

# Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ciencias Marinas

Instituto de Investigaciones Oceanológicas



Caracterización molecular de la población de tiburón azul, *Prionace glauca* (Carcharhiniformes: Carcharhinidae), en la costa Pacífico de la Península de Baja California, México.

Tesis

Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología**

Presentada por:

**Carlos Rangel Jefroc**

Ensenada, Baja California, México.

Octubre 2016

Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ciencias Marinas

Caracterización molecular de la población de tiburón azul,  
*Prionace glauca* (Carcharhiniformes: Carcharhinidae), en el Pacífico  
Centro Oriental de México (Baja California y Baja California Sur)”

Tesis

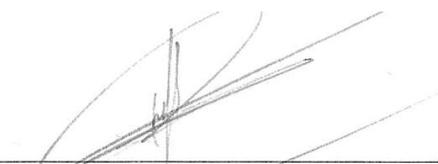
Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología**

Presentada por:

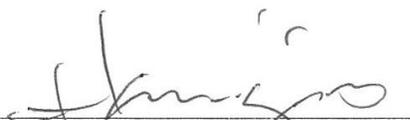
**Carlos Rangel Jefroc**

**APROBADA POR**



---

Dr. Faustino Camarena Rosales  
Director de tesis



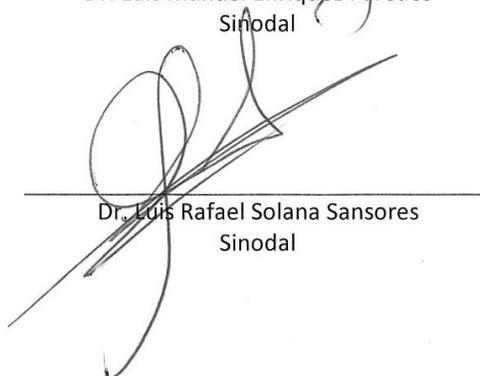
---

Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes  
Sinodal



---

Dra. Raquel Muñiz Salazar  
Sinodal



---

Dr. Luis Rafael Solana Sansores  
Sinodal

ASUNTO: Voto aprobatorio sobre trabajo  
de tesis de grado de Maestría

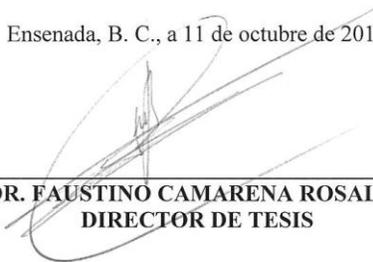
**DR. LUIS ANTONIO CUPUL MAGAÑA**  
**COORDINADOR DE POSGRADO**  
**E INVESTIGACION, F.C.M.**  
**Presente. -**

Después de haber efectuado la revisión del trabajo de tesis del estudiante **Carlos Rangel Jefroc**, para presentar la defensa en el examen, para el grado de Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología, me permito comunicarle que he dado mi voto **Aprobatorio**, sobre su trabajo titulado:

Caracterización molecular de la población de tiburón azul, *Prionace glauca* (Carcharhiniformes: Carcharhinidae), en la costa Pacífico de la península de Baja California México”

Esperando reciba el presente de conformidad, quedo de usted.

Ensenada, B. C., a 11 de octubre de 2016



---

**DR. FAUSTINO CAMARENA ROSALES**  
**DIRECTOR DE TESIS**

c.c.p. Expediente

ASUNTO: Voto aprobatorio sobre trabajo  
de tesis de grado de Maestría

**DR. LUIS ANTONIO CUPUL MAGAÑA**  
**COORDINADOR DE POSGRADO**  
**E INVESTIGACION, F.C.M.**  
**Presente. -**

Después de haber efectuado la revisión del trabajo de tesis del estudiante **Carlos Rangel Jefroc**, para presentar la defensa en el examen, para el grado de Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología, me permito comunicarle que he dado mi voto **Aprobatorio**, sobre su trabajo titulado:

Caracterización molecular de la población de tiburón azul, *Prionace glauca* (Carcharhiniformes: Carcharhinidae), en la costa Pacífico de la península de Baja California México”

Esperando reciba el presente de conformidad, quedo de usted.

Ensenada, B. C., a 11 de octubre de 2016

  
DRA. RAQUEL MUÑIZ SALAZAR  
SINODAL

c.c.p. Expediente

ASUNTO: Voto aprobatorio sobre trabajo  
de tesis de grado de Maestría

**DR. LUIS ANTONIO CUPUL MAGAÑA**  
**COORDINADOR DE POSGRADO**  
**E INVESTIGACION, F.C.M.**

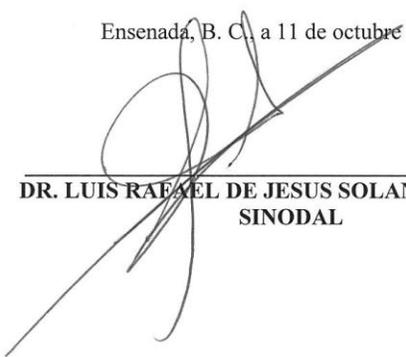
Presente. -

Después de haber efectuado la revisión del trabajo de tesis del estudiante **Carlos Rangel Jefroc**, para presentar la defensa en el examen, para el grado de Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología, me permito comunicarle que he dado mi voto **Aprobatorio**, sobre su trabajo titulado:

Caracterización molecular de la población de tiburón azul, *Prionace glauca* (Carcharhiniformes: Carcharhinidae), en la costa Pacífico de la península de Baja California México”

Esperando reciba el presente de conformidad, quedo de usted.

Ensenada, B. C., a 11 de octubre de 2016



**DR. LUIS RAFAEL DE JESUS SOLANA SANSORES**  
**SINODAL**

c.c.p. Expediente

ASUNTO: Voto aprobatorio sobre trabajo  
de tesis de grado de Maestría

**DR. LUIS ANTONIO CUPUL MAGAÑA**  
**COORDINADOR DE POSGRADO**  
**E INVESTIGACION, F.C.M.**  
**Presente. -**

Después de haber efectuado la revisión del trabajo de tesis del estudiante **Carlos Rangel Jefroc**, para presentar la defensa en el examen, para el grado de Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología, me permito comunicarle que he dado mi voto **Aprobatorio**, sobre su trabajo titulado:

Caracterización molecular de la población de tiburón azul, *Prionace glauca* (Carcharhiniformes: Carcharhinidae), en la costa Pacífico de la península de Baja California México”

Esperando reciba el presente de conformidad, quedo de usted.

Ensenada, B. C., a 11 de octubre de 2016

  
\_\_\_\_\_  
**DR. LUIS MANUEL ENRIQUEZ PAREDES**  
**SINODAL**

c.c.p. Expediente

## Resumen:

El tiburón azul (*Prionace glauca*) en las costas de Baja California, es una importante pesquería, por lo que se evaluaron los indicadores de polimorfismo y variabilidad genética, en muestras obtenidas en las pesquerías, buscando contribuir con información a los planes de manejo. En total se procesaron 86 muestras, en las que fue secuenciado un fragmento 553 pb de la región control del ADN mitocondrial, en donde se identificaron 25 haplotipos diferentes, con 24 sitios variables. Los haplotipos con mayor son homologos a los reportados previamente, lo cual se relaciona con la gran capacidad migratoria de la especie. La diversidad haplotípica se estimó en 0.8525 con una desviación estándar de 0.0269, en tanto que la diversidad nucleotídica en 0.1334, con una desviación estándar de 0.0771, lo cual se encuentra dentro de los valores previamente reportados. La información analizada no muestra efectos negativos de la pesquería sobre la especie.

Palabras clave: Diversidad genética, Región Control, *Prionace glauca*, Tiburón azul.

## **Agradecimientos:**

Es necesario agradecer a tantas personas, todas y cada una de ellas demasiado importantes y si por alguna razón no los menciono no es por desdén sino porque la verdad a esta hora la memoria ya no me sirve tanto.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California y dentro de esta gran institución, a la Facultad de Ciencias Marinas por permitirme enrolarme entre sus filas una vez más.

A CONACyT por apoyarme con una beca y cubrir los gastos de inscripción y apoyo académico de mi estancia en el posgrado de Ecología Molecular y Biotecnología.

A mi familia realmente no hay palabras suficientes para agradecerles tanto apoyo en estos últimos años, desde ayudarme a llegar tiempo a la universidad, al posgrado y al laboratorio, Andrés mi hermano, gracias por interesarte tanto en mis locuras como para perder domingos enteros en un laboratorio rodeado nada mas de frascos y papeles. A Samantha que con sus preguntas me ayudo a ver cosas que no entendía ni yo mismo, a mis Padres, Carlos y Sandra, que cada quien y sin consultarse entre si me decían lo mismo (¡a darle con ganas hijo!).

A mis amigos, nuevos y de ya bastante tiempo, que siempre me reciben con una buena charla y la clásica pregunta – ¿Y la fiesta de graduación para cuándo? -.

A mi esposa Marisela Garduño Rosales, te amo tanto tanto, no solo por tu apoyo, tu emoción al escuchar mis cursilerías y mis locuras de mata-peces, te amo mucho y cada día mas.

## Indice:

Resumen: .....	7
Introducción:.....	11
Antecedentes .....	13
Características del Tiburón Azul, <i>Prionace glauca</i> , .....	14
Pesquería en México.....	18
Marcadores moleculares .....	19
Objetivos Generales:.....	22
Objetivos particulares: .....	22
Metodología.....	23
Obtención de muestras .....	23
Extracción de ADN mitocondrial .....	23
Amplificación de la Región Control Mitocondrial .....	23
Secuenciación: .....	24
Análisis de secuencias .....	24
Resultados .....	26
Obtención de muestras .....	26
Extracción de ADN mt .....	27
Secuencias de las muestras .....	27
Relación entre haplotipos y grupos externos .....	37
Comparación con estudios similares .....	39
Discusión: .....	45
Muestreo .....	45
Relación dentro de la especie.....	46
Relación entre especies .....	48
Conclusiones: .....	50
Anexo 1 .....	57
Anexo 2.....	61
Anexo 3.....	63



## Introducción:

La pesca de elasmobranquios se realiza utilizando esencialmente redes de enmalle y palangres. Estos sistemas de pesca varían en dimensiones, autonomía y tecnificación. Para fines estadísticos, generalmente se agrupan los tiburones con las rayas, de tal forma, se reporta que, del total de la producción, el 40% es aportado por embarcaciones menores y el 60% corresponde a embarcaciones de mediana altura y altura, tanto en modalidades de pesca dirigida como no dirigida (CONAPESCA., 2004).

Los tiburones tienen un alto valor por el precio de sus aletas en el mercado asiático. En cuanto a la carne del resto del cuerpo, generalmente es comercializada en el mercado de la región donde es capturado, de ahí que estos organismos tengan un manejo económico sustancial en los mercados de productos marinos de todo el mundo (Kleiber et al., 2009).

El tiburón azul (*Prionace glauca*), es una de las principales especies que se capturan a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California, debido a que se puede encontrar todo el año. De acuerdo a la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA, 2013), el estado de Baja California es el que reporta un mayor volumen de captura con respecto a Baja California Sur, (véase Tabla 1).

Tabla 1.- Captura y ganancias registradas para Elasmobranquios Tiburones y Rayas; en el registro histórico de arribos de SAGARPA para la región de la Península de Baja California (CONAPESCA, 2013).

<b>Entidad</b>	<b>PESO (Toneladas)</b>	<b>DESEMBARCADO (Toneladas)</b>	<b>PESO (Toneladas)</b>	<b>VIVO</b>
<b>Baja California Sur</b>	3,487		2,745	
<b>Baja California</b>	3,875		3,837	

Considerando su importancia para la región es mucha relevancia conocer la estructura y atributos de este recurso para su adecuado manejo. En este sentido es recomendable la aplicación de los análisis con técnicas desarrolladas en el área de Ecología Molecular, particularmente el uso de marcadores moleculares para caracterizar genéticamente a las poblaciones, así como realizar inferencias relacionadas con el manejo del recurso.

En la actualidad, el uso de marcadores moleculares como una herramienta para el desarrollo de estrategias de gestión y preservación de las poblaciones de pesquerías representan una alternativa que puede aportar información a más corto plazo (Karl et al., 2010). Por ejemplo, el ADN mitocondrial (ADNmt) se ha utilizado en el estudio de poblaciones, particularmente en las aplicaciones asociadas a la dinámica poblacional (Dudgeon et al., 2012).

Otra de las razones por la que se manejan herramientas moleculares, es para descubrir la caracterización genético-poblacional de los recursos y así medir sus niveles de variabilidad genética; debido a que si existe una pérdida de variabilidad genética o se encuentra algún grado de depresión por endogamia; se corre el peligro de acabar con el recurso, ya que estas dos características son de las principales causas en la disminución e inviabilidad de cualquier población natural (Rocha y Gasca, 2007).

Este estudio tiene como objetivo caracterizar genéticamente el stock de tiburones azules en la Península de Baja California analizando muestras de un del periodo de pesca del tiburón del 2013 al 2014, utilizando la región control del ADN mitocondrial como marcador molecular. La información obtenida permitirá conocer información acerca de las zonas de pesca conocidas y de esta manera aportar información para contribuir al adecuado plan de conservación y manejo del recurso.

## Antecedentes

La creciente preocupación sobre el estado y la sostenibilidad de las poblaciones de elasmobranquios en aguas mexicanas y del mundo, ha impulsado el desarrollo de planes de manejo y así como la búsqueda de una mejor gestión en sus pesquerías, en este sentido es necesario generar mayor información enfocada para este fin (CONAPESCA, 2004).

En México en el año 2006, se publicó en el Diario Oficial de la Nación, la Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006 (SAGARPA, 2007), donde se especifica el manejo, uso y explotación Tiburones y Rayas, desde ese año a la actualidad. Esta norma ha sido actualizada en marzo 2015, para establecer estrategias para la preservación y mejor manejo del recurso (SAGARPA. 2015).

Actualmente se reconoce que existe falta de información cuantitativa y cualitativa detallada sobre la ubicación y las actividades, sitios de pesca artesanal, la composición de especies de los desembarques y la información básica de la historia de vida especies objetivo, así como de su estado genético poblacional, esta información se sigue investigando desde inicios de la década; (Bizarro et al., 2009).

En la última década, varias Organizaciones Regionales e Internacionales, de Manejo Pesquero como lo son la Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT), Comisión Internacional para la Conservación del Atún del Atlántico (ICCAT), la Comisión del Atún del Océano Índico (CAOI), Organización de Pesquerías del Atlántico Noroeste (la NAFO), la Comisión General de Pesca del Mediterráneo (CGPM), la Comisión de Pesquerías del Atlántico Nordeste (NEAFC) y Comisión para la Conservación y Gestión de las poblaciones de peces altamente migratorios en el Océano Pacífico Occidental y Central (WCPFC), han adoptado medidas que evitan la práctica denominada “aleteo”, en la cual solo se obtenía la aleta, por su relativo alto valor, y se descartaba el cuerpo. Con las nuevas regulaciones cualquier buque bajo su jurisdicción de esas organizaciones, debe retener tanto las aletas como los cuerpos de los tiburones de los cuales se obtuvieron estas (Lack y Sant, 2009).

Esta regulación también alentó la práctica de liberar tiburones de escaso valor (lo que es tallas muy chicas, como juveniles), para reservar espacio de bodega para los organismos más valiosos (adultos, que es probable ya se han reproducido en ciclos pasados), así como la captura de otras especies de uso comercial como el atún, (Fowler et al., 2005).

Además de las restricciones de aleteo, se aplicó una regulación acerca de la retención de algunas especies de elasmobranchios que requieren estrategias de conservación (CONAPESCA, 2011; Torres-Herrera y Tovar-Avila, 2014; CONAPESCA, 2004).

Todas estas acciones gubernamentales también tienen un eco en las acciones y programas de conservación de Tiburones, de hecho en palabras de la Dra Sonja Fordham (que desde el 2009 funge como Vice Presidenta del Grupo de Especialistas en Tiburones de la UICN y Directora de Política de la Alianza por el Tiburón) - *“La vulnerabilidad y largas migraciones de la mayor parte de tiburones oceánicos demanda la coordinación de planes internacionales de conservación ...la sobrepesca de estas especies, tanto en aguas nacionales como internacionales, demuestra una necesidad clara de actuar de manera inmediata a escala global.”* \*-

Por otro lado, se formuló el “Memorando de Entendimiento sobre la Conservación de Tiburones Migratorios”<sup>1</sup> el cual entró en vigor en marzo de 2010. Dicho documento es un instrumento de marco legal, con participación global y que tiene como objetivo facilitar la coordinación internacional para la protección, conservación y manejo de esfuerzo pesquero de tiburones migratorios, a través de, la discusión intergubernamental multilateral y la investigación científica.

## Características del Tiburón Azul, *Prionace glauca*,

---

\* <http://www.iucn.org/content/third-open-ocean-sharks-threatened-extinction>

<sup>1</sup> [http://www.cms.int/sharks/sites/default/files/uploads/Migratory\\_Sharks\\_MoU\\_S.pdf](http://www.cms.int/sharks/sites/default/files/uploads/Migratory_Sharks_MoU_S.pdf)

El tiburón azul se encuentra en la mayor familia de elasmobranquios, Carcharhinidae, la cual agrupa a los organismos más importantes en términos de abundancia y biomasa en el mundo (Compagno, 1984). En las características morfológicas que distinguen a la familia que tiene alrededor de 50 especies, se establece que tienen tamaños grandes (generalmente entre 85 a 251 cm de longitud furcal), ojos redondos con los párpados nictitante, ausencia de ranuras nasales o barbas bucales, ausencia general de espiráculos, pozos pre-caudales; presenta dos aletas dorsales, una aleta anal, y diferente morfología de los dientes en la mandíbula superior e inferior (Figura 1). En los productos de pesca este grupo es el más común (Compagno et al., 2008).

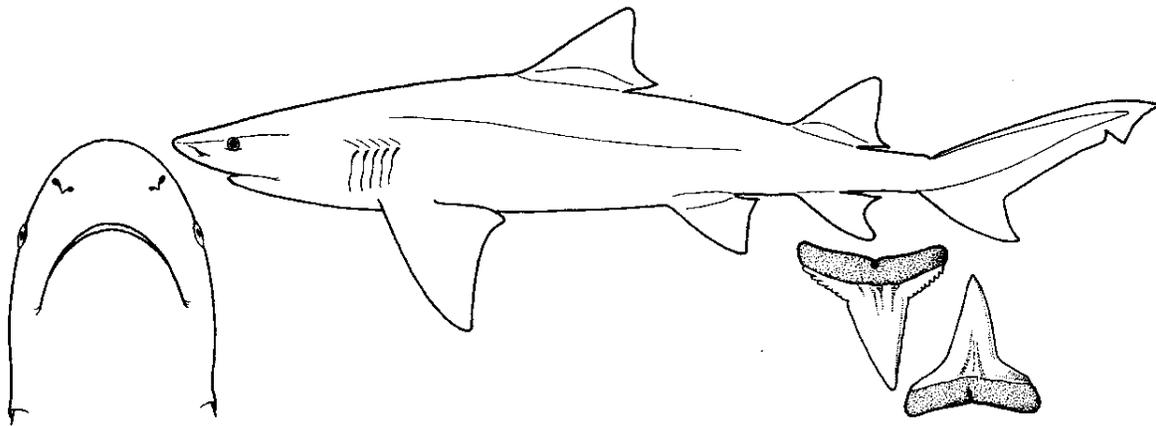


Figura 1. Morfología externa de *Prionace glauca* (Tomado de Compagno et al., 2008)

El Tiburón Azul tiene distribución oceánica y epipelágica, así como en costas (Compagno, 2008). De todos los peces cartilaginosos, esta especie cuenta con un ámbito de distribución amplio, principalmente en áreas localizadas entre los trópicos y en las zonas templadas (Nakano y Stevens, 2008), específicamente entre las latitudes de 60° N a 50° S (Figura 2); y en la columna de agua desde la superficie hasta unos 350 m de profundidad, generalmente entre las isotermas de 12 a 20 ° C y puede ubicarse a mayor profundidad en las aguas tropicales (Last y Stevens, 1994).

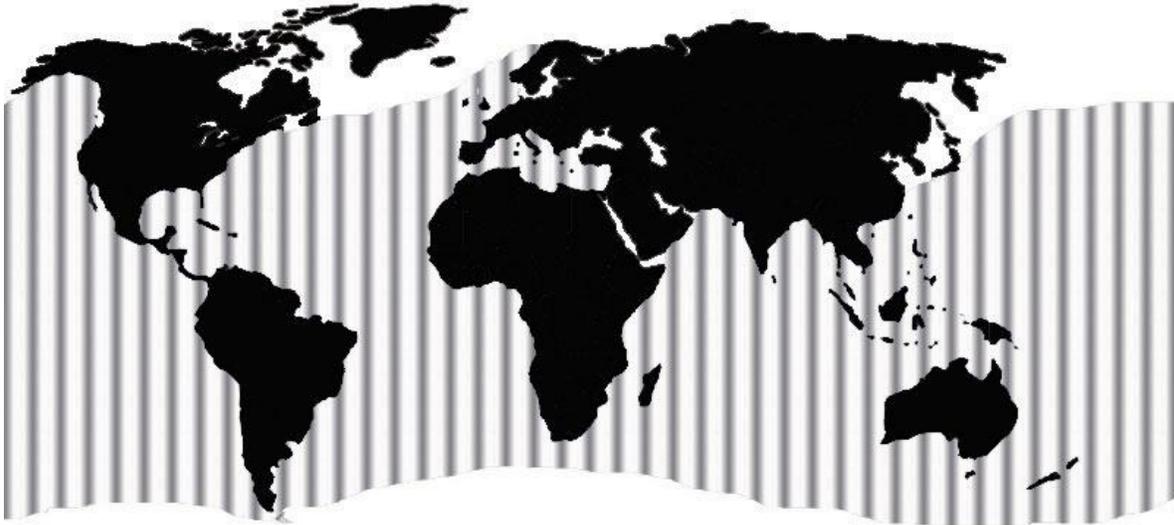


Figura 2: Distribución mundial del tiburón azul (*Prionace glauca*), dentro del área con líneas verticales. (modificado de Compagno, 2006).

Existe un gran interés por diferentes grupos de investigación y desarrollo de esfuerzos pesqueros en la posible localización y documentación del stock de esta especie, debido a su alimentación constituida básicamente por especies objetivo de otras pesquerías, como peces como atunes, arenques, meros, jureles, bonitos y en algunos casos también calamares, así como aves marinas. En este sentido el tiburón azul se obtiene tanto en pesca incidental, como en un esfuerzo pesquero dirigido (Compagno et al 1984).

Este organismo es capaz de alcanzar la madurez sexual a los 5 o 6 años de edad en las hembras y en los machos entre los 4 y 5 años. Tiene fecundación interna con periodos de gestación entre 9 y 12 meses, donde los tiburones juveniles o neonatos alcanzan aproximadamente los 35 a 40 cm de longitud total, por lo que pueden ser presa de organismos mayores de la misma especie (Compagno et al 1984).

Por etapa reproductiva existe segregación por sexo (Kohler et al 2002; Mejuto y García- Cortés 2005; Litvinov 2006, Tavares et al 2012), desde tallas a partir de los 60 cm de longitud (Litvinov 2006). Los organismos jóvenes permanecen en áreas confinadas por lo general cerca de la costa, en las denominadas guarderías (traducido directo del inglés), en donde permanecen

hasta llegar a los 109 cm (Kleiber et al., 2009). Dentro de las guarderías, se forman agrupaciones debido a las distintas fuentes de alimentación (Litvinov, 2006). Las guarderías parecen estar ubicados en zonas de elevada biomasa en presas, maximizando la supervivencia de juveniles y su crecimiento, o donde los juveniles encuentran protección contra los depredadores, incluyendo organismos de su misma especie (Compagno 2008).

Algunas agregaciones de machos se han encontrado en las proximidades de guarderías (Litvinov, 2006). Las hembras con tallas de 100-180 cm emigran a regiones oceánicas donde se reúnen con agregaciones del sexo masculino y ocurre el apareamiento (Simpfendorfer et al 2002; Nakano y Stevens 2008). Después de la cópula, las hembras por lo general se mueven fuera de las agregaciones, aunque algunas pueden permanecer en esas zonas hasta tiempos cercanos al parto (Litvinov, 2006). El parto probablemente tiene lugar cerca de la costa, (Tavares et al 2012; Vögler et al., 2012).

En la migración de la especie, se registraron organismos con recorridos entre los hemisferios norte y sur, así como entre los márgenes oriental y occidental de las cuencas oceánicas (Stevens, 1990). Presentan movimientos transoceánicos y se tienen registros de la máxima distancia recorrida por un organismo de 7.176 kilómetros (Stevens, 1990; Kohler et al., 2001). A pesar de su alta capacidad de dispersión, *P. glauca* exhibe cierta fidelidad a lugares oceánicos, regiones costeras y/o zonas pelágicas, como por ejemplo montes marinos, plataformas continentales, cañones o frentes oceanográficos (Bigelow et al., 1999; Litvinov 2006; Morato et al., 2010). Esas áreas albergan grandes concentraciones de nutrientes suministrados por la escorrentía y/o movimiento térmico de grandes masas de agua, que conducen a una mayor productividad primaria (Queiroz et al., 2012). Estas regiones desempeñan un papel esencial en la alimentación y el apareamiento de los tiburones azules (Litvinov, 2006; Queiroz et al., 2012).

En las costas del Pacífico Oriental, en especial las costas de la Península de Baja California y Baja California Sur, se ha descrito que la estructura de la población se caracteriza por la presencia de agregaciones de juveniles y hembras preñadas hacia aguas costeras y la presencia de agregaciones machos adultos hacia aguas oceánicas. La distribución de los grupos de sexo y tamaño en aguas

oceánicas, se encuentra afectada estacionalmente por la latitud (Vogler et al., 2012).

Este tipo de segregación espacial por edades y sexo, también se reportó en estudios demográficos en la región del Caribe, en donde se presentan cambios por efectos estacionales (Tavares et al., 2012).

## Pesquería en México.

En la pesca de tiburones resalta *Prionace glauca*, por su amplia distribución global y por ello ha sido un elemento clave en las pesquerías de muchos países, desde hace ya varias décadas (FAO, 2010).

En México, a principios de las década de 1980, el Instituto Nacional de Pesca (INAPESCA) comenzó a realizar diversos muestreos a bordo de barcos palangreros, enfocados principalmente a la pesca de tiburón en la Zona Económica Exclusiva del Pacífico Mexicano (al día de hoy esta y sus especificaciones pueden encontrarse referenciadas por la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2011), y es en estos primeros muestreos donde se inició la recolección de datos que ha ayudado a comprender mejor la distribución y abundancia de las especies capturadas.

Desde entonces, se observan la existencia de diferentes programas y servicios gubernamentales que realizan monitoreo y control de recursos pesqueros, así como también el desarrollo de investigaciones de nivel académico y comercial enfocadas en el manejo de este recurso (CONAPESCA, 2004).

En relación a *P. glauca*, el interés en reconocer su biología o sus patrones de distribución espacial está directamente ligado a su importancia pesquera (Nakano y Seki, 2003; Vögler et al., 2012; Tavares et al., 2012), por lo cual se han evaluado incluso las artes de pesca que son utilizadas (Yokota et al., 2006).

La pesquería de *P. glauca* ha sido ampliamente estudiada aplicando diversas estrategias de estudio demográfico (Montealegre-Quijano y Vooren, 2010), incluyendo el uso de modelos tradicionales (Lessa et al., 2004) o con modelos lineales generalizados (Walsh y Kleiber, 2001, Aires-da-Silva et al., 2008; Carvalho et al., 2014). La actividad principalmente se realiza en algunas temporadas o regiones, bajo pesquerías cuyo objetivo es otra especie, como por ejemplo con los peces espada o picudo, - *Xiphias gladius*- (Vandeperre et al.,

2014). En algunas regiones el tiburón azul corresponde a la especie objetivo (Bustamante y Bennet, 2013).

En la Península de Baja California; existe un importante esfuerzo pesquero, especialmente durante primavera (Bizzarro et al., 2009). Por otro lado, se desarrollaron diferentes modelos de distribución de esta especie (Sosa-Nishizaki, et al., 2002). En la evaluación de las pesquerías artesanales se identificó que es una especie comúnmente capturada, particularmente con la técnica “Longline”, en donde se ha identificado la segregación sexual dominando las hembras en las zonas costeras y los machos en pesca de alturas (Cartamila et al., 2011)

## Marcadores moleculares

Una herramienta más, que puede utilizarse para medir parámetros poblacionales tales como distribución y caracterización interna de una población son los marcadores moleculares.

Con el uso de herramientas moleculares se pueden identificar las variantes o haplotipos genéticos de los objetos de estudio y en el caso de utilizar ADN mitocondrial, se puede inferir la historia matrilineal, que pueden conectarse mediante dendrogramas. Este gráfico, puede sobreponerse a la distribución geográfica del grupo de estudio, a fin de interpretar los procesos evolutivos responsables de la distribución actual del organismo en estudio (Awise, 2000).

La evaluación de la estructura genética en las poblaciones explotadas, como en pesquerías, es una herramienta muy importante para lograr definir acciones de uso y conservación, (Dudgeon et al., 2012). La explotación de recursos en ambientes marinos puede tener un alto impacto en la diversidad genética de las poblaciones, al modificar la estructura y dinámica poblacional general y reducir la fecundidad y el tamaño poblacional (Ward, 2000).

La tasa de cambio evolutivo en una población es proporcional a la cantidad de diversidad genética disponible (Teorema Fundamental de la Selección Natural) (Fisher, 1930). Cuando la diversidad genética se ve reducida dentro de una

población, entonces se reduce también el potencial evolutivo de la misma ante los cambios del medio ambiente (Abad et al., 2011).

Estudios genéticos en elasmobranquios se han centrado principalmente en los tiburones Carcharhinidae y en particular sobre las especies pelágicas costeras (Heist et al 1995). Estos estudios revelaron que los patrones de distribución de la variación genética intraespecífica dentro de los elasmobranquios están fuertemente influenciada por la capacidad de la dispersión, rango de distribución e historia de vida (Keeney y Heist, 2006).

Para la evaluación de la variabilidad genética de los tiburones se han utilizado diferentes marcadores moleculares, (Castillo-Olguín et al., 2012, Chen et al., 2013, Corrigan y Beheregaray, 2009, Dudgeon et al., 2012). Entre estos estudios, destaca el uso del ADNmt. Esta molécula; es circular y covalentemente cerrada; de tamaño pequeño (16-20 kilobases), conformada por un total de 37 genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia), además de una región control (1kb), que controla la replicación y transcripción de la molécula. Presenta una alta tasa de sustitución a nivel de secuencias de nucleótidos y prácticamente nula recombinación, gran variación intraespecífica y, sobre todo, su herencia casi estrictamente materna (Vázquez, 2007).

En el caso del tiburón azul, en la base de datos del GenBank, se encuentra el reporte de la secuencia completa de ADNmt reportada por Chen y colaboradores (2013), la cual corresponde aproximadamente a 16 mil pares de bases, reportada con dos números de acceso (KF356249.1 y NC\_022819.1). En forma complementaria de la región control específicamente solo existe una secuencia reportada de 373 pb (Ovenden et al., 2009). Por otro lado, hay reportes de la secuencia de Citocromo Citocromo Oxidasa I, descrito para una evaluación comparativa con diferentes peces en una evaluación taxonómica (Little et al., 2012) o para estudios relacionados al proyecto del código de barras (Clarke et al., 2006; Shang-Yin et al., 2013).

Por otro lado, se han realizado estudios de la secuencia del citocromo b para el proyecto de código de barras (Nicole et al., 2012) así como para evaluar la estructura poblacional (Taguchi et al., 2013).

En cuanto al uso de marcadores nucleares, resaltan los trabajos realizados para describir microsatélites para el estudio de poblaciones de Tiburón azul (Fitzpatrick et al., 2011; Taguchi et al., 2013).

Con el uso de otros marcadores mitocondriales como el NADH2 se han contrastado los diferentes tiburones y rayas, resaltando que, para *P. glauca*, con muestras recolectadas entre el Oeste del Atlántico norte, el Golfo de California, Hawái y Tasmania, no se encuentra estructura genética asociada a la distribución geográfica, siendo agrupada con los Carcarínidos y reconociéndose una filogenia monotípica del género (Naylor et al., 2012).

En cuanto a publicaciones de la especie, resalta el trabajo de Ovenden y colaboradores (2009), en donde realiza la evaluación de diferentes especies de tiburones, incluyendo al tiburón azul, en donde utilizando marcadores del tipo marcadores nucleares (tipo microsatelites) y la evaluación de un fragmento de la región control, no identifica la división entre organismos procedentes de diversas regiones de Australia e Indonesia, por lo cual recomienda el manejo compartido de estas especie entre las naciones de la región. Cabe señalar que depositan solo una secuencia de 373 pb en el Gene Bank.

En el atlántico se realizó la evaluación genética poblacional con un fragmento de 426 pb de la región control, encontrando heterogeneidad genética entre las zonas de crianza entre Portugal y las Azores con las zonas de África del Sur (Sampaio da Costa, 2013). En este trabajo, las secuencias estudiadas no se depositaron en una base de datos pública.

### **Objetivos Generales:**

Determinar la variabilidad genético poblacional del tiburón azul (*Prionace glauca*, Chondrichthyes: Carcharhinidae), en las zonas de pesca del Pacífico Centro Oriental de la península de Baja California, con base en la secuencia de la región control del ADN mitocondrial.

### **Objetivos particulares:**

Evaluar los indicadores de polimorfismo y variabilidad genética del tiburón azul entre las muestras obtenidas en la zona de pesca de la Península de Baja California.

# Metodología

## Obtención de muestras

Las muestras fueron recolectadas con el apoyo del “Programa de Observadores del Tiburón”, durante las maniobras de pesca y a lo largo de las zonas pesqueras de la Península de Baja California, iniciando los muestreos en julio 2013, desde el Puerto de Ensenada, Baja California y culminando en el Puerto de San Carlos, Baja California Sur en abril 2014.

Durante las actividades de la pesquería se obtuvieron 84 muestras de tejido muscular, entre 1 y 2 cm de largo y 0.5 cm de ancho, en la unión entre la primera aleta Dorsal y el torso antes de la quilla inter-dorsal. La muestra se conservó en un tubo de 2 mL de plástico con etanol absoluto, hasta su procesamiento en laboratorio.

## Extracción de ADN mitocondrial

Para la extracción de ADN se utilizó el método de Fenol-Cloroformo (Brock 1964). La evaluación cualitativa se realizó mediante electroforesis en agarosa al 1.5 % con bromuro de etidio. La electroforesis se corrió a 5 V/cm, visualizando el producto en un transiluminador de luz UV. La evaluación cuantitativa de ADN se efectuó en un espectrofotómetro NanoDrop™ 1000” (Thermo Scientific).

## Amplificación de la Región Control Mitocondrial

Por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa se amplificó la región control del ADNmt, utilizando oligonucleótidos PK6 (Foward) 5'-3': TTGGCTCCCAAAGCCAARATTCTG y K5 (Reverse): 5'-3': CACCGAATCGTTCTYCAGAAC, reportados previamente por Karl y colaboradores (2010). El tamaño del amplicón es de 1067 pares

En cada reacción de 25 µl se empleó de una mezcla que contenía 220 µM de dNTPs, 2 mM Cloruro de Magnesio, 280 µM de cada cebador, 22 mM de solución amortiguadora Tris-HCl pH 8.4, Cloruro de potasio 55 mM, 1.2 unidades de Taq polimerasa y de 45 ng de ADN extraído por cada muestra.

Las condiciones de reacción fueron, desnaturalización inicial de 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos que incluían una desnaturalización de 94 °C por 35 s, después la alineación a 60 °C por 45 s, y finalmente la polimerización a 72 °C por 45 s, posteriormente una extensión final de 10 min a 72 °C. Los productos del PCR fueron evaluados mediante electroforesis a 5 V/ cm, con agarosa al 2% con Bromuro de Etidio.

### Secuenciación:

Para las reacciones de secuenciación se prepararon 80-100 ng del producto de PCR, con 6.4 picomoles del cebador PK6, y se envió a SeqXcel Inc. en San Diego, California<sup>2</sup>. Dicha compañía emplea nucleótidos terminadores de secuencia BigDye® Terminador v3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems y un secuenciador automático DNA ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer de tecnología capilar. Los cromatogramas generados por el secuenciador se almacenaron en formato electrónico hasta su procesamiento.

### Análisis de secuencias

Los cromatogramas fueron alineados y editados utilizando los programas ChromasPro v 1.76<sup>3</sup>, y CodonCode Aligner v. 5.1.5 (Richterich, 1998) y revisados manualmente durante el proceso. Una vez alineadas las secuencias se revisaron las incongruencias, se eliminaron las ambigüedades y las regiones extremos con la ayuda del programa MEGA 6 (Tamura et al. 2013).

Con el programa “MEGA 6” se alinearon las secuencias homologas, se identificaron los sitios variables y se definieron los haplotipos y los descriptores de las secuencias. Posteriormente se calcularon los índices de diversidad molecular a nivel haplotipo y diversidad nucleotídica.

---

<sup>2</sup> SeqXcel, Inc. 11526 Sorrento Valley Road, Suite B2, San Diego, CA 92121

<sup>3</sup> Technelysium Pty, Ltd

Una red de mínima dispersión (“minimum spanning network”) fueron desarrollados con base en los resultados de análisis con el programa “Arlequin” (Excoffier et al., 2005).

Posteriormente se obtuvieron secuencias homologas reportadas en el banco de genes (Gene Bank) de tiburón azul y de especies filogenéticamente relacionadas, con las que se efectuó la alineación para construir un modelo de árbol filogenético y una red de mínima dispersión (“minimum spanning network”).

## Resultados

### Obtención de muestras

Con el apoyo del “Programa de Observadores del Tiburón” fueron obtenidas las muestras durante las actividades de pesca, en embarcaciones de mediana altura, a lo largo de la costa Pacífico de la Península de Baja California. De cada organismo se registraron los datos biométricos, la ubicación geográfica del sitio de recolecta y en general se determinó el sexo (Anexo 2). Las localidades de recolecta se ubicaron en principalmente en la zona del Golfo de Ulloa, y con tres muestras obtenidas frente de la zona de Bahía Concepción (Figura 3).

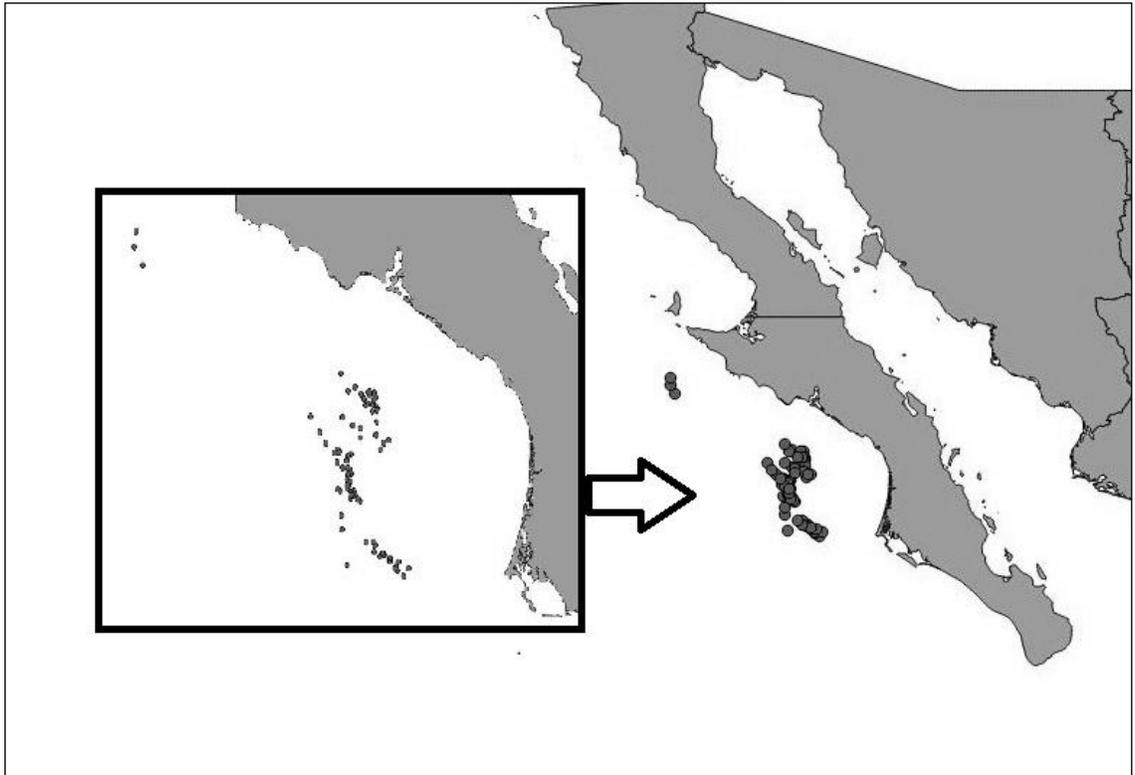


Figura 3: Distribución de los sitios de recolecta, entre agosto 2013 y abril de 2014. La zona principal para la pesquería es aledaña al Golfo de Ulloa.

Las muestras fueron recolectadas en diversos viajes de pesca. El primer viaje con puerto de inicio desde Ensenada en Baja California y destino final al muelle de San Carlos en Baja California Sur. Posteriormente los viajes se concentraron en la zona del Golfo de Ulloa, con salida y regreso de pesca en el muelle de San Carlos BCS.

### Extracción de ADN mt

En la secuenciación se logró obtener, amplificar y secuenciar la región control de 64 organismos pescados frente a las costas de Baja California Sur. Durante la edición y alineación de las secuencias, fueron identificadas series repetitivas de timinas entre las bases 554 y 600, a partir de las que se perdía legibilidad en las lecturas, por lo que se utilizaron para los análisis fragmentos de 553 pb.

### Secuencias de las muestras

En las 84 muestras procesadas se identificaron 529 sitios conservados y 24 sitios variables, con 11 sitios informativos y 13 sitios únicos (“singlenton”) (Tabla 2).

Tabla 2. Sitios variables identificados para cada haplotipo.

Sitio Variable	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Locus	13	14	15	16	20	26	40	52	96	121	166	179	214	216	250	259	283	294	296	324	336	449	450	551	
	A	C	T	A	A	T	T	G	C	G	C	C	G	A	T	G	A	A	T	T	C	A	A	T	
hap01	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	
hap02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-
hap03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-
hap04	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-
hap05	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hap06	-	-	C	-	-	-	-	-	-	A	G	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	T	-	-	-
hap07	-	-	C	-	-	-	-	-	-	A	G	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-
hap08	-	-	C	-	T	C	-	-	-	A	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hap09	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	G	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hap10	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	T	T	-	-
hap11	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-
hap12	-	-	C	-	-	-	-	-	T	A	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hap13	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-
hap14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-
hap15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	T	-
hap16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	G	-	A	-	-	-	-
hap17	-	-	C	-	-	C	-	-	-	A	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hap18	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	T	-	-	-
hap19	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	G
hap20	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	G
hap21	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-
hap22	-	-	-	-	-	-	-	T	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	T	-	-	-
hap23	-	G	C	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-
hap24	-	G	C	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-
hap25	C	A	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	A	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-

En general para los sitios variables solo se encontraron dos alelos, con excepción del sitio 2 con tres alelos (Tabla 3). Los cambios observados incluyeron 11 transiciones y 14 transversiones.

Tabla 3. Numero de alelos y heterocigosis esperada para los haplotipos,

	Número de alelos	Heterocigosis esperada
sitio01	2.0000	0.0238
sitio02	3.0000	0.0703
sitio03	2.0000	0.2123
sitio04	2.0000	0.0471
sitio05	2.0000	0.0471
sitio06	2.0000	0.0697
sitio07	2.0000	0.0238
sitio08	2.0000	0.0238
sitio09	2.0000	0.5060
sitio10	2.0000	0.1936
sitio11	2.0000	0.5057
sitio12	2.0000	0.0238
sitio13	2.0000	0.0471
sitio14	2.0000	0.0238
sitio15	2.0000	0.0471
sitio16	2.0000	0.0238
sitio17	2.0000	0.0238
sitio18	2.0000	0.0238
sitio19	2.0000	0.1546
sitio20	2.0000	0.4877
sitio21	2.0000	0.5060
sitio22	2.0000	0.0471
sitio23	2.0000	0.0238
sitio24	2.0000	0.0471
Promedio	2.0420	0.1334
Desviación estandar	0.2040	0.1761

Se identificaron 25 haplotipos en las 84 secuencias, , en donde el hap1 y hap2 fueron los más frecuentes, con 53.6% de los organismos (Tabla 4).

Tabla 4. Frecuencias de los haplotipos.

<b>Haplotipo</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
hap01	24	0.286
hap02	21	0.250
hap03	5	0.059
hap04	5	0.059
hap05	3	0.036
hap06	2	0.024
hap07	2	0.024
hap08	2	0.024
hap09	2	0.024
hap10	2	0.024
hap11	2	0.024
hap12	1	0.012
hap13	1	0.012
hap14	1	0.012
hap15	1	0.012
hap16	1	0.012
hap17	1	0.012
hap18	1	0.012
hap19	1	0.012
hap20	1	0.012
hap21	1	0.012
hap22	1	0.012
hap23	1	0.012
hap24	1	0.012
hap25	1	0.012

En las secuencias procesadas se identificaron 553 bases en los fragmentos homólogos, cuya composición de bases por haplotipo resalta la mayor proporción de adenina- timina, que representan en promedio 72.5 % de las bases (Tabla 5).

Tabla 5. Proporción de bases en los haplotipos.

	T(U)	A	C	G	Total
hap01	39	34	18	10	553
hap02	38	34	18	10	553
hap03	39	34	18	10	553
hap04	39	34	18	10	553
hap05	39	34	18	10	553
hap06	38	34	18	10	553
hap07	38	34	18	10	553
hap08	38	34	18	10	553
hap09	38	34	18	10	553
hap10	39	34	18	10	553
hap11	39	34	18	10	553
hap12	39	34	18	10	553
hap13	39	34	18	10	553
hap14	39	34	18	9	553
hap15	39	34	18	10	553
hap16	38	34	18	10	553
hap17	38	34	18	10	553
hap18	39	34	18	9	553
hap19	39	34	18	10	553
hap20	38	34	18	10	553
hap21	39	34	18	10	553
hap22	39	34	18	9	553
hap23	38	34	18	10	553
hap24	39	34	18	10	553
hap25	38	34	18	10	553
promedio	39	34	18	10	553

## Estructura genética

El modelo de sustitución nucleotídica con el mejor ajuste obtenido con el programa MEGA fue el de Tamura 3 parámetros, con ajuste gama de 0.05. Con base en dicho modelo se calcularon las distancias genéticas pareadas entre los haplotipos, las mayores diferencias se encuentran entre el hap08, con los haplotipos 10 y 22 (hap10 y hap22), con un valor de 0.0167 (Tabla 6). La diversidad evolutiva media para la población se estimó con un valor de 0.0087, con base en el número promedio de sustituciones de bases por sitio para toda la población. La diversidad haplotípica se estimó en 0.8525 con una desviación estándar de 0.0269, en tanto que la diversidad nucleotídica en 0.1334, con una desviación estándar de 0.0771.

Tabla 6. Estimación de las distancias genéticas entre los haplotipos.

	hap 01	hap 02	hap 03	hap 04	hap 05	hap 06	hap 07	hap 08	hap 09	hap 10	hap 11	hap 12	hap 13	hap 14	hap 15	hap 16	hap 17	hap 18	hap 19	hap 20	hap 21	hap 22	hap 23	hap 24		
hap 02	0.00																									
hap 03	7	0.00																								
hap 04	2	5	0.00																							
hap 05	5	2	7	0.00																						
hap 06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00																					
hap 07	2	9	4	7	0.00	0.00																				
hap 08	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00																			
hap 09	1	7	9	9	9	0.00	0.00																			
hap 10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00																		
hap 11	9	5	7	7	1	2	0.00	0.00																		
hap 12	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00																	
hap 13	3	9	1	1	5	5	4	0.01	0.00																	
hap 14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01																
hap 15	9	2	7	4	1	9	7	1	9	7	0.01															
hap 16	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01														
hap 17	4	1	5	9	2	1	3	7	3	0.00	0.00	0.00	0.01													
hap 18	2	9	4	7	4	3	1	5	1	5	1	5	0.01	0.00												
hap 19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01											
hap 20	7	7	9	5	9	4	2	5	9	1	9	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01										
hap 21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01									
hap 22	4	7	2	9	5	1	9	3	9	7	5	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00								
hap 23	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01							
hap 24	5	9	4	1	7	9	7	1	1	9	7	9	5	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01						
hap 18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
hap 18	2	9	4	7	4	3	1	5	1	5	4	9	5	7	1	1	3									



Para la reconstrucción de la filogenia entre los haplotipos, con el método de máxima verosimilitud, realizando remuestreos por “Bootstrap”, con 10,000 interacciones, con el modelo de Tamura 3 parámetros y la distribución Gama, con intercambio con el vecino más cercano, así como con el filtro de intercambio de rama, se construyó un dendrograma no enraizado (Figura 4). Para la búsqueda heurística se obtuvieron de forma automática mediante la aplicación de los algoritmos Neighbor-Unir y BIONJ, a una matriz de distancias por parejas, utilizando el método de máxima probabilidad compuesta (MCL).

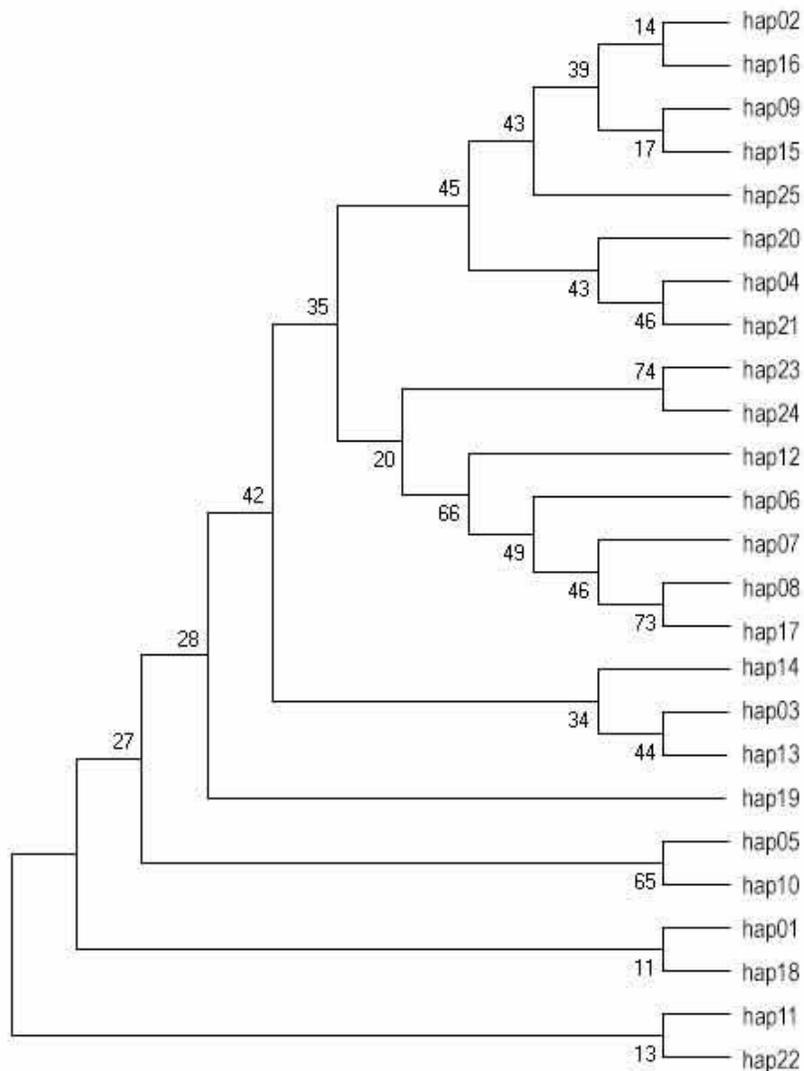


Figura 4. Dendrograma no enraizado que muestra las relaciones entre los haplotipos de *P. gaulca*. La reconstrucción se realizó por el método de máxima verosimilitud y se presenta la gráfica resultante del “Bootstrap”,

La red de haplotipos o árbol de expansión mínimo (“minimum spanning tree”), muestra la presencia dominante de dos de ellos son enlazados con líneas continuas la relación que guardan (Figura 5).

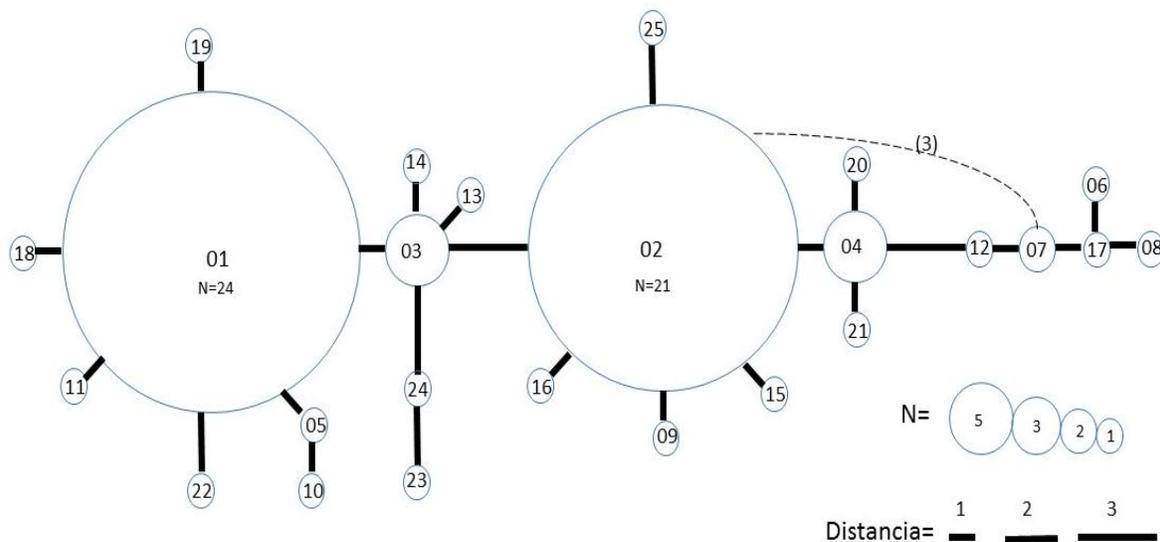


Figura 5. Red de mínima dispersión (minimum spanning tree) para los linajes mitocondriales de *P. glauca*, en donde 01 a 25, representan los haplotipos hap01 a hap25 respectivamente, el círculo es relativamente proporcional a la frecuencia y la línea, la distancia entre los haplotipos. En línea punteada se representa la conexión alternativa entre el haplotipo hap02 y el hap07, con tres pasos indicado entre paréntesis.

La estructura poblacional no fue posible estimarla considerando que el muestreo no fue aleatorio, sino que siguió la ruta de la pesquería, en donde se obtuvo una mayor muestra de organismos en el Golfo de Ulloa y solo tres muestras fuera de dicha área.

## Relación entre haplotipos y grupos externos

Los haplotipos identificados se contrastaron con secuencias homologas depositadas en el Gene Bank, tanto de *P. glauca*, como de otros carcarínidos. Como es de esperarse, destaca la similitud de la secuencia promedio de las muestras (hap01 al hap25), y con solo la inserción de una base respecto al hap02. Por otro lado, es notable diferencia con las secuencias de los otros carcarinidos, resultado de varias inserciones/delecciones de secuencias cortas de 2 a 9 bases, cada una.

Tabla 7. Proporción de bases en un fragmento homólogo de la región control de ADN mitocondrial, comparando varios carcarínidos contra el promedio observado en las muestras del presente estudio).

Registro en el Gene Bank/ especie de carcarínido	T	A	C	G	TOTAL
Promedio de las muestras de <i>P. glauca</i> presente estudio (hap01 al hap25)	39	34	18	10	553
kf356249 <i>Prionace glauca</i>	38	34	18	10	554
hq711308 <i>Carcharhinus brachyurus</i>	37	30	21	11	573
kf801102 <i>Carcharhinus falciformis</i>	36	30	21	13	573
kj865755 <i>Carcharhinus macloti</i>	36	32	21	11	573
km987569 <i>Rhizoprionodon porosus</i>	36	30	22	12	566
kp091436 <i>Carcharhinus tjtjtjot</i>	37	31	20	12	573
kt160321 <i>Carcharhinus longimanus</i>	37	30	22	12	573
kt698041 <i>Glyphis</i> sp.	37	31	21	12	573
Promedio global del fragmento homologo	38	33	19	10	557

En la comparación por otro lado, se identifica una la mayor cantidad de timinas y adeninas, lo que da como resultado en la alineación de las secuencias homologas un total de hasta 573 bases, contra las 553 bases homologasobtenidas entre los hap01 al hap25.

El modelo de sustitución para los nucleótidos variables con el criterio de información bayesiano resulto nuevamente el de Tamura 3 parámetros. Considerando lo anterior se realizó la reconstrucción de la filogenia entre los haplotipos. El método de máxima verosimilitud se aplicó, realizando remuestreos por “Bootstrap”, con 1,000 interacciones, utilizando el modelo de Tamura 3

parámetros y la distribución Gama 0.05, con intercambio con el vecino más cercano, así como con el filtro de intercambio de rama (Figura 6).

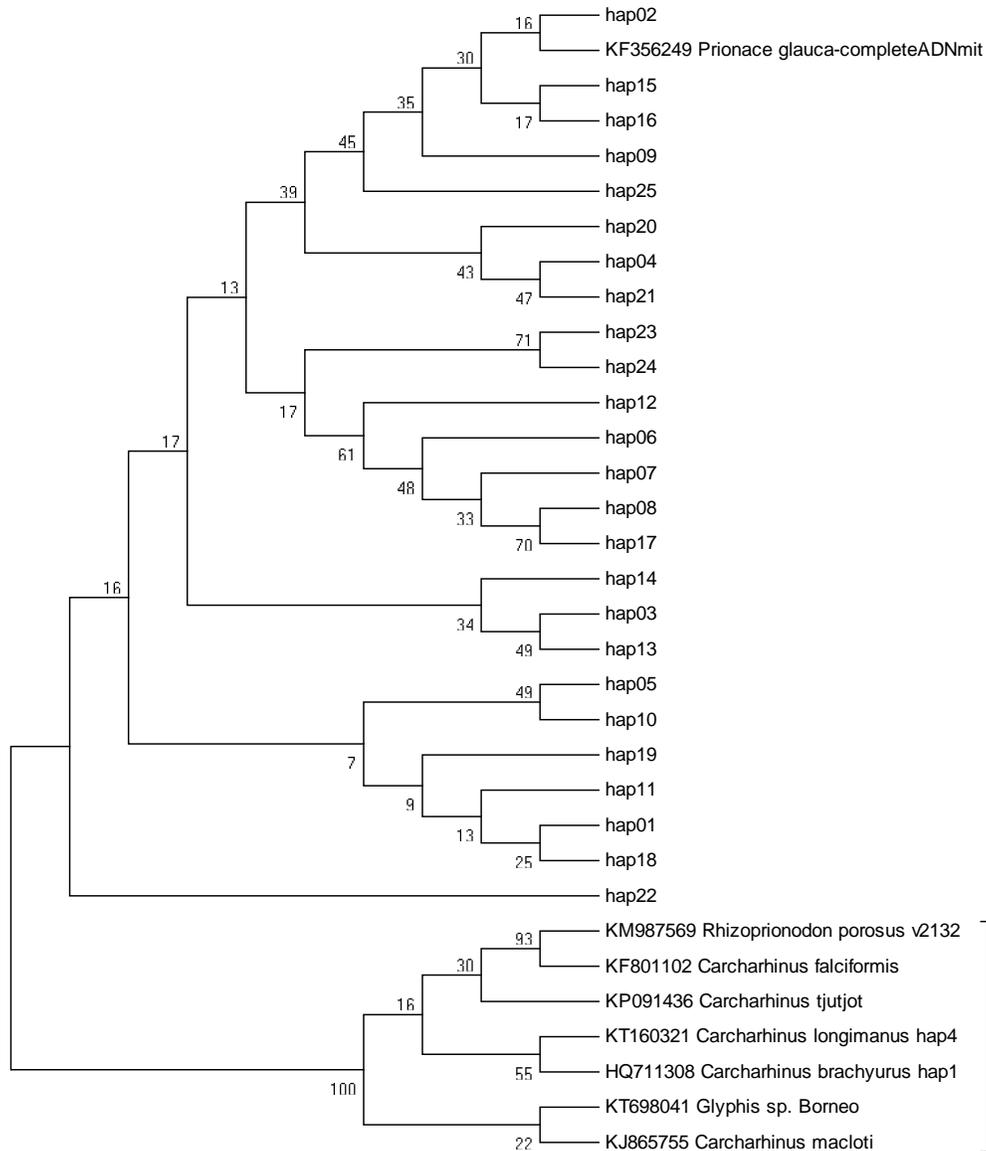


Figura 6. El análisis filogenético molecular por el método de máxima verosimilitud, en donde se muestra el árbol enraizado, en consenso por bootstrap, obtenido con 1,000 repeticiones. En la gráfica se indican los haplotipos de las muestras (hap01 al hap25), así como los fragmentos homólogos obtenidos del Gene Bank con su registro.

La red de distancias mínimas entre haplotipos (“minimum spanning tree”), cuando se compara con los registros del Gene Bank, se mantiene la estructura del

árbol dentro de muestras procesadas (hap01 al hap25), así mismo con un paso de distancia respecto al hap02 se encuentra el fragmento homólogo del registroKF356249 de *P. glauca*. El resto de fragmentos homologos de carcarinidos se ubican a una gran distancia del correspondiente a la especie, con 172 pasos del hap09 hacia el de KJ865755 *Carcharhinus macloti*, y de este 21 hacia KP091436 *Carcharhinus tjtutjot*, el resto de las especies se unen a esta última en tres grupos hacia los registros KF801102 *Carcharhinus falciformis* (16), KT160321 *Carcharhinus longimanus* (17) y KT698041 *Glyphis* sp. (26) (Figura 7).

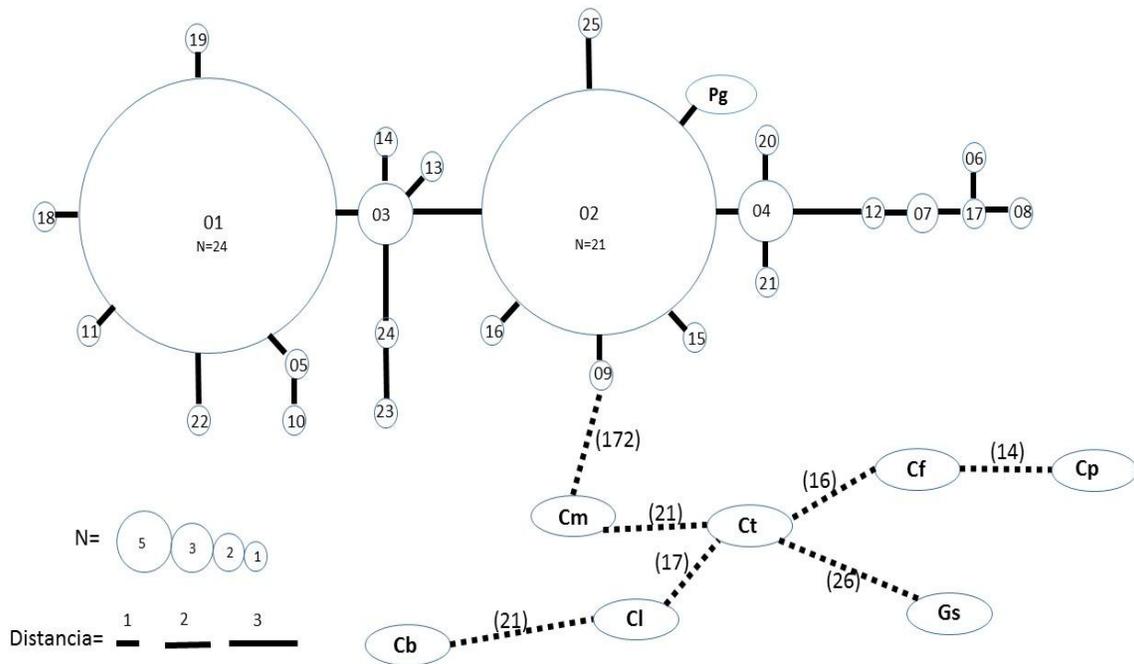


Figura 7. Red de distancias mínimas (“minimum spanning tree”), en donde 01 a 25, representan los haplotipos hap01 a hap25, el círculo es relativamente proporcional a la frecuencia y la línea, la distancia entre los haplotipos. En línea punteada se representa la conexión alternativa entre el haplotipo hap02 y el hap07, con tres pasos indicado entre paréntesis.

## Comparación con estudios similares

De los estudios realizados a *P. glauca*, resalta el de Ovenden y colaboradores (2009), del cual en el Gene Bank está depositada solo una

secuencia de 373 bases de la región control, del haplotipo PG01, con número de acceso FJ161689.1. En la publicación original brinda información de la posición de los sitios variables, la cual permite reconstruir la secuencia de 15 haplotipos adicionales (Tabla 8).

Tabla 8. Sitios variables reportados por Ovenden y colaboradores (2009), para el indo pacífico, en áreas aledañas a Australia

Haplotipo	Sitio variable											
	27	52	86	97	145	181	190	227	2228	242	255	267
PG01	C	G	A	C	G	T	G	C	T	G	T	T
PG02	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
PG03	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
PG04	.	.	.	.	.	C	.	T	.	.	.	.
PG05	T	.	.	G	.	.	.	T	.	.	A	C
PG06	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	A	C
PG07	.	A	.	G	.	.	.	T	.	.	.	C
PG08	T	.	.	.	.	C	.	T	C	.	.	.
PG09	T	A	.	.	.	C	A	T	.	.	.	.
PG10	T	A	.	.	A	.	.	T	.	.	.	.
PG11	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	A	.
PG12	.	A	G	G	.	.	.	T	.	.	A	C
PG13	T	.	.	G	.	.	.	T	.	A	A	C
PG14	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	.	C
PG15	.	C	.	.	.	.	.	T	.	.	A	C
PG16	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Buscando obtener una comparación completa se recortaron las secuencias de los haplotipos del presente estudio (hap01 al hap25) al tamaño de fragmento descrito por Ovenden y colaboradores. Con el recorte se perdieron sitios informativos, disminuyendo el número de haplotipos descritos. En total se reconocen de esta forma 32 haplotipos, de los cuales 16 son exclusivos para la península de Baja California y 16 son compartidos, en donde estos últimos son las más comunes (Tabla 9).

Tabla 9. Comparación de haplotipos del presente estudio (hap01 al hap25) con lo reportado por Ovenden y Colaboradores en 2009 (PG01 al PG15), en un fragmento de 373 bases.

	Etiqueta original	Correspondencia con Ovenden 2009	Sitios variables
1	PG01		CGACCGATGAACTGTT
2	PG02		.....T....
3	hap03, hap13, hap24	PG02	.....T....
4	PG15		.....T..AC
5	hap23	PG15	.....T..AC
6	PG04		.....C...T....
7	PG14		...G.....T...C
8	PG06		...G.....T..AC
9	Hap02, hap15, hap25	PG06	...G.....T..AC
10	hap16	PG17	...G.....GT..AC
11	Hap09	PG18	...G.A.....T..AC
12	hap14	PG19	.A....T....T....
13	hap06	PG20	.A.G.....C
14	PG07		.A.G.....T...C
15	hap07, hap08, hap17	PG07	.A.G.....T...C
16	PG12		.AGG.....T..AC
17	hap05, hap10	PG21	T.....
18	PG03		T.....T....
19	hap01, hap19	PG03	T.....T....
20	PG11		T.....T..A.
21	hap22	PG22	T.....T.T....
22	hap18	PG23	T.....A..T....
23	hap11	PG24	T.....C...T....
24	PG08		T.....C...TC...
25	PG05		T..G.....T..AC
26	hap04, hap20	PG05	T..G.....T..AC
27	PG13		T..G.....T.AAC
28	hap21	PG25	T..GG.....T..AC
29	PG09		TA.....CA..T....
30	PG10		TA...A.....T....
31	hap12	PG26	TA.G.....T...C
32	PG16		TC.....T....

Al comparar la diversidad con el fragmento de 373 bases, se observan valores similares en la diversidad de haplotipos, aunque en la de nucleótidos es

ligeramente menor. Estos valores se presentan con muestreos con tamaños diferentes entre las localidades, siendo mayor (84) en el presente estudio. Esto podría haber influido en la mayor cantidad de haplotipos y de sitios polimórficos (Tabla 10).

Tabla 10. Comparación de valores de diversidad en del presente estudio (hap01 al hap25) con lo reportado por Ovenden y Colaboradores en 2009 (PG01 al PG15), en un fragmento de 373 bases.

	<b>Ovenden y colaboradores (2009)</b>				<b>Presente estudio</b>
	<b>Indonesia</b>	<b>Pacífico Sudoccidental</b>	<b>Oeste de Australia</b>	<b>Este de Australia</b>	<b>Pacífico Nororiental</b>
<b>Tamaño de muestra</b>	19	20	4	17	84
<b>Número de haplotipos</b>	8	9	4	9	16
<b>Número de sitios polimórficos</b>	8	8	6	9	13
<b>Diversidad de nucleótidos por localidad (dentro de las poblaciones %)</b>	0.740 ± 0.468	0.742 ± 0.458	0.878 ± 0.677	0.778 ± 0.481	0.688 ± 0.410
<b>Diversidad de haplotipos por localidad (dentro de las poblaciones)</b>	0.894 ± 0.037	0.895 ± 0.040	1.000 ± 0.177	0.890 ± 0.054	0.824 ± 0.026

En el filograma se agrupan en un solo clado todas las muestras de *P. glauca*, tanto del Pacífico Bajacaliforniano, con las del indopacífico (Ovenden op cit) y la reportada de China (Chen et al., 2013). En un clado independiente se agrupan el resto de carcarinidos (Fig. 8).

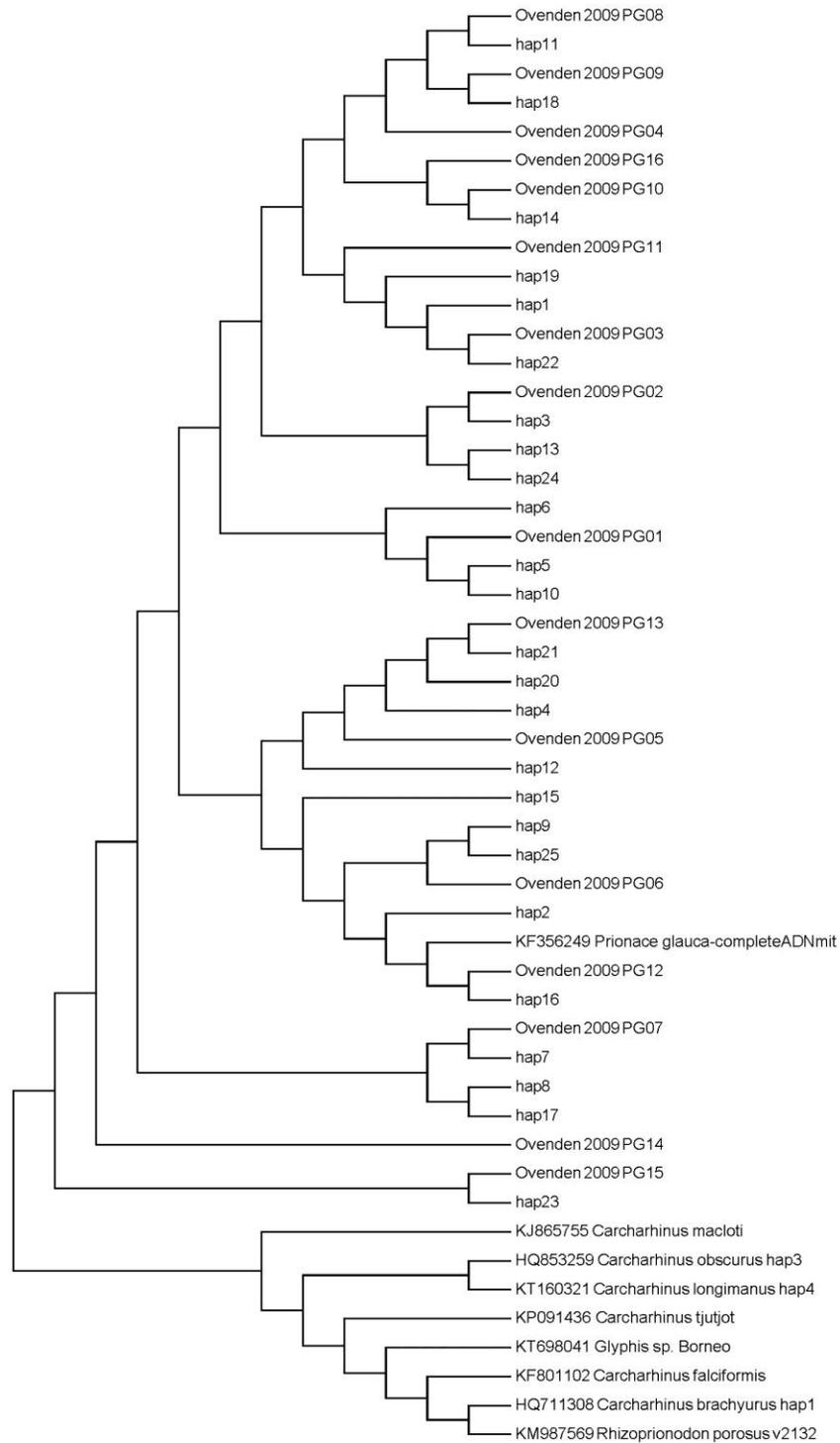


Figura 8. El análisis filogenético molecular para el fragmento de 373 bases, por el método de máxima verosimilitud, en consenso por bootstrap, obtenido con 1,000 repeticiones. En la gráfica se indican los haplotipos de las muestras de Pacífico Bajacaliforniano (hap01 al hap25), contrastadas con el indico (PG01 a

PG15) (Ovenden et al., 2009), así como los fragmentos homólogos obtenidos del Gene Bank con su registro.

## Discusión:

### Muestreo

El muestreo se realizó con apoyo del “Programa de Observadores de Tiburón”, durante las actividades de pesca, en embarcaciones de mediana altura, para las costas del Pacífico de la Península de Baja California. Durante el periodo de estudio, las faenas se realizaron en la costa del Pacífico de Baja California Sur, principalmente en el Golfo de Ulloa (Figura 9), el cual es reconocido por la productividad (Ramirez- Rodríguez et al., 2010).

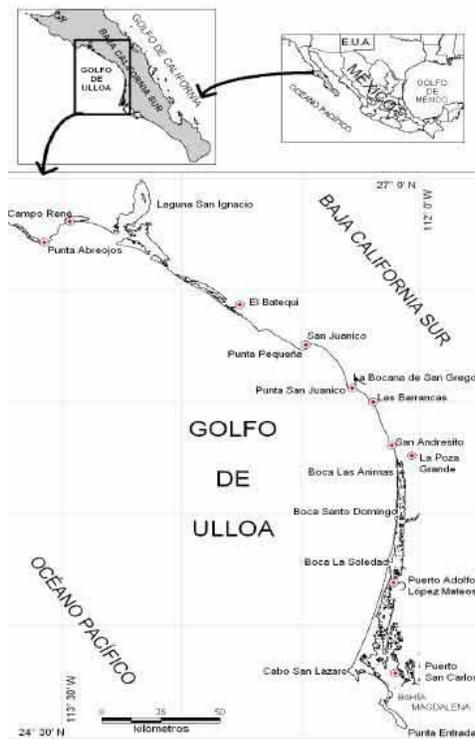


Figura 9: Localización del Golfo de Ulloa (GU) en la costa occidental de Baja California Sur. Tomado de Valdez-Leyva, 2012.

Durante el periodo de estudio se reportó una alta producción primaria, entre agosto de 2013 y hasta abril de 2014. Considerando lo anterior es de esperarse una notable actividad de tiburones y en consecuencia una alta actividad pesquera en la región. Como resultado solo se obtuvieron muestras en dicha zona.

En este sentido el presente estudio representa la variabilidad de los tiburones azules que fueron pescados durante la temporada 2013 a 2014, asimismo constituye el primer estudio con el uso de los marcadores moleculares para caracterizar a la especie capturada en costas mexicanas, de la costa pacífico de la península de Baja California, particularmente del estado de Baja California Sur y constituye la primera aportación de los indicadores del polimorfismo y de su variabilidad genética.

### Relación dentro de la especie

De acuerdo a lo reportado en el GeneBank por Chen y colaboradores (2013), la región control de *P. glauca* contiene 1067 pb y presenta una mayor proporción de adeninas y timinas, lo cual fue corroborado en los 25 haplotipos reconocidos, en donde en promedio se tiene 73% de estas bases, contra un 27 % de citosinas y guaninas.

Los estudios realizados en la especie con el fragmento son escasos, restringiéndose a un trabajo relacionado con la estructura entre las guarderías en el atlántico, en tres regiones Portugal, Las Azores y Sudáfrica (Sampaio, 2013), la evaluación de la estructura poblacional en los alrededores de Australia (Ovenden et al., 2009) y la identificación de las poblaciones en el Pacífico sur oriental (González et al., 2012), como previamente se indicó, las secuencias en esos estudios no se encuentran depositadas en el Gene Bank. Las excepciones son el genoma mitocondrial completo (Chen et al., 2013) así como de un fragmento reportado por Oven y colaboradores de 373 pb, a partir de la cual se reconstruyeron los haplotipos que estudiaron.

Con respecto a la secuencia de Chen y colaboradores (2013), solo existe una diferencia con el hap02, por la inserción de adenina. Al comparar el fragmento reportado por Ovenden en el Gene Bank, con la secuencia homóloga, en 373 pb solo hay el cambio de una base respecto al hap03, consistente en una transición

de una citosina por una timina, además 16 haplotipos fueron compartidos con el presente estudio. Los 16 que fueron únicos para la costa Pacífico de Baja California Sur, presentan diferencias por el cambio de una o dos bases, respecto a los que son compartidos.

La gran similitud en las secuencias, así como la presencia de los principales haplotipos en el pacífico noreste (presente estudio) y suroeste (Ovenden et al, op cit), puede interpretarse como reflejo los hábitos migratorios en la especie, una gran capacidad de dispersión y las estrechas relaciones genealógicas y filogenéticas entre los organismos.

El gran número de haplotipos con baja frecuencia podría interpretarse en términos de la presencia de un gran tamaño de las poblaciones o metapoblaciones. Por otro lado, probablemente impliquen la presencia de marcadores moleculares exclusivos para cada región, tal como lo reporta Sampaio (2013) quien asocia algunos haplotipos a las zonas de crianza o las regiones de estudio. Un aspecto adicional a considerar, es que la baja frecuencia de algunos haplotipos pueda ser producto de tamaños de muestras reducidos y que en consecuencia no reflejen la amplia diversidad de la especie.

El número de haplotipos encontrados entre los diferentes estudios es variable (Tabla 11). Recortando el tamaño de las secuencias del presente estudio a 373 las bases homologas del trabajo de Ovenden y colaboradores, muestra una reducción a 16 en los haplotipos del pacífico bajacaliforniano, lo cual se asocia a la eliminación de sitios polimórficos en las secuencias del presente estudio. Por otro, quedan 9 únicos para la región, en apoyo a la presencia de secuencias privadas para la región, sin embargo, se requiere ampliar el muestreo para confirmar o rechazar esta suposición.

Tabla 11. Comparación de valores de diversidad en del presente estudio con lo reportado por Sampaio (2013) y por Ovenden y colaboradores (2009)

Autor	Sampaio, 2013	Ovenden et al., 2009	González et al., 2012	Presente estudio
Área de estudio	España, I. Canarias y África	Australia, Indonesia	Pacífico, Costas de América del Sur	Costa Pacífico, de Baja California Sur
Número de muestras	135	60	¿?	84
Tamaño de Fragmento	426	373	1100	553
Número de haplotipos	22	16	¿?	25
Número de sitios polimórficos	12	12	¿?	24
Diversidad nucleotídica	0.77 a 0.91	0.740 a 0.878	¿?	0.8525

Los indicadores de la diversidad nucleotídica muestran valores muy similares entre lo reportado para otras regiones estudiadas, respecto a la costa pacífica de Baja California Sur. Por ejemplo, Sampaio (2013) indica valores desde 0.77 hasta 0.91 y Ovenden con sus colaboradores (2009), reportan de 0.740 a 0.878, en tanto en el presente estudio en promedio se tiene 0.8525, lo cual se encuentra dentro de los rangos previamente reportados.

Los dendrogramas de las relaciones entre las muestras del presente estudio, no soporta la separación de subgrupos, formando un clado consistente, y en todo los análisis separa en otro grupo al resto de carcarinidos. Las muestras son representativas solo de las pesquerías realizadas en el periodo 2013- 2014, sin embargo, no representan el área geográfica de la distribución de la especie, por lo que no se cuentan con las evidencias suficientes para concluir la presencia de solo una población o de algún tipo de estructura metapoblacional.

## Relación entre especies

En general se espera similitud entre las secuencias de un grupo taxonómico, de tal forma que dentro de los elasmobranquios carcarínidos, se reportó una notable similitud (Portnoy and Heist, 2012), con excepción de *P. glauca*, que se asoció a la controversial estatus taxonómico del genero monitípico *Prionace*. El análisis comparativo de las muestras con las otras especies confirma la clara separación del género *Prionace*, respecto al grupo de los carcarínidos, lo cual previamente ha sido un tema de debate taxonómico relacionado con la monofilia de la familia (Naylor et al, 2012).

## **Conclusiones:**

El trabajo constituye el primer estudio para caracterizar con marcadores moleculares a los tiburones azules (*P. glauca*), capturados en las pesquerías de la costa pacífico de la península de Baja California, particularmente del estado de Baja California Sur y constituye la primera aportación de los indicadores del polimorfismo y de su variabilidad genética.

De los haplotipos identificados, los de mayor frecuencia son homologos a los reportados en el GeneBank así como en otros estudios, lo que se relaciona con la gran capacidad migratoria de la especie.

Ente los haplotipos de menor frecuencia, fueron identificados algunos que podrían ser característicos de la región de estudio.

La variabilidad genética nucleotídica se encuentra en el rango de lo reportado para las costas del Atlántico, Índico y Pacífico sudoeste. Asimismo, en la región control del ADN mitocondrial se identificaron en forma consistentes polimorfismos, los cuales son coincidentes con sitios variables previamente reportados.

La información analizada no muestra efectos negativos de la pesquería sobre la especie.

## **Bibliografía:**

- Abad, J., Sifuentes, A., Lafon, A., Gutierrez, J., Gonzales, E., 2011. Genetic diversity analysis of two desert bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*) population in Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14 (1 ): 171-178.
- Aires-da-Silva, A. M., J. J. Hoey, V. F. Gallucci. 2008. A historical index of abundance for the blue shark (*Prionace glauca*) in the western North Atlantic. *Fisheries Research* 92: 41–52.
- Avise J. C., Arnold J., Ball R. M. 1987. Intraespecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between populations genetics and systematics, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 489-522.
- Avise, J. 2000. *Phylogeography, the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, EUA.
- Bigelow K. A., Boggs C. H., He X. 1999. Environmental effects on swordfish and blue shark catch rates in the US North Pacific longline fishery. *Fish Oceanogr* 8: 178–198
- Bizzarro, J. J., Smith, W. D., Hueter, R. E. y Villavicencio– Garayzar, C. J. 2009. Activities and catch composition of artisanal elasmobranch fishing sites on the eastern coast of Baja California Sur, México. *Bulletin, Southern California Academy of Sciences*, 108: 137-151.
- Bustamante, C., Bennett, M. B. 2013. Insights into the reproductive biology and fisheries of two commercially exploited species, shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) and blue shark (*Prionace glauca*), in the south-east Pacific Ocean. *Fisheries Research*. 143: 174-183
- Cartamila, D., O. Santana-Morales, M. Escobedo-Olvera, D. Kacev, L. Castillo-Geniz, J. B. Grahama, R. D. Rubine, O. Sosa-Nishizaki. 2011. The artisanal elasmobranch fishery of the Pacific coast of Baja California, Mexico. *Fisheries Research* 108:393–403.
- Carvalho G. R. Hauser, L. 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish.* 4: 326–350.
- Carvalho, F.; Ahrens, R.; Murie, D.; Ponciano, J. M.; Aires-da-Silva, A. 2014. Incorporating specific change points in catchability in fisheries stock assessment models: An alternative approach applied to the blue shark (*Prionace glauca*) stock in the south Atlantic Ocean. *Fisheries Research*. 154: 135-146.
- Casey, J.G., 1985. Transatlantic migrations of the blue shark: a case history of cooperative shark tagging. *Proceedings of the First World Angling Conference at Caped'Adge, France, 12 -18 September 1984*. International Fish Game Association, Dania Beach, Florida, pp. 253e267.

- Castillo-Olguin E., M Uribe-Alcocer, P Díaz-Jaimes 2012. Evaluación de la estructura genética poblacional de *Sphyrna lewini* para la identificación de unidades de conservación en el Pacífico mexicano, *Ciencias Marinas* 38(4): 635–652
- Chen, X., Xiang, D., Ai, W., Shi, X. 2013. Complete mitochondrial genome of the blue shark *Prionace glauca* (Elasmobranchii: Carcharhiniformes). *Mitochondrial DNA*. *Mitochondrial DNA*. 26 (2): 313-314.
- Clarke, S. C., J. E. Magnussen, D. L. Abercrombie, M. K. Mcallister, Mahmood S. Shivji. 2006. Identification of shark species composition and proportion in the Hong Kong shark fin market based on molecular genetics and trade records *Conservation Biology* Volume 20, No. 1, 201–211.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. 2011. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. SAGARPA, Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Compagno, L. J. V. (2008) Pelagic Elasmobranch Diversity, in *Sharks of the Open Ocean: Biology, Fisheries and Conservation* (eds M. D. Camhi, E. K. Pikitch and E. A. Babcock), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.
- Compagno, L. J. V., (1984). *FAO species catalogue 4. sharks of the world: an annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1.* *FAO Fisheries Synopsis* 125, 4(2), pp. 521.
- CONAPESCA 2013. Anuarios estadísticos de acuacultura y pesca 2013. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. Dirección General de Planeación, Programación y Evaluación, Dirección de Evaluación y Programas Estratégicos. 299 pp.
- CONAPESCA-INP, 2004. Plan de acción nacional para el manejo y conservación de tiburones, rayas y especies afines en México. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca e Instituto Nacional de la Pesca, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Mazatlán, México. 80 p.
- Corrigan S., Beheregaray L. B. 2009. A recent shark radiation: molecular phylogeny, biogeography and speciation of wobbegong sharks (family: Orectolobidae). *Mol Phylogenet Evol.* Jul;52(1):205-16.
- Dudgeon, C. L., Blower, D. C., Broderick, D., Giles, J. L., Holmes, B. J., Kashiwagi, T., Kruck, N. C., Morgan, J. A., Tillett, B. J. & Ovenden, J. R. 2012. A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. *J. Fish. Biol.*, 80, 1789-843.
- Excoffier, L., G. Laval, S. Schneider, 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online*. 2005; 1: 47–50.
- FAO. 2010. International Plan of Action-Sharks (available at: [www.fao.org/fishery/ipoa-sharks/npoa/en](http://www.fao.org/fishery/ipoa-sharks/npoa/en)).

- Fitzpatrick, S., Shivji, M. S., Chapman, D. D., & Prodohl, P. 2011. Development and characterization of 10 polymorphic microsatellite loci for the blue shark, *Prionace glauca*, and their cross shark-species amplification. *Conservation Genetics Resources*, 3(3), 523-527.
- Fowler, S. L., R. D. Cavanagh, M. Camhi, G. H. Burgess, G. M. Cailliet, S. V. Fordham, C. A. Simpfendorfer, J. A. Musick, 2005. Status survey, sharks, rays and chimaeras: The status of the chondrichthyan fishes. IUCN – The World Conservation Union. 462 pp.
- González F., P. Barria, F. Ponce. 2012. Identificación molecular y genética de poblaciones de *prionace glauca* en el océano pacífico sur oriental. *Journal of Basic & Applied Genetics. Suppl. Vol XXIII (1): 285.*
- Heist, E. J., J. E. Graves, and J. A. Musick. 1995. Population genetics of the sandbar shark (*Carcharhinus plumbeus*) in the Gulf of Mexico and Mid-Atlantic Bight. *Ibid* 1995:555–562.
- Karl, S. A., Castro, A. L. F., Lopez, J. A., Charvet, P., Burgess, G. H. 2010. Phylogeography and conservation of the bull shark (*Carcharhinus leucas*) inferred from mitochondrial and microsatellite DNA. *Conservation Genetics*, 12, 371-382.
- Keeney, D. B., Heist, E. J. 2006. Worldwide phylogeography of the blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) inferred from mitochondrial DNA reveals isolation of western Atlantic populations coupled with recent Pacific dispersal. *Mol Ecol*, 15, 3669-79.
- Kleiber, P., S. Clarke, K. Bigelow, H. Nakano, M. Mcallister, Y. Takeuchi. 2009. North Pacific blue shark stock assessment. U.S. Dep. Commer., NOAA. Tech. Memo., NOAA-TM-NMFS-PIFSC-17.
- Kohler, N.E. & Turner, P.A. 2001. Shark Tagging: A Review Of Conventional Methods and Studies *Environmental Biology of Fishes* (2001) 60: 191.
- Lack, M. & Sant, G. 2009. Trends in recent shark catch and recent developments in management. Cambridge, UK, TRAFFIC International. 29 pp.
- Lessa, R., F. M. Santana, F. H. Hazin. 2004. Age and growth of the blue shark *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) off northeastern Brazil. *Fisheries Research* 66: 19–30.
- Librado, P., J. Rozas. 2009. DnaSP v5; A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Little, A. G., Loughheed, S. C., Moyes, C. D. 2012. Evolution of mitochondrial-encoded cytochrome oxidase subunits in endothermic fish: The importance of taxon-sampling in codon-based models. *Mol. Phylogenet. Evol.* 63 (3), 679-684.
- Litvinov, F.F. 2006. On the role of dense aggregations of males and juveniles in the functional structure of the range of the blue shark *Prionace glauca* J. *Ichthyol.* 46: 613.

- Liu S-YV, Chan C-LC, Lin O, Hu C-S, Chen CA (2013) DNA Barcoding of Shark Meats Identify Species Composition and CITES-Listed Species from the Markets in Taiwan. PLoS ONE 8(11): e79373.
- Mejuto, J., B. García-Cortés. 2005. Reproductive and reproduction parameters of the blue shark *Prionace glauca*, on the basis of on-board observations at sea in the Atlantic, Indian and Pacific Oceans. Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT, 8(3):951-973. 1
- Montealegre-Quijano, S., C. M. Vooren. 2010. Distribution and abundance of the life stages of the blue shark *Prionace glauca* in the Southwest Atlantic. Fisheries Research 101 (2010) 168–179.
- Morato, T., S. D. Hoylea, V. Allaina, S. J. Nicola, 2010. Seamounts are hotspots of pelagic biodiversity in the open ocean. PNAS. 107 (21): 9707–9711
- Nakano, H. and J. D. Stevens, 2008. The biology and ecology of blue shark, *Prionace glauca*. p. 140-151. In M.D. Canhi, E.K. Pikitch and E.A. Babcock (eds.) Sharks of the open ocean; biology, fisheries and conservation. Blackwell Publishing Ltd.
- Nakano, H., Seki, M. P. 2003. Synopsis of biological data on the blue shark, *Prionace glauca*, Linnaeus. Bull. Fish. Res. Agen. 6:18 -55.
- Nakano, H., Stevens, J., 2008. The biology and ecology of the blue shark *Prionace glauca*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 140-151.
- Naylor, G. J. P., J. N. Caira , K. Jensen , K. A. M. Rosana , W. T. White , P. R. Last. 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, 367:1-262.
- Nicolè, S., E. Negrisolo, G. Eccher, R. Mantovani, T. Patarnello, D. L. Erickson, W. J. Kress, G. Barcaccia.2012. DNA barcoding as a reliable method for the authentication of commercial seafood products. Food Technol. Biotechnol. 50 (4) 387–398.
- Ovenden, J. R., Kashiwagi, T., Broderick, D., Giles, J., Salini, J. 2009. The extent of population genetic subdivision differs among four co-distributed shark species in the Indo-Australian archipelago. B. M. C. Evol Biol, 9, 40.
- Portnoy, D. S., Heist, E. J. 2012. Molecular markers: progress and prospects for understanding reproductive ecology in elasmobranchs. J Fish Biol, 80, 1120-40.
- Queiroz N, Humphries NE, Noble LR, Santos AM, Sims DW (2012) Spatial Dynamics and Expanded Vertical Niche of Blue Sharks in Oceanographic Fronts Reveal Habitat Targets for Conservation. PLoS ONE 7(2): e32374. doi: 10.1371/journal.pone.0032374

- Rocha, M., J. Gasca 2007. Ecología Molecular de la conservación. Capítulo 8. En Eguiarte, L. E., V. Souza, X. Aguirre (eds.) Ecología Molecular. SEMARNAT- INE- UNAM- CONABIO.
- Rural, Pesca y Alimentacion) 2007. NORMA Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, Pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento. DIARIO OFICIAL, México. (Primera Sección) 59/ 101.
- Sampaio da Costa, R. F. 2013. Genetic diversity and population structure of the cosmopolitan blue shark *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) in the Atlantic Ocean. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto em Biodiversidade, Genética e Evolução (Tesis de maestría presentada a Facultad de Ciencias, Universidad de Porto en Biodiversidad, Genética y Evolución).
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2015. PROYECTO de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, Pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento. DOF: 11/02/2015.
- Shang-Yin V. L., Chia-Ling C C., Oceana L., Chieh-Shen H., Chaolun A. C. 2013 DNA Barcoding of Shark Meats Identify Species Composition and CITES-Listed Species from the Markets in Taiwan. Plos one 8 (11): 1- 8.
- Simpfendorfer et al 2002. Simpfendorfer, C. A., R. E. Hueter, U. Bergman, S. M. H. Connett. 2002. Results of a fishery independent survey for pelagic sharks in the western North Atlantic, 1977/1994. Fisheries research 55: 175- 192.
- Sosa-Nishizaki O., E. F.-E., J. A. Reyes-González, J.C. Pérez-Jiménez 2002. Blue shark (*Prionace glauca*) fishery in baja california, mexico: an example of artisanal and middle scale fisheries interaction (Elasmobranch Symposium – Oral). Northwest Atlantic Fisheries Organization Serial No. N4762, NAFO SCR Doc. 02/ 140: 1-6.
- Stevens, J.D. 1990. Further results from a tagging study of pelagic sharks in the north-east Atlantic. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 70: 707–720.
- Taguchi, M. J. R. King, M. Wetklo, R. E. Withler, K. Yokawa 2014. Population genetic structure and demographic history of Pacific blue sharks (*Prionace glauca*) inferred from mitochondrial DNA analysis. Marine and Freshwater Research. Marine and Freshwater Research 66, 267–275.
- Taguchi, M., Shigenobu, Y., Ohkubo, M., Yanagimoto, T., Sugaya, T., Nakamura, Y., Saitoh, K. and Yokawa, K., 2013. Characterization of 12 polymorphic microsatellite DNA loci in the blue shark, *Prionace glauca*, isolated by next generation sequencing approach Conserv Genet Resour 5, 117-119.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013) MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution.:30 2725-2729.

- Tavares, R., M. Ortiz, F. Arocha. 2012. Population structure, distribution and relative abundance of the blue shark (*Prionace glauca*) in the Caribbean Sea and adjacent waters of the North Atlantic. *Fisheries Research* 129–130: 137–152.
- Torres-Herrera, M. R.; Tovar-Avila, J. 2014. Variación temporal de la captura de tiburón en las islas y costa central de Nayarit, México, con base en los registros oficiales de desembarque. *Hidrobiológica*, 24 (2): 99-107.
- Valdez-Leyva. 2012. Producción pesquera ribereña por zonas de pesca en la región del Golfo de Ulloa, Baja California Sur, México. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos. La Paz, B.C.S. 87 pp.
- Vandeperre, F.; Aires-da-Silva, A.; Santos, M.; Ferreira, R.; Bolten, Alan B., R. S. Santos, P. Afonso. (2014). Demography and ecology of blue shark (*Prionace glauca*) in the central North Atlantic *Fisheries Research* vol. 153; 89-102.
- Vögler, R., Beier, E., Ortega-García, S., Santana-Hernández, H., Valdez-Flores, J. 2012. Ecological patterns, distribution and population structure of *Prionace glauca* (Chondrichthyes: Carcharhinidae) in the tropical-subtropical transition zone of the north-eastern Pacific. *Marine environmental research*, 73, 37-52.
- Walsh, W. A.; Kleiber, P. 2001. Generalized additive model and regression tree analyses of blue shark (*Prionace glauca*) catch rates by the Hawaii-based commercial longline fishery. *Fisheries Research*. 53(2): 115-131.
- Ward R. D. 2000. Genetics in fisheries management. *Hidrobiologia* 420: 191–201. FAO. 2010. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics. ONU.
- Yokota, K., M. Kiyota, H. Minami. 2006. Shark catch in a pelagic longline fishery: Comparison of circle and tuna hooks. *Fisheries Research* 81 (2006) 337–341.

## **Anexo 1**

### **Protocolos diseñados para el proyecto Tiburón**

Protocolo de Registro de Fotografías de Identificación del Programa de Observadores del Tiburón

#### **Manejo del equipo fotográfico:**

De acuerdo a las indicaciones de equipo en cuestión, tomando sumo cuidado a que este equipo deberá ser devuelto por el observador en las mismas condiciones en que se le ha sido entregado. De haber un malfuncionamiento con tal equipo deberá ser notificado en el menor lapso de tiempo posible.

#### **Registro de tabla fotográfica:**

Durante la captura de datos de los organismos por cada lance donde se capture un organismo, se le deberá registrar no solamente en la bitácora de campo sino también registrar fotográficamente y registrar cada fotografía en la tabla anexa a este protocolo:

Los valores de Número de Crucero, Número de Lance son los mismos valores registrados en la Bitácora de Observador, los datos de Número de Fotografía, Orientación de Fotografía y Especie deberán todos ellos acorde a lo registrado por la cámara y serán sujetos a revisión una vez concluido el Crucero.

Es esencial registrar cada uno de los valores en campo exceptuando el de CLAVE ESPECIE el cual será registrado una vez entregada la bitácora de campo al final de cada Crucero.

### **Tabla Anexa 1:**

Registro de fotografías en el programa de observadores del tiburón

FECHA:

Número Crucero	Número De Lance	Numero De Fotografía	Orientación De La Fotografía	Especie	*Clave Especie

### **Protocolo de obtención de tejido para estudios moleculares:**

El hecho de que existan programas de observadores habla de una necesidad de preservar nuestros recursos bióticos existentes y que actualmente estamos explotando, esto es para preservar de manera adecuada un recurso en uso es necesario saber manejar este recurso y mantener un manejo sustentable de tal recurso. Para el caso de este protocolo nos centraremos en el uso de técnicas moleculares como herramientas adjuntas al manejo del recurso potencial que son las poblaciones de *Sphyrna lewini*, *Prionace glauca*, *Isurus oxyrinchus*.

**Metodología:** Previo a cada lance realizado por crucero el Observador tendrá a buen recaudo un pequeño contenedor plástico que contendrá alcohol al 100%, esto(s) contenedor(es) guardaran el tejido del tiburón que acto seguido será analizado en laboratorio, de ahí la importancia en cuidar el contenedor antes, durante y después de cada lance por crucero.

1. Al momento de realizar la identificación positiva del organismo y que pueda ser maniobrado dentro de los métodos de manejo de tiburones, se le extrae justo de la unión entre la 1ª Aleta Dorsal y el torso antes de la Quilla interdorsal (véase figura 1, círculo negro), un pequeño pedazo de la aleta dorsal, el cual será después colocado en el contenedor de alcohol 100% junto con la correspondiente nomenclatura requerida en la etiqueta de cada contenedor (véase etiqueta anexa 1).

2. Para después una vez concluido el lance y el Crucero, registrando toda la información necesaria, pasar a colocar el tejido envuelto en una gaza bañada en alcohol al 100% en el mismo contenedor junto a la etiqueta, pero sin necesidad de mantener el tejido todo el tiempo hundido en alcohol.
3. Se deberá traer consigo un frasco de residuos etiquetado donde se coloque el alcohol residual después del proceso de envolver el tejido en la gasa con alcohol. Este frasco de residuos al final se deberá de disponer como estipula la ley en el centro de residuos apto para ello.

Al momento de entregar la Bitácora del Observador se deberá entregar (enviar) el total de contenedores con tejido, etiqueta y posibles anotaciones realizadas durante el transcurso de los lances, además también incluir datos correspondientes al paradero u contacto del observador en caso que sea necesario comunicarse y corroborar datos.

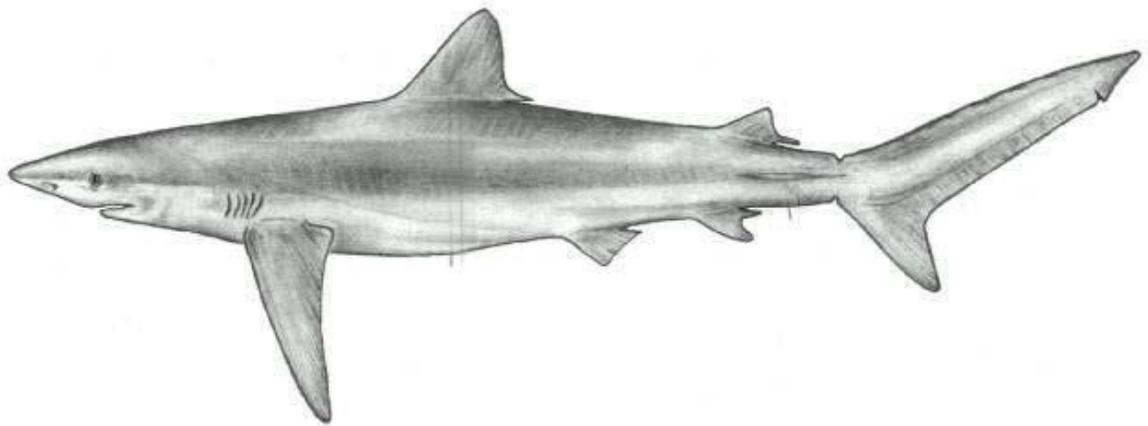


Figura Anexa 1: Forma y apariencia del Tiburón azul, tomado del memorandum técnico NMFS-PIFSC-17 de la NOAA (Dibujo de M. Grace 2009)

Kleiber, P., S. Clarke, K. Bigelow, H. Nakano, M. McAllister, Y. Takeuchi. 2009. North Pacific blue shark stock assessment. U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Memo., NOAA-TM-NMFS-PIFSC-17, 74 p.)

Código: _____ / _____ / _____ Fecha: / / / Coordenadas: Long _____ Lat _____
Colector: _____
Organismo: _____
Anotaciones: _____

Figura Anexa 2. Etiqueta 1: Cada contenedor deberá tener dentro de sí esta etiqueta, con los valores correspondientes a Clave del Crucero + Clave del Lance + Clave Observador como código de identificación, después los datos requeridos que son: -Fecha Organismo, Coordenadas, Colector y Anotaciones.

## **Anexo 2**

Una vez en el laboratorio se inician los procesos de extracción de ADN de cada tejido obtenido durante el periodo de Pesca de Tiburón Julio 2013- Abril 2014

### **Extracción de ADN:**

1. Inicio del tratamiento de la muestra, se colocará parte del tejido obtenido de cada organismo y será procesado de manera individual para extraer ADN de cada organismo.
2. A cada tejido obtenido se le cortara un equivalente a 30 microgramos, los cuales serán tratados con el mayor cuidado posible para evitar posible contaminación de muestras. Una vez obtenidos los 30 microgramos se les procesa con 20 SDS, 200 mL de Solución de Lisis (TRIS, EDTA 30% NaCl) y 7 mL de Proteinasa K, toda esta mezcla se realizará en un tubo Eppendorf de 1.5 ml de volumen, por cada muestra. Estos serán los tubos de "Digestión" del tejido.
3. Se colocarán los tubos con mezcla Digestión dentro de un horno giratorio con una temperatura estable de 56\* C por 14 horas, esta temperatura y tiempo ayudarán a la mezcla de reactivos a preparar la muestra para la extracción de ADN.
4. Una vez transcurrido el tiempo necesario para la digestión, se tomarán los tubos y a cada uno de ellos se les extrae aproximadamente 400 ml del sobrenadante a un tubo Eppendorf nuevo.
5. Aquí se les agregara 200 ml de Fenol estabilizado y 200 ml de Cloroformo, después se mezcla la solución y se centrifuga a 12000 g por 10 minutos
6. Se tomarán de estos tubos después un volumen aproximado de 750 ml y se pasan una vez más en otro tubo nuevo eppendorf, al cual también se agregaron 750 ml de Alcohol Isoamílico 99%, se mezcla la solución y se deja reposar a -70\*C por 10 minutos, después se centrifugaron a 12000 gs por 10 minutos.
7. Una vez terminada la centrifugación se decantará la solución de cada uno de los tubos, aquí se puede apreciar que cada tubo tiene en el fondo una pequeña cantidad de precipitado, es ahí donde se encuentra el ADN requerido para este estudio.
8. Se lava cualquier agregado no necesario al precipitado con Etanol al 70% de cada uno de los tubos eppendorf.
9. Se centrifuga de nuevo los tubos y decantó el Etanol en ellos, se deja secar en ambiente controlado a 65\*C hasta estar seguros todo el Etanol se evapora.

10. Se le agregan 50 ml de T.E. a cada tubo y de esta manera se re-suspendió en solución líquida el ADN.

### Anexo 3

Muestras de todos los tejidos con su fecha de colecta sexo en los casos que ha sido posible contar con ese dato y su código de ID con el que fue almacenado en laboratorio:

<b>RECOLECTA</b>	<b>SEXO</b>	<b>CODIGO ID</b>
04/08/2013	macho	A1
04/08/2013	macho	A2
04/08/2013	macho	A3
04/08/2013	macho	A4
04/08/2013	macho	A5
04/08/2013	macho	A6
04/08/2013	macho	A7
04/08/2013	macho	A8
04/08/2013	macho	A9
06/08/2013	macho	A10
07/08/2013	macho	A12
07/08/2013	macho	B1
08/08/2013	macho	B2
08/08/2013	macho	B3
09/08/2013	macho	B4
09/08/2013	macho	B5
10/08/2013	macho	B6
10/08/2013	macho	B7
10/08/2013	macho	B8
11/08/2013	macho	B9
11/08/2013	macho	B10
11/08/2013	macho	B11
11/08/2013	macho	B12
11/08/2013	macho	C1
12/08/2013	macho	C2
12/08/2013	macho	C3
12/08/2013	macho	C4
13/08/2013	macho	C5
13/08/2013	macho	C6
13/08/2013	macho	C8
14/08/2013	macho	C9
14/08/2013	macho	C10

<b>14/08/2013</b>	macho	C11
<b>14/08/2013</b>	macho	C12
<b>15/08/2013</b>	macho	D1
<b>15/08/2013</b>	macho	D2
<b>16/08/2013</b>	macho	D3
<b>16/08/2013</b>	macho	D4
<b>16/08/2013</b>	macho	D5
<b>26/09/2013</b>	macho	D6
<b>26/09/2013</b>	hembra	D7
<b>26/09/2013</b>	hembra	D8
<b>29/09/2013</b>	macho	D9
<b>29/09/2013</b>	macho	D10
<b>29/09/2013</b>	macho	D11
<b>30/09/2013</b>	hembra	D12
<b>30/09/2013</b>	macho	E1
<b>10/01/2013</b>	hembra	E2
<b>10/01/2013</b>	hembra	E3
<b>10/01/2013</b>	macho	E4
<b>10/02/2013</b>	macho	E5
<b>10/02/2013</b>	hembra	E6
<b>10/02/2013</b>	macho	E7
<b>10/03/2013</b>	macho	E8
<b>10/03/2013</b>	macho	E9
<b>10/04/2013</b>	hembra	E10
<b>10/04/2013</b>	macho	E12
<b>10/04/2013</b>	hembra	F1
<b>20/11/2013</b>	macho	F2
<b>21/11/2013</b>	hembra	F3
<b>21/11/2013</b>	macho	F4
<b>22/11/2013</b>	macho	F5
<b>22/11/2013</b>	hembra	F6
<b>25/11/2013</b>	macho	F7
<b>26/11/2013</b>	hembra	F8
<b>26/11/2013</b>	macho	F9
<b>27/11/2013</b>	macho	F10
<b>27/11/2013</b>	hembra	F11
<b>28/11/2013</b>	macho	F12
<b>28/11/2013</b>	macho	G1
<b>29/11/2013</b>	macho	G2

<b>29/11/2013</b>	macho	G3
<b>12/01/2013</b>	hembra	G4
<b>01/12/2013</b>	macho	G5
<b>02/12/2013</b>	macho	G6
<b>02/12/2013</b>	macho	G7
<b>12/02/2013</b>	NA	G8
<b>12/02/2013</b>	NA	G9
<b>12/02/2013</b>	NA	G10
<b>12/02/2013</b>	NA	G11
<b>12/02/2013</b>	NA	G12
<b>12/02/2013</b>	NA	H1



Tabla 1.- Captura y ganancias registradas para Elasmobranchios Tiburones y Rayas; en el registro histórico de arribos de SAGARPA para la región de la Península de Baja California (CONAPESCA, 2013). .....	11
Tabla 2. Sitios variables identificados para cada haplotipo.....	28
Tabla 3. Numero de alelos y heterocigosis esperada para los haplotipos, .	29
Tabla 4. Frecuencias de los haplotipos.....	30
Tabla 5. Proporción de bases en los haplotipos. ....	31
Tabla 6. Estimación de las distancias genéticas entre los haplotipos.....	33
Tabla 7. Proporción de bases en un fragmento homólogo de la región control de ADN mitocondrial, comparando varios carcarínidos contra el promedio observado en las muestras del presente estudio). .....	37
Tabla 8. Sitios variables reportados por Ovenden y colaboradores (2009), para el indo pacífico, en áreas aledañas a Australia .....	40
Tabla 9. Comparación de haplotipos del presente estudio (hap01 al hap25) con lo reportado por Ovenden y Colaboradores en 2009 (PG01 al PG15), en un fragmento de 373 bases.....	41
Tabla 10. Comparación de valores de diversidad en del presente estudio (hap01 al hap25) con lo reportado por Ovenden y Colaboradores en 2009 (PG01 al PG15), en un fragmento de 373 bases.....	42
Tabla 11. Comparación de valores de diversidad en del presente estudio con lo reportado por Sampaio (2013) y por Ovende y colaboradores (2009).....	48

Figura 1. Morfología externa de <i>Prionace glauca</i> (Tomado de Compagno et al., 2008) .....	15
Figura 2: Distribución mundial del tiburón azul ( <i>Prionace glauca</i> ), dentro del área con líneas verticales. (modificado de Compagno, 2006).....	16
Figura 3: Distribución de los sitios de recolecta, entre agosto 2013 y abril de 2014. La zona principal para la pesquería es aledaña al Golfo de Ulloa.....	26
Figura 4. Dendrograma no enraizado que muestra las relaciones entre los haplotipos de <i>P. gaulca</i> . La reconstrucción se realizó por el método de máxima verosimilitud y se presenta la gráfica resultante del “Boostrap”, .....	35
Figura 5. Red de mínima dispersion (minimum spanning tree) para los linajes mitocondriales de <i>P. glauca</i> , en donde 01 a 25, representan los haplotipos hap01 a hap25 respectivamente, el circulo es relativamente proporcional a la frecuencia y la línea, la distancia entre los haplotipos. En línea punteada se representa la conexión alternativa entre el haplotipo hap02 y el hap07, con tres pasos indicado entre paréntesis.....	36
Figura 6. El análisis filogenético molecular por el método de máxima verosimilitud, en donde se muestra el árbol enraizado, en consenso por bootstrap, obtenido con 1,000 repeticiones. En la gráfica se indican los haplotipos de las muestras (hap01 al hap25), así como los fragmentos homólogos obtenidos del Gene Bank con su registro. ....	38
Figura 7. Red de distancias mínimas (“minimum spanning tree”), en donde 01 a 25, representan los haplotipos hap01 a hap25, el circulo es relativamente proporcional a la frecuencia y la línea, la distancia entre los haplotipos. En línea punteada se representa la conexión alternativa entre el haplotipo hap02 y el hap07, con tres pasos indicado entre paréntesis. ....	39
Figura 8. El análisis filogenético molecular para el fragmento de 373 bases, por el método de máxima verosimilitud, en consenso por bootstrap, obtenido con 1,000 repeticiones. En la gráfica se indican los haplotipos de las muestras de	

Pacífico Bajacaliforniano (hap01 al hap25), contrastadas con el indico (PG01 a PG15) (Ovenden et al., 2009), así como los fragmentos homólogos obtenidos del Gene Bank con su registro..... 43

Figura 9: Localización del Golfo de Ulloa (GU) en la costa occidental de Baja California Sur. Tomado de Valdez-Leyva, 2012..... 45

Figura Anexa 1: Forma y apariencia del Tiburón azul, tomado del memorandun técnico NMFS-PIFSC-17 de la NOAA (Dibujo de M. Grace 2009) .... 59

Figura Anexa 2. Etiqueta 1: Cada contenedor deberá tener dentro de sí esta etiqueta, con los valores correspondientes a Clave del Crucero + Clave del Lance + Clave Observador como código de identificación, después los datos requeridos que son: -Fecha Organismo, Coordenadas, Colector y Anotaciones..... 60