



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

**FILOGEOGRAFÍA Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL
DEL TIBURÓN MARTILLO *Sphyrna zygaena* EN EL OCÉANO
PACÍFICO ORIENTAL**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
NATALY BOLAÑO MARTÍNEZ**

TUTOR PRINCIPAL
Dr. Píndaro Díaz Jaimes
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau
Instituto de Ecología

ASESORES EXTERNOS:
Dr. Felipe Galván Magaña
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
Instituto Politécnico Nacional
Dr. Javier Tovar Ávila
Centro Regional de Investigación Pesquera-Bahía Banderas
Instituto Nacional de Pesca
Dr. Francisco Javier García De León
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.

MÉXICO, CD.MX., mayo, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



**FILOGEOGRAFÍA Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL
DEL TIBURÓN MARTILLO *Sphyrna zygaena* EN EL OCÉANO
PACÍFICO ORIENTAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:
NATALY BOLAÑO MARTÍNEZ

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Píndaro Díaz Jaimes

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau

Instituto de Ecología

ASESORES EXTERNOS:

Dr. Felipe Galván Magaña

Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas

Instituto Politécnico Nacional

Dr. Javier Tovar Ávila

Centro Regional de Investigación Pesquera-Bahía Banderas

Instituto Nacional de Pesca

Dr. Francisco Javier García De León

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.

MÉXICO, CD.MX., mayo, 2022

Agradecimientos

Agradecimientos al Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología por todo el apoyo recibido durante mis estudios de doctorado.

Al todo al personal que ahí laboran que hizo posible los diversos trámites para contribuir a la formación académica y obtención del grado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada a lo largo del doctorado y a Gaby por su colaboración durante este proceso.

Al Programa de Apoyo a proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT): IG201215.

A mi director de tesis el Dr. Píndaro Díaz Jaimes por su apoyo durante las diferentes etapas del desarrollo del proyecto de tesis, por alentarme y aconsejarme en los momentos más complicados en diversos ámbitos.

Al comité tutorial, Dr. Felipe Galván Magaña, Dr. Daniel Piñero Dalmau, el Dr. Francisco J. García de León, Javier Tovar Ávila y el Dr. Manuel Uribe, quienes, con sus valiosas discusiones y críticas constructivas, sugerencias y tiempo dedicado al presente estudio y escrito, pues contribuyeron a este trabajo culminara de la mejor manera.

Agradezco mucho a colegas y amigos incondicionales Dr. Heriberto Santana del CRIP de Manzanillo, Dr. Javier Tovar y M. en C. Edith del CRIP de Bahía Banderas, Al Dr. Felipe Galván M. en C. Elba Prieto del Ministerio de la producción del Perú, M en C. Uriel Mendoza del Posgrado de Ciencias Biológicas de la UNAM, Dr. Sebastián Hernández de la Universidad de Veritas que colaboraron en la obtención de muestras para este estudio y sus valiosos comentarios lo largo del trabajo.

A la M. en C. Laura Márquez del laboratorio de Biología Molecular de la UMAN, por el procesamiento de muestras.

A los compañeros del laboratorio de genética de organismos acuáticos quienes me brindaron su mano cuando lo necesité y todos los gratos y complicados y difíciles momentos... especialmente a Carolina Galván, Lulú, Linda, Nadia, Valentina.

Al actual Dr. Jaime Gasca quien me estuvo ahí en uno de los momentos clave de este proceso.

Al M en C. Luis Espinosa por las largas conversaciones que terminaban en interesantes discusiones.

A mi madre, mi padre, mis hermanas, hermanos, mis suegros, mi cuñada, a mi compañero de la vida y profesión Uriel, porque sin su apoyo incondicional con mis niños y apoyo moral, ésta meta no se hubiese cristalizado.

A mis más grandes amores Tlacaelel, Tonatiuh y mi más reciente tesoro Ollin por ese hacer crecer en mí esa fuerza de voluntad de seguir adelante cuando todo se tornaba oscuro.

A tod@s mis amigos y colegas que me brindaron su apoyo incondicional desde aquí y a la distancia me animaron con sus palabras y abrazos.... Olyn, Héctor Peralta, Nallely, Mariana, Paty, Niza, Enrique, Liliana, Benjamín, Dra. Valeria, Dra. Belia, Ramón Bonfil, Rafael, Michelle, Jhaslibeth, Cheryl, Marcos, Moni, Rafa.

Al universo, la madre naturaleza y a los tiburones ... seres maravillosos que han sido mi fuente de inspiración desde el principio de mi profesión y por los que he cruzado fronteras.

Gracias a cada una de las personas que estuvieron siempre a mi lado por su cariño, palabras de aliento y escucharme cuando más los necesité en este arduo y largo camino.

¡INFINITAS GRACIAS A DIOS!

¡¡A TODOS MIS COMPAÑEROS EN LA AVENTURA!!

Dedicado a....

*A mis pequeños **Tlacaelel**, **Tonatiuh** y **Ollin** que siempre han sido mi mayor motivación en los momentos difíciles.*

*A mi esposo, compañero, colega, amigo **Uriel** por su apoyo animarme a embarcarme en este reto.*

*A mi madre **Aracely**, mi papá **Chiche**, mis hermanas **Eva** y **Gulya** y a mi **Cabeto** que siempre me han alentado a seguir mis sueños por raros que les perezcan. Por su infinito amor y fortaleza que me transmitieron a pesar de la distancia.*

*A mi familia mexicana **Don Ricardo**, **Sra. Lau**, **Montse** y **Lua** por todo su apoyo cuando no estaba en casa.*

A los tiburones y a la madre naturaleza.

CONTENIDO

Índice de figuras.....	i
Índice de tablas.....	iii
Resumen.....	iv
Abstract	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1 Biología de <i>Sphyrna zyagena</i>	7
2.2 Estudios de Filogeografía y Genética de Poblaciones	9
3. ÁREA DE ESTUDIO.....	13
4. JUSTIFICACIÓN	16
5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	17
6. HIPÓTESIS	18
7. OBJETIVO GENERAL	19
7.1 Objetivos específicos	20
8. MATERIALES Y MÉTODOS	21
8.1 Trabajo de campo	21
8.2 Trabajo de laboratorio	23
8.2.1 Extracción de ADN	23
8.2.2 Amplificación de la región control del ADN mitocondrial (RC-ADNmt) y nuclear	23
8.2.2.1 Región control del DNA mitocondrial (DNAmt-RC)	23
8.2.2.2. Genotificación de Microsatélites	24
8.3 Análisis estadístico de datos del ADN mitocondrial	27
8.3.1 Diversidad Genética	28
8.3.2 Diferenciación genética	29
8.3.3. Análisis de Filogeografía y Demografía histórica	31
8.4 Análisis de datos del DNA nuclear (microsatélites)	34
8.4.1 Diversidad Genética	35
8.4.2 Nivel de diferenciación genética (microsatélites)	35
9. RESULTADOS.....	36
9.1 ADN mitocondrial (región control)	36
9.1.1 Diversidad genética y filogenia de haplotipos	36
9.1.2 Divergencia genética de <i>Sphyrna zygaena</i> en el OPO	38

9.1.3 Filogeografía, Demografía histórica	41
9.2 ADN nuclear (loci microsatélites)	27
9.2.1 Genotipificación y calidad de los datos	45
9.2.2 Diversidad genética	45
9.2.3 Diferenciación genética	47
10. DISCUSIÓN	50
10.1 Diversidad genética	27
10.2 Divergencia genética e historia demográfica de <i>Sphyrna zygaena</i> en el OPO	27
11. RECOMENDACIONES EN LAS PESQUERÍAS Y MANEJO	65
12. CONCLUSIONES	69
13. LITERATURA CITADA	71
14. ANEXOS	96

Índice de figuras

Figura 1. Distribución del tiburón martillo <i>Sphyrna zygaena</i> en los océanos del mundo. (Tomado de Ebert et al. 2013)	8
Figura 2. Circulación de las corrientes y masas de agua en el Océano Pacífico Oriental según Wyrтки (1965)	14
Figura 3. Sitios de muestreo del tiburón martillo <i>Sphyrna zygaena</i> en el Océano Pacífico Oriental con su respectivo clave y número de muestra. Bahía Tortuga (BT), Las Barrancas (BR), San Lázaro (SL), Punta Lobos (PL), Nayarit (NA), Colima (CO), Chiapas (CP), Manta (MA), Santa Rosa (SR), Máncora (MC) y Caldera (CA).....	22
Figura 4. Red de haplotipos de <i>Sphyrna zygaena</i> con base en secuencias de la Región Control de ADNmt. A. Ilustra los haplotipos de la población Norte y Sur. B. La misma red donde se detallan los sitios de muestro. Zonas norte: BT: Bahía tortuga, LB: Las Barrancas, SL: San Lázaro, CO: Colima, NA: Nayarit, CP: Chiapas. Zona Sur: SR: Santa Rosa, MA: Manta, MC: Máncora, CA: Caldera. Los círculos son proporcionales al número de muestras para cada haplotipo, junto a la imagen que muestra la zona de estudio.....	42
Figura 5. El análisis bayesiano estructura génica. (A) y configuración georeferenciada de las poblaciones de <i>Sphyrna zygaena</i> en el Océano Pacífico Oriental (B y C) con el programa GENLAND (Guillot et al. 2005b, 2008) donde se puede distinguir los dos grupos diferenciados geográficamente.....	43
Figura 6. Perfil de horizonte bayesiano (BSPs) que representa el cambio del tamaño efectivo poblacional de <i>S. zygaena</i> a través del tiempo, Pacífico Norte (A) y Sur (B) inferidos a partir de le región control del RC-ADNmt. La línea negra es la estimación promedio y el área de color gris indica los intervalos de confianza de 95% de la densidad posterior más alta (HPD).....	44

Figura 7. A. Probabilidad media y varianza para cada valor de K, basados en 105 individuos de *S. zygaena*, genotipados con 4 loci de microsatélites diseñados para *S. lewini*; con base al Método de Evanno aplicado en el programa Structure Harvester. Los datos se ajustan a una $K=1$. **7B.** Asignación de grupos genéticamente homogéneos con base a la tasa de cambio ΔK (Evanno *et al.* 2005), para cuatro microsatélites. Los datos se ajustan mejor a una $K=1$**48**

Figura 8. Test de diferenciación genética realizado con STRUCTURE (Pritchard *et al.* 2000) empleando cuatro microsatélites. Mayor probabilidad de asignación de grupo de los organismos de cada sitio de *S. zygaena* en el Océano Pacífico Oriental, basado en datos de cuatro microsatélites $K=1$ diseñados para *S. lewini***49**

Figura 9. Resultado gráfico del análisis de flujo génico de *S. zygaena* en base a DNAmT-RC a lo largo del OPO con el programa BARRIER.....**58**

Índice de tablas

Tabla 1. Listado de loci empleados para <i>Sphyrna zygaena</i>	25
Tabla 2. Loci microsatélites de <i>Sphyrna lewini</i> usados para el estudio poblacional de <i>Sphyrna zygaena</i> en el Océano Pacífico Oriental	26
Tabla 3. Índices de diversidad Genética de la región control de <i>Sphyrna zygaena</i> en las poblaciones del Pacífico Oriental.....	38
Tabla 4. Estimaciones pareadas de ϕ_{st} por sitios de muestreo de la región control del ADNmt de <i>Sphyrna zygaena</i> debajo de la diagonal y valores de P por encima de la diagonal, los valores resaltados con negrita son significativos y están ajustados con la prueba de Bonferroni (inicial $\alpha = 0.05/55 = 0.0009$)	38
Tabla 5. Análisis espacial de varianza molecular con el programa SAMOVA (Dupanloup <i>et al.</i> 2002), realizado con secuencias de la RC del tiburón martillo <i>S. zygaena</i>	39
Tabla 6. Análisis jerárquico de AMOVA para secuencias de ADNmt <i>Sphyrna zygaena</i> en el Océano Pacífico Oriental, estructura espacial (Pacífico norte (BT, BR, SL, PL, CO, NA, CP) y Pacífico sur (SR, MA, MC, CA)	40
Tabla 7. Estimadores de diversidad genética por áreas de muestreo para cuatro microsatélites en el tiburón martillo <i>Sphyrna zygaena</i> en el Océano Pacífico Oriental.....	46
Tabla 8. Valores de mayor probabilidad de poblaciones (K) de <i>S. zygaena</i> en el OPO, con base a cuatro loci microsatélites obtenidos con el programa STRUCTURE.....	49
Tabla 9. Valores de F_{st} por grupos de zonas de muestreo de empleando microsatélites, los valores de (F_{st}) debajo de la diagonal y valores de P por encima de la diagonal.....	49

Resumen

De acuerdo con la UICN, el tiburón martillo *Sphyrna zygaena* está catalogada como vulnerable por la UICN y es una especie de importancia pesquera a nivel mundial. La filogeografía y estructura genética de *S. zygaena* fueron estudiadas a lo largo de su distribución en el Océano Pacífico Oriental (OPO) con base en 301 secuencias de la región control del ADN mitocondrial (RC-ADNmt) y cuatro loci de microsatélites. La diversidad genética global de la especie en el Océano Pacífico Oriental fue relativamente alta comparada con otras especies de elasmobranquios, al presentar una diversidad haplotípica (h) de 0.65 y nucleotídica (π) de 0.000119; los valores obtenidos de $H_o= 0.627$ y $H_E= 0.62$ fueron intermedios. A lo largo del OPO se identificaron dos unidades genéticas con el ADNmt una al norte y otra al sur del ecuador. La diversidad genética en la población sur fue mayor (h : 0.5701 +/- 0.0361 and π : 0.001 +/- 0.001) que la población norte (h : 0.0608 +/- 0.0291 and π : 0.062). La historia demográfica de *S. zygaena*, se analizó con la prueba de neutralidad y coalescencia basados en aproximaciones bayesianas; ambas poblaciones mostraron evidencia de expansión poblacional aproximadamente 8 500 años atrás en población norte y hace 25 000 años en la población sur. Los análisis de AMOVA con el DNAmnt proporcionó evidencia de la gran diferenciación entre las poblaciones norte y sur de la línea del Ecuador en el OPO (Φ_{CT} : 0.705 P: 0.0033), y dicho resultado fue contrastante con los obtenidos con los microsatélites, ya que el marcador nuclear identificó sólo una población de *S. zygaena* en el OPO. La información de la estructura genética de la población con el DNAmnt sugiere que las hembras de *S. zygaena* presentan cierto grado de comportamiento filopátrico (filopatría al sitio de nacimiento), mientras los machos contribuyen al flujo génico entre las poblaciones. La información generada en este trabajo podrá ser útil para la conservación y manejo de la especie no solo a niveles de nación, sino también internacional.

Palabras clave: *Sphyrna zygaena*, ADNmt, microsatélites, pesquería, conservación, antitropical, estructura genética, diferenciación genética, ciclos glaciales.

Abstract

According to UICN, *S. zygaena* is listed as a vulnerable globally species due to intensive fishing pressure. The purpose of this work is to present the results of the studies on the genetic structure and phylogeographic of the hammerhead shark *Sphyrna zygaena* in the Eastern Pacific Ocean (EPO) based on 301 mitochondrial sequences of Control Region (mtDNA) and four microsatélites loci. The total genetic diversity was relatively high compared to other elasmobranchs, it shows haplotype diversity (h) of 0.65, nucleotide diversity (π) of 0.000119; nuclear data values of H_o and H_e obtained $H_o = 0.627$ and $H_e = 0.62$ were intermediate. Two genetic population units were identified in the EPO with mtDNA. The genetic diversity was higher south of the EPO (h : 0.5701 +/- 0.0361 and π : 0.001 +/- 0.001) than in the northern area (h : 0.0608 +/- 0.0291 and π : 0.062). The historical demography of *S. zygaena* was examined using neutrality tests and coalescence analyses based on Bayesian approximations and both populations showed evidence of population expansion approximately 8 500 years ago in the north and 25 000 years ago in the south. The AMOVA analysis provided evidence of a high genetic differentiation between population groups north and south of the Equator in the EPO detected by means of the DNAmT (Φ_{CT} : 0.705 P: 0.0033), and the results were contrasting with those of the microsatellites, because these molecular markers identified only one population of hammerhead sharks in the EPO. This information in addition to the population genetic structure detected through mitochondrial DNA, suggests that *S. zygaena* females exhibit a greater degree of reproductive philopatry (natal site philopatry), while males resulting in sex-biased gene flow. The information generated in this work may be useful for the conservation and management of the species not only at nation levels, but also international.

1. INTRODUCCIÓN

El ambiente marino se ha considerado como un sistema carente de barreras a la dispersión, con ecosistemas únicos, comunidades que han dado lugar a gran diversidad marina (Toonen y Mol 2016) y a diversas distribuciones geográficas originadas por barreras oceanográficas (Burridge 2002), por lo que algunas especies se pueden caracterizar por exhibir niveles de divergencia genética bajos o nulos (Boomer et al. 2012) o puede haber concordancia en divergencias genéticas entre especies (Avice 1992, Carpenter et al., (2011), Toonen et al. (2011). Los elasmobranchios son uno de los grupos más exitosos y diversos, con más de 1000 especies conocidas en la actualidad en todo el mundo (Ebert et al. 2013). Esta diversidad es resultado de procesos de especiación ocurridos en muchas ocasiones en ausencia de barreras geográficamente distinguibles (Bernardi 2013). Por tanto, es fundamental comprender los componentes y los procesos históricos de la distribución espacial de linajes de genes considerando el tiempo y espacio que han dejado marcas evolutivas en la distribución geográfica actual de las especies (Avice 2000). Estimar los niveles de diversidad genética poblacional, es necesario para detectar niveles de flujo génico, eventos de divergencia, estimar tamaños poblacionales de una especie en el pasado, cómo fueron y qué ocasionaron sus fluctuaciones; así como determinar el grado de estructuración poblacional de las especies a lo largo de su distribución. Por esto, los estudios de genética molecular de poblaciones naturales empleando marcadores y técnicas especiales, juegan un papel preponderante en la determinación de estructura genética de los elasmobranchios; ya que ofrecen la oportunidad de generar bases científicas para el planeamiento y definición de estrategias de conservación y manejo de pesquerías de elasmobranchios (Heist 1999, Ward 2000, Dudgeon, et al., 2012)

Un marcador molecular es cualquier molécula proteica o secuencia de ADN con la que se puede detectar y comparar variaciones en el genoma (Avice 2000, Beebe y Rowe 2008). Sin embargo, cuando el proceso de aislamiento poblacional es reciente, la detección de la señal de divergencia es una tarea difícil. Por tanto, la implementación de marcadores moleculares con diferentes tasas evolutivas permite detectar procesos microevolutivos a una escala temporal distinta, accediendo a la reconstrucción de la historia de las poblaciones Heist et al. (1995).

La molécula de ADN mitocondrial (ADNmt), se encuentra conformada por 37 genes funcionales, 13 que codifican para ARNs mensajeros, 13 para proteínas y 22 que codifican para tARNs; presenta una alta tasa de evolución, en comparación con el ADN nuclear, por su menor tamaño efectivo poblacional, su herencia generalmente materna, su prácticamente nula recombinación (Avice 2000). En virtud de estas propiedades el ADNmt, es empleado en estudios filogeográficos, para intentar interpretar la extensión y modo en que los procesos demográficos históricos han dejado marcas evolutivas en la distribución geográfica actual de los caracteres genéticos contenidas en la molécula de ADN de los diversos organismos (Avice 2000, Vazquez-Domínguez 2007). Por su parte los microsatélites (o Short-Sequence Tandem Repeat, SSRT), son marcadores muy útiles debido a su alto nivel de polimorfismo, a su variación alélica y a su posibilidad de detectar alelos provenientes de ambos padres en organismos diploides, los hace útiles para identificación de individuos; detección de la variación genética intra e interespecífica, en el análisis de linajes, evaluar el flujo genético, el tamaño efectivo poblacional, la introgresión, y realizar análisis de paternidad, entre otros Edwars et al. (1991), Vendramin et al. 1998, Marshall et al. (1998), Aranguré-Mendez et al. (2005).

Debido a las ventajas características de los marcadores moleculares, la mayoría de los estudios genéticos poblacionales recientes consideran el uso simultáneo de ADN mitocondrial y nuclear, como por ejemplo los microsatélites (Heist et al. 1996). Por ello la aplicación de la genética molecular en los estudios de elasmobranquios en las últimas décadas han sido relevante para detectar el grado de conectividad entre poblaciones e identificar patrones filogeográficos (Keeney et al. (2003), Ovenden et al., (2010), Cochrane 2002, Dudgeon et al. (2012)), así como en la identificación de las Unidades Evolutivamente Significativa (por sus siglas en inglés ESUs). Estas últimas se definen como un grupo de organismos con características genéticas que surgen de una historia evolutiva independiente, con reclutamiento local y características biológicas únicas que deben ser manejadas independientemente (Moritz 1994, Fraser y Bernatchez 2001). No obstante, este nivel de organización poblacional para fines de conservación y/o manejo, pocas veces son contempladas junto con los parámetros de historia de vida de los tiburones, dinámica de captura, entre otros; a pesar de que han reportado ESUs en algunos grupos (Stein, et al., 2018) y especies de tiburones como *Alopias pelagicus* (Cardeñosa et al. 2014) y *Carcharhinus galapagensis* (Pazmiño et al. 2018). Por otra parte, la presencia de barreras oceanográficas (corrientes marinas, temperatura superficial del mar – TSM y en la columna de agua), geográficas (como istmo de panamá) y la dispersión diferencial de sexos, han sido los fenómenos que han permitido explicar las divergencias genéticas en elasmobranquios (Hueter et al. 2005, Dudgeon, et al., 2012).

La conectividad física entre las poblaciones de tiburones con distribución mundial ha sido analizada con datos obtenidos de métodos directos usando de marcaje convencional, acústico y satelital. De igual manera, se han empleado, métodos indirectos como marcadores moleculares (nucleares y mitocondriales) con los que se han detectado procesos de

divergencia. En ocasiones la combinación de los resultados de estudios con métodos directos e indirectos, se han complementado permitiendo un análisis más completo de la estructura poblacional de las especies estudiadas (Dudgeon, et al., 2012).

En el reporte de estudios basados en marcadores moleculares, predominan los bajos niveles de diversidad y diferenciación genética entre poblaciones, aunque también existe casos de estudio en los que se detecta de estructuración genética significativa junto bajos niveles de flujo génico. En muchos casos, la divergencia genética ha sido atribuida a comportamiento filopátrico, como en el tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Duncan et al. (2006), Nance et al. (2011)), el tiburón mielga *Squalus acanthias* (Veríssimo et al. 2010) y tiburón blanco *Carcharodon carcharias* (Pardini et al. 2001, Gubili, et al., 2011). La filopatría, se ha definido como el comportamiento de un individuo cuando retorna a su zona natal o área de crianza (Mayr, 1963) y permanece en ella durante años consecutivos (Hueter et al. 2005). Este comportamiento puede considerarse como filopatría natal, cuando retorna a su área natal de crianza mientras que la filopatría sexo-específica, sería la situación cuando uno de los dos sexos es filopátrico, frecuentemente es la hembra la que presenta este comportamiento (Hueter et al. 2005). Además, en los tiburones se ha reportado no solo filopatría a las zonas de crianza sino también a zonas de apareamiento y alimentación (Hueter et al. 2005).

La existencia de poblaciones genéticamente discretas con distinta capacidad de respuestas a las presiones ambientales es un aspecto por considerar en el diseño de estrategias de administración y conservación, dado el impacto que pueden tener las capturas sobre la diversidad genética de las ESUs y en consecuencia en su potencial adaptativo, debido la pérdida de variación genética única en poblaciones locales (Keeney et al. (2003), Graves 1998). Este hecho, destaca la relevancia del conocimiento básico de la estructura genética poblacional de especies capturadas intensamente, tal es el caso de los tiburones, que desde la

década de los ochenta y noventa a raíz existe una alta demanda de sus productos. La combinación de la pesca intensiva y las características biológicas particulares que presentan la mayoría de los tiburones, como madurez sexual tardía, periodos largos de gestación y número reducido de crías, resulta una combinación desventajosa para estos organismos por la baja capacidad de recuperación y en consecuencia han contribuido a la disminución notable de las poblaciones (Hoenig y Gruber, 1990, Musick 1999, Carrier et al. 2010). El riesgo de extinción es una situación que se está observando en varias especies del género *Sphyrna*, las que se considera están siendo probablemente eliminadas del Golfo de California y del Pacífico central mexicano (Pérez-Jiménez, 2014), en donde fueron históricamente abundantes (Hernández-Carballo 1967).

El nivel actual de explotación de tiburones, tanto a nivel nacional como internacional, ha dado lugar a nuevas e importantes iniciativas de conservación y manejo (Fowler, et al., (2005), Camhi *et al.* 2008). Por ejemplo, en México, se han determinado periodos de veda, en el pacífico mexicano de 90 días, misma que fue publicada el 11 de mayo del 2012 (DOF 2012) al 31 de junio, aplicándose cada año a partir de 2013-14. En el Golfo de México y Mar Caribe, aplica del 1 de mayo al 30 de junio cada año a partir del 1 de mayo del 2012 y del 1 al 31 de agosto de cada año en el área del Banco de Campeche. A nivel internacional, instituciones como la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), ha seguido instando a los gobiernos a fijar límites de captura en las pesquerías con ayuda de los especialistas en el área e insiste en la protección de los tiburones y rayas. De acuerdo con una evaluación del estado de conservación de los elasmobranquios, la UICN, clasifica a los tiburones martillo *Sphyrna mokarran*, *S. lewini* y *S. zygaena* como especies globalmente en *Peligro*. Con el fin de reforzar las medidas de conservación en el ámbito internacional para las especies consideradas en amenaza o peligro, la CITES inició a incluirlas su apéndice II a

partir del 2014 junto con otras especies que estaban incluidas anteriormente (CITES 2013 y 2014), con el objetivo de controlar su comercio internacional y contribuir a su uso sustentable (Castillo-Géniz y Tovar-Ávila 2016).

Ante este escenario, los estudios genéticos resultan de gran relevancia para el diseño de estrategias de conservación del patrimonio genético (Allendorf y Luikart 2007, Beebee y Rowe, 2008) de las especies que se encuentran en peligro y particularmente en el manejo de pesquerías a las cuales los elasmobranquios contribuyen de manera notable en todo el mundo (Dudgeon, et al., 2012).

En el presente estudio se buscó identificar la existencia de poblaciones genéticas distintas del tiburón cornuda cruz (*Sphyrna zygaena*) a lo largo del Océano Pacífico Oriental, su relación con eventos del pasado y obtener información acerca de la estructura genética de sus poblaciones. Se espera que la información generada a nivel poblacional se pueda integrar con los parámetros de historia de vida que se conoce hasta el momento de la especie, en función del manejo pesquero y diseño de estrategias de conservación dentro del Plan de Acción Nacional para el manejo y Conservación de tiburones y rayas y Especies Afines en México (PANMCT). A su vez se contribuya a la conservación del patrimonio genético de *S. zygaena* a nivel nacional y/o regional.

2. ANTECEDENTES

2.1 Biología de *Sphyrna zygaena*

El tiburón cornuda cruz *Sphyrna zygaena*, habita en zonas costero-pelágicas a nivel mundial (Compagno, 1984). Presenta una distribución anfitemperada, la cual consiste en una distribución en aguas templadas de los hemisferios norte y Sur, siendo menos frecuente en aguas tropicales, al igual que las especies *Lamna nasus*, *Cetorhinus maximus* y *Carcharodon carcharias* (Compagno 1984, Compagno 2003). En el Océano Pacífico Oriental (OPO) *S. zygaena*, se encuentra desde la costa occidental de la Península de Baja California y, el Golfo de California en el Pacífico mexicano, las Islas Galápagos y desde Panamá hasta la Patagonia ([Figura 1](#)) (Compagno 1984). Existe una discontinuidad en la distribución de la especie notable en el Pacífico central, ya que su presencia en la región sur del Pacífico mexicano y en Centroamérica es escasa (CRACCITES 2015, Maté 2005), lo que corresponde a una distribución anfitemperada. Esta distribución, probablemente está relacionada con una barrera oceanográfica ocasionada por las contracorrientes ecuatoriales, que aportan aguas cálidas hacia el OPO (Piñero et al. 2008).

Poco se conoce acerca de la biología de *S. zygaena*, pero está documentado que utiliza zonas costeras de la región central del Golfo de California (Bahía de Kino), Mar Caribe y costas de Mazatlán-Sinaloa, como área de reproducción, nacimiento y crianza en la temporada de primavera y verano (mayo a agosto) (Saucedo, et al. (1982, Castillo-Géniz et al. 1998, Villavicencio 2000, Salomón-Aguilar et al. 2009).

De acuerdo con Salomón-Aguilar et al. (2009), el Golfo de California ofrece a *S. zygaena* en los primeros años de vida condiciones adecuadas de temperatura (18 a 31°C) entre los meses de mayo a septiembre. Estas condiciones permiten a los neonatos crecer rápidamente para incorporarse a la población de juveniles y adultos (Castro 1993, Castillo-Géniz et al., (2000),

Mendizábal et al. (2000), Alejo-Plata et al. (2007)). El incremento en la productividad primaria en invierno-primavera, enriquece las fuentes de alimento disponible y protección para los tiburones neonatos y juveniles en área crianza (Heupel y Simpfendorfer, 2007; Salomón-Aguilar *et al.* 2009).

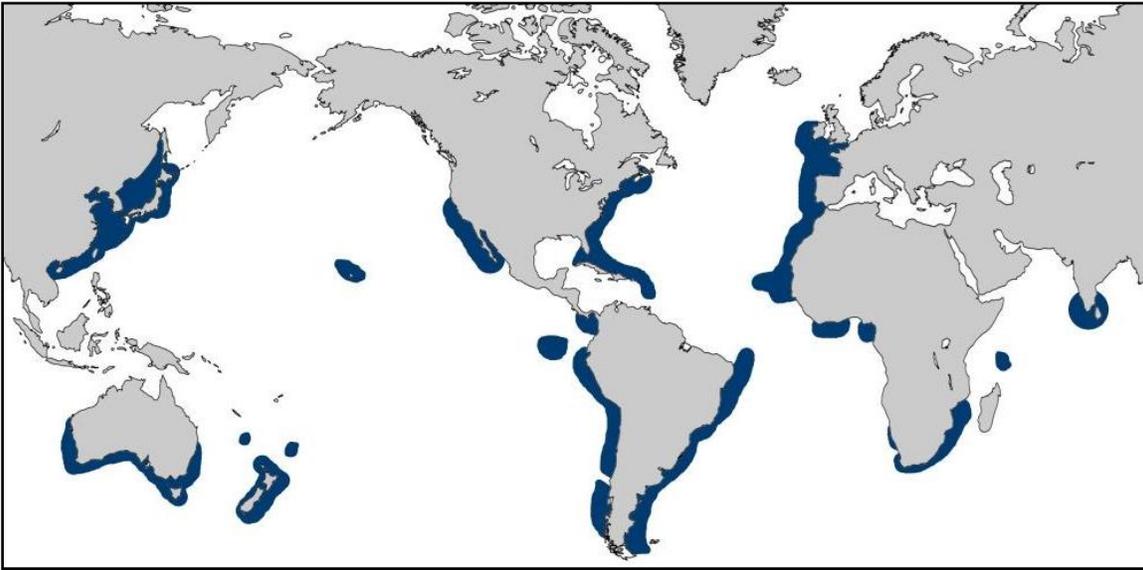


Figura 1. Distribución del tiburón martillo cornuda cruz *Sphyrna zygaena* en los océanos del mundo. (Tomado de Ebert et al. 2013).

Sphyrna zygaena es una especie vivípara placentaria, con un periodo de gestación de 10-11 meses, cuyas camadas son de entre 29 - 37 crías. Se les considera juveniles a los organismos de hasta 4 años de edad (136-140 cm longitud furcal (LF)); la especie alcanza su primera madurez sexual entre 210 y 240 cm de longitud total (LT) de acuerdo a Compagno 1984, Coelho et al. (2011).

El espectro trófico de las especies es muy amplio (Compagno 1984), en el OPO y Golfo de California consume principalmente cefalópodos costeros (Smale y Cliff, 1998, Castañeda y Sandoval 2004, Estupiñán et al. (2009), Ochoa-Díaz 2009, Bolaño-Martínez, 2009), peces óseos y otros elasmobranquios (Galván-Magaña 1989, Ochoa-Díaz, 2009).

2.2 Estudios de Filogeografía y Genética de Poblaciones

La tierra ha experimentado cambios paleogeográficos y paleoceanográficos, que incluyen la apertura y cierre de corredores que conectaron cuencas marinas, ocasionando la formación de barreras e importantes fluctuaciones en el clima y, por ende, cambios en la flora y fauna (Ricou 1987), favoreciendo procesos de vicarianza (Schultz *et al.* 2008).

La filogeografía estudia los principios y procesos que ocasionan la distribución geográfica de los linajes de genes, sobre todo aquellos entre y dentro de las especies cercanamente relacionadas (Avice 2000). Los análisis filogeográficos han sido incorporados con frecuencia en estudios evolutivos de tiburones. Estos análisis, son relevantes por su capacidad de inferir en el grado de la estructura genético-poblacional; con una perspectiva ancestro-descendencia, la detección de variación poblacional, el tiempo de divergencia, la influencia de la dispersión y vicarianza; así como la relación de la distribución espacial de linajes de genes, que a su vez está relacionada con el hábitat que ocupan los organismos en la actualidad (Dudgeon, et al., 2012).

En el OPO, son pocos los estudios genéticos poblacionales en elasmobranquios. Sin embargo, existen trabajos en los que se han detectado diferencias genéticas entre poblaciones, como en el caso de *S. lewini*, en el que se usaron marcadores nucleares (microsatélites), con los que detectaron diferenciación genética entre poblaciones en México (Mazatlán) y Ecuador (Manta), con un índice significativo de diferenciación genética $F_{st}=0.004$; $P=0.05$ y un patrón de aislamiento por distancia (Nance *et al.*, 2011). Las poblaciones estudiadas mostraron indicios de haber pasado por procesos de cuello de botella y expansión poblacional probablemente relacionado con las condiciones del Último Máximo Glacial (UMG). Otro ejemplo, lo representa la especie *Galeorhinus galeus*, especie en la que se encontraron diferencias significativas entre poblaciones, ante un escenario sin aparentes

barreras físicas entre las poblaciones del Pacífico Norte y el Pacífico Sur y presentaron un índice de diferenciación de $\Phi_{st} = 0.67$; $P < 0.00000$, Chabot y Allen (2009). Sin embargo, otros estudios genéticos de tiburones que incluyen las costas pacíficas de México, Costa Rica y Ecuador, no se detectaron diferencias significativas entre las poblaciones del hemisferio norte y sur; como se ha visto con en las especies *Carcharhinus falciformis* (Galván-Tirado et al., 2013) y *C. limbatus* (Keeney y Heist 2006); en las que la capacidad de dispersión y la amplia distribución de las especies parecen ser los factores preponderantes ante la ausencia de esa divergencia genética. En estos dos últimos estudios también presentan evidencia de expansión poblacional reciente, posterior al UMG.

La diferenciación genética, entre poblaciones de especies de tiburones, ha sido asociada frecuentemente con procesos de dispersión diferencial de sexos (filopatría), tal como se ha observado en los tiburones *C. limbatus* (Keeney et al. (2003), 2005; Keeney y Heist 2006) y *C. leucas* (Tillett et al., 2012), ambas especies con notable capacidad de dispersión y utilización de algunos sitios como zonas de crianza. En otros casos la divergencia puede ser debida a barreras térmicas u otras relacionadas con cambios bruscos en la salinidad de las masas de agua, como se ha descrito para el tiburón blanco *Carcharodon carcharias* (Pardini et al., 2001 y Gubili, et al., 2011).

Trabajos usando regiones altamente variables de ADN mitocondrial han mostrado evidencias de divergencia genética. Por ejemplo, Keeney et al. (2006) analizaron la región control del ADNmt, en su estudio de filogeografía del tiburón *C. limbatus*, detectaron divergencia entre las poblaciones de los océanos Atlántico y Pacífico debido a la formación del Istmo de Panamá. De igual forma, identificaron geográficamente dos linajes mitocondriales distintos, pero no pudieron definir los niveles contemporáneos de flujo genético o si las diferencias fueron resultado de la presencia o no de filopatría. Otro trabajo similar al anterior es el

realizado a nivel global para *S. lewini*, por Duncan et al. (2006), utilizando la región control del ADNmt (DNAmt-CR). Identificaron tres linajes divergentes, que se relacionaron con las áreas de crianza, la existencia variación genética entre los océanos y localidades del estudio. La señal de divergencia en estudios poblacionales, procedentes de diferentes marcadores, no siempre resulta coincidente, debido a que cada marcador presenta un tipo de herencia y tasa evolutiva distinta (Charlesworth 1998). Debido a esto, es frecuente encontrar estudios que empleen marcadores mitocondriales y nucleares simultáneamente, los cuales permiten una reconstrucción más precisa de la historia evolutiva de las diversas especies de elasmobraquios (Dudgeon, et al., 2012).

Evidencia de trabajos que usan ambos marcadores se puede mencionar algunos como el de Schultz *et al.* (2008), en el que encuentran evidencias que sustentan una estructura geográfica poblacional a lo largo de la distribución de *Negraprion brevirostris* y *N. acutidens*, con marcadores mitocondriales y nucleares. Sin embargo, los análisis pareados de F_{st} entre sitios de muestreo con los resultados obtenidos con los microsátelites de la especie *N. acutidens*, indican que entre las poblaciones de la Polinesia Francesa y Australia existen diferencia genética significativa, en contraste de los datos mitocondriales. En *N. brevirostris*, los microsátelites detectaron flujo entre las poblaciones del Atlántico Occidental y los análisis mitocondriales indicaron que existe una fuerte estructura entre dichas poblaciones. Los autores sugieren que la discrepancia de los resultados entre estos marcadores puede ser explicado por el comportamiento filopátrico de las hembras o por la preferencia de las especies por las zonas costeras. Otro ejemplo es *Carcharhinus limbatus*, especie estudiada por Keeney et al. (2003, 2005), y por Keeney y Heist (2006), usando secuencias de la región control de ADNmt y microsátelites, encontrando estructura genética poblacional y filogeográfica a escala global en el tiburón puntas negras. No obstante, los datos

mitocondriales evidenciaron diferencias significativas entre las áreas de crianza del Golfo de México y del Océano Atlántico debido a la estrecha relación de las hembras con dichas zonas, mientras que los microsátélites detectaron estructura genética que sugieren flujo génico por parte de los machos.

Se conoce que la estructura genética, la filogeografía y los patrones de divergencia en los tiburones también puede ser influenciada por factores químicos y térmicos, como se ha reportado entre las poblaciones del tiburón blanco *Carcharodon carcharias* en el Indo-Pacífico y sur de África en el océano Atlántico (Pardini et al. 2001) y del Indo-Pacífico con el Mediterráneo (Gubili, et al., 2010). Dicha divergencia fue atribuida a barreras térmicas y a hipersalinidad en el Mar Rojo, Lagos Amargos y Canal de Suez, lo que podría limitar la dispersión de la especie (Gubuli et al. 2010). Un ejemplo de cómo la temperatura del mar puede ser una causa de divergencia genética entre poblaciones es el estudio por Veríssimo et al. (2010) con *Squalus acanthias*; quienes usando muestras procedentes del hemisferio norte y sur de los océanos Pacífico y Atlántico, para cuyo análisis se emplearon marcadores mitocondriales y nucleares. El análisis de ambos marcadores coincidió al detectar la existencia dos poblaciones divergentes tanto en el Pacífico tanto como en el Atlántico; lo que se ajusta a la distribución antitropical de la especie y a las características regionales de la historia de vida del tiburón. La especie objetivo de estudio, *S. zygaena* también presenta una distribución antitropical, lo cual podría presentar una estructura genética parecidas a la de *Squalus acanthias* los tantos procesos que pudieron haber intervenido en la filogeografía de la especie. Igualmente, los estudios realizados por Testerman et al. (2008) y Hernández-Muñoz (2013), que han reportado divergencia genética entre poblaciones e incluso entre hemisferio Norte y Sur de la especie *S. zygaena*.

3. ÁREA DE ESTUDIO

La zona estudiada fue Océano Pacífico Oriental (OPO). Esta región presenta una circulación de corrientes oceanográficas caracterizada en la parte norte por la Corriente de California y Corriente Ecuatorial del Norte, en el Sur por la Corrientes de Perú y la Corriente Ecuatorial del Sur; dichas corrientes forman giros intertropicales del norte y del sur, que a su vez ocasionan una contracorriente, llamada Contracorriente Ecuatorial que viaja desde el este (Wyrtki 1966). En el Pacífico el clima promedio está dado por el sistema de alta presión que permite el flujo de los vientos Alisios, hacia la baja presión del oeste induce una corriente fría en esta dirección. El agua cálida se apila en el Pacífico oriental, mientras que el agua fría regresa en una corriente subsuperficial (Wyrtki 1966).

El OPO presenta tres masas de agua; una masa de agua subtropical de temperatura variada y de alta salinidad, una masa de agua superficial tropical elevada temperatura y baja salinidad y una masa de agua fría superficial subtropical al sur ([Figura 2](#)) (Wyrtki 1966, Fiedler 1992 y Lara-Lara, et al., 2008).

Por su parte, el Golfo de California posee un gradiente de temperatura media mensual amplia, desde 9°C cerca Cabo Corrientes, hasta 22°C en la boca del Río Colorado (Roden y Emilsson 1980, Álvarez-Borrego 1983). Las temperaturas superficiales más bajas son persistentemente encontradas en canal de Ballenas, donde la mezcla de mareas es muy fuerte (Álvarez-Borrego 1983, Badan-Dangon, Koblinsky y Baumgartner 1985).

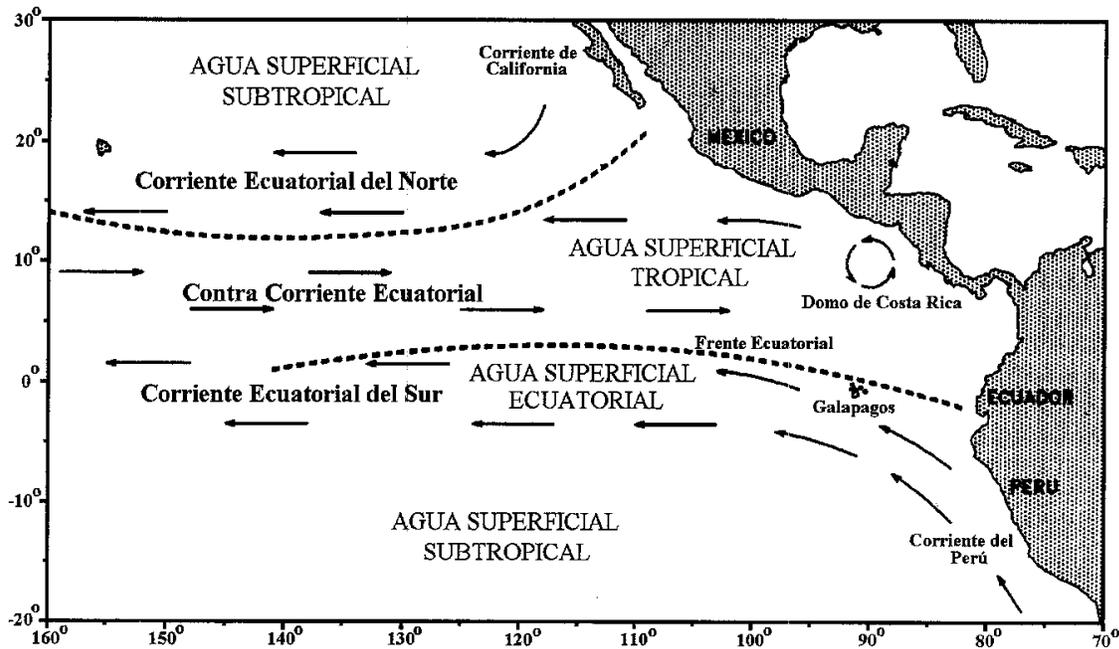


Figura 2. Circulación de las corrientes y masas de agua en el Océano Pacífico Oriental según Wyrcki (1965).

En el Pacífico tropical mexicano se distinguen varias masas de aguas, con temperaturas que aumentan de norte a sur y salinidad que se incrementa con la latitud, este tipo de distribución se origina por la presencia de las corrientes oceánicas sujetas a los cambios estacionales; la capa de mezcla tiene una extensión vertical de 20 a 50 m y la termoclina que se caracteriza por ser somera y permanente (De la Lanza 1991 y Wyrcki 1965). Así mismo desde el Pacífico central mexicano hasta Panamá, se localiza la zona conocida como la piscina caliente o Warm Pool comprendida entre los 6° N a 15° N caracterizada por presentar una temperatura superficial del mar (TSM) que excede los 28.5 °C y se encuentra asociada con grandes cambios en las convecciones atmosféricas, jugando un papel importante en la evolución del fenómeno del niño (ENSO) (Wang y Enfield 2001).

Las costas de Ecuador, Galápagos y Perú forman una región de interfase climática entre las aguas frías de la Corriente de Humboldt y las aguas cálidas al norte de la latitud ecuatorial. Esta región, presenta un clima cíclico, impreciso, de alternancias de lluvia-sequía. En condiciones normales los vientos ecuatoriales soplan desde América del Sur hacia Nueva Guinea, porque la presión atmosférica es más alta en el Pacífico oriental y central, y baja en la región occidental. Estos vientos desplazan corrientes oceánicas de aguas cálidas hacia el Oeste, esto significa que el mar próximo a Nueva Guinea es de temperaturas más cálidas y con un nivel del mar más alto en comparación con la costa de Sudamérica. La temperatura superficial del mar es baja entre 20°-24° C en la banda ecuatorial, extendiéndose hacia el oeste del Pacífico central. En Chile el rango de temperatura superficial del mar (TSM) es de 5 a 6°C, en febrero o marzo la TSM máxima alcanza valores de 24°C en años normales y de 25°C durante los años Niños como en 1987 y 1992. El rango mínimo de la TSM se presenta en invierno, siendo habitualmente de 3°C. La TSM en invierno es de 15°C en años normales, pero disminuye a 14°C en inviernos muy fríos (Barbieri et al. 1995).

4. JUSTIFICACIÓN

El tiburón cornuda cruz *Sphyrna zygaena*, es una de las especies de importancia pesquera en el océano Pacífico Oriental, al igual que otras especies de tiburones. A nivel mundial *S. zygaena* junto con sus congéneres *S. lewini* y *S. mokarran*, se consideran especies en peligro y se están incluidas en el apéndice II de CITES.

Ante los niveles de intensidad pesquera actual y la notable disminución de volumen de tiburones en registros pesqueros, se han generado iniciativas de conservación y manejo para estos organismos. Para esto, es esencial contar con información de la especie, sin embargo, existe poca información a nivel poblacional de la especie *S. zygaena* y por lo que resulta relevante los estudios genéticos que permitan obtener conocimiento de la estructura genética de sus poblaciones y puedan ser de utilidad al diseñar y ejecutar estrategias de manejo de la especie a nivel nacional e internacional.



5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuántas unidades genéticas del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* existen el Océano Pacífico Oriental?

¿Qué componentes históricos pudieron intervenir en la distribución geográfica de los linajes genealógicos de *S. zygaena* a lo largo Océano Pacifico Oriental?

¿En caso de encontrar divergencia genética entre grupos, cuáles serían los causantes involucrados?

¿Al detectar dos o más ESUs de *S. zygaena* en el Pacífico Oriental, que implicaciones tendría en el manejo del recurso?

¿Con base a la estructura genética poblacional de la especie encontrada, que sugerencias se podrían plantear para su manejo y conservación?

6. HIPÓTESIS

Con base a la distribución anfitemperada o antitropical de *Sphyrna zygaena*, a su afinidad por la zona costera y a los escasos reportes pesqueros de la especie en la franja central del Océano Pacífico Oriental, se infiere que existen dos poblaciones genéticamente divergentes de *Sphyrna zygaena*, una en el hemisferio Norte y otra en el hemisferio Sur del OPO y dicha divergencia podría estar asociada con el comportamiento filopátrico y/o barreras oceanográficas y procesos geológicos que han estado actuando en el pasado reciente.

7. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la existencia de unidades genéticas divergentes del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* a lo largo de su distribución en el Océano Pacífico Oriental e inferir los posibles procesos que la determinan.

7.1 Objetivos específicos

- Evaluar cuántas unidades genéticas de *S. zygaena* se encuentran a lo largo del Océano Pacífico Oriental.
- Estimar la diversidad genética tanto de marcadores mitocondriales como microsátélites de *S. zygaena* en diferentes sitios a lo largo de su distribución en el OPO.
- Conocer y comparar la diversidad genética entre las poblaciones detectadas a lo largo del OPO.
- Evaluar la existencia de linajes divergentes de la especie en el hemisferio norte y en el sur del OPO.
- Valorar el grado de divergencia y flujo génico entre las probables poblaciones de *S. zygaena* en el Océano Pacífico Oriental.
- Estimar el tiempo de divergencia genética entre las posibles poblaciones de *S. zygaena* en el Océano Pacífico Oriental.
- Proponer escenarios que permitan explicar las poblaciones divergentes de *S. zygaena* y la historia demográfica de la especie en el OPO y si éstos están relacionados con la transición entre aguas templadas y tropicales en el OPO o con comportamientos reproductivos.
- Estimar los parámetros de demografía histórica de las posibles poblaciones identificadas de *Sphyrna zygaena*.
- Comparar los resultados obtenidos con DNAm y DNA nuclear con el fin de detectar el grado de conectividad entre poblaciones e identificar patrones filogeográficos.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Trabajo de campo

Se obtuvieron un total 301 muestras del tiburón cornuda cruz *Sphyrna zygaena*, en once localidades a lo largo de las costas del Océano Pacífico Oriental (OPO). Se incluyó cuatro países en donde se captura y desembarca esta especie: México (Baja California Sur, Colima, Nayarit), Ecuador (Península de Santa Elena y Manabí), Perú (Máncora) y Chile (Caldera) ([Figura 3](#)). Por practicidad en el texto nos referiremos a las localidades, Manzanillo y San Blas respectivamente como CO y NAY.

Las muestras fueron obtenidas de especímenes de las pesquerías artesanales y de mediana altura entre los años 2007 al 2012. En campo se identificaron los especímenes y se confirmó la especie con claves especializadas (Compagno et al. (2005), FAO 1995). Las medidas morfométricas longitud total (LT), longitud estándar (LS), datos como sexo y estadio de madurez sexual fueron anotados en la bitácora de campo.

En los sitios de muestreo se colectaron aproximadamente 30 muestras de tejido muscular o una mayor cantidad cuando fue posible. El tejido muscular fue preservado en etanol al 96% y mantenidas en congelación (Grijalva-Chon et al. 2003), hasta su análisis en el Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMyL) de la UNAM. Dichas muestras corresponden a individuos juveniles y adultos de ambos sexos que presentaron tallas entre 69 – 230 cm de LT.

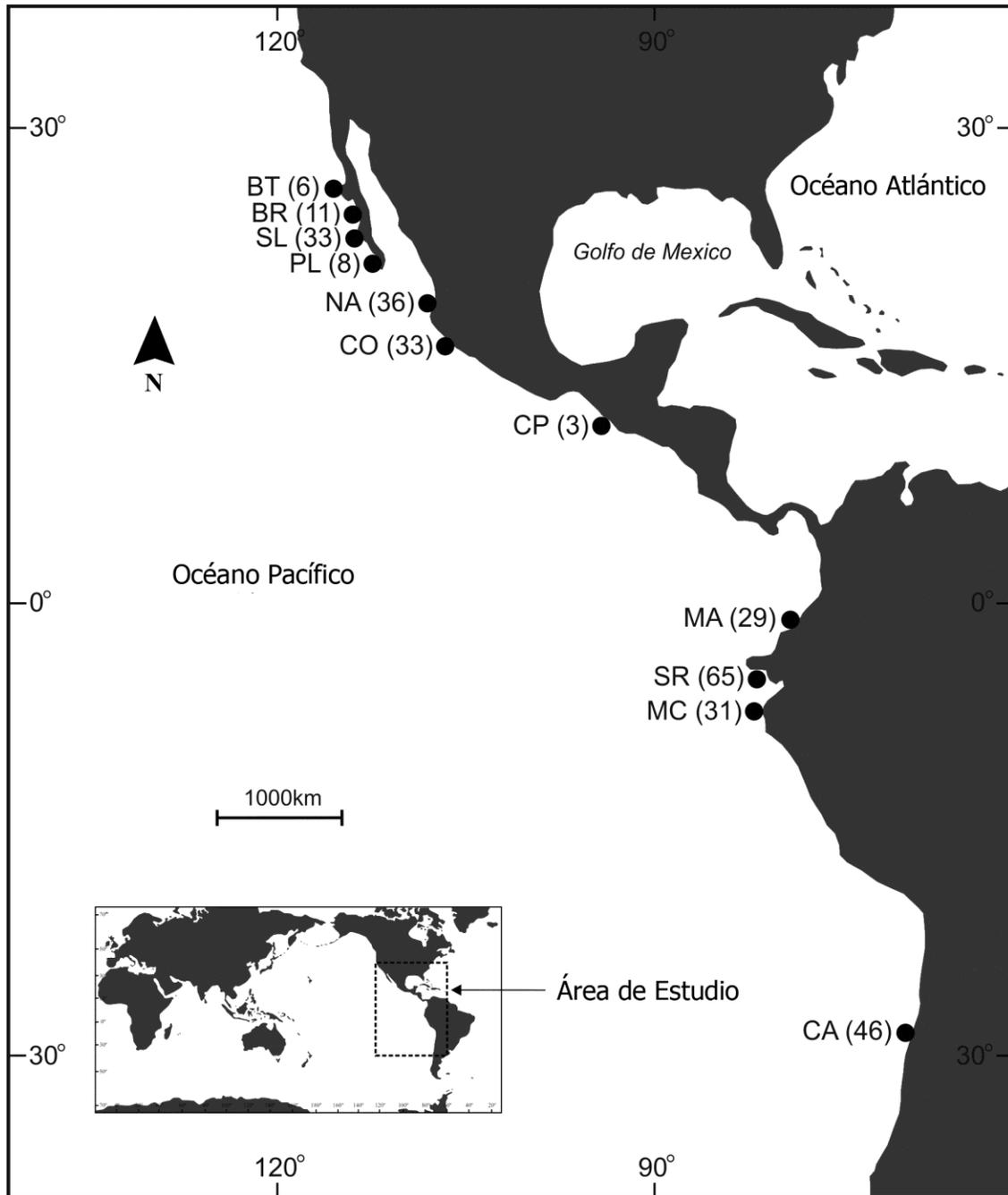


Figura 3. Sitios de muestreo del tiburón martillo cornuda cruz *Sphyrna zygaena* en el Océano Pacífico Oriental con su respectivo clave y número de muestra. Bahía Tortuga (**BT**), Las Barrancas (**BR**), San Lázaro (**SL**), Punta Lobos (**PL**), Nayarit (**NA**), Colima (**CO**), Chiapas (**CP**), Manta (**MA**), Santa Rosa (**SR**), Máncora (**MC**) y Caldera (**CA**).

8.2 Trabajo de laboratorio

8.2.1 Extracción de ADN

En ADN genómico se extrajo mediante el protocolo de fenol-cloroformo descrito por Sambrook y colaboradores (1989), con las modificaciones que se describen en Cortey y García-Marín (2002) y/o mediante el protocolo de extracción Wizard Genomic DNA, de la marca Promega para tejido animal.

La cantidad y calidad de ADN se determinó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, con revelado gel red en una cámara UV.

La concentración de ADN se cuantificó con un espectrofotómetro modelo Nanodrop 2000/2000c de la marca Thermo Fisher Scientific.

8.2.2 Amplificación de la región control del ADN mitocondrial (RC-ADNmt) y nuclear

8.2.2.1 Región control del DNA mitocondrial (DNAmT-RC)

Para la amplificación de la RC-ADNmt se emplearon los iniciadores reportados por Hernández-Muñoz (2013): SPH_F=5'-ACCGGTTTTTGTACGTCAGT-3' y

SPH_R= 5'- ACATTGGCCCTCGTTTTAGGGGT3-3', los cuales fueron sintetizados por el Instituto de Biotecnología, UNAM en Cuernavaca, México.

Las amplificaciones por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa o *Polimerase Chain Reaction* por su sigla en inglés) fueron hechas inicialmente en un volumen de 15 µl, para corroborar la amplificación del fragmento deseado. Posteriormente se usaron 50 µl de volumen final de la mezcla para los análisis de rutina, volumen que contenía de 10 a 100 ng de ADN, 1X de phusion buffer (10 µl), 200 µM, 0.5 µM de iniciadores (F y R) y 0.02 U/µl (0.5 µl) de Phusion Hot Start II, DNA polimerase.

Las condiciones de amplificación consistieron en un primer paso de desnaturalización a 95°C, seguido por 30 ciclos de 94°C por 30 s, temperatura de alineamiento de 56°C a por 30 s, temperatura de extensión de 74°C por 90 s y un último ciclo de extensión a 74°C por 10 min. Se verificó la amplificación de la región control en la PCR mediante electroforesis, en geles de agarosa al 1%; las condiciones del corrimiento fueron 110 voltios por 35 min. Los productos amplificados fueron enviados a MACROGEN, en donde las muestras pasaron por un proceso de purificación (MOPC) que garantiza la calidad de los resultados y donde realizan una secuenciación a gran escala desarrollada por “Applied Biosystems” posteriormente con un secuenciador modelo 3730XL, se obtuvieron las secuencias nucleotídicas de cada organismo.

8.2.2.2. Genotificación de Microsátelites

Debido a que no han sido reportado iniciadores específicos para *S. zygaena*, y a que frecuentemente los iniciadores diseñados funcionan con especies congénéricas (Keeney y Heist 2003, Dudgeon et al. 2006, Nance *et al.* 2009), se recurrió a probar la amplificación de 15 loci reportados por Nance et al. (2009) para *S. lewini* ([Anexo 1](#)), los 4 reportados para *Sphyrna tiburo* (Chapman et al., 2004), dos loci más obtenidos por secuenciación de nueva generación enviado a realizar por el Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos (G.D.O.A) de la UNAM, diseñados para *S. tiburo*, sumado a tres loci reportadas para el tiburón puntas negras *Carcharhinus limbatus* (Keeney y Heist 2003), lo que suman un total de 24 loci microsátelites ([Tabla 1](#)).

Todos los iniciadores empleados tenían adherida una secuencia universal conocida como M13 (5´GTA AAA CGA CGG CCA GT3´) en el iniciador F de cada microsátélite, marcados con fluoroforos determinados (6-FAM, VIC y NED, sintetizados por la empresa APPLIED

BIOSYSTEMS®) de acuerdo con lo recomendado por Schuelk (2000). La finalidad de este procedimiento fue la de disminuir los costos en la genotificación. La temperatura de alineamiento durante la PCR se estableció de acuerdo con lo reportado por los autores. Sin embargo, no se tuvo éxito con estos microsatélites y, en consecuencia, se intentó con los mismos marcadores, pero sin la secuencia de M13, obteniendo mejores resultados en la amplificación de los loci microsatélites.

Posteriormente, se obtuvieron amplificaciones exitosas con diez de los quince iniciadores reportados por Nance, Daly-Engel y Marko (2009), dos de los reportados por Chapman y colaboradores (2004) y uno de los diseñados en el laboratorio (G.D.O.A) para *S. tiburo* (Tabla 1), pero desafortunadamente no se obtuvieron datos de todos los microsatélites en todos los organismos. Finalmente se trabajó solo con cuatro loci, SLE18, SLE54, SLE71, SLE81 reportados por Nance et al. (2009).

Tabla 1. Lista de loci empleados para genotipificar el DNA de *Sphyrna zygaena*

Loci probados	Referencia	Loci amplificados
Cli 107, Cli 108 y Cli 112	Kenny y Heist (2003)	Ninguno
Sti 01, Sti 04, Sti 10	Chapman <i>et al.</i> 2004	Sti 01, Sti 04
STB1, STB3, STB5	Lab de Genética (ICMyL)	STB3
SLE13, SLE18, SLE25, SLE27, SLE28, SLE33, SLE38, SLE53, SLE45, SLE54, SLE71, SLE77, SLE81, SLE86, SLE89,	Nance et al. (2009)	SLE18, SLE25, SLE28, SLE33, SLE38, SLE53, SLE54, SLE71, SLE77, SLE81

Una vez estandarizado el protocolo de amplificación de los microsatélites; las reacciones para la PCR se realizaron empleando el TYPE IT-MICROSATELLITE KIT de QUAGEN, que brinda la ventaja de amplificar simultáneamente hasta 8 loci (multiplex). Las amplificaciones se realizaron en un volumen total de 5 µl de reacción, constituidos por: 1.5 µl de agua libre de ARN, 2.5 µl de type-it multiplex PCR master Mix, 2x (HotStarTaq® plus DNA polimerase, type-it microsatellite PCR buffer con 6 mM MgCl₂ y dNTP's), 0.4 µM del iniciador F (forward, marcado con la fluorescencia correspondiente) y 0.4 µM del iniciador R (reverse) y 100-150 ng de ADN.

El programa para la amplificación de los microsatélites con resultados positivos consistió en un ciclo inicial de 95°C por 5 min, 28 ciclos de 95°C por 30 s, 60°C por 90 s, 72 °C por 30 s, 60°C por 30 s a 72°C y finalmente un ciclo de 60° por 30 min ([Tabla 2](#)).

Tabla 2. Loci microsatélites de *Sphyrna lewini* usados para el estudio poblacional de *Sphyrna zygaena* en el Océano Pacífico Oriental.

Locus	Secuencia del iniciador 5'3'	Temperatura de alineamiento	Intervalo alélico observado/reportado (pb)
SLE018	F: ACAGAAACAGAACGAGGGACA R: TGGGTTGGCATTGAACAGAA	60	230-298/ 208-258
SLE028	F: TTTGGAGACATTGCAGAAAG R: ACTTGGGACTACACACTG	60	230-250/226-281
SLE054	F: CTGACACTGCCAATTTGCAT R: CCAACTGGAGTTGTCAATCCA	60	160-300/186-206
SLE071	F: CAGACGGTGGTACGTACACA R: TGACCCTTTTGGATTGAAGGA	60	203-295/236-285

La verificación de la amplificación de los fragmentos y del polimorfismo de los microsatélites fueron analizados mediante su separación en geles desnaturizantes de poliacrilamida al 6%, mismos que se corrieron en una cámara de electroforesis vertical de la marca Fisher Science, con buffer TBE 0.5X, a 1800 voltios, 100 aA, 80 watts durante 45 min – 1:30 h, a una temperatura constante entre 50 y 55 °C. Para la visualización de los fragmentos se empleó la técnica de tinción de plata descrita por Benbouza et al. (2006) y con la referencia de indicadores del tamaño (ladders) se identificaron los fragmentos y su polimorfismo.

La verificación de amplificación de los fragmentos en cada muestra se realizó en geles de agarosa al 2%.

El análisis de fragmentos se realizó en un secuenciador 3500 de 24 capilares de Life Technology™, del laboratorio de secuenciación de Instituto de Biología de la UNAM; se empleó una mezcla de GENESCAN™ 500LIZ™ al 5% y formamida al 95%, obteniendo un volumen total 10µl para la electroforesis. De la secuenciación se obtuvieron los cromatogramas correspondientes para su revisión y análisis.

8.3 Análisis estadístico de datos del ADN mitocondrial

Las secuencias fueron editadas con los programas Bioedit Hall et al. (2011) y Mega5 (Tamura et al., 2011) y fueron alineadas con el programa Geneius v5.4 utilizando los parámetros predeterminados (Drummond, et al., 2011).

Las secuencias editadas de la ADNmt-RC inician en el intervalo de las 80 – 114 pb y culminan entre las 850 – 870 pb, con una longitud de 690 pb totales, lo cual representa un 63.25% de la longitud total de ADNmt-RC de acuerdo con reportado por Bolaño-Martínez et al. 2014.

La correspondencia de las secuencias obtenidas del ADNmt-RC, fue verificada mediante la búsqueda comparativa con la aplicación BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), en la base de datos en GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, obteniendo una coincidencia del 100% con la secuencia reportada de la región control para la especie *Sphyrna zygaena* (Lim et al. 2010 y Bolaño-Martínez et al. 2014).

8.3.1 Diversidad Genética

Las estimaciones de diversidad genética para cada población (número de haplotipos, número de sitios polimórficos, número de transiciones y transversiones, diversidad haplotípica (h), diversidad nucleotídica (π) y composición de las secuencias (bases nucleotídicas), fueron estimados con los programas Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer 2010) y el programa DnaSP 5 (Librado y Rosas 2009).

El modelo evolutivo fue estimado con el programa jModeltest (Posada 2008); dicho modelo ha sido empleado para los análisis filogenéticos, y tiene la finalidad de conocer las probabilidades con las que se dan los distintos eventos de sustitución entre secuencias y de esta manera conocer si los análisis realizados se ajustan a los datos observados. Los análisis filogenéticos fueron realizados usando el método máxima parsimonia implementando el programa PAUP Ver. 4.0 (Swofford 1998) y por inferencia bayesiana con el programa Mr Bayes Ver. 3.1.2 (Ronquist y Huelsenbeck 2003) con el fin de detectar diferencia o confirmar las filogenias obtenidas. Como grupo externo se usaron secuencias de *Glyphis glyphis* y *Sphyrna tiburo*.

8.3.2 Diferenciación genética

Para determinar el mejor agrupamiento de las muestras espacialmente se realizó un Análisis Espacial de Varianza Molecular con el programa SAMOVA (Dupanloup et al. 2002). Este programa emplea datos de las secuencias junto con las coordenadas geográficas de los sitios de colecta para identificar grupos de poblaciones que exhiben relaciones genéticas más cercanas, maximizando la proporción de la varianza genética total entre grupos, indicado por los valores más grandes de *FCT* (Dupanloup et al. 2002). Dado que este es un método heurístico, se analizaron cuatro escenarios probables de agrupación:

Escenario I, donde se consideran dos grupos, uno conformado por localidades del Océano Pacífico Norte (BT, BR, SL, PL, CO, NA, CP) y el otro conformado por el Océano Pacífico Sur y (SR, MANT, MC, CD); **escenario II**, considera a tres grupos: el primero lo conforman las localidades de Baja California Sur y Centro de México (BT, BR, SL, PL, MZ, NA), el segundo grupo lo conforma el Sur de México (PM) y el tercer grupo por el Océano Pacífico Sur conformado por Ecuador, Perú y Chile (SR, MA, MC, CA). **Escenario III (cinco grupos)**: Baja California Sur (BT, BR, SL, PL), Centro- Sur de México (CO, NA, CP), Ecuador (SR, MA), Perú (MC) y Chile (CA). **Escenario IV (cinco grupos)**: Bahía Tortuga (BT), Manta (MA), Costa Occidental de B.C.S (BR, SL, PL, CO, NAY) y Puerto madero (CP) y Pacífico Sur (SR, MANT, MC, CD)

De igual forma se llevó a cabo la prueba de Mantel (1967) en el programa Arlequin ver. 3.5.1.2, para explorar evidencias de aislamiento por distancia entre los sitios de muestreo. Dicha prueba determina el grado de significancia existente entre la relación de dos o más matrices cuadradas por medio de permutaciones. Las matrices se construyeron con los valores de ϕ_{st} pareadas y las distancias geográficas entre los sitios de muestreo, éstas últimas

se obtuvieron con ayuda del programa Google Earth en línea. El número de permutaciones usadas para determinar su significancia fue de 10 000.

Las secuencias fueron agrupadas en dos áreas geográficas, tomando en cuenta la distribución antitropical de la especie (Compagno *et al.* 2005) y los resultados obtenidos en SAMOVA. La zona norte que incluye a Bahía Tortuga (BT), Las Barrancas (LB), San Lázaro (SL), Punta Lobos (PL), Nayarit (NA), Colima (CO) y Chiapas (CP) y la zona sur (Santa Rosa (SR), Máncora (MA) y Caldera (CA) del Océano Pacífico Oriental; cada una con 130 y 171 secuencias respectivamente.

Con el programa Arlequin 3.5 (Excoffier L y Lischer H. 2010), se obtuvieron estimaciones del estadístico Φ_{st} , el cual es el estimador análogo a los estadísticos F_{st} de Wright (1978) en pruebas pareadas y el valor de significancia estadística. Dicho estimador incorpora información sobre la distancia molecular entre secuencias y separa la varianza molecular en niveles jerárquicos para evaluar las diferentes hipótesis de estructuración.

De igual manera por medio del programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Schneider 2010) se realizó el análisis de varianza molecular (AMOVA), para determinar el grado de diferenciación genética en los diferentes niveles jerárquicos dentro de las poblaciones, entre poblaciones y entre los grupos de poblaciones. La significancia estadística de ϕ_{st} fue evaluada con 10 000 permutaciones.

Para la identificación del número de poblaciones de *Sphyrna zygaena*, también se recurrió al programa Geneland 4.0 (Guillot *et al.*, 2005b, 2008), implementando el Software R 3.1.2 (Ihaka y Gentleman 1996). Geneland permite detectar estructura poblacional de acuerdo con la variación sistemática de la frecuencia de las secuencias; implementa varios modelos que pueden usar información geográfica y genética para la estimación del número de poblaciones (K), y su distribución espacial (Guillot *et al.* 2005a). Se estimó el número de poblaciones (K)

y densidad probable posterior (PPD) presente en la zona de estudio y la distribución espacial estimada de la población. En la estimación de la convergencia, se hicieron cinco corrimientos de los datos en Genland para $K=1 - 11$ (número total de sitios de muestreo), con Cadenas markovianas y método de Montecarlo (MCMC) de 500 000 iteraciones; para cada parámetro de muestreo se hicieron con 1000 iteraciones, seguidos de un burn-in de 100 000 iteraciones, obteniendo de este modo las probabilidades de un individuo de pertenecer a una población y área espacial.

Con el fin de identificar las posibles barreras en el flujo genético asociado a la ubicación geográfica de las muestras se usó el programa BARRIER. El programa implementa el algoritmo de Monmonier para encontrar los bordes asociados con las diferencias genéticas y ubicación geográfica de las muestras para identificar los límites genéticos (Manni et al. 2004).

8.3.3. Análisis de Filogeografía y Demografía histórica

La reconstrucción de las relaciones evolutivas entre haplotipos fue obtenida con el programa Network 4.6.1.3 y mediante el método de máxima parsimonia en el programa PhyML 3.0 (Guindon, et al., 2010), para agrupar los sitios de muestreo en cada zona y se tomó en consideración los resultados de SAMOVA, junto con la ubicación geográfica de los sitios de muestreo.

El modelo de expansión demográfica fue evaluado para determinar si las poblaciones experimentaron un incremento repentino en su tamaño poblacional (Roger y Harpending, 1992). Los parámetros de la demografía histórica τ (tiempo de expansión en generaciones), Θ_0 (tamaño de la población antes de la expansión) y Θ_1 (tamaño de la población después de la expansión) se obtuvieron, utilizando la distribución de frecuencias del número de diferencias nucleotídicas entre pares de secuencias (mismatch) (Slatkin y Hudson 1991;

Rogers y Harpending 1992) mediante el programa Arlequin 3.1. El modelo supone que una población estacionaria en equilibrio pasó en τ de un tamaño efectivo poblacional N_0 a un tamaño N_1 después de una reducción significativa.

Para evaluar el tiempo de expansión demográfica de las poblaciones en este estudio, se usó la ecuación $\tau = 2\mu T$, donde μ es la tasa de mutación, para este estudio se empleó un μ de 0.8% (4×10^{-9} y 2.15×10^{-9} sustituciones/sitios/años) reportada por Duncan et al. (2006) para la región control de *S. lewini* y T es el tiempo en años desde la expansión. El parámetro del tamaño efectivo de las hembras potenciales antes de la expansión (θ_0) se estimó mediante $\theta_0 = 2\mu N_0$, y después de la expansión como $\theta_1 = 2\mu N_1$, donde N es el tamaño efectivo poblacional de hembras para una población inicial N_0 , que asume crece a un valor N_1 bajo el modelo de Rogers y Harpending (1992) y μ es la tasa mutacional estimada de 4×10^{-9} y 2.15×10^{-9} sustituciones/sitios/años.

El índice de Raggedness y la suma los cuadrados de las desviaciones a la distribución de mismatches (SSD) también fueron estimados para confirmar la expansión o estabilidad de las poblaciones han permanecido estables con el tiempo, todos los análisis se realizaron con el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Schneider 2010) y graficados en el programa Excel ([Anexo 4](#)).

Para poner a prueba la neutralidad de los datos o el efecto de la selección en el mantenimiento del polimorfismo en las secuencias, se emplearon los estimadores de D de Tajima y F de Fu (Tajima 1989, Fu 1997) en el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer 2010) y la significancia fue evaluada con 10,000 permutaciones. Los valores altos de los estimadores de la D de Tajima y F de Fu fueron una señal de expansión poblacional o selección ([Anexo 5](#)).

La estimación de parámetros de demografía histórica también se realizó mediante la gráfica de horizonte bayesian skyline plot (BSP), empleando el programa BEAST 1.8.1 (Drummond y Rambaut, 2007, Drummond et al., (2011)) para explorar fluctuaciones en el tamaño poblacional del tiburón martillo cornuda cruz en el OPO. El BSP permite estimar el tamaño efectivo poblacional de las hembras (N_{EF}), a través del tiempo, con base a un grupo de secuencias moleculares, sin un modelo paramétrico específico previo a la historia demográfica y se construye bajo la teoría de coalescencia. Para el corrimiento de BSP, se usó el modelo de sustitución HKY (Hasegawa-Kishino-Yano) seleccionado en JMODELTEST 2.12 (Guindon y Gascuel 2003, Darriba et al. (2012)), con el criterio de información de Akaike (AICc). Los modelos empleados fueron relojes estrictos y no correlacionados. Dichos modelos fueron analizados empleando la tasa de mutación 8×10^{-9} sustitución/sitios/año reportado por Duncan et al. (2006) para la especie *S. lewini*.

En la obtención del BSP de las poblaciones de *S. zygaena*, se eligió un árbol previo que asume 10 agrupaciones de intervalos coalescentes para la población norte y sur del OPO que se consideran separaron recientemente. También se evaluó el modelo de tamaño poblacional *piecewise-constant*, el cuál puede ajustar amplias gamas de escenarios demográficos y de igual forma se considera un buen instrumento para seleccionar el modelo demográfico más apropiado para cualquier conjunto de datos y el tiempo promedio del ancestro común reciente “TMRCA” (Pybus y Rambaut 2002) con el DNAmT. Se emplearon cadenas de Markov de 25 000 000 generaciones, el muestreo cada 1000 generaciones; el primer 10% fue descartado en el momento del burn-in. Los resultados fueron revisados con el uso de Tracer 1.5 (Rambaut y Drummond 2009), para comprobar la probabilidad posterior y el tamaño eficiente de la muestra (ESS), que se convirtieron en parámetros estacionarios. BEAST también se usó para determinar el más el ancestro común más reciente (TMRCA) para linajes identificados en las

poblaciones norte y sur de *S. zygaena*. Para esto, se seleccionó `treeModel.rootHeight` a priori en el programa BEATUi V1.8.0 usando una distribución normal y desviación estándar. El parámetro ESS se evaluó utilizando el programa Tracer V.1.5 para obtener la estimación media e intervalos de confianza (HPD inferior y superior en 95%) para el parámetro.

8.4 Análisis de datos del DNA nuclear (microsatélites)

Los cromatogramas fueron revisados en el programa GENEMAPER V. 3.7 de Applied Biosystems, para determinar el tamaño de los alelos y por consiguiente el genotipo de cada individuo, mismos que fueron anotados en una base de datos creada en el programa Microsoft Excel 2010 con un total 105 individuos para cuatro loci SLE18, SLE54, SLE71, SLE81 reportados por Nance et al. 2009. Dicha base fue convertida en los diferentes archivos de entrada necesarios en el análisis de los datos de microsatélites, empleando el software CREATE (Coombs et al. 2008) y CONVERT Versión 1.31 (Glaubitz 2004).

Para identificar errores comunes en el genotipado o la presencia de alelos nulos se usó el software resultados Micro-Cheker v. 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004). Los alelos nulos son fragmentos de ADN que no se amplificaron por problemas en la PCR o por mutaciones sitio-específicos en la región de alineamiento de los iniciadores (Dakin y Avise 2004); provocando una sobreestimación de los genotipos homocigoto por la ausencia de amplificación; si esta condición es persistente la heterocigosidad es subestimada (Carlsson 2008). El equilibrio de Hardy-Weinberg (prueba de H-W) para cada locus por población se realizó empleando el programa Genpop 4.2 (Raymond y Roseet 1995).

8.4.1 Diversidad Genética

Para determinar la diversidad genética se estimó el número de alelos por locus (N_a), la heterocigocidad esperada (H_e) y heterocigocidad observada (H_o), así como las estimaciones de F_{st} pareadas por sitio de muestro empleando el programa ARLEQUIN V. 3.5 (Excoffier y Lischer 2010).

8.4.2. Nivel de diferenciación genética

Se infirió el número más probable de poblaciones genéticamente diferentes (K) mediante un análisis Bayesiano empleando el programa STRUCTURE Versión 2.2 (Pritchard et al. 2000). Los parámetros para el corrimiento de los datos fueron; el modelo de correlación de las frecuencias alélicas, el cual presume mezcla ancestral entre las poblaciones existentes; se emplearon 1 000000 generaciones como periodo de calentamiento o burn-in, seguidos de 1 000000 cadenas de Markov (MCMC), el intervalo de número posibles (K) fue de 1 a 8 con 30 réplicas para cada uno. Posteriormente para obtener al valor de K más probable se aplicó el método de Evanno et al. (2005), con el uso de STRUCTURE Harvester (Earl et al, (2011)). También se hicieron estimaciones de F_{ts} pareadas por sitio de muestreo empleando el programa ARLEQUÍN V. 3.5 (Excofer y Lischer 2010).

9. RESULTADOS

9.1 ADN mitocondrial (región control)

9.1.1 Diversidad genética y filogenia de haplotipos

En el análisis realizado con GENLAND, se identificaron dos poblaciones de *S. zygaena* a lo largo de Océano Pacífico Oriental, una en el hemisferio norte (población norte) y otra al hemisferio sur del Ecuador (población sur). La primera se conforma por las muestras colectadas en los sitios de muestreo en México y la segunda se conforma por las que tomaron en las zonas de Ecuador, Perú y Chile.

La población norte estuvo constituida con un total de 130 individuos, en éstas se identificaron 4 sitios polimórficos, cuatro haplotipos exclusivos (4 individuos) y un haplotipo compartido, la diversidad haplotípica (h) se estimó en 0.0608 ± 0.0291 , mientras que la diversidad nucleotídica (número promedio entre secuencias π) se ubicó en 0.062 ([Tabla 3](#)). La población sur por su parte se constituyó con 171 individuos, se identificaron 11 sitios polimórficos, 11 haplotipos exclusivos para la zona sur (Fig. 5B), que derivaron en una h : 0.5701 ± 0.0361 y una π : 0.001 ± 0.001 ([Tabla 3](#)).

Ambas poblaciones comparten un haplotipo (SZ_1), (Figura 5A y 5B). Sin embargo, la frecuencia del mismo haplotipo es notablemente distinta; mientras que en la zona norte el haplotipo SZ_1 se presentó en un 41.87% de los individuos analizados, en la población sur se presentó únicamente en el 4.32% de los individuos. Por otra parte, en la zona sur el haplotipo con mayor frecuencia fue el SZ_7, con un 35% representado solo por organismos de las zonas de Ecuador y Chile (Fig. 5B). Las localidades con valores de diversidad más altos fueron los de BT (0.333 ± 0.215) en la población norte y MA en la población sur (0.620 ± 0.068), a pesar de no ser las zonas con el mayor número de muestras (Tabla 3).

Tabla 3. Índices de diversidad Genética de la región control de *Sphyrna zygaena* en las poblaciones del Pacífico Oriental.

Región	Clave	n	nh	$h \pm SD$	$\pi \pm SD$	S	θ_k	D(P<0.05)
Población Norte		130	5	0.060±0.029	0.001±0.001	4		
Bahía tortuga/México	BT	6	2	0.333±0.215	0.001±0.001	1	1.632	-0.933
Barrancas/México	BR	13	1	0	0	0	-	0
San lázaro/México	SL	31	1	0	0	0	-	0
Punta Lobos/México	PL	8	1	0	0	0	-	0
Nayarit/México	NA	36	2	0.055±0.052	0.001±0.001	1	1.225	-1.133
Colima/México	CO	33	3	0.119±0.075	0.001±0.002	2	1.470	-1.502
Chiapas/México	CP	3	1	0	0	0	-	0
Población sur		171	12	0.570±0.036	0.001±0.001	11		
Santa Rosa/Ecuador	SR	94	8	0.598±0.049	0.001±0.001	6	4.774	-0.569
Manta/Ecuador	MA	29	4	0.620±0.068	0.001±0.001	4	3.903	-0.108
Mancara/Perú	MC	31	6	0.434±0.100	0.001±0.00	4	2.808	-1.342
Caldera/Chile	CA	46	5	0.433±0.082	0.001±0.001	4	3.448	-0.646
Total				315±0.0325	0.001±0.001			

\hat{N} = tamaño de muestra, nh = número de haplotipos, h = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica, s = número de sitios polimorficos, θ_k = número esperados de alelos, D = Valor de Tajima y valor de significancia.

9.1.2 Divergencia genética de *Sphyrna zygaena* en el OPO

Los valores obtenidos de ϕ_{st} con las secuencias de la RCmt entre muestras pareadas de los sitios de muestreo, claramente revelaron diferencias significativas entre dos sitios, uno ubicado al norte y el otro al sur del OPO, el promedio de sus valores fue 0.66, con un valor mínimo de 0.507 y un máximo de 0.818 (Tabla 4).

Tabla 4. Estimaciones pareadas de ϕ_{st} por sitios de muestreo de la región control del ADNmt de *S. zygaena* debajo de la diagonal y valores de P por encima de la diagonal, los valores resaltados con negrita son significativos y están ajustados con la prueba de Bonferroni (inicial $\alpha = 0.05/55 = 0.0009$).

	BT	BR	SL	PL	CO	NAY	CP	SR	MA	MC	CA
BT	<u>0</u>	0.36	0.15	0.43	0.39	0.26	0.99	0	0.0002	0	0
BR	0.108	<u>0</u>	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0	0	0	0
SL	0.341	0	<u>0</u>	0.99	0.99	0.99	0.99	0	0	0	0
PL	0.051	0	0	<u>0</u>	0.99	0.99	0.99	0	0	0	0
CO	0.090	-0.042	-0.00013	-0.063	<u>0</u>	0.47	0.99	0	0	0	0
NA	0.18	-0.043	0.002	-0.063	0.00104	<u>0</u>	0.99	0	0	0	0
CP	-0.15	0.000	0.000	0.000	-0.198	-0.198	<u>0</u>	0.003	0.006	0.0002	0.0012
SR	0.55	0.575	0.643	0.561	0.625	0.641	0.519	<u>0</u>	0.96	0.134	0.146
MA	0.540	0.596	0.705	0.572	0.668	0.697	0.507	0.022	<u>0</u>	0.13	0.21
MC	0.693	0.741	0.818	0.724	0.780	0.806	0.683	0.021	0.026	<u>0</u>	0.684
CA	0.659	0.695	0.764	0.681	0.733	0.755	0.645	0.014	0.012	0.013	<u>0</u>

Región norte: BT: Bahía Tortuga BR: Las Barrancas SL: San Lázaro CO: Colima NA: Nayarit CP: Chiapas. **Región sur:** SR: Santa Rosa MA: Manta MC: Máncora CA: Caldera.

Los resultados del análisis espacial de SAMOVA (Dupanloup et al. 2002) indican que la mayor varianza la presentó el escenario I, donde los sitios se agrupan en dos conjuntos de poblaciones, una en el norte y otra en el sur del OPO (**0.774 y P: 0.003**), además muestra la menor varianza dentro de poblaciones ([Tabla 5](#)), lo que sugiere la existencia de dos grupos genéticamente bien diferenciados de *S. zygaena* a lo largo del OPO.

Tabla 5. Análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) (Dupanloup et al. 2002), realizado con secuencias de la región control del tiburón martillo *S. zygaena*.

Agrupaciones de zonas de muestreo	Varianza	% total	Φ_{ct}
Grupo I (dos grupos): Océano Pacífico Norte (BT, BR, SL, PL, CO, NA, CP) y Océano Pacífico Sur y (SR, MA, MC, CA)			
Entre grupos	0.849	77.43	0.774*
Entre poblaciones dentro de los grupos	-0.002	-0.22	-0.009
Dentro de las poblaciones	0.250	22.78	0.772
Grupo II (tres grupos): Baja California Sur –Centro de México (BT, BR, SL, PL, CO, NA), Sur de México (PM) y Océano Pacífico Sur (SR, MA, MC, CA)			
Entre grupos	0.833	77.02	0.770*
Entre poblaciones dentro de los grupos	-0.001	-0.12	-0.005
Dentro de las poblaciones	0.250	23.10	0.768*
Grupo III (cinco grupos): Baja California Sur (BT, BR, SL, PL), Centro- Sur de México (CO, NA, CP), Ecuador (SR, MA), Perú (MC) y Chile (CA)			
Entre grupos	0.703	74.14	0.741*
Entre poblaciones dentro de los grupos	-0.004	-0.49	-0.019
Dentro de las poblaciones	0.250	26.35	0.736*
Grupo IV (cinco grupos): Bahía Tortuga (BT), Manta (MANT), Costa Occidental de B.C.S (BR, SL, PL, CO, NA) y Puerto madero (CP) y Pacífico Sur (SR, MA, MC, CA)			
Entre grupos	0.686	73.41	0.734*
Entre poblaciones dentro de los grupos	-0.001	-0.16	-0.006
Dentro de las poblaciones	0.250	26.75	0.732*

La prueba de Mantel realizada con todo el conjunto de datos indicó además aislamiento por distancia (Wright 1943) entre las poblaciones identificadas (norte y sur), al mostrar una

correlación positiva significativa ($R^2 = 0.72$, $P = 0.01$). Dichos resultados junto con los de GENLAND y de flujo génico muestran una alta heterogeneidad y estructuración por divergencia genética significativa entre las dos regiones, así como muestra que el flujo génico es casi nulo con base al ADNmt, denotando que existe una barrera entre las poblaciones norte y sur en la zona central de su distribución.

Al asumir la agrupación hecha en SAMOVA, los análisis de AMOVA de la RCmt de *S. zygaena*, se encontró variación altamente significativa entre las localidades agrupadas en la regiones norte y sur del OPO ($\Phi_{CT} = 0.705$ $P = 0.0033$). Lo que nos permite tener la evidencia del número de grupos de *S. zygaena* en el OPO y si variabilidad genética en diferentes niveles jerárquicos ([Tabla 6](#)).

Tabla 6. Análisis jerárquico de AMOVA para secuencias de ADNmt *Sphyrna zygaena* en el Océano Pacífico Oriental, estructura espacial (Pacífico norte (BT, BR, SL, PL, CO, NA, CP) y Pacífico sur (SR, MA, MC, CA)

Fuente de variación	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	ϕ_{st} Valores	P valores (<0.05)
Entre grupos	0.456	70.53	0.705	0.0033
Entre poblaciones dentro de los grupos	-0.001	-0.22	-0.007	0.233
Entre poblaciones	0.192	29.69	0.703	0

9.1.3 Filogeografía, Demografía histórica

La red de haplotipos ([Figura. 4a y 4b](#)) y el análisis bayesiano de la estructura genética georeferenciada ([Figura 5](#)) confirman los resultados de SAMOVA y ϕ_{st} , en el Océano Pacífico Oriental claramente se diferencian dos linajes, una en la parte norte y otra en la parte sur; misma que se relaciona con la distribución geográfica antitropical de *S. zygaena* en el OPO.

El árbol de distancias mínimas (figura 4) se observan dos haplotipos dominantes, el SZ_1 (n: 139) en la población norte y el SZ_7 en la población sur (n: 105); de los que derivan a los demás haplotipos en cada población. No obstante, los haplotipos dominantes se encuentran separados sólo por un paso mutacional.

Las pruebas de neutralidad D de Tajima y Fu, el Skyline Plot, muestran indicios de que ambas poblaciones identificadas con los métodos anteriores exhiben evidencia de expansión poblacional. Dicha expansión se considera ocurrió hace aproximadamente ~ 8 500 años en la población norte y en la población sur hace ~25 000 años ([Figura 6A-6B](#)); con un incremento en el tamaño efectivo poblacional de 10 000 a 1 000 000 y de 10 000 a 100 000 de individuos en las poblaciones norte y sur respectivamente.

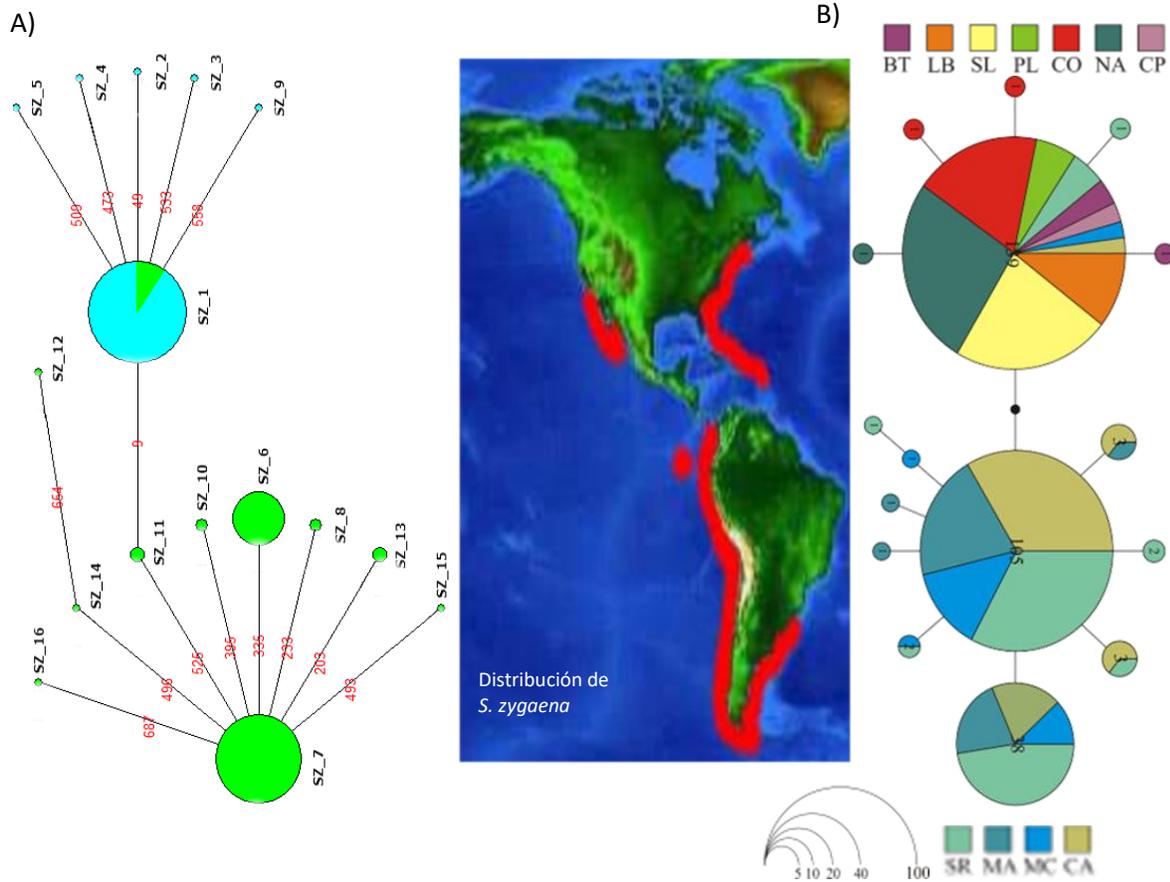


Figura 4. Red de haplotipos de *Sphyrna zygaena* con base en secuencias de la Región Control de ADNmt. **A.** Ilustra los haplotipos de la población Norte y Sur. **B.** La misma red donde se detallan los sitios de muestro. Zonas norte: BT: Bahía tortuga, LB: Las Barrancas, SL: San Lázaro, CO: Colima, NA: Nayarit, CP: Chiapas. Zona Sur: SR: Santa Rosa, MA: Manta, MC: Máncora, CA: Caldera. Los círculos son proporcionales al número de muestras para cada haplotipo, junto a la imagen que muestra la zona de estudio.

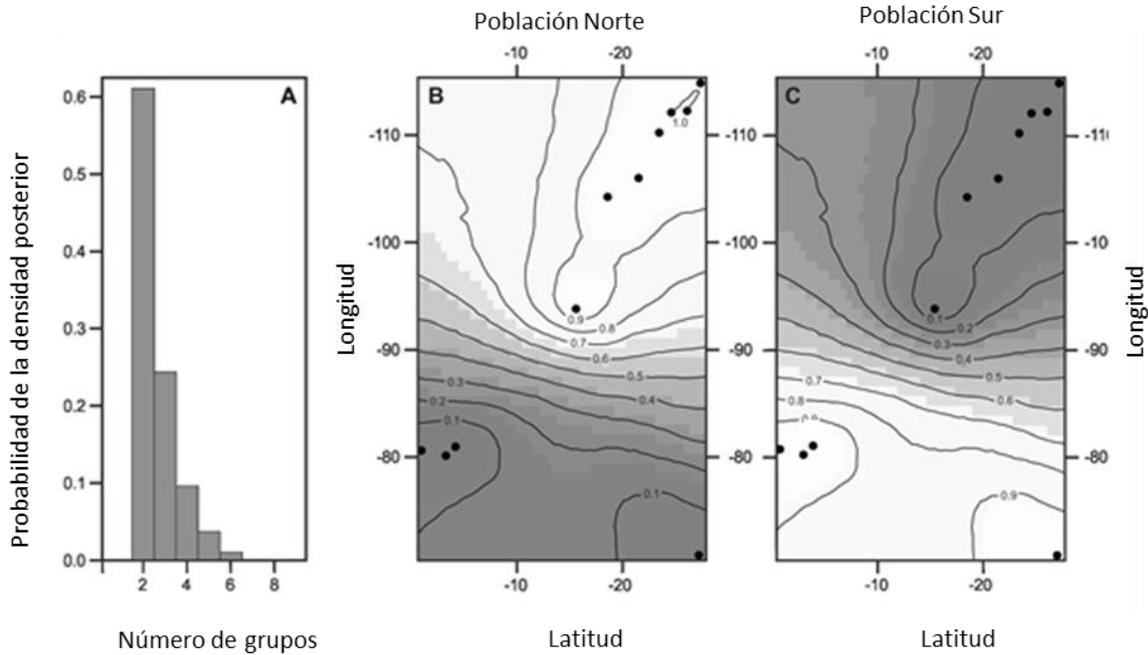


Figura 5. El análisis bayesiano estructura génica. (A) y configuración georeferenciada de las poblaciones de *Sphyrna zygaena* en el Océano Pacífico Oriental (B y C) con el programa GENLAND (Guillot et al. 2005b, 2008) donde se puede distinguir los dos grupos diferenciados geográficamente.

El tiempo promedio del ancestro común más reciente (TMRCA) en la población del Pacífico norte, se estimó en 10 700 años (95% HPD 8 680 a 12 974 años), mientras que en la población sur fue hace 108 000 años (95% HPD 100 266 a 233 300 años). Lo anterior indica que la población sur contiene los haplotipos más ancestrales, además de otros nuevos; por su parte la población norte presenta haplotipos recientes y conserva solo uno de los haplotipos ancestrales.

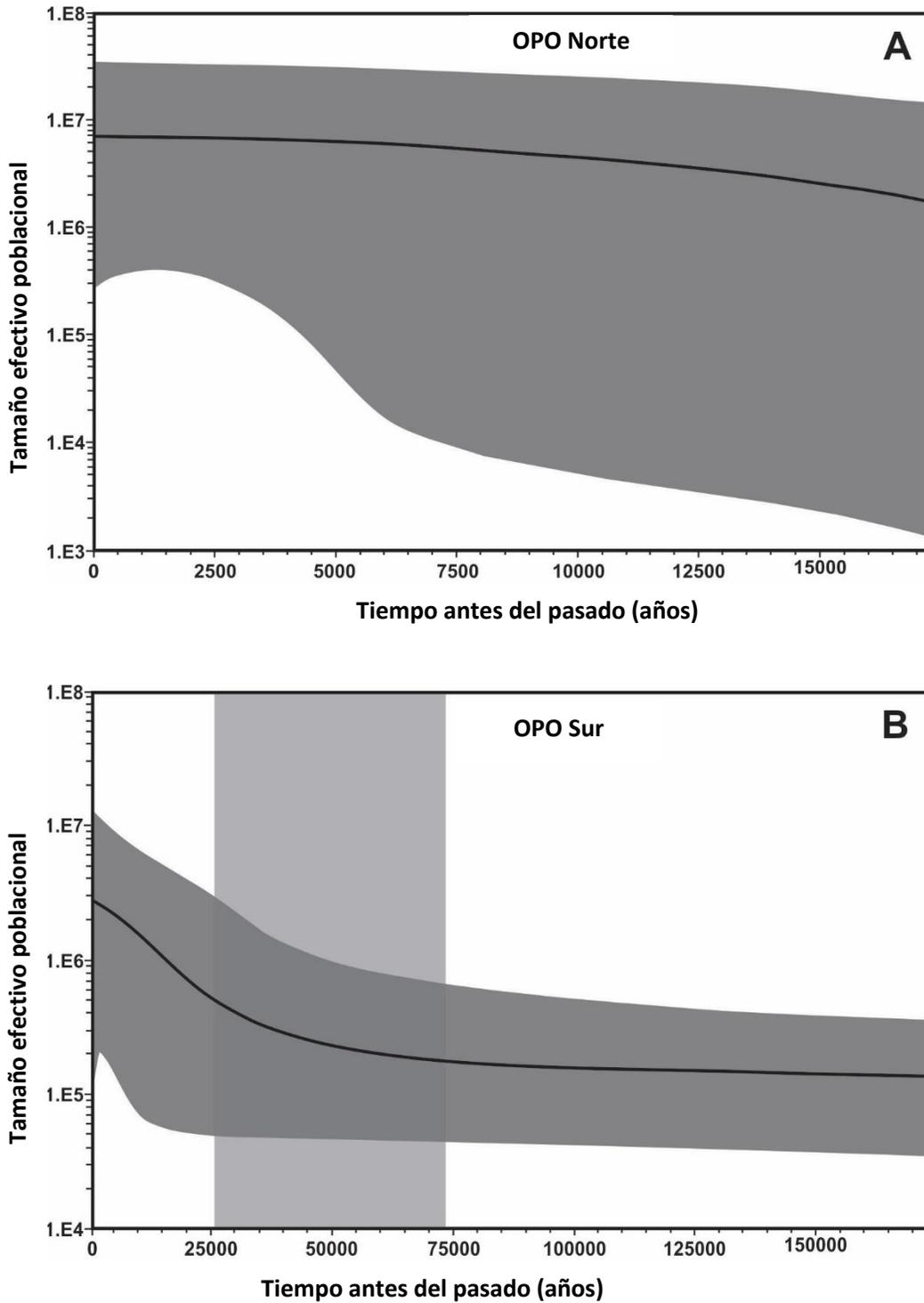


Figura 6. Perfil de horizonte bayesiano (BSPs) que representa el cambio del tamaño efectivo poblacional de *S. zygaena* a través del tiempo, Pacífico Norte (A) y Sur (B) inferidos a partir de la región control del RC-ADNmt. La línea negra es la estimación promedio y el área de color gris indica los intervalos de confianza de 95% de la densidad posterior más alta (HPD).

9.2 ADN nuclear (loci microsátelites)

9.2.1 Genotipificación y calidad de los datos

El estudio presenta resultados del análisis de cuatro (4) microsátelites en total (Tabla 7), estos loci se amplificaron en 105 muestras que incluyen tanto la población norte (n=50) como de la población sur (n= 55). Los resultados de la prueba de Micro-Cheker muestran que no hubo ningún valor significativo para la presencia de alelos nulos o errores de genotipificación.

Los análisis de prueba de ajuste a Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento señalan que no existe ligamiento entre los loci analizados y por tanto, podemos decir que la información proporcionada por cada locus es independiente de los demás.

9.2.2 Diversidad genética

El número de alelos promedio por locus (**Na**) identificados en sitios de estudio, para los cuatro loci microsátelites, están en el intervalo entre 4 y 26 con un promedio de 6.4. El mayor número de alelos promedio se observó en B.C.S, Colima-Nayarit y Ecuador con un $Na=7.33$ y el menor número de alelos promedio se observó en PM, ubicado en el sur de México con un valor de con $Na=3.33$. Es prudente destacar que este sitio cuenta con el menor número de muestras.

La frecuencia de los alelos identificados en los loci SLE 18, 28, 54 y 71 del presente estudio se pueden ver en el [anexo 2](#).

Los valores de la heterocigocidad media observada (H_o) y esperada (H_e) fueron $H_o= 0.627$ y $H_e= 0.626$ respectivamente ([Tabla 7](#)).

Tabla 7. Estimadores de diversidad genética por áreas de muestreo para cuatro microsatélites en el tiburón martillo cornuda cruz *Sphyrna zygaena* en el Océano Pacífico Oriental.

Na= número de alelos, Ho= Heterocigocis observada y He= Heterocigocis esperada

Área/Loci		SLE 18	SLE 54	SLE 71	SLE 81	Promedio	Div. Gen. Multi-locus
B.C.S	Na	26	4	12	6	7.33	0.688367±0.411123
	Ho	0.84	0.56	0.72	0.44	0.57	
	Ha	0.95	0.5	0.79	0.5	0.59	
H-W (P)		0.098	0.921	0.120	0.119	0.31	0.764271±0.473640
CO-Na	Na	20	4	12	6	7.33	
	Ho	0.81	0.6	0.68	0.47	0.58	
	Ha	0.96	0.64	0.82	0.56	0.67	
H-W (P)		0	0.374	0.006	0.009	0.09	0.766667±0.527611
CP	Na	4	3	4	3	3.33	
	Ho	1	0.66	1	1	0.88	
	Ha	0.8	0.73	0.8	0.73	0.75	
H-W (P)		1	1	1	1	1	0.746516±0.461826
Ecuador	Na	26	4	14	4	7.33	
	Ho	0.77	0.55	0.76	0.3	0.53	
	Ha	0.94	0.51	0.83	0.27	0.53	
H-W (P)		0	0.723	0.198	1	0.48	0.688679±0.410683
Perú	Na	25	4	10	6	6.66	
	Ho	0.92	0.44	0.7	0.59	0.57	
	Ha	0.96	0.49	0.7	0.6	0.59	
H-W (P)		0.045	0.308	0.397	0.206	0.95	0.63
Por locus	Na	14.65	2.87	7.65	3.66	6.40	
	Ho	0.87	0.56	0.77	0.56	0.63	
	Ha	0.92	0.57	0.79	0.53	0.63	

9.2.3 Diferenciación genética

De las cinco agrupaciones probables con las muestras obtenidos de los sitios con el método de Evanno y la asignación de grupos genéticamente homogéneos con base a la tasa de cambio ΔK , se obtuvo un valor de $K=1$ ([Figura 7 A y 7B](#)).

En los resultados de STRUCTURE, para estimación del origen genético de los individuos, con base en su similitud genética con las poblaciones de referencia, mostró que los individuos del estudio no encontraron diferenciación, infiriendo la presencia de una sola población ($K=1$) en la zona de estudio ([Figura 8](#)). Por tanto, no hay señal de divergencia entre localidades y grupos. Este se hecho se corrobora con el AMOVA, en el que tampoco detectan diferenciación marcadas entre los sitios de estudio, ni entre las poblaciones agrupadas como norte y sur ([Tabla 9](#)) con una $P = 0.25910 \pm 0.13 733$. Sin embargo, mediante los F_{st} de Wrigth, se observan ligeras diferencias entre algunas agrupaciones de localidades del norte y el sur como: BT, BR, SL, PL con SR y MA, CO-NA con SR y MA, SR y MA con MC ([Tabla 9](#)), pero los valores son bajos y no reflejan un patrón geográfico.

Estos resultados de los microsátelites sugieren la presencia de una sola población de *S. zygaena* a lo largo del OPO.

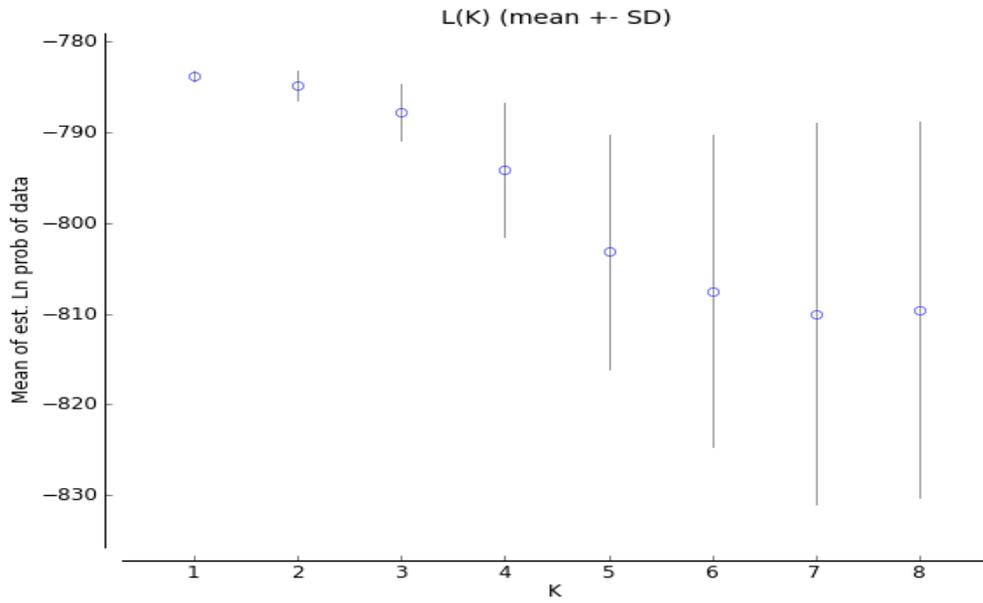


Figura 7. A. Probabilidad media y varianza para cada valor de K, basados en 105 individuos de *S. zygaena*, genotipados con 4 loci de microsatélites diseñados para *S. lewini*; con base al Método de Evanno aplicado en el programa STRUCTURE Harverter. Los datos se ajustan a una K=1.

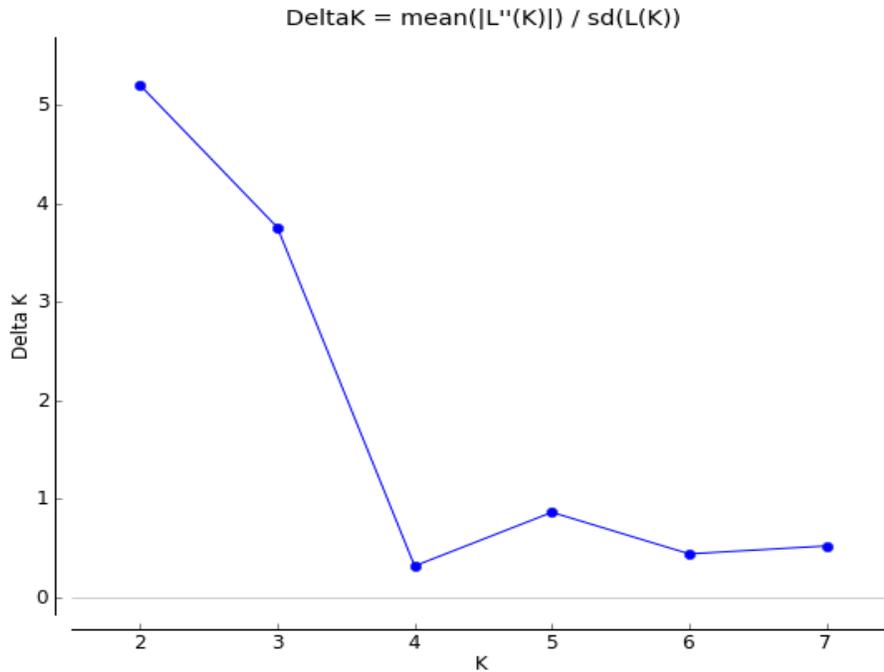


Figura 7B. Asignación de grupos genéticamente homogéneos con base a la tasa de cambio ΔK (Evanno et al. 2005), para cuatro microsatélites. Los datos se ajustan mejor a una K=1.

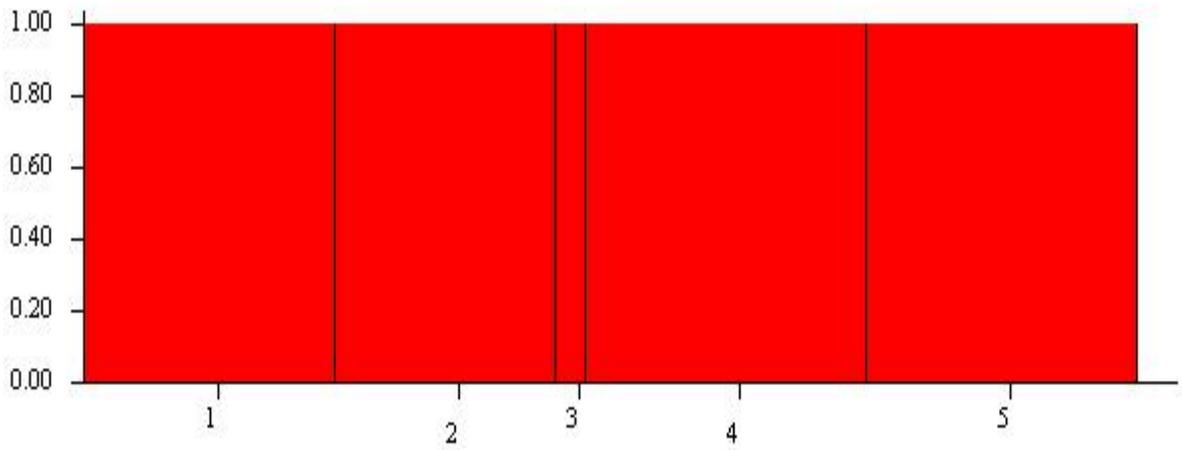


Figura 8. Test de diferenciación genética realizado con STRUCTURE (Pritchard *et al.* 2000) empleando cuatro microsatélites. Mayor probabilidad de asignación de grupo de los organismos de cada sitio de *S. zygaena* en el Océano Pacífico Oriental, basado en datos de cuatro microsatélites K=1 diseñados para *S. lewini*.

Tabla 8. Valores de mayor probabilidad de poblaciones (K) de *S. zygaena* en el OPO, con base a con cuatro loci microsatélites obtenidos con el programa STRUCTURE.

K	Ln[LnP(D)]	Var[LnP(D)]	Fst_1
1	-1634.8	34.1	0.0000
2	-1642.4	50.7	0.0000
3	-1663.1	98.4	0.0071
4	-1729.8	238.9	0.0024
5	-2063.4	923.8	0.0361

Tabla 9. Valores de *Fst* por grupos de zonas de muestreo de empleando microsatélites, los valores de (*Fst*) están debajo de la diagonal y valores de *P* están por encima de la diagonal.

Zonas de muestreo					
	(BT, BR, SL, PL)	CO y NA	PM	SR y MA	MC
(BT, BR, SL, PL)		1	1	0.45815	1
CO y NA	0.01216		1	0.45815	1
PM	0.02795	0.01317		0.84595	1
SR y MA	0.01285	0.02461	0.05665		0.47630
MC	0.01352	0.01749	-0.00833	0.03086	

10. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio brindan información poblacional relevante del tiburón martillo cornuda cruz *Sphyrna zygaena* a lo largo de las costas del Océano Pacífico Oriental (OPO), que permite sentar las bases para la definición de unidades de conservación de la especie. Este tiburón ha presentado abundante y constante presencia en la zona de estudio en los diferentes estadios de desarrollo, evento que ha incentivado y facilitado la explotación; no obstante, el conocimiento de su biología y capacidad poblacional para soportar la presión de pesca hoy en día es escaso.

10.1. Diversidad genética

En general, *Sphyrna zygaena* en las dos poblaciones identificadas, presentó niveles de diversidad genética relativamente bajos. En particular la población norte presentó una $h = 0.06$ y $\pi = 0.001$, valores muy bajos y son poco frecuentes en elasmobranchios (ver anexo 3). Mientras que la población sur presentó valores superiores a la población norte con una $h = 0.57$ y $\pi = 0.001$ y son similares a otras especies de tiburones de acuerdo con la revisión de Gubili, et al., 2012 y otros estudios (Anexo 3). El bajo nivel de diversidad, detectada en la especie puede ser originada por el bajo número de diferencias nucleotídicas detectadas a lo largo de las secuencias con 691 pb de longitud, basadas en tan sólo seis sitios segregantes y a la intrínseca tasa mutacional evolutiva los genes mitocondriales, o desde el punto de vista poblacional pudo ser causado por procesos recientes cuellos de botella o un barrido selectivo seguido por un proceso de expansión.

Los elasmobranchios, generalmente presentan tasas lentas de sustitución nucleotídica en comparación con otros vertebrados, este patrón ha sido relacionado con la historia de vida del grupo como bajo potencial reproductivo, largos periodos de gestación, lento crecimiento

y bajas tasas metabólicas (Martin 1999, Cortés 2004). Para mayor referencia, los valores de diversidad genética (h , π y H_e) en un buen número de elasmobranquios han sido reportados en la revisión de Gubili, et al., 2012 y otros estudios (Anexo 3). En dichos trabajos se ha planteado que las bajas tasas mutacionales en elasmobranquios se deben a los largos periodos generacionales y bajas tasas metabólicas características de la mayoría de los integrantes del grupo (Martin 1999).

No obstante, al examinar detalladamente los valores de diversidad genética, es posible observar un patrón para familia Sphyrnidae relacionados con la talla. De acuerdo con Lim et al. (2010), el grupo puede dividirse en tiburones de talla pequeña (90 - 92 cm de LT máx.) representado por la especie *S. corona*; tiburones de talla mediana (122- 150 cm de LT) conformado por las especies *S. media*, *S. tiburo* y *S. tudes*, y los tiburones de tallas más grandes (370 - 610 cm de LT máx.), integrado por *S. lewini*, *S. mokarran* y *S. zygaena*. Las especies de talla pequeña a mediana suelen presentar valores de diversidad mayores ($h_d = 0.72 \pm 0.35 - 0.93$, $\pi = 0.00032 \pm 0.00028 - 0.14$), en relación con las tallas grandes ($h_d = 0.4426 - 0.61 \pm 0.12$, $\pi = 0.0098 \pm 0.0072$). Esto, debido a que se caracterizan por presentar tiempos generacionales más cortos (2.6 - 6.6 años), crecimiento acelerado, talla de primera madurez sexual a longitudes menores, pocos embriones (2 - 9 por camada), se reproducen con mayor frecuencia y presentan tasas metabólicas elevadas, por tanto, muestran tasas mutacionales más elevadas (Matern et al. 2000 en Carlson et al. 2004, Compagno et al. 2005). En contraparte, las especies de tallas medianas y grandes exhiben valores intermedios a bajos de diversidad genética y se caracterizan por ser más longevas (10 - 45 años), la talla de la primera madurez sexual es alcanzada a tallas mayores (140 -300 cm de LT), usualmente presentan ciclos reproductivos prolongados y mayor número de crías (8 - 42) por camada y tiempos generacionales más largos (Matern et al. 2000 en Carlson et al. 2004, Compagno et

al. 2005, Tovar-Ávila y Gallegos-Camacho 2014). En éste y otros estudios *S. zygaena* ha presentado valores bajos de diversidad (Naylor et al. 2012, Duncan et al. 2006, Hernández 2013). Lo anterior coincide con los bajos valores reportados en las otras especies grandes del género como *S. lewini* y *S. mokarran* (Duncan et al. 2006). En contraste, *S. tiburo*, especie de talla mediana, presenta una alta diversidad ($h = 0.93$ y $\pi = 0.0028$), de acuerdo con Escatell-Luna et al. (2015). En especies de tiburón de talla mediana de otras familias, como *Rhizoprionodon porosus* (Mendonça et al. 2011) y *Carcharhinus plumbeus* (Portnoy et al. 2010), también se han reportado alta diversidad genética ($h = 0.881$, $\pi = 0.00277$; $h = 0.959$, $\pi = 0.00475$ respectivamente), lo que resulta consistente con la correlación entre diversidad genética y talla (Cortés y Parsons 1996). Sin embargo, dicha correlación no ha sido abordada directamente, pero Lim et al. (2010) consideran que existe un valor desde el punto de vista filogenético y la talla, que estaría relacionada con la capacidad de dispersión de los tiburones de acuerdo con la talla. Es decir, los tiburones más grandes tienen mayor capacidad de realizar desplazamientos transoceánicos que los de menor talla, permitiéndoles de esta manera colonizar nuevas áreas originando a las especies de talla pequeña, mismas que se volvieron residentes una vez que se especializaron en el hábitat costero.

Sin embargo, la baja diversidad observada puede ser explicada también con base en un cuello de botella reciente, un efecto fundador, o la combinación de ambos procesos. Durante el Pleistoceno ocurrieron numerosos ciclos Glaciales-Interglaciales, durante los cuales acontecieron fluctuaciones notorias en la temperatura de las aguas subtropicales y tropicales, aunque en menor grado en estas últimas (Hewitt 1996, Paulo et al. 2001). Estos procesos tuvieron diversos efectos en las poblaciones de las especies (Hewitt 1996, Paulo et al. 2001) siendo el más destacado la reducción en el tamaño de las poblaciones, pero también promovieron la expansión del espacio de distribución de las especies (Avise 2000). Las

reducciones, en algunas especies fueron tan drásticas que causaron cuellos de botella mientras que, en el caso de las expansiones del rango de distribución, estas debieron ocurrir mediante un efecto fundador. En ambos procesos, las poblaciones que los experimentaron se caracterizan por la reducción en el nivel de diversidad genética (Avice 2000, Dawson *et al.* 2002, Hedrick 2011.) (ver discusión de demografía histórica).

En el caso de la discrepancia el número de haplotipos y diversidad entre poblaciones norte y sur, podría ser el resultado de otros procesos microevolutivos. Es probable que la población norte, haya pasado por un proceso de cuello de botella o barrido selectivo que redujo la variación en el genoma del DNAm, y recientemente la población inició su recuperación y expansión de la zona de su distribución. La expansión dada post cuello de botella, pudo haber ocurrido a partir de hemisferio sur al norte, impulsado por la búsqueda de condiciones oceanográficas favorables, como hábitats propicios para la alimentación y reproducción, las cuales eran más frecuentes en la región norte hace 10 000-25 000 años durante la última glaciación (ver discusión de demografía histórica). Así, el área de expansión se facilitó por la habilidad y oportunidad de los organismos de dispersarse para colonizar nuevas áreas con éxito, y con frecuencia precedidos por eventos fundadores. Así los nuevos hábitats fueron establecidos con pocos individuos de la población de origen, siguiendo de este modo el modelo de islas continentales de Wright (Wakeley 2001). Una población fundadora sólo toma una pequeña muestra de la diversidad de la población de origen y por lo general experimentará una fuerte deriva génica que promueve la fijación de aquellos haplotipos que podrían haber sido de baja frecuencia en la población de origen. Además, debido a la baja tasa de mutación en los tiburones, la generación de nuevos haplotipos en áreas colonizadas debería tomar mucho más tiempo en comparación con otras especies antitropicales. De este modo, la nueva población podría tener más bajos niveles de diversidad haplotípica

comparada con la población de origen, y cualquier haplotipo nuevo sólo habría tenido la oportunidad de acumular pocas diferencias nucleotídicas como se observó en la población norte.

Por otra parte, la diversidad detectada mediante los microsatélites mostró niveles aceptables en términos de heterocigocidad ($H_e = 0.626$), en relación con otras especies de elasmobranquios ([Anexo 3](#)) y los valores reportados para los congéneres *S. lewini* ($H_e = 0.770$ y 0.792) de acuerdo con Nance *et al.* 2009 y *S. tiburo* ($H_e = 0.70$) por Díaz-Jaimes *et al.*, 2020. No obstante, el número de loci empleados en dichos estudios fue superior (14 y 15 loci respectivamente) a los empleados en el presente trabajo.

10.2 Divergencia genética e historia demográfica de *Sphyrna zygaena* en el OPO.

Las poblaciones al norte y sur del Pacífico Oriental (PO) debieron separarse por alguna barrera oceanográfica, como la masa de aguas tropicales en la zona tropical del Pacífico que se extiende desde los 6° N a 15° N; misma que ha sido señalada como un factor determinante en la distribución anti-tropical de otras especies con distribución en aguas templadas y en ambos hemisferios latitudinales (Burrige 2000), al igual que de otras especies de elasmobranchios en el PO. Este es el caso del tiburón cazón pardo *Mustelus henlei* (Chabot et al., 2015) y el tiburón espinoso *Squalus acanthias* (Veríssimo et al. 2010). En ambos estudios se reporta divergencia genética entre poblaciones al norte y sur de la franja ecuatorial del PO. Los aislamientos históricos se remontan a los períodos glaciales, en donde cambió significativamente la circulación oceanográfica en el OPO con la formación de la Warm Water Pool (WWP), una zona cálida característica de este océano. Así como el papel de esta zona en los posteriores procesos de expansión de especies hacia zonas templadas, la posterior adaptación al ambiente; expansión de las poblaciones y la contemporánea restricción de flujo genético entre las nuevas poblaciones (norte y sur) que dieron lugar a dos poblaciones diferenciadas en el OPO. Esto coincide con la distribución antitropical, característica de dichas especies hasta la actualidad con su ausencia en la zona tropical. Este patrón de divergencia se repite en un amplio número de especies de peces pelágicos con distribución anti-tropical, mismas que han mostrado altos niveles de divergencia tanto a nivel poblacional como de especie. Tal es el caso de las especies de barracudas del género *Sphyrna* sp. (Graves y Somero, 1982), algunas especies de macarelas, del género *Trachurus* sp. (Stepien y Rosenblatt 1996, Poulin et al. 2004), la merluza del Pacífico, *Merluccius productus* (Stepien y Rosenblatt 1996, García de León, et al., (2018), sardinas, *Sardinops* sp., y anchovetas, *Engraulis* sp. (Bowen y Grant 1997; Grant y Bowen 1998). Estos estudios

muestras la preferencia de estos peces por aguas templadas, que resultan en un arreglo espacial de los organismos en los hemisferios al norte y sur de, así como la ausencia en la zona tropical, típico de la distribución anti-tropical.

La distribución anti-tropical de las especies ocurre en los diferentes océanos en respuesta a la distribución y conjunción de las masas de agua cálida y templada. La presencia de aguas cálidas en el PO es una de las más relevantes por su estabilidad a lo largo del año misma que se conoce como la “Eastern Pacific Warm Pool (EPWP)” o fosa de agua cálida del PO y se ubica en la zona de convergencia entre los 5 y 10°C hacia el norte del ecuador, a lo largo de las aguas de Centroamérica hasta la zona sur de México. Esta zona se caracteriza por presentar temperaturas promedio de 27.5°C y es originada por la debilidad de los vientos en el área e intensidad de la luz solar (Fiedler y Talley, 2006). La prevalencia de condiciones de temperaturas cálidas en el área representa limitantes en la distribución de especies de aguas templadas y con capacidad de dispersión como es el caso de las especies que se mencionan arriba. Si bien la mayor parte de estas, en especial las pelágicas, tienen alta capacidad de dispersión, su tolerancia a aguas cálidas es distinta y en ocasiones limita sus movimientos. Por ejemplo, mientras que en especies de los géneros *Trachurus* sp y *Sphyrna* la franja de aguas cálidas del ecuador representan una barrera que ha originado procesos de especiación (Stepien y Rosenblatt 1996, Poulin *et al.* 2004, Graves y Somero 1982); en el bonito del género *Sarda* sp., no representan una restricción al flujo genético ya que entre las poblaciones al norte y sur del ecuador no se han detectado diferencias genéticas (Viñas *et al.* 2004).

Es interesante la relación de la presencia de aguas superficiales cálidas y la escasa o nula presencia de la especie en dicha región (5 -7°) y la ocurrencia de la misma en ambos hemisferios que presenta temperaturas más bajas. Lo anterior se constata con los abundantes registros pesqueros en las costas que comprende en esta región temperada en México

(Castillo-Géniz *et al.* 2016, Corro-Espinoza 2016, Tovar-Ávila 2016, Arellano-Torres *et al.* 2016, Santana-Hernández y Valdez-Flores 2016, Félix-López 2017), Ecuador (SPR 2011), Perú (Castañeda 2001) y Chile (Hernández-Muñoz 2013). Esto confirma la preferencia de la especie por hábitats templados en comparación con otros tiburones costeros-pelágicos conocidos por su afinidad a las zonas tropicales como *Sphyrna lewini*, *Charcharhinus falciformis* y *C. limbatus*, entre otros que son comunes en el área (Ebert *et al.* 2016), mientras que *S. zygaena* en la zona EPWP es ausente o tiene baja densidad (Maté 2005, Zanella 2007, TCN 2008). Así pues, la distribución anti-tropical de la especie soporta la idea de que una barrera térmica limita significativamente el flujo génico entre las poblaciones del hemisferio norte y sur del tiburón martillo en el PO.

Siguiendo esta idea, la divergencia observada entre las poblaciones del tiburón martillo debe ser examinada desde una perspectiva histórica, la cual es provista por el DNAm. Esto es, considerando las causas que dieron origen en el pasado, a la aparición de la barrera oceanográfica representada por la franja de aguas cálidas en el ecuador y que resultó determinante en la distribución anti-tropical de las especies. Durante los periodos glaciales del Pleistoceno tardío en los cuales la temperatura del agua descendió entre 3-5°C en los últimos 500,000 años (Pisias *et al.* 1995); la temperatura superficial del agua en la fosa cálida del PO tuvo un descenso de 2.8°C, con un patrón recurrente en ciclos de 1 000 años, durante los últimos 30 000 años (Benway *et al.* 2006). Estos eventos debieron establecer condiciones favorables para la dispersión y expansión espacial de las poblaciones en varias ocasiones, permitiendo el paso a través de la franja de aguas tropicales ecuatoriales y favoreciendo el establecimiento nuevas áreas.

En el caso específico de *S. zygaena*, durante los ciclos glaciales la TSM bajó permitiendo que la población al sur del ecuador se dispersara hacia el norte colonizando nuevas áreas en la

zona. Posteriormente al culminar la glaciación, la temperatura en el ecuador se reestableció originando nuevamente la EPWP y las poblaciones que se establecieron en la zona norte tras su expansión quedaron aisladas de la del sur; este aislamiento se mantiene hasta la actualidad por dicha barrera térmica. Es así como en la actualidad los reportes pesqueros de presencia y abundancia de la especie en la zona tropical son pobres y tal como se observó durante los años del presente estudio. Este escenario explicaría, por un lado, la divergencia reciente entre las dos poblaciones bajo una aparente ausencia de flujo genético ([Figura 9](#)), aspecto que se deduce por los haplotipos exclusivos de alta frecuencia en cada región, y por otro lado la notablemente baja diversidad genética de la población norte, posiblemente resultado del efecto fundador causado por la dispersión ocurrida durante las glaciaciones.

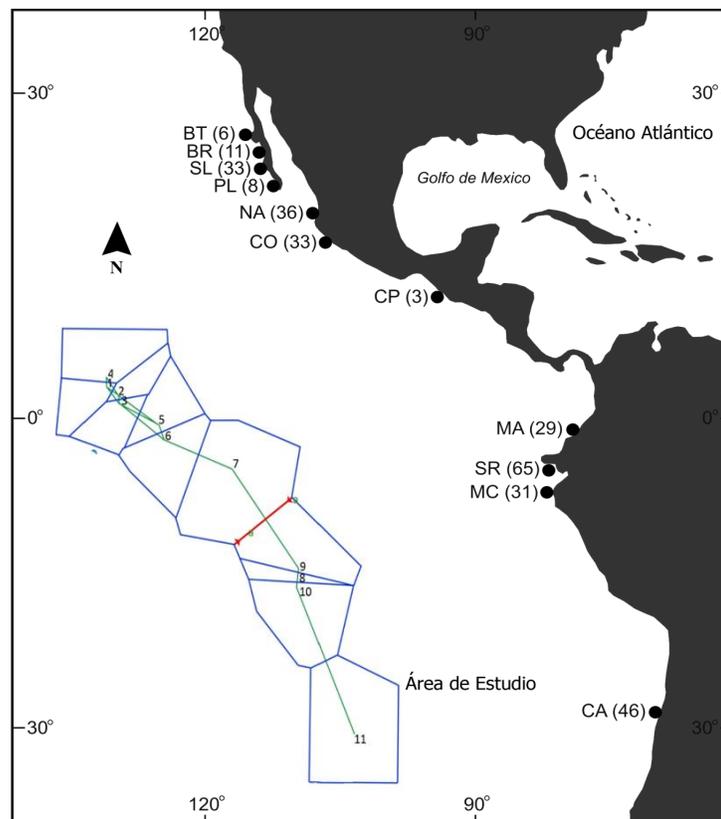


Figura 9. Resultado gráfico del análisis de flujo génico de *S. zygaena* en base a DNAmT-RC a lo largo del OPO con el programa BARRIER.

La divergencia reciente de la cornuda cruz, resulta consistente con el número de mutaciones que separan a las poblaciones al norte y sur del ecuador; mismas que se separan por únicamente dos diferencias nucleotídicas. Es de hacerse notar que, en otros tiburones con preferencia a aguas templadas y distribución anti-tropical, como es el caso de *G. galeus* y *M. henlei*, la divergencia genética resultó al igual que en *S. zygaena*, únicamente en dos sustituciones nucleotídicas. De esta forma es probable que el tiempo de divergencia entre poblaciones de *S. zygaena* sea posterior a los eventos de expansión ocurridos hace aproximadamente 10 000 años.

Es evidente que este resultado puede verse influido por la baja tasa mutacional del DNA mitocondrial ya que en estudios con peces teleósteos de la misma región marina y con distribución anti-tropical, la estimación del tiempo de divergencia entre poblaciones norte y sur de la caballa *Scomber japonicus*, se estimó entre 300 000 – 400 000 años (Stepien y Rosenblatt 1996), mientras que en el caso de las especies de Jurel *Trachurus sp* en se estimó en 250 000 años (Poulin et al. 2004) y de 80 000 años para las poblaciones de la merluza *Merluccius productus* (García de León, et al., (2018). Es de destacar que los tiempos de divergencia en estas especies resulta coincidente con la ocurrencia de eventos en las glaciaciones, lo cual refuerza la hipótesis de expansión espacial de las poblaciones y el posterior aislamiento durante los periodos interglaciares.

Es importante señalar que las diferencias observadas entre poblaciones norte y sur con las secuencias del DNAm, no fueron detectadas con los marcadores nucleares, lo que llama la atención. Sin embargo, este patrón ha sido también reportado en otras especies de tiburones como *C. leucas* (Karl et al. 2011, Sandoval Laurraquio-A et al. 2019), *C. limbatus* (Kenney et al. 2005, Galván-Tirado et al. (2015), siendo este evento asociado con el comportamiento filopátrico de las hembras (Karl et al. 2011) y a las características evolutivas de los

marcadores. El DNAm se caracteriza por la ausencia de recombinación y ser de herencia materna, lo que desde una perspectiva particular permite obtener información de la segregación de haplotipos como resultado de la fidelidad de hembras a sitios de crianza.

Asimismo, el DNAm se caracteriza por una N_e cuatro veces menor que el DNA nuclear haciéndolo más sensible a fluctuaciones demográficas, mientras que los microsatélites del ADN nuclear presentan una alta tasa mutacional, que les permite detectar procesos evolutivos a escalas más recientes. Por consiguiente, el DNAm es más susceptible demográficamente ante un efecto cuello de botella, lo cual puede resultar en una sustancial y acelerada disminución en la variabilidad genética, lenta capacidad de recuperación, poca frecuencia en la formación de nuevos haplotipos y por ende la fijación de estos. Es así como la señal del DNAm muestra una clara estructuración poblacional, al detectar la divergencia de los linajes que han estado presentes en las zonas de estudio. Mientras que, los microsatélites al tener la capacidad de detectar eventos más recientes en la población exhiben nula estructuración. Por lo que no se debe descartar la idea de la existencia de flujo génico contemporáneo entre el norte y sur del OPO, por parte de los individuos machos de *S. zygaena*. No obstante, en el presente trabajo se utilizaron 4 loci, siendo necesario estudios con una mayor representatividad del genoma nuclear para descartar la homogeneidad genética de las poblaciones. Sin embargo, considerando como fiable la ausencia de diferencias en el ADN nuclear, resulta necesario contemplar otro escenario para explicar las diferencias entre poblaciones de *S. zygaena* en el Pacífico Oriental, como es el comportamiento filopátrico de la especie en estudio.

La filopatría de acuerdo con Mayr (1963), es la tendencia a permanecer o regresar a un sitio específico, con fines reproductivos. Este comportamiento puede ocasionar la especiación entre dos poblaciones, aunque generalmente propicia la divergencia genética a escalas

locales. Un patrón de divergencia por filopatría, por lo general consiste en una señal que se origina por la segregación, generación tras generación, de un grupo de haplotipos en una zona de crianza, debido al uso recurrente de la misma por parte de las hembras, las cuales depositan a sus crías en una zona y estas a su vez, una vez que maduran y se reproducen, regresan a la misma a depositar a su progenie (Feldheim et al. (2004), Hueter et al. (2005), Dudgeon, et al., 2012). Los machos por su parte se dispersan hacia aguas oceánicas y se mantienen ahí para alimentarse y reproducirse, promoviendo el flujo genético entre poblaciones (Freeland 2005). Lo que se refleja en un patrón genético, en donde las diferencias se observan en el DNA mitocondrial y son ausentes en el DNA nuclear (Tillet, et al., 2012), tal como se ha considerado en las especies *C. limbatus* (Kenney et al. 2005), *C. leucas* (Karl et al. 2011, Sandoval Lurrabaquio-A 2005, Sandoval Lurrabaquio, et al., (2019)) y *C. falciformis* (Galván-Tirado, et al., 2013) y se observó en el presente estudio con *S. zygaena*. La filopatría es un comportamiento que es reportado en cada vez en un mayor número de especies de elasmobranchios (Dudgeon et al., 2012) y por tanto no se debe descartar que las diferencias observadas en el presente estudio puedan corresponder a un comportamiento filopátrico de las hembras. Sin embargo, la segregación de haplotipos como resultado de filopatría producen cambios en las frecuencias de los haplotipos, si bien sustanciales, estos aún se encuentran presentes en alguna proporción en las poblaciones de diferentes zonas de crianza. En el caso de *S. zygaena*, los dos haplotipos de mayor abundancia se presentan con una frecuencia casi fija para cada región; solo en el caso de la población del norte se aprecia una muy pequeña proporción de haplotipos del sur en tanto que, en la población del sur, los haplotipos del norte están ausentes por completo. Adicionalmente, en especies de hábitos costeros como *S. zygaena*, la filopatría aun siendo regional, se presenta entre áreas relativamente cercanos, esto es, en una escala de cientos de kilómetros. En México se han

reportado como posibles áreas de crianza de *S. zygaena*, las costas de Baja California y Nayarit (Salomón-Aguilar et al. 2009), ambas zonas separadas por decenas de kilómetros, y entre las cuales no se detectaron diferencias en este estudio (BT, BR, SL, PL y NA). Del mismo modo, tampoco fueron detectadas diferencias entre las diferentes áreas de colecta que son reportadas como zonas de crianza en Ecuador (MA y SR). Así, la ausencia de diferencias en una escala relativamente pequeña no concuerda con el resultado que se esperaría de una conducta filopátrica para una especie con hábitos costeros. En el caso de especies pelágicas como el tiburón blanco *Carcharodon carcharias*, se reportan diferencias entre Australia y Sudáfrica que son zonas notablemente alejadas (Pardini et al. 2001) y entre poblaciones Atlántico noroccidental y África del Sur; este hecho se ha atribuido a la filopatría en hembras (O'Leary et al. 2015). Sin embargo, a juzgar por los niveles de divergencia entre los linajes, es posible que la influencia de otros factores como la demografía histórica o selección adaptativa, tengan un papel preponderante (O'Leary et al. 2015; Stein et al. 2018). Resulta preciso la realización de estudios orientados a dilucidar el papel de la filopatría en la divergencia de las poblaciones y así poder diferenciar cuando una divergencia es debida a la historia evolutiva de las poblaciones. De manera complementarias, dentro de un contexto contemporáneo, sería favorable determinar la influencia de factores como limitaciones al flujo genético por dispersión limitada, selección y uso del hábitat específico en la divergencia poblacional de *S. zygaena*. De acuerdo a la literatura, lo anterior sería posible corroborarlo con un mayor número de marcadores nucleares (microsatélites y/o RADseq) y que éstos sean diseñados exclusivamente para *S. zygaena* con el fin de probar o rechazar esta idea, esperando obtener una mayor resolución de la estructura poblacional del tiburón en el OPO, uso de las diversas áreas de distribución, influencia de la distancia entre áreas de crianza etc., como se

ha logrado ver en los trabajos de Daly-Engel et al., (2012) y Nance et al. (2011) con *S. lewini* y Díaz- Jaimes et al. (2020) con *S. tiburo* .

La presencia de dos poblaciones aisladas evolutivamente del tiburón martillo *S. zygaena* en el OPO, constituye un hallazgo importante y prioritario (Waples 1991) para la especie, que debería tenerse en cuenta para guiar los planes de manejo y conservación de la especie en cada zona. Esto, debido a que la existencia de poblaciones con diferencias genéticas es un indicativo de que las poblaciones se encuentran aisladas reproductivamente a tal grado que representan unidades de conservación independientes. Por tanto, sus características básicas de su dinámica como crecimiento, madurez reproductiva, proporción de sexos, estructura de edades, etc., son distintas debido a que estos caracteres tienen un componente genético (Rayman et al. 1979). Así mismo y desde el punto de vista evolutivo, éstas son vulnerables a escalas de tiempo ecológico y evolutivo (Grant y Bowen 1998). Es decir, es considerado el bagaje evolutivo que contiene, la desaparición de alguna de estas poblaciones tiene un impacto en la diversidad genética de la especie con el riesgo de que se pierdan genes con valor adaptivo. La aplicación de criterios genéticos para elaborar estrategias de manejo ha sido sugerida en *S. tiburo* en el Atlántico Noroccidental al determinar al menos dos unidades genéticamente discretas el Golfo de México- Atlántico, mismas que exhiben historias evolutivas independientes que podrían incluir adaptaciones a las zonas específicas (Díaz- Jaimes et al., 2020).

El presente estudio da a conocer las diferencias en la diversidad genética entre las poblaciones identificadas, como resultado de los diversos procesos demográficos históricos y adaptaciones evolutivas transcurridas a lo largo del tiempo, relacionadas a la dinámica climática. Lo anterior, aporta elementos para establecer los criterios básicos que permitan elaborar estrategias de conservación para la especie en el Pacífico Oriental.

El conocer procesos que promueven la divergencia genética en el EPWP a través de la restricción en el flujo génico entre poblaciones a largo del OPO, es una herramienta que permite la identificación de unidades discretas, conteniendo genes con potencial adaptativo y características genéticas únicas en cada población (Kenney et al. 2003) en pro de contrarrestar la vulnerabilidad y riesgo ecológico actual de la especie (Tovar-Ávila, Furlong-Estrada y Castillo-Géniz 2016).

11. RECOMENDACIONES EN LAS PESQUERÍAS Y MANEJO

En el presente estudio, fueron identificadas dos poblaciones en el rango de distribución de *Sphyrna zygaena* en el Pacífico Oriental, una la región norte en el área de distribución de las costas de México, y otra en la región sur en las costas de Sudamérica. Ambas poblaciones podrían ser consideradas como poblaciones o unidades independientes de manejo dentro de un programa de conservación de la especie en el OPO. Esto especialmente para la población norte, mismas que arrojó valores de diversidad genética notablemente bajos, lo cual podría poner en riesgo la viabilidad de misma bajo un régimen de explotación comercial si no se considera a ésta como unidad de manejo independiente. Una población es considerada como unidad de manejo independiente cuando posee características únicas de su historia de vida, mismas que incluyen rasgos genéticos, las cuales determinan las principales características consideradas de relevancia para determinar niveles óptimos de captura de las unidades de manejo; las poblaciones genéticamente aisladas que muestran diferencias en los niveles de diversidad genética deben manejarse independientemente dentro de cualquier régimen de manejo poblacional. Por tales razones, incorporar información genética en la identificación de dichas unidades resulta necesario para establecer programas de manejo pesqueros mismos que consideran la identificación de unidades de manejo o “stocks”, como un aspecto primordial para establecer programas efectivos en la conservación de recursos pesqueros.

El uso de criterios genéticos en el establecimiento de programas de manejo ha sido implementado de manera exitosa en cuatro especies de salmón (Shaklee et al. 1999) además de otras especies marinas como el atún aleta azul del Atlántico *Thunnus thynnus* (ICCAT 2013), y el tiburón cabeza de pala *S. tiburo* (Díaz-Jaimes et al., 2020). En México, los criterios genéticos no se han considerados hasta momento para definir planes de manejo en especies comerciales, esto probablemente es a causa de los escasos, así como la falta de

vinculación entre la utilidad de la información que aportan los estudios genéticos en los planes de manejo y las consecuencias de no considerar el aspecto evolutivo como un elemento de relevancia para preservar la viabilidad de las poblaciones. En el caso específico de *S. zygaena* y otros elasmobranquios, han sido implementados planes de manejo basados en las características biológicas, pesquerías, talla, la similitud con sus congéneres, peso entre otras, además de establecida la veda con el objetivo de proteger a las hembras durante su aproximación a la costa para expulsión de crías (DOF 2012).

De esta forma, los resultados de presente estudio representan una aportación de gran relevancia como información base para delinear planes de manejo enfocados a preservar la viabilidad de las poblaciones.

En México se ha implementado la veda como parte de las medidas de protección, manejo pesquero y aprovechamiento sustentable de las especies de mayo a julio anualmente y que ha sido publicada por DOF 2012 con el fin de proteger a hembras reproductoras que se acercan a dejar a sus crías. Sin duda esto tendrá efectos positivos en la especie, sin embargo, este periodo podría no ser suficiente específico para que *S. zygaena* complete sus primeras etapas de vida y contribuyan a la reproducción de las siguientes generaciones. Por lo tanto, se sugiere hacer una extensión de esta hasta el mes de septiembre principalmente en el Golfo de California ya que de acuerdo con Salomón-Aguilar *et al.* (2009), el área usada hasta dicho mes. Con esto se podría proteger a los neonatos y juveniles en su primera etapa (organismos inmaduros), que están presentes en la zona (Nava-Nava y Márquez-Farías 2014), siendo necesario limitar las tallas de captura (no < a 200 cm LT) tomando en cuenta lo reportado por Bolaño-Martínez (2009), Nava-Nava y Márquez-Farías (2014). De esta forma se podría aumentar las probabilidades de crecimiento y reproducción de la especie incrementando la

disponibilidad del recurso tiburón y por ende la conservación del patrimonio genético de la especie a largo plazo.

La población sur por su parte presenta mayor diversidad genética mostrando signos de una expansión demográfica menos reciente, lo que la hace aparentemente más estable que la población al norte del OPO. No obstante, la especie ha sido explotada intensamente durante décadas en todos los estadios y más frecuentemente en los primeros estadios (neonatos y juveniles) en zonas de crianza, como se ha registrado en Ecuador (Bolaño-Martínez 2006, Aguilar et al., 2005, Aguilar 2006, Martínez-Ortíz, et al., (2007), Bolaño-Martínez 2009, Subsecretaría de Recursos Pesqueros (SRPE) del Ecuador 2011 y 2013, Falconí 2015) y Perú (IMARPE 2015). Lo anterior podría traer complicaciones para mantener una pesca sustentable del recurso, al observarse una distribución drástica de la abundancia en las especies *S. zygaena* como se ha observado en los últimos años en Perú, según reportes del IMARPE en 2019, con relación a los estadios neonatos, juveniles y hembras grávidas de la especie.

De la misma forma es deseable el reconocimiento de áreas prioritarias (área de crianza en Perú, cerca de San José y Ecuador, cerca Santa Rosa de Salinas), y la conservación de estas implementando vedas en años escalonados (año sí y otro no). Esto a través de la definición de zonas prioritarias en Perú y fortalecer la política regional de corredor marino Pacífico Este Tropical (CMAR) establecida en 2004, que busca la conservación y uso sostenible de la diversidad biológica de la región del Pacífico Este Tropical Central (CMAR 2019), así mismo pretende establecer acciones conjuntas para la conservación de áreas marinas protegidas de Colombia, Panamá, Costa Rica y Ecuador. De ser posible, sería deseable crear corredores internos entre zonas de crianzas en Ecuador y Perú para la cual es preponderante el apoyo económico y jurídico de diversas instituciones a nivel nacional e internacional en

función de enriquecer el conocimiento poblacional y biológico de la especie, favoreciendo la baja en la mortandad y reproducción de la especie. Es necesario contar con reportes pesqueros de *S. zygaena* en la zona tropical y apoyar estudios encausados a evaluar y confirmar la existencia del intercambio génico actual entre las poblaciones norte y sur del OPO, ya que esto puede implicar adaptaciones evolutivas única en la especie. Para esto, son necesarios estudios basados en marcadores moleculares de alta definición como SNPs y marcaje satelital.

La elaboración de un plan de manejo requiere asimismo el trabajo en conjunto de Plan de acción Nacional para el manejo y Conservación de Tiburones y Rayas y Especies Afines en México (PANMCT), el Plan de Acción Regional para la Ordenación y Conservación de los Tiburones en Centroamérica (PAR-TIBURÓN), Plan de acción Nacional para la Conservación y el Manejo de Tiburones de Ecuador (PAT-EC), el Plan de Acción Nacional para la Conservación y Ordenamiento de Tiburones, Rayas y Especies Afines en el Perú (PAN Tiburón - Perú) y el Plan de Acción Nacional para la Conservación de Tiburones (Plan tiburones-Chile), con el fin de encontrar acciones enfocadas a un impacto regional y que cuenten con los elementos necesarios para el uso sostenible de estas pesquerías en congruencia con las políticas de cada país y la vinculación de éstas con las comunidades pesqueras y sectores involucrados (como el sector turístico) que pueda garantizar a largo plazo el mantener y aumentar la diversidad genética de las poblaciones de *S. zygaena* ya que esto puede involucrar adaptaciones locales y o reproductivas. Por esto es transcendental llevar a cabo la búsqueda de acciones importantes con un enfoque integral en el OPO, y así contar con la mayor cantidad de elementos que faciliten el uso sustentable del recurso en congruencia con políticas de cada país.

12. CONCLUSIONES



Basado en el análisis de secuencias de la RC del DNAm_t del tiburón martillo *S. zygaena* a lo largo del Océano Pacífico Oriental se distinguen dos poblaciones, una al norte y otra al sur del Ecuador.



La diversidad genética de las poblaciones identificadas a lo largo del OPO fue intermedia a baja en comparación con otras especies de elasmobranquios y algunas congéneres.



La diversidad genética entre poblaciones fue diferente, siendo la población sur la más diversa genéticamente.



El patrón de diversidad y la estructura genética de la especie a lo largo del OPO con base al DNAm_t, es consistente con la hipótesis de dispersión. El rango de expansión se promovió al migrar individuos del hemisferio sur al hemisferio norte durante ciclos glaciales cuando la TSM disminuyó (~ 30 000 años).



Los cambios ambientales posterior al flujo, limitaron el flujo genético entre poblaciones y promovieron la distribución anti-tropical de la especie, al igual que muchas más en el OPO.



La señal de divergencia en el DNAm_t y ausencia de ésta en el nuclear puede sugerir un posible comportamiento filopátrico natal de las hembras y a la migración de machos entre las poblaciones norte y sur favoreciendo el flujo génico.



La articulación del uso simultáneo de los marcadores mitocondriales y nucleares y la información biológica y pesquera de la especie, contribuyeron en la identificación de unidades

poblacionales independientes de *S. zygaena*, para la definición de unidades de manejo de pesquerías futuras y conservación de la especie.



La historia demográfica de la especie *S. zygaena* permite prever que a través de un adecuado manejo del recurso se podría evitar una abrupta disminución o colapso de la especie.

13. LITERATURA CITADA

- © **Aguilar F. 2006.** Registro de ataques de tiburones en aguas ecuatorianas. Inst. Nac. Pesca. Ecuador. Inf.Téc., IRBA 07. 4.
- © **Aguilar F, Chalén X, C. Villón, Solís P. y Gaibor N. 2005.** Plan de acción nacional para la conservación y ordenación de los tiburones en el Ecuador (PAT-Ecuador). Guayaquil, Ecuador. Instituto Nacional de Pesca (INP). 26.
- © **Alejo-Plata C, Gómez-Márquez J, Ramos S y Herrera E. 2007.** Presencia de neonatos y juveniles del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) y del tiburón sedoso *Carcharhinus falciformis* (Müller & Henle, 1839) en la costa de Oaxaca, México. Revista de Biología Marina y Oceanografía 42(3): 403 – 413.
- © **Allendorf F y Luikart G. 2007.** Conservation and the Genetic of Populations. Ed. Blackwell Publishing. 641.
- © **Álvarez Borrego S. 1983.** Gulf California. En: Ketchum B (ed) Estuaries and enclosed seas. Elseiver Amsterdam, 427-449.
- © **Aranguré Mendez J, Román-Bravo R, Villasmil y Jordana J. 2005.** Los microsátélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. Facultad de Ciencias Veterinarias, La Universidad del Zulia. Venezuela. 13.
- © **Arellano-Torres A, González-Cárdenas J, Melendez-Galicia C y Rodríguez-Caballero N (Eds). 2016.** Michoacán. En tiburones mexicanos de importancia pesquera en la CITES. Instituto Nacional de Pesca. Ciudad de México. 49-52.
- © **Avise J. 1992.** Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: A case history with lessons for conservation biology. Oikos. 63: 62–76.

- © **Avice J. 2000.** Phylogeography. The history and formation of species. Edit: Harvard University. 447.
- © **Badan-Dangon A, Koblinsky D y Baumgartner T. 1985.** Spring and summer in the Gulf of California: Observations of surface thermal patterns. *Oceanol. Acta* 8, 13–22.
- © **Barbieri M, Bravo M, Farías M, González A, Pizarro O y Yáñez E. 1995.** Fenómenos asociados a la estructura térmica superficial del mar observados a través de imágenes satelitales en la zona norte de Chile. *Investig. Mar.* 23, 99-122.
- © **Beebee T y Rowe G. 2008.** An introduction to Molecular Ecology. Chapter 7: Phylogeography. Secon edition. Oxford University Press. 209-246.
- © **Benbouza H, Jacquemin J, Baudoin J, Mergeai G. 2006.** Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Pharmacia* .10, 77–81.
- © **Benway H M, Mix A C, Haley B A y Klinkhamme G P. 2006.** Eastern Pacific Warm Pool paleosalinityand climate variability: 0–30 kyr. *Paleoceanography*. 21. A3008, doi:10.1029/2005PA001208.
- © **Bernardi G. 2013.** Speciation in fishes. *Molecular Ecology*, 22, 54-5502.
- © **Bolaño Martínez N. 2006.** Hábitos alimenticios en juveniles de *Sphyrna zygaena* Linnaeus 1758 (Chondricthyes: : Sphyrnidae) en Santa Rosa de Salinas, Ecuador. Tesis de licenciatura. Guayaquil. Ecuador
- © **Bolaño Martínez N. 2009.** Ecología trófica de juveniles del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* (Linnaeus, 1758) en aguas ecuatorianas. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) – Instituto Politécnico Nacioanal (IPN), Baja California Sur, México.

- © **Bolaño-Martínez N, Bayona-Vasquez N, Uribe-Alcocer M y Píndaro Díaz-Jaimes. 2014.** The mitochondrial genome of the hammerhead *Sphyrna zygaena*. Mitochondrial DNA. 2098-2099.
- © **Boomer J, Harcourt R, Francis M y Stow A. J. 2012.** Genetic divergence, speciation and biogeography of *Mustelus* (sharks) in the central Indo-Pacific and Australasia. Molecular Phylogenetics and Evolution, 64, 697–703.
- © **Bowen B W y Grant W S. 1997.** Phylogeography of the sardines (*Sardonops* spp.): assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. Evolution. 51. 1601-1610.
- © **Burridge C. 2000. Antitropicality of Pacific fishes: molecular insights.** Antitropicality of Pacific fishes: molecular insights. Environmental Biology of Fishes. 65, 151-164.
- © **Burridge C. 2002.** Antitropicality of Pacific Fishes: Molecular Insights. Environ. Biol. Fishes. 65, 151–164. doi: 10.1023/a:1020040515980
- © **Burridge C y White R. 2000.** Molecular phylogeny of the antitropical subgenus *Goniistius* (Perciformes: Cheilodactylidae: *Cheilodactylus*): evidence for multiple transequatorial divergences and non-monophyly. Biol. J. Linn. Soc, 70, 435–458.
- © **Camhi M, Lauck E, Pikitch E, Babcock E. 2008.** A global overview of commercial fisheries for open ocean sharks. In: Camhi MD, Pikitch EK. Ed. Sharks of the Open Ocean: Biology, Fisheries and Conservation. Blackwell, Oxford, 166–192.
- © **Carlson J, Kenneth J, Golman J y Lowe C (Eds). 2004.** Chapter 7. Metabolism, Energetic demand, and endothermy in Carrier et al., 2004. Biology of sharks and their relatives.

- © **Carlsson J, 2008.** Effects of microsatellite null alleles on assignment testing. The Journal of heredity. 99, 616–23.
- © **Cardeñosa D, Hyde J, Caballero S. 2014.** Genetic Diversity and Population Structure of the Pelagic Thresher Shark (*Alopias pelagicus*) in the Pacific Ocean: Evidence for Two Evolutionarily Significant Units. PLoS ONE 9(10): e110193. doi:10.1371/journal.pone.0110193.
- © **Carrier J, Musick J A y Heithaus M R (Ed). 2004.** Biology of sharks and their relatives. CRC Press. Boca Raton, Florida. USA.
- © **Carrier J, Musick J. y Heithaus M. 2010.** Sharks and their relatives II. Biodiversity, adaptative physiology and conservation. CRC Press, Boca Ratón, Florida, U.S.A.
- © **Carpenter K, Barber P, Crandall E. et al., 2011.** Comparative phylogeography of the Coral Triangle and implications for marine management. Journal of Marine Biology. 2011, 1–14.
- © **Castañeda J. 2001.** Biología y pesquería del “ tiburón martillo” (*Sphyrna zygaena* L) en Lambayeque, que 1991-2000. Inf. Prog. Inst. Mar Perú. 139, 17-32.
- © **Castañeda J. y Sandoval L. 2004.** Hábitos alimentarios de los tiburones martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1838) y *Sphyrna zygaena* (Linnaeus, 1758) en el Pacífico Ecuatoriano (Tesis de Grado licenciatura). Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia.
- © **Castillo Géniz J, Márquez-Farías J, Rodríguez de la Cruz M & Cid del Prado A. 1998.** The Mexican artisanal shark fishery in the Gulf of Mexico: towards a regulated fishery. Marine and Freshwater Research. 49, 611-620.
- © **Castillo–Géniz J, Márquez–Farías J, Cid del Prado–Vera A, Soriano–Velásquez S, Corro–Espinosa D, Ramírez–Santiago C. 2000.** Tiburones del Pacífico mexicano.

Pesquería artesanal. In: Sustentabilidad y Pesca Responsable en México: Evaluación y Manejo. Instituto Nacional de la Pesca, SEMARNAP. CDMX, México 127–151 pp.

© **Castillo–Géniz J L, Godínez-Padilla C J, Ortega-Salgado I, Ajás Terriquez H A (Eds). 2016.** Programa de observadores de tiburón (POT). En Castillo–Géniz J L y Tovar Ávila J. 2016. Tiburones mexicanos de importancia pesquera en CITES. Instituto Nacional de Pesca.

© **Castillo–Géniz J L y Tovar Ávila J. 2016.** Tiburones mexicanos de importancia pesquera en CITES. Instituto Nacional de Pesca. 95 p.

© **Castro J I. 1993.** The shark nursely of Bulls Bay, South Carolina, with a review of the shark nurseries of the southeastern coast of the United States. *Environmental Biology of Fishes*. 38, 37- 48.

© **Chabot C, Espinoza M, Mascareñas-Osorio I, Rocha-Olivares A. 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.

© **Chabot C y Allen G. 2009.** Global population structure of the tope (*Galaorhinus galeus*) inferred by mitochondrial control region sequence data. *Rev. Molecular Ecology*. 18, 545-552 pp.

© **Charlesworth B. 1998.** Measures of divergence between populations and the effect of forces that reduce variability. *Molecular biology and evolution*. 15(5), 538–43.

© **Chapman D, Prodohl A, Gelsleichter J, Manire C y Shivji, M. 2004.** Predominance of genetic monogamy by females in a hammerhead shark, *Sphyrna tiburo*: implications for shark conservation. *Molecular Ecology*. 13(7), 1965-1974.

- Ⓒ **CITES. 2013.** Apéndices I, II, III de la CITES. Convención sobre el comercio internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre.<<https://www.https://cites.org/esp/app/index.php>>. Consultado 10 de octubre del 2015.
- Ⓒ **Convention on International Trade of the Endangered Species of Wild Fauna and Flora. (CITES). 2013a.** Sixteenth meeting of the Conference of the Parties. Thailand. CoP16Prop.XX. 1-56 pp.
- Ⓒ **CITES. 2014.** Apéndices I, II, III de la CITES. Convención sobre el comercio internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre. <https://cites.org/sites/default/files/esp/app/2014/S-Appendices-2014-09-14.pdf>
- Ⓒ **Coelho R, Fernandez-Carvalho J, Amorim S y Santos M. 2011.** Aquat. Living Resour. Vol. 24, 351-357. GERF bulletin of Biosciences. 2 (1): 60-61 pp.
- Ⓒ **Coombs J, Letcher B y Nisloes W. 2008.** CREATE: a software to create input files diploid genotypic data for 52 genetic software programs. Molecular Ecology Resources. 8 (3), 578-580.
- Ⓒ **Compagno L. 1984.** FAO Species Catalogue, Vol. 4. Sharks of the World: an Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Part 2 Carcharhiniformes. Roma, FAO Fisheries Synopsis. 125 (4), Parte 2: 251-655.
- Ⓒ **Compagno L. 2003.** Sharks of the order Carcharhiniformes. The Blackburn Press. 362-372.
- Ⓒ **Compagno L, Dando M y Fowler S. 2005.** Sharks of the world. Edit. Princeton. U.S.A 368 p.
- Ⓒ **Cochrane K (ed.). 2002.** A fishery manager's guidebook. Management measures and their application. FAO Fisheries Technical Paper No. 424. FAO. Rome, 231.

- © **Corredor Marino del Pacífico Este Tropical (CMAR) Galapagos - Cocos - Malpelo - Gorgona- Coiba. 2019.** Plan de Acción Corredor marino del Pacífico Este Tropical (CMAR) 2019-2024. Corredor Marino del Pacífico Este Tropical (CMAR). 46 p.
- © **Cortés E. 2004.** Ecology and life history (Eds). En Carrier J, Musick J y Heithaus M. Biology of sharks and their relatives (487-504 pp). Boca Ratón, Florida. USA. CRC Press LLC.
- © **Cortés E, Parsons G R. 1996.** Comparative demography of two populations of bonnethead shark (*Sphyrna tiburo*). Can J Fish Aquat Sci. 53, 709–718.
- © **Cortey M, García J L. 2002.** Evidence for phylogeographically informative sequence variation in the mitochondrial control region of Atlantic brown trout. J. of fish Biol. 60, 1058-1063.
- © **Corro Espinosa D (Eds). 2016.** Sinaloa. En tiburones mexicanos de importancia pesquera en la CITES. Instituto Nacional de Pesca. Ciudad de México. 97.
- © **CRACCITES. 2015.** Dictamen de Extracción No Perjudicial (DENP) para el tiburón martillo común (*Sphyrna lewini*) y las dos especies semejantes (*S. zygaena* y *S. mokarran*) de Costa Rica, incluidas bajo el Apéndice II de la Convención Sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES).
- © **Dakin E E, Avise J C. 2004.** Microsatellite null alleles in parentage analysis. Heredity 93, 504–9.
- © **Daly-Engel T S, Seraphin K D, Holland K N, Coffey J P, Nance H A, Toonen R J, Bowen B W. 2012.** Global Phylogeography with Mixed-Marker Analysis Reveals Male-Mediated Dispersal in the Endangered Scalloped Hammerhead Shark (*Sphyrna lewini*). PLOS ONE 7(1): e29986. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029986>.

- © **Darriba D, Taboada G, Doallo R, Posada D. 2012.** jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 9(8), 772.
- © **De la Lanza G. 1991.** Oceanografía de Mares mexicanos. Ed. AGT editor, S.A. CDMX. México.
- © **Díaz-Jaimes P, Bayona-Vásquez N J, Escatel-Luna E, Uribe-Alcocer M, Pecoraro C, Adams D H, Frazier B S, Glenn T C, Babbucci M. 2020.** Population genetic divergence of bonnethead sharks *Sphyrna tiburo* in the western North Atlantic: Implications for conservation. *Aquatic Conservation*. 31 (1), 83-98. <https://doi.org/10.1002/aqc.3434>.
- © **Dawson M N, Louie K D, Barlow M, Jacobs D K, Swift C C . 2002.** Comparative phylogeography of sympatric sister species, *Clevelandia ios* and *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei, Gobiidae), across the California transition zone. *Mol Ecol* 11:1065-1075
- © **DOF. 2012.** Acuerdo por el que se modifica el Aviso por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zonas de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos, publicado de 16 de marzo de 1994 para establecer los periodos de veda de pulpo en el Sistema Arrecifal Veracruzano, jaiba en Sonora y Sinaloa, tiburones y rayas en el Océano Pacífico y tiburones en el Golfo de México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México. Diario oficial de la Federación. México. 11 de junio de 2012.
- © **Domeier M, Nasby-Lucas N. 2007.** Annual re-sightings of photographically identified white sharks (*Carcharodon carcharias*) at an eastern Pacific aggregation site (Guadalupe Island, Mexico). *Marine Biology*. 150, 977–984.
- © **Drummond A y Rambaut A. 2007.** BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC evolutionary biology*. 7, 214.

- © **Drummond A, Ashton B, Buxton S, Cheung M, Cooper A, Duran C, Field M, Heled J, Kearse M, Markowitz S, Moir R, Stones-Havas S, Sturrock S, Thierer T & Wilson A. 2011.** Geneious v5.4. Available from <http://www.geneious.com>.
- © **Dudgeon C, Blower D, Broderick, Giles J, Holmes B, Kashiwagi T, Krück N, Morgan J, Tillett B y Ovenden J. 2012.** A review of the application of molecular genetics for fisheries. *Journal of Fish Biology*. 80, 1789-1843.
- © **Dudgeon C L, Fldheim K, Schick M y Ovenden J. 2006.** Polymorphic microsatellite loci for the zebra shark *Stegostoma fasciatum*. *Molecular Ecology Notes*. 6, 1086 –1088.
- © **Duncan K, Martin A, Bowen B y De Couet H. 2006.** Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Molecular Ecology* 15, 2239–2251.
- © **Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. 2002.** A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. 11, 2571-2581.
- © **Earl D, Brigett M y VonHoldt. 2011.** STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetic resour.* 4(2), 359-361.
- © **Ebert D A y Mostarda E. 2016.** Guía Para La Identificación de Peces Cartilaginosos de Aguas Profundas Del Océano Pacífico Sudoriental. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- © **Ebert D, Fower S y Compagno L. 2013.** *Sharks of the World : A fully illustrated guide to the sharks of the world.* Wild Nature Press. Plymouth, UK. 528.
- © **Edwars A, Civetello A, Hammond H y Caskey T. 1991.** DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal Human Genetics*, 49, 746-756.

- © **Escatel-Luna E, Adams D, Uribe-Alcocer M, Islas-Villanueva V y Díaz-Jaimes P. 2015.** Population Genetic Structure of the Bonnethead Shark, *Sphyrna tiburo*, from the Western North Atlantic Ocean Based on mtDND Sequences. American Genetic Association. 335-365.
- © **Estupiñán-Montaña C, Cedeño-Figueroa L y Galván-Magaña F. 2009.** Hábitos alimentarios del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) (Chondrichthyes) en el Pacífico ecuatoriano. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 44(29), 379-386.
- © **Excoffier L y Lischer H. 2010.** Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular ecology resources. 10, 564–567 pp.
- © **Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular ecology. 14, 2611–20 pp.
- © **Falconí M. 2015.** Edad y crecimiento del tiburón martillo (*Sphyrna zygaena*) en las costas de Puerto López – ecuador, durante el año 2013. Tesis de licenciatura. Universidad Internacional del Ecuador. Quito. Ecuador.
- © **FAO. 1995.** Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. II. FAO library fiche AN: 352769.
- © **Feldheim K, Gruber S, Ashley A. 2004.** Reconstruction of parental microsatellite genotypes reveals female polyandry and philopatry in the lemon shark, *Negaprion brevirostris*. Evolution 2004 Oct;58(10):2332-42.
- © **Félix-López D. 2017.** Evaluación de la estructura genética poblacional del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* en el Pacífico Norte Mexicano. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán. México

- © **Fiedler P. 1992.** Seasonal climatologies and variability of Eastern tropical pacific surface waters. NOAA Technical Reports. NMFS, USA. 109:65 pp.
- © **Fiedler P C. y Talley L D. 2006.** Hydrography of the eastern tropical Pacific: A review. Progress in Oceanography 69,2006, 143–180.
- © **Fraser D y Bernatchez L. 2001.** Adapative evolutionary conservation: tiwars a unified concept for defining conservation units. Molecular ecology. 10, 27411-2752 pp.
- © **Freeland J R. 2005.** Molecular Ecology. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester. England West Sussex PO19 8SQ, England
- © **Fowler S.L, Cavanagh R.D, Camhi M, Burgess G.H, Cailliet G.M, Fordham S.V, Simpfendorfer C.A. y Musick J.A. (comp. and ed.). 2005.** Sharks, Rays and Chimaeras: The Status of the Chondrichthyan Fishes. Status Survey. IUCN/SSC Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- © **Fu Y. 1997.** Statistical test of neutrality of mutations against population growth, hitchhicking and background selection. Genetics. 147, 915-925.
- © **Galván-Magaña F, Nienhuis H y Klimley A. 1989.** Seasonal abundance and feeding habits of sharks of the lower Gulf of California, Mexico. California Fish and Game. 75, 74-84 pp.
- © **Galván-Tirado, Díaz- Jaimes P, García-de-León F, Galván-Magaña F y Uribe-Alcocer M. 2013.** Historical demography and genetic differentiation inferred from the silky shark (*Carcharhinus falciformis*) in the Pacific Ocean. 147, 36-46.
- © **Galván-Tirado C, Galván-Magaña F y Ochoa-Báez R I. 2015.** Reproductive biology of the silky shark *Carcharhinus falciformis* in the southern Mexican Pacific. JMBA. 95 (3), 561-567.

- © **García-De León F J, Galván Tirado C, Sánchez Velasco L, Silva-Segundo C A, Hernández-Guzmán R, Barriga-Sosa I, Díaz Jaimes P, Canino M, Cruz-Hernández P. 2018.** Role of oceanography in shaping the genetic structure in the North Pacific hake *Merluccius productus*. PLoS ONE 13(3). e0194646. <https://doi.org/10.1371/>.
- © **Glaubitz J C. 2004.** CONVERT: a user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. Molecular Ecology Notes. 4, 309-310.
- © **Guindon S y Gascuel O. 2003.** A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood". Systematic Biology. 52, 696-704.
- © **Guindon S, Dufayard J F, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O. 2010.** ["New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0."](#) Systematic Biology. 59(3), 307-21.
- © **Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson J. 2005a.** A spatial statistical model for landscape genetics. Genetics. 170, 1261-1280.
- © **Guillot G, Mortier F, Estoup. 2005b.** Geneland: Acomputer package genetics. Molecular Ecology. 5, 712-715.
- © **Guillot G, Santos F y Estoup A. 2008.** Analysing georeferenced population genetics data with Geneland: a new algorithm to deal with null alleles and a friendly graphical user interface. Bioinformatics. 24(11), 1406-1407.
- © **Grant W S y Bowen 1998.** Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from Sardines and Anchovies and lesson for conservation. The American Genetic Association. 89. 415-426.

- © **Graves J E y Somero G N. 1982.** Electrophoretic and functional enzymatic evolution in four species of eastern Pacific barracudas from different thermal environments. *Evolution*. 36: 97-106.
- © **Graves J. 1998.** Molecular Insights Into the Population Structures of Cosmopolitan Marine Fishes. *The Journal of Heredity*. 89(5), 427-437.
- © **Grijalva-Chon J M, Kaichi A, Numachi K. 2003.** Baja variabilidad genética en dos muestras de tiburón angelito (*Squatina californica*) del Pacífico. Reporte técnico. 1-17.
- © **Gubili C, Bilgin R, Kalkan E, Karhan S Ü, Jones C S, Sims D W, Martin A P, Noble L R. 2010.** Antipodean white sharks on a Mediterranean walkabout? Historical dispersal leads to genetic discontinuity and an endangered anomalous population. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 278 (1712), 1679-86.
- © **Gubili C, Bilgin R, Kalkan E, Karhan U, Jones C, Sims D, Kabasakal H, Martín A y Noble L. 2011.** Antipodeann White sharks on the Mediterranean walkabout? Historical dispersal leads to genetic discontinuity and an endangered anomalous population. *Proceedings of the Royal Socoety B.Biological Sciences*. 1098. 1-8 pp.
- © **Gubili C, Duffy C, Cliff G, Wintner S, Shivji M, Chapman D. 2012.** “Application of molecular genetics for conservation of the great White Shark, *Carcharodon carcharius*, L. 1758,” in *Global Perspectives on the Biology and Life History of the White Shark* (CRC Press), 357–380.
- © **Guindon S, Dufayard J, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W y Gascuel O. 2010.** New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59, 307-321.
- © **Hall T, Ibis biosciendces, Carlsbad ca. 2011.** Bioedit: an important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Biosciences*. 2(1), 60-61.

- © **Heist J, Musick A y Graves J. 1996.** Genetic population structure of the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) inferred from restriction fragment length polymorphism analysis of mitochondrial DNA. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53, 583-588.
- © **Heist E. J. 1999.** A review of population genetic in sharks. In Life in the Slow Lane: Ecology and Conservation of Long-lived Marine Animals (Musick, J. A., ed.). Bethesda, MD: American Fisheries Society.
- © **Hedrick P. 2011.** Genetic of populations. Genetic drift and effective population size. 4ta Edición. Edit. Jones and Barlett publishers. Massachusetts, Canadá.
- © **Hernández Muñoz. 2013.** Population genetic of the school shark (*Galeorhinus galeus*) in New Zealand, Australian an Chilean waters. Chapter 2. Victoria University of Wellington. Tesis de Doctorado. Nueva Zelanda, Australia.
- © **Hernández-Carballo A. 1967.** Observations on the Hammerhead Sharks (*Sphyrna*) in the Waters near Mazatlan. Sinaloa, México. In: Gilbert, P. W., R. F. Mathewson & D. P. Rall (Eds.). Sharks, Skates and Rays. The Johns Hopkins Press. Baltimore. Mary Land. 79-83.
- © **Hewitt G. 1996.** Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Biological Journal of the Linnean Society. 58: 247-276.
- © **Hoening J. y Gruber S. 1990.** Life History Patterns in Elasmobranchs: Implications for Fisheries Management. In: Pratt, H. L. Jr., S. H. Gruber the biology, ecology, systematics and the status of the fisheries. U. S. Dep. Commer. NOAA Technical Report. NMFS. 90, 1-16.
- © **Huepel M, Carlson J y Simpfendorfer. 2007.** Shark nursely areas: concepts, definition, characterization and assumptions. Mar. Ecol. Prog.Ser. 337, 287-297.

- © **Hueter R, Heupel M, Heist E. y Keeney B. 2005.** Evidence of philopatry in sharks and implications for the management of shark fisheries. *J. Northw. Atl. FishSci*, 35, 239-247 pp.
- © **ICCAT. 2013.** Report of the 2013 bluefin tuna meeting on biological parameters review (Tenerife, Spain– May 7 to 13), p. 75 (2013). Available from http://www.iccat.int/Documents/Meetings/Docs/2013- BFT_BIO_ENG.pdf
- © **Ihaka R y Gentleman R. 1996.** Software R 3.1.2. A Language for data analysis and graphics. American Statistical Association. Institute of Mathematical Statistic and interface foundation of North America. *Journal of Computational and graphical Statistics*. 5(3), 299-314.
- © **IMARPE. 2015.** Evaluación Poblacional del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* en el mar peruano durante el periodo 1996-2014.
- © **IMARPE. 2019.** La pesquería del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* y proyecciones de pesca 2019. Informe 188. Informe sobre actividad actividad pesquera del recurso tiburón martillo (*Sphyrna zygaena*)- cuota de extracción 2019.
- © **Karl S, Castro A, Lopez J, Charvet P y Burgess G. 2011.** Phylogeography and conservation of the bull shark (*Carcharhinus leucas*) inferred from mitochondrial and microsatellite DNA. *Conservation Genetic*. 12, 371-382.
- © **Keeney D, Heupel M, Hueter R, Heist E. 2003.** Genetic heterogeneity among blacktip shark, *Carcharhinus limbatus*, continental nurseries along the U.S. Atlantic and Gulf of Mexico. *Mar. Biol*. 143, 1039-1046
- © **Keeney D, Heupel M, Hueter R y Heist E. 2005.** Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of the genetic structure of blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) nurseries

in the northwestern Atlantic, Gulf of Mexico, and Caribbean Sea. *Molecular Ecology*. 14, 1911-1923.

© **Keeney D y Heist E. 2006.** Worldwide phylogeography of the blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) inferred from mitochondrial DNA reveals isolation of western Atlantic populations coupled with recent Pacific dispersal. *Molecular Ecology*. 15, 3669-3679.

© **Lara-Lara, J, Arreola Lizárraga J, Calderón Aguilera L, Camacho Ibar V, De la Lanza Espino G, Escofet Giansone A, Espejel Carbajal M, Guzmán Arroyo M, Ladah, López Hernández M, Meling López E, Moreno Casasola Barceló P, Reyes Bonilla H, Ríos Jara E, Zertuche González J. 2008.** Los ecosistemas costeros, insulares y epicontinentales. En: *Capital natural de México*, vol.1: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, CDMX. México.

© **Librado P y Roas J, 2009.** DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25, 1451–1452.

© **Lim D, Martin A, Mara K, Motta P. 2010.** Phylogeny of hammerhead sharks (Family Sphyrnidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Ecology and Evolution*. 55(2), 572-579.

© **Maté L. 2005.** Análisis de la situación de la pesca en los Golfos de Chiriquí y Montijo. The Nature Conservancy. Instituto Smithsonian de Investigaciones tropicales, 89 p.

© **Mantel N. 1967.** The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*. 27, 209-220.

© **Marshall T, Slate J, Kruuk L y Pemberton J. 1998.** Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*. 7, 639-655.

- © **Martín A P. 1999.** Substitution rates of organelle and nuclear genes in sharks: implicating metabolic rate (again). *Molecular biology and evolution*. 16, 996–1002.
- © **Martínez-Ortíz, J, Galván-Magaña F, Carrera- Fernández M, Mendoza-Intriago D, Estupiñán- Montaña C y Cedeño-Figueroa L. 2007.** Abundancia estacional de tiburones desembarcados en Manta-Ecuador (Eds. Martínez-Ortíz, J, Galván-Magaña F). En *Tiburones en el Ecuador. Caso de estudios/ Shark in Ecuador: Case studies*. EPESPO. PMRC. Manta, Ecuador. Ecuador
- © **Matern S A, Cech Jr, J J y Hopkins T E. 2000.** Diel movements of bat rays, *Myliobatis californica*, in Tomales Bay, California: evidence for behavioral thermoregulation *Environ. Biol. Fish.* 58, 173–182.
- © **Mayr E. 1963.** *Animal species and evolution*. Belknap Press of Harvard University, Cambridge. U.S.A. 797.
- © **Mendizábal Oriza D, Vélez–Marín R, Soriano–Velásquez S, Castillo–Géniz J. 2000.** Tiburones oceánicos del Pacífico. In: *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México: Evaluación y Manejo*. Instituto Nacional de la Pesca, SEMARNAP- 155–195 pp.
- © **Manni F, Gue´rard E y. Heyer E. 2004.** Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology* 76, 173–190.
- © **Moritz C. 1994.** Defining “Evolutionary significant units” for conservation. *Trends in Ecology and evolution*. 9, 373-375.
- © **Musick J. 1999.** *Life in the Slow Lane: Ecology and Conservation of Long-Lived Marine Animals*. American Fisheries Society Symposium 23, Bethesda, MD 23, 265 p.

- © **Nance H, Daly-Engel T y Marko P. 2009.** New microsatellite loci for the endangered scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. *Molecular Ecology Resources*. 9, 955-957.
- © **Nance H, Klimley P, Galván-Magaña F, Martínez-Ortíz J y Marko P. 2011.** Demographic Processes Underlying Subtle Patterns of Population Structure in the Scalloped Hammerhead Shark, *Sphyrna lewini*. *Plusone*. 6(7): e21459. doi: 10.1371/journal.pone.0021459.
- © **Nava-Nava y Márquez-Farías. 2014.** Talla del tiburón martillo, *Sphyrna zygaena*, capturado en el Golfo de California. *Hidrobiológica*. 24 (2), 129-135.
- © **Naylor G, Caira J, Jesen K, Rosana K, White W. y Last P. 2012.** A DNA Sequence-Based approach to the Identification of shark and ray species and its implications for global elasmobranch diversity and parasitology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*.
- © **Ochoa-Díaz M. 2009.** Espectro trófico del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* (Linnaeus, 1758) en Baja California Sur: aplicación de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B. C. S. México.
- © **O'Leary S, Feldheim K, Fields A, Natanson L, Wintner S, Hussey N, Shivji M, Chapman D. 2015.** Genetic Diversity of White Sharks, *Carcharodon carcharias*, in the Northwest Atlantic and Southern Africa, *Journal of Heredity*. 106(3), 258–265.
- © **Ovenden J. R, Morgan J, Kashiwagi T, Broderick, D y Salini J. 2010.** Towards better management of Australia's shark fishery: genetic analyses reveal unexpected ratios of cryptic blacktip species *Carcharhinus tilstoni* and *C. limbatus*. *Marine and Freshwater Research*. 61, 253–262.

- Ⓢ **Pardini A, Jones C, Noble L, Kreiser B, Malcolm H, Bruces B, Stevens J, Cliff G, Scholl M, Francis M, Duffy CAJ, Martin A. 2001.** Sex-biased dispersal of great white sharks. *Nature*. 412, 139-140.
- Ⓢ **Paulin E, Cárdenas L, Hernández C E, Kornfield I y Ojeda F P. 2004.** Resolution of the taxonomic status of Chilean and Californian jack mackerels using mitochondrial DNA sequence. *Journal of Fish Biology*. 65, 1160–1164.
- Ⓢ **Paulo O, Dias C, Bruford M, Jordan W y Nichols R. 2001.** The persistence of Pliocene populations through the Pliocene climatic cycles: evidence from the phylogeography of an Iberian lizard. *The Royal Society*. 268, 1625-1630.
- Ⓢ **Pazmiño D A, Maes G E, Green M E, Simpfendorfer C A, Hoyos-Padilla E M, Clinton J A, Duffy, Meyer C G, Kerwath S E, Salinas-de-León P, Herwerden L. 2018.** Strong trans-Pacific break and local conservation units in the Galapagos shark (*Carcharhinus galapagensis*) revealed by genomewide cytonuclear markers. *Heredity*. 120, 407–421.
- Ⓢ **Pérez Jiménez J. 2014.** Historical reveal potential extirpation of four hammerhead shark (*Sphyrna.*) in Mexican Pacific water. *Rev. Fish Biol. Fisheries*. Doi: 10.1007/s11160-014-9353.
- Ⓢ **Piñero D, Barahona A, Eguiarte L, Rocha Olivares A y Salas Lizana R. 2008.** La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México (415-435). En: J. Soberón, G. Halfpeter, J. Llorente-Bousquets (eds.). *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). CDMX. México.
- Ⓢ **Pisias N G, Mayer L A y Mix A C. 1995.** Paleooceanography of the eastern equatorial Pacific during the Neogene: Synthesis of Leg 138 drilling results. En Pisias, N. G.,

Mayer, L.A., and Janecek, T.R., (eds.), Proc. ODP, Sci. Results: 138. College Station, Texas (Ocean Drilling Program). 5-24.

© **Portnoy D S, McDowell J R, Heist E J, Musick J A, Graves J E. 2010.** World phylogeography and male-mediated gene flow in the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*. *Molecular ecology* .19, 1994–2010

© **Posada D y Crandall K. 2008.** JModeltest: Phylogenetic Model Averaging *Molecular Biology and Evolution*. 25 (7), 1253-1256.

© **Pritchard J, Wen X y Falush D. 2000.** Documentation for structure software: STRUCTURE Versión 2.2. Disponible en línea <http://pritchardlab.stanford.edu/home.html>.

© **Pybus O y Rambaut A. 2002.** GENIE: estimating demographic history from molecular phylogenies. *Bioinformatics*. 18: 1404–1405.

© **Rambaut A y Drummond A. 2009.** Tracer version 1.5. MCMC trace analysis tool [online]. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>.

© **Raymond M y Rousset F. 1995.** GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity*. 86, 248-249.

© **Rayman N F, Alledorf F W y Stahl G. 1979.** Reproductive isolation with little genetic divergence in sympatric populations of brown trout (*salmo trutta*). *Genetic*. 92, 247-262.

© **Ricou L. 1987.** The Tethyan oceanic gates: a tectonic approach to major sedimentary changes within Tethys. *Geodynamica Acta*: 225–232.

© **Roden G y Emilsson I. 1980.** Oceanografía física del Golfo de California. *Centro de Ciencias del Mar y Limnología UNAM*, contribución No. 90, 1– 67.

© **Rogers A y Harpending H. 1992.** Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular ecology*. 9, 552–569.

- Ⓒ **Ronquist F, Huelsenbeck J, 2003.** MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19, 1572–1574.
- Ⓒ **Salomón-Aguilar C, Villavicencio-Garayzar C y Reyes-Bonilla H. 2009.** Zonas y temporadas de reproducción y crianza de tiburones en el Golfo de California: Estrategia para su conservación y manejo pesquero. *Rev. Ciencias Marinas*. 35(4), 369-388.
- Ⓒ **Sambrock L, Fritsch E, T. Maniatis. 1989.** *Molecular cloning: a laboratory manual* (Segunda edición). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, U.S.A.
- Ⓒ **Saucedo C, Colado G, Martínez J, Burgos S, Chacon J y Espinoza J. 1982.** Contribución al estudio de la pesquería del tiburón en la zona del estado de Sinaloa. Memoria de Servicio Social, Escuela de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, México.
- Ⓒ **Sandoval-Laurrabaquio. 2005.** Filopatría y divergencia genética del tiburón toro (*Carcharhinus leucas*) en costas de Florida, E.U.A., Golfo y Caribe de México. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. CDMX. México.
- Ⓒ **Sandoval Laurrabaquio-A N, Islas-Villanueva V, Adams D H, Uribe-Alcocer M, Alvarado-Bremere J R, Díaz-Jaimes P. 2019.** Genetic evidence for regional philopatry of the Bull Shark (*Carcharhinus leucas*), to nursery areas in estuaries of the Gulf of Mexico and western North Atlantic ocean. *Fisheries Research*. 209, 67–74.
- Ⓒ **Santana-Hernández y Valdez-Flores (Eds). 2016.** Colima. En tiburones mexicanos de importancia pesquera en la CITES. Instituto Nacional de Pesca. Ciudad de México.
- Ⓒ **Sepulchre P, Arsouze T, Donnadiou J, Dutay J, Jaramillo C, Le Bras J, Martin E, Montes C, Waite A. 2014.** Consequences of sholing of the Central American Seaway

determined from modeling Nd isotopes. *Paleoceanography*, 29, doi:10.1002/2013PA002501.

© **Subsecretaría de Recursos Pesqueros del Ecuador (SRPE). 2011.** Estadísticas – Puerto López. Septiembre 2007 a diciembre del 2011. <http://tiburon.viceministerioap.gob.ec/tiburon-ecuador/estadisticas-puerto-lopez-137.html>.

© **Subsecretaría de Recursos Pesqueros del Ecuador. 2013.** Estadísticas – Globales por Mes – Todos los Puertos. <http://tiburon.viceministerioap.gob.ec/tiburonecuador/estadisticas-globales-por-mes-todos-los-puertos-264.html> 05/04/2015. Acceso: 05/04/2015.

© **Schultz J, Feldheim K, Gruber S, Ashley M, McGovern T, Bowen B. 2008.** Global phylogeography and seascape genetics of the lemon sharks (genus *Negaprion*). *Molecular ecology*. 17, 5336–5348.

© **Slatkin M y Hudson R. 1991.** Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*. 129, 555-562.

© **Smale M y Cliff G. 1998.** Cephalopods in the diets of four shark species (*Galeocerdo cuvier*, *Sphyrna lewini*, *Sphyrna zygaena* and *S. mokarran*) from Kwazulu-Natal, South Africa. *South African Journal of Marine Science*. 20, 241-253.

© **Stein R, Mull C, Kuhn T, Aschliman N, Davidson L, Joy J, Smith G, Dulvy N y Mooers A. 2018.** History of sharks, rays and chimaeras. *Nature ecology & evolution*. Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. 13.

© **Stepien C A y Rosenblat R H. 1996.** Genetic divergence in antitropical pelagic marine fishes (*Trachurus*, *Merluccius*, and *Scomber*) between North and South America. *Copeia*. 3, 586 - 598.

- © **Swofford D. 1998.** PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- © **Tajima F. 1989.** Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123, 585-595.
- © **Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011.** MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*. DOI: [10.1093/molbev/msr121](https://doi.org/10.1093/molbev/msr121)
- © **Testerman C, Prodohl P y Shivji M. 2008.** Global Phylogeography of the Great (*Sphyrna mokarran*) and Smooth (*Sphyrna zygaena*) Hammerhead Sharks. Abstract. 0495 AES Systematics & Biogeography II, Jarry/Joyce.
- © **Tillett B, Meekan M, Field I, Thorburn D y Ovenden J. 2012.** Evidence for reproductive philopatry in the bull shark *Carcharhinus leucas*. *Journal of Fish Biology*. 80, 2140-2158 pp.
- © **Toonen R, Andrews K, Baums I. et al. 2011.** Defining boundaries for ecosystem-based management: A multispecies case study of marine connectivity across the Hawaiian Archipelago. *Journal of Marine Biology*. 13.
- © **Toonen H M y Mol A. 2016.** “Governing the marine environment through information: Fisheries, shipping, and tourism.” *J. Mol. En Science, information and policy interface for effective coastal and ocean management*, eds. B.H. MacDonald, S.S. Soomai, E.M. De Santo, and P.G. Wells. Boca Raton: CRC Press, 125–51.
- © **Tovar-Ávila J y Rodney Gallegos-Camacho. 2014.** Oldest estimated age for *Sphyrna mokarran* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae) in the Mexican Pacific. *Hidrobiológica*. Vol. 24 (2): 163-165 pp.

- © **Tovar-Ávila J. 2016.** Tiburones mexicanos de importancia pesquera en la CITES. Nayarit. por Castillo-Géniz J L y Tovar Ávila J (comp). Instituto Nacional de Pesca. Ciudad de México. 44-45.
- © **Van Oosterhout C, Hutchinson F, Wills D y Shipley. 2004.** Program Note MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellites data. *Molecular Ecology notes*. 4, 535-538.
- © **Vazquéz Dominguez E. 2007.** Filogeografía y vertebrados. *In*: Eguiarte, L. E., Souza, V., Aguirre, X. (compiladores), 2007. *Ecología molecular* (Capítulo 14). Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad 592.
- © **Vendramin G, Anzide M, Madaghiele y Bucci. G. 1998.** Distribution of genetic diversity in *Pinus Pinaster* Ait. As revealed by chloroplast microsatellites. *Theor. Appl. Gen.* 97, 456-463.
- © **Veríssimo J, McDowell R, Graves J. 2010.** Global population structure of the spiny dogfish *Squalus acanthias*, a temperate shark with an antitropical distribution. *Global population structure of the spiny dogfish *Squalus acanthias*, a temperate shark with an antitropical distribution.* *Mol. Ecol.* 19, 1651–1662.
- © **Villavicencio C. 2000.** Áreas de crianza de tiburones en el Golfo de California. Universidad Autónoma de Baja California sur. Informe Final SNIB – CONABIO Proyecto No. L054. D.F México.
- © **Viña J, Alvarado Bremer J y Carles Pla. 2004.** Phylogeography of the Atlantic bonito (*Sarda sarda*) in the northern Mediterranean: the combined effects of historical

vicariance, population expansion, secondary invasion, and isolation by distance. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33, 32–42.

- © **Wang C y Enfield D. 2001.** The tropical Western Hemisphere warm pool. *Geophysical Research Letters*. 28 (8), 1635-1638.
- © **Ward R D. 2000.** Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*. 420, 191- 201.
- © **Waples R. S. 1991.** Pacific salmon, *oncorhynchus* spp., and the definition of “species” under the endangered species Act. *Marine Fisheries Review*. 53, 11-22.
- © **Wright S. 1943.** Isolation by distance. *Genetics*. 28,114-138.
- © **Wright S. 1978.** *Evolution and Genetics of Populations*. Vol. 1-4. Chicago: University of Chicago Press. 559.
- © **Wyrтки K. 1965.** Inter-Amer. Trop. Tuna Comm. Bull. Surface currents of the eastern tropical Pacific. 9(5), 207-304.
- © **Wyrтки K. 1965.** Advection in the Peru current as observed by satellite. *J. Geoph. Res.* 1977 3939-3943 82 27.
- © **Wyrтки K. 1966.** Oceanography of the Eastern Equatorial Pacific Ocean. *Oceanography Marine Biology Annual Review*. Vol 33-68 pp.
- © **Zanella I. 2007.** Resultados preliminares: Ecología pesquera del tiburón martillo, *Sphyrna lewini*, en el litoral Pacífico de Costa Rica. Tesis de Maestría. Instituto Internacional en Manejo y Vida Silvestre, UNA. Heredia, Costa Rica.

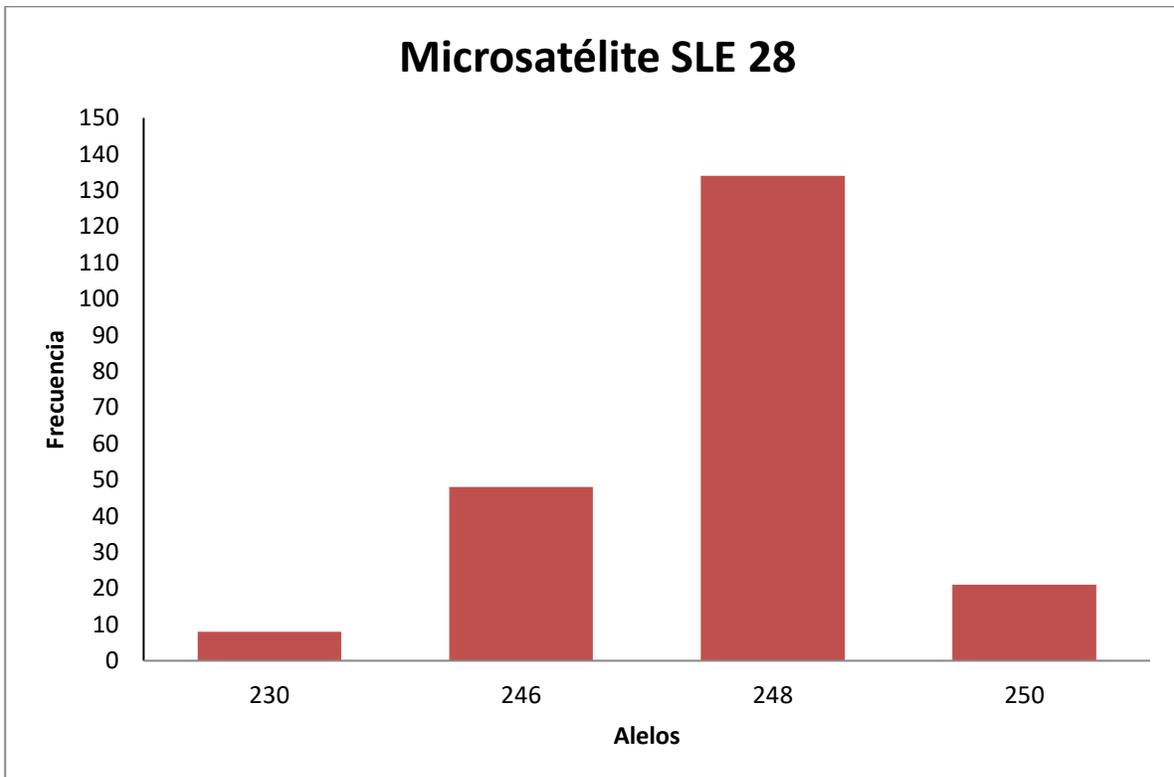
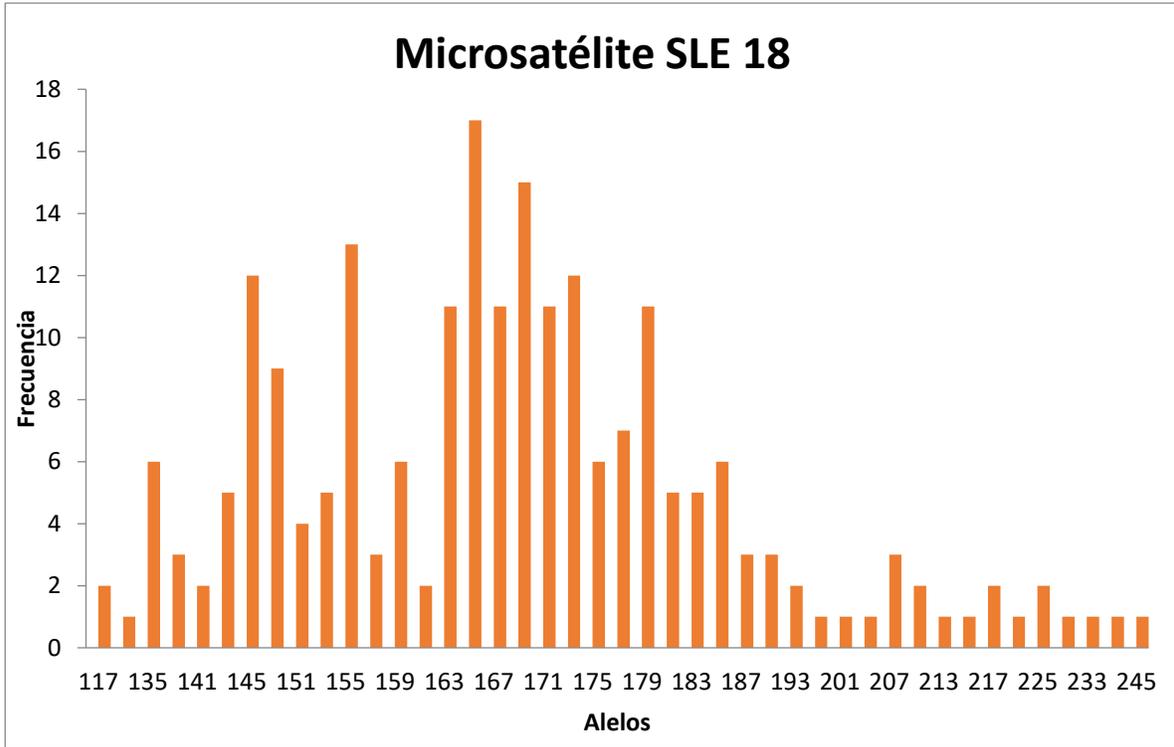
14. ANEXOS

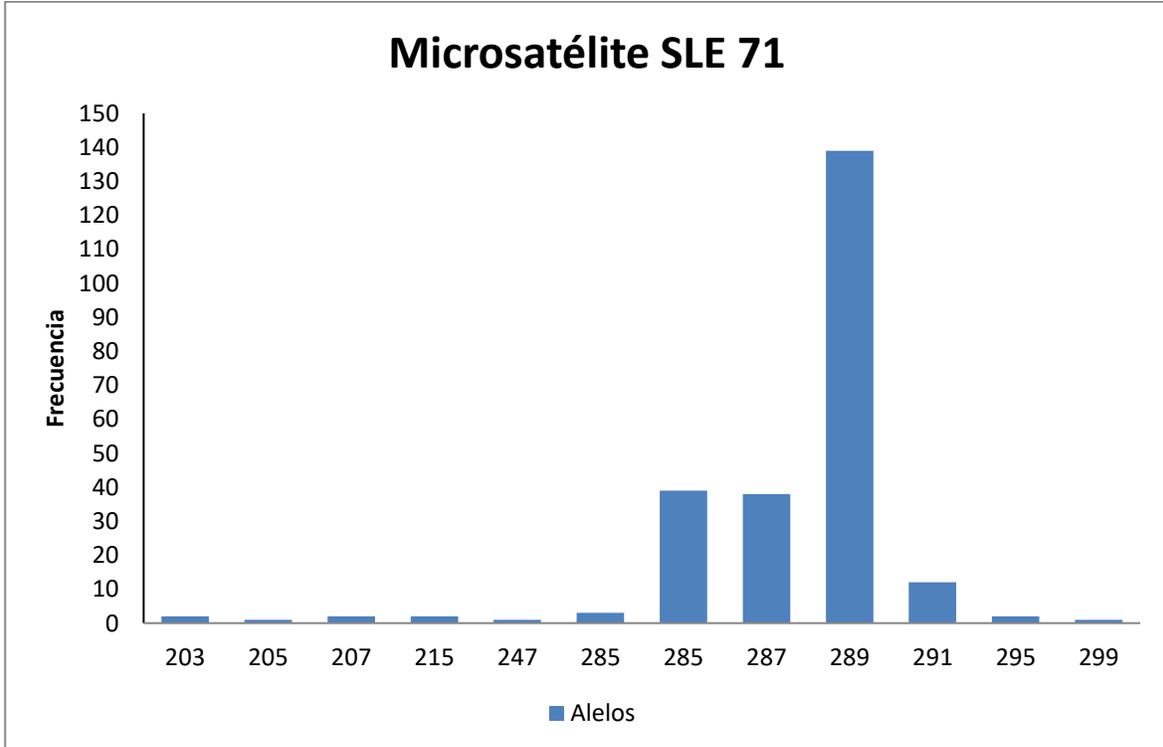
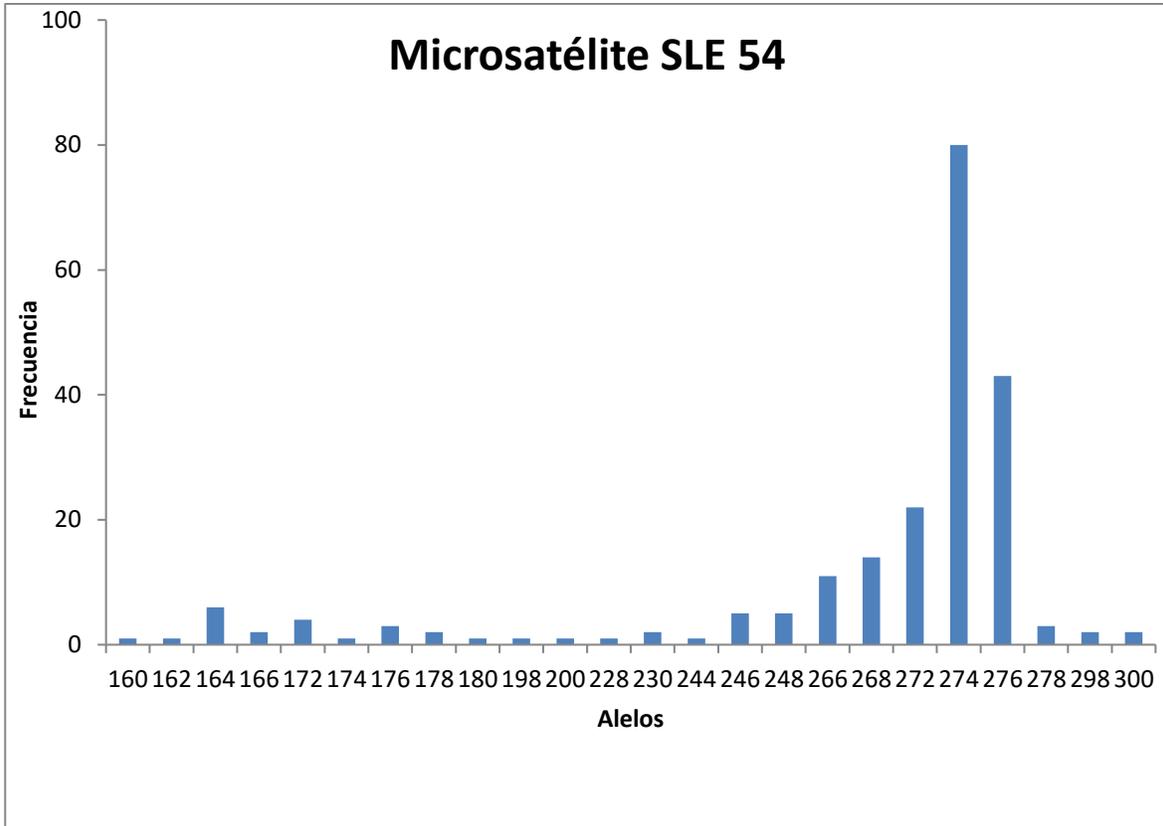


Anexo 1. Secuencias de primeros microsatélites loci diseñados para *Sphyrna lewini*, con las respectivas condiciones para la PCR y empleadas para *S. zygaena*.

Locus	Primer sequence	Access. no.	Alleles	Range (bp)	T _a	HE	HO	p-value
SLE013	F: ATGTTTATGACCATACGTGCG R: TTGATTGGCATTTCAGTGACC	FJ236873	10	302-350	60°	0.67	0.55	0.05-0.91
SLE018	F: ACAGAAACAGAACGAGGGACA R: TGGGTTGGCATTGAACAGAA	FJ236878	6	208-258	60°	0.65	0.40	0.00-0.90
SLE025	F: CTCAGGCTAGTTGCACAGAAA R: TCAACTCCCCACAATCCCAT	FJ236874	31	234-398	57°	0.90	0.91	0.96-0.10
SLE027	F: GAGACCAGCCAAAGGAAAAA R: ATGCCATATTCATCCAGGCAC	FJ236879	13	420-459	60°	0.70	0.61	0.03-0.84
SLE028	F: TTTGGAGACATTGCAGAAAAG R: CACTTGGGACTACACACACTG	FJ236875	25	226-281	55°	0.84	0.88	0.06-0.83
SLE033	F: TTGGTCAATGCCTCTTGCA R: CCCATGCTGTTTTGTTCTTTG	FJ236876	11	261-299	57°	0.79	0.80	0.16-0.60
SLE038	F: AGCCTACTTCTGCCACATTTT R: AATCAAAGTTCCTGCAGTCCT	FJ236877	14	419-475	60°	0.80	0.73	0.06-0.63
SLE045	F: AGGATGGGATTCAGTGACAGA R: AATAAGCTCAAAGGGCTGGA	FJ236880	5	403-411	60°	0.66	0.57	0.01-0.96
SLE053	F: AAGTCAAAAGCTGTGTGCCGA R: ATTCCCCACATACATTCCCCA	FJ236881	21	407-457	57°	0.84	0.79	0.06-0.79
SLE054	F: CTGACACTGCCAATTTGCAT R: CCAACTGGAGTTGTCAATCCA	FJ236882	9	186-206	60°	0.54	0.39	0.06-0.78
SLE071	F: TCAGACGGTGGTACGTACACA R: TGACCCTTTTGGATTGAAGGA	FJ236883	13	236-285	60°	0.75	0.58	0.01-0.54
SLE077	F: TTCCTCTCAGAGTGACATTG R: CCTTCTCCATACACAAACA	FJ236884	29	218-317	55°	0.90	0.91	0.53-0.78
SLE081	F: ATGTTTCATCATCCGAGACAGG R: CCAAACACACGTATCTGCACCCA	FJ236885	8	384-402	60°	0.80	0.81	0.62-0.99
SLE086	F: TACAGACAGATTTTCAGTGTGT R: ACGAATACGCATTCATACAC	FJ236886	6	350-361	60°	0.71	0.67	0.18-0.62
SLE089	F: TTACCACAGTTTGTGTGGGTG R: AAGTTTCAGTGTTCAGTGTGC	FJ236887	13	172-204	60°	0.85	0.91	0.25-0.85

Anexo 2. Frecuencia de los loci microsatélites empleados para *Sphyrna zygaena*






Anexo 3. Tabla de índices de diversidad genética de elasmobranquios.

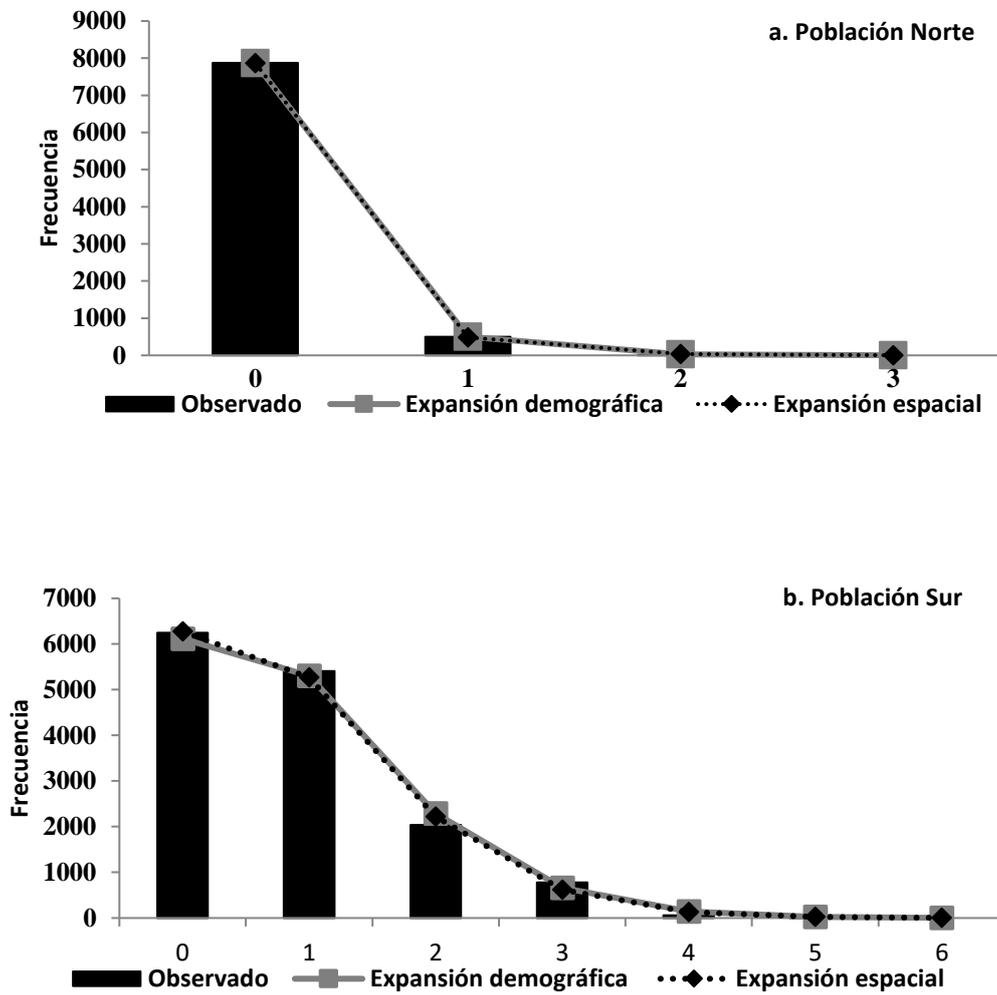
 Tomado de Doimeier y Nasby-Lucas (2007), Dudgeon *et al.* (2009), Escatel-Luna et al (2015), Kessler, 2006.

Especie	Hábitat	Distribución	Talla	π	Hd	Na	He
<i>Carcharhinus leucas</i>	Costero y aguas hipersalinas, bahías, desembocaduras de ríos y ríos de agua dulce	Mundial	~340 cm	0.0028±0.0017	0.76± 0.03	30	0.84
<i>Carcharhinus limbatus</i>	costero (frente a desembocaduras de ríos, estuarios, bahías someras y fangosas)	Extendido	255 cm máx	0.004413±0.00226	0.843 ±0.015	na	na
<i>Carcharhinus obscurus</i>	Plataforma continental e insular	Posiblemente mundial	360 – 400 cm	0.0050±0.0048	0.60±0.29	7.9	0.732
<i>Carcharhinus plumbeus</i>	Bahías, puerto, desembocaduras de los ríos, oceánicos	Mundial	~240 – 300 cm	0.00475	0.959	na	na
<i>Carcharhinus sorra</i>	Plataforma continental e insular, aguas someras y cerca de arrecifes coralinos	Limitado	160 cm	0.0030±0.0019	0.60±0.24	12.6	0.55
<i>Carcharhinus tilsoni</i>	Desde cerca de la costa a profundidades medias	Muy limitado	200 cm	na	Na	10.8	0.64
<i>Carcharias taurus</i>	Aguas costeras, cuevas submarinas	Extendido	>430 cm	0.004±0.000003	0.725±0.002	10.5	0.737
<i>Carcharodon carcharias</i>	Desde aguas costeras a mar abierto e islas oceánicas	Muy extendido	~600 cm	0.0203	Na	5.4	0.658
<i>Cetorhinus maximus</i>	Frentes costeros y oceánicos	Mundial	>1000 cm	0.0013±0.0009	0.720±0.028	na	na
<i>Galeorhinus galeus</i>	Mares continentales de frío a cálidos	Mundial	175-195 cm	0.0071±0.0037	0.92±0.01	na	na
<i>Ginglymostoma cirratum</i>	Arrecifes rocosos y coralinos	Amplio	300 -430 cm	na	Na	9	5
<i>Haxanchus griseus</i>	Montañas submarinas y dorsales medio oceánicas	Mundial	480-550 cm	na	Na	45.4	0.888
<i>Isurus oxyrinchus</i>	Costero y oceánico	Mundial.	>400 cm	na	Na	25.5	0.873
<i>Mustelus schmitti</i>	Plataforma continental ante costera	Limitado	190 cm	0.0015	0.226	na	na
<i>Nagaprion acutidens</i>	Costa: aguas turbias y tranquilas en bahías, estuarios, zonas arenosas	Amplio	310 cm	0.0006	0.280	10.5	0.67



<i>Nagaprion brevirostri</i>	Costero: cerca de manglares, muelles, arena y fango	Amplio	349 cm	0.0059	0.780	19.8	0.81
<i>Notorynchus cepedianus</i>	Costero: bahías someras	Amplia	~290-400 cm	na	Na	24.5	0.794
<i>Prionace glauca</i>	Océano pelágico: aguas templadas y tropicales	Mundial	380 cm	0.0054±0.0011	0.92±0.005	6.6	0.58
<i>Orectolobus halei</i>		Limitado	256	na	Na	1	0
<i>Orectolobus maculatus</i>	Arrecifes coralinos y rocosos, bahías estuarios, charcas de marea	Limitado	~320 cm	na	Na	1	0
<i>Orectolobus ornatus</i>	Arrecifes coralinos y rocosos, bahías, rocas cubiertas de algas	Limitado	288 cm	na	Na	1	0
<i>Rhincodon typus</i>	Pelágico, mar abierto y cerca de costa	circumglobal	1700-2100 cm	0.011±0.006	0.974 ±0.008	na	na
<i>Rhizoprionodon lalandei</i>	Litoral, plataforma continental	Limitado	~77 cm	0.0048±0.0029	0.8239	na	na
<i>Rhizoprionodon porosus</i>	Cerca de la costa, en la plataforma continental e insular		~110 cm	0.00278	0.881± 0.013		
<i>Somniosus microcephalus</i>	talud superior y plataforma continental	Limitado	>640-730 cm	0.00220±0.0015	0.7750±0.0876	na	na
<i>Somniosus pacificus</i>	Talud y plataforma continental	Limitado	>700 cm	0.0031±0.0020	0.7937±0.0424	na	na
<i>Squalus acantias</i>	Plataforma continental, epipelágico (en aguas frías)	Casi mundial	160-200 cm	0.0086	0.839	13.5	0.61
<i>Squalus mitsukurii</i>	Plataforma y talud superior continental	Extensa y fragmentada	125 cm	0.0010-0.0008	0.541±0.0015	10.4	0.567
<i>Sphyrna lewini</i>	Plataforma continental e insular y aguas profundas	Mundial	370-420 cm	0.0098±0.0072	0.61±0.12	6.4	0.54
<i>Sphyrna lewini</i>	Plataforma continental e insular y aguas profundas	Mundial	370-420 cm	0.0011	0.533	10.6	0.792
<i>Sphyrna tiburo</i>	Plataforma continental, bahías, sobre el fango y arena	Mares tropicales del Atlántico Oriental y Pacífico oriental	150 cm	0.14±0.14 0.00032±0.00028	0.72±0.35 0.932 0.9	13.5 7.3	0.666 0.700
<i>Sphyrna mokarran</i>	Plataforma continental, mares tropicales, pelágico costero, semi oceánico	Mundial	234-610 cm		0.4426		

Anexo 4. Distribución mismatch de la población Norte (a) y Sur (b) del Pacífico Oriental de *Sphyrna zygaena*.



Anexo 5. Valores de las pruebas de Neutralidad en las poblaciones de *S. zygaena* a lo largo del Océano Pacífico Oriental

Indices de neutralidad	Población Norte	Valores de P	Población Sur	Valores de P
SSD	0.00001	0.2036	0.00038	0.7353
Ind. Reggeddness	0.77629	0.81010	0.06708	0.51880
D'Tajima	-1.7393	0.00370	-1.26062	0.09380
Fu'	-8.1451	0	-6.53754	0-01040