clark., Tokyo, Sunderland, MA: Japan Scientific Societies Press, Sinauer Associates, Inc. 37-59.
- Tajima, F. 1996. The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. *Genetics*. 143: 1457-1465.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski & S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.

- Tamura, K. & M. Nei. Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 10(3): 512-526.'
- Thompson, J.D., T.J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin & D.G. Higgins. 1997. The ClustalW Windows interface flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24: 4876-4882.
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M. & Rozen, S. G. (2012). Primer 3—new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40(15), e115. <http://doi.org/10.1093/nar/gks596>.
- Uribe-Echeverry P.T., Herrera-Cañon J.C., Orozco-Clavijo N.J. & Betancur-Pérez J.F. 2013. Uso alternativo del colorante GelRed en la tinción de ácidos nucleicos. *Arch Med (Manizales)*. 13(2):160-66.
- Vannuccini, S. 1999. Shark Utilization, Marketing and Trade. FAO Fisheries Technical Paper. Rome. <http://www.fao.org/3/x3690e/x3690e00.htm>
- Wyrski, K., 1965. Surface current of the Eastern Equatorial Pacific Ocean. *Inter. Amer. Trop. Tuna Comm. Bull.*, 9(5): 270-304.
- Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S. & Madden, T. L. (2012). Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, 13, 134. <http://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>.