



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

ESTRUCTURA GENÉTICA DEL TIBURÓN BALLENA (*Rhincodon typus*)
A ESCALA GLOBAL (PACÍFICO, ÍNDICO Y ATLÁNTICO)
Y ESTIMACIÓN DE ABUNDANCIA EN ISLA HOLBOX
Y EL GOLFO DE CALIFORNIA

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Biología Marina)

P r e s e n t a

Dení Ramírez Macías

La Paz, Baja California Sur, julio de 2011

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 4 del Mes de Junio del 2011, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Estructura genética del tiburón ballena (*Rhincodon typus*) a escala global (Pacífico, Índico y Atlántico) y estimación de abundancia en Isla Holbox y el Golfo de California"

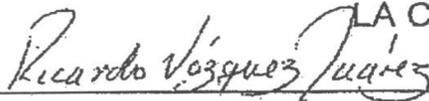
Presentada por el alumno:

Dení Ramírez Macías

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Biología Marina

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA



Dr. Ricardo Vázquez Juárez
DIRECTOR DE TESIS



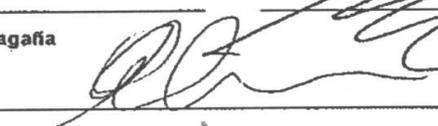
Dr. Francisco Javier García de León
CO-TUTOR



Dr. Felipe Galván Magaña
CO-TUTOR



Dr. Rocky Ward
CO-TUTOR



Dr. Mark Meekan
CO-TUTOR



DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITÉ TUTORIAL Y COMITÉ REVISOR DE TESIS:

Dr. Ricardo Vázquez Juárez- Director de tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S. México.

Dr. Francisco Javier García de León- Co-tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S. México.

Dr. Felipe Galván Magaña- Co-tutor
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz B.C.S. México.

Dr. Mark Meekan- Co-tutor
Australian Institute of Marine Science, Darwin, Australia.

Dr. Rocky Ward- Co-tutor
Texas A&M, Canyon, Texas.

JURADO DE EXÁMEN DE GRADO:

Dr. Ricardo Vázquez Juárez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S. México.

Dr. Francisco Javier García de León
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S. México.

Dr. Felipe Galván Magaña
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz B.C.S. México.

Dr. Pedro Cruz Hernández
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S. México.

Dra. María del Carmen Blázquez Moreno
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S. México.

Suplente:

Dr. Javier Caraveo Patiño
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S. México.

RESUMEN

El tiburón ballena tiene una distribución epipelágica circumtropical. En el 2000 fue declarado como especie vulnerable en la lista roja de la IUCN, debido a evidencias en la disminución de las poblaciones. Es un organismo altamente migratorio, por lo que para un adecuado manejo de la especie, es necesario hacer análisis de las variaciones inter e intra poblacional, para establecer unidades de manejo.

Con el objetivo de evaluar la variabilidad genética a escala global, se aislaron y caracterizaron microsátélites específicos para tiburón ballena y se emplearon para el análisis en individuos de seis localidades: El Golfo de California, Filipinas, Australia, Mozambique, Djibouti e Isla Holbox. 422 tiburones fueron genotipificados usando nueve loci microsatelitales. El número de alelos por varió de 2–26. La heterocigosidad esperada estuvo en el rango de 0.318–0.905. El análisis de varianza molecular reveló una estructura poblacional significativa ($F_{ST}= 0.0238$ $p < 0.001$). Se encontraron diferencias significativas entre todas las localidades con respecto a Isla Holbox ($F_{ST}=0.029 - 0.39$). Estos resultados se confirman con el análisis de asignación de individuos, que mostró que el tiburón ballena a escala global no es una población panmíctica, estando conformados por la población de Isla Holbox y el Indo-Pacífico. A su vez se encontraron diferencias significativas bajas entre Mozambique y Djibouti con el Golfo de California ($F_{ST}=0.010$ y 0.011 , respectivamente, $p < 0.001$), la prueba de aislamiento por distancia indican que estas diferencias se deben a que el flujo genético está relacionado con las distancias geográficas.

De acuerdo a la información genética obtenida en este estudio y a la información bibliográfica, en México existen dos poblacionales de tiburón ballena: Isla Holbox y en el Golfo de California. Donde es necesario, obtener información básica sobre estructura poblacional, abundancia y fidelidad al área. Con el objetivo de estimar la abundancia y estructura poblacional del tiburón ballena en Isla Holbox y el Golfo de California se empleó la técnica de captura-recaptura mediante la foto-identificación, la abundancia se estimó mediante el modelo de Jolly-Seber para poblaciones abiertas.

En Isla Holbox se realizaron salidas de campo durante 2005–2008. Por su parte, en el Golfo de California, se realizaron salidas de campo del 2003-2009 en: Bahía de La Paz, Isla Espíritu Santo, Bahía de Los Ángeles y Banco Gorda. Cada individuo fue foto-identificado, además se determinó el sexo, la talla y se registraron cicatrices.

En Isla Holbox se foto-identificaron 350 tiburones, de estos 65% fueron machos, 27% hembras y 8% de sexo indeterminado. El intervalo de tallas estimado fue de 2.5 a 9.5 m de longitud total (LT). La distribución de tallas fue bimodal con dos clases frecuentes a los 6 m y a los 7 m LT. 47 tiburones fueron recapturados entre-años, el intervalo típico de recapturas fue de 1 año.

En el Golfo de California 252 tiburones fueron foto-identificados, de los cuales 64% fueron machos, 28% fueron hembras y 9% de sexo indeterminado. Las tallas de los tiburones identificados fueron de 2 a 13 m LT. El archivo fotográfico incluye 41 recapturas inter- anuales. El intervalo típico de recapturas fue de 2 años.

La estructura de tallas y sexos en Isla Holbox son similares a las reportadas en otras localidades, siendo en su mayoría machos juveniles (6 m). Mientras que en el Golfo de California existe una segregación latitudinal, acorde a su talla y sexo. Encontrándose los individuos jóvenes (< 8 m), en aguas costeras de la Bahía de la Paz y de Bahía de los Ángeles, siendo la mayoría machos; mientras que los organismos adultos y hembras preñadas (> 9 metros) se distribuyen en aguas oceánicas del Sur del Golfo.

Se observaron movimientos de tiburones ballena juveniles entre Bahía de los Ángeles y Bahía de la Paz, se estimó que aproximadamente el 20% de los juveniles se mueven de un sitio a otro.

Basado en el Modelo de Jolly-Seber para poblaciones abiertas se estimó una abundancia en Isla Holbox de 516–802 tiburones, siendo este sitio la mayor estimada en el mundo. Por su parte, en el Golfo de California se estimó una abundancia de 396–509 tiburones, siendo similar a reportada en otras localidades; mientras que la abundancia en la Bahía de la Paz fue de 136–197, siendo más baja a la reportada en otras localidades con excepción de Maldivas.

La abundancia anual en Isla Holbox varió de 70–105 a 211–260 tiburones ballena por año. En la Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles las agregaciones fueron de pocos individuos (8) hasta 58–72 y 84–110 tiburones respectivamente. Así Isla Holbox representa el sitio de mayor agregación reportado en el mundo, mientras que en las Bahías del Golfo de California hay baja abundancia.

En Isla Holbox Del 20 al 22% de los tiburones ballena son afectados por las embarcaciones. Mientras que en la Bahía de la Paz del 31 al 67% de los tiburones ballena son afectados por las embarcaciones.

Palabras clave: Tiburón ballena · estructura genética poblacional · abundancia y estructura poblacional.

ABSTRACT

The whale shark is epipelagic, with a circumtropical and subtropical distribution. In 2000, the whale shark was listed as vulnerable, based on documented declines in populations. It is highly migratory; to properly manage this shark, it is necessary to assess inter- and intra-population variation so that management units can be realistically and accurately defined.

With the objective to understand the global population structure, DNA microsatellites markers of individuals from six locations were isolated, characterized, and used. Specimens came from the Gulf of California, The Philippines, Western Australia, Mozambique, Djibouti, and Holbox Island. In total, 422 whale sharks were genotyped for nine microsatellites loci. The number of alleles per locus ranged from 2–26. Expected heterozygosity ranged from 0.318–0.905. Analysis of molecular variance revealed significant population structure ($F_{ST} = 0.02383$; $P < 0.001$). The genetic differentiation test indicated significant differences between all localities and Holbox Island ($F_{ST} = 0.029$ – 0.39). These results were confirmed by analysis of the assigned individuals, showing that whale sharks on a global scale do not represent a panmictic population, but structured by two populations: Holbox Island and the Indo-Pacific. Small but significant differences occurred between Mozambique and Djibouti and the Gulf of California ($F_{ST} = 0.010$ and 0.011 , respectively), the isolation by distance analysis showed that differences result from gene flow linked to geographic distances.

According to reference and genetic data from this study, in Mexico, there are two whale shark populations: Holbox Island and the Gulf of California. In these localities, it is necessary to obtain basic information on population structure, abundance, and fidelity to specific sites. To estimate population abundance and structure of whale shark near Isla Holbox and the Gulf of California, mark-recapture methods of photo-identification were used and abundance was estimated by the Jolly-Seber model for open populations.

Field work near Isla Holbox was conducted from 2005 through 2008; in the Gulf of California, field work was conducted from 2003 through 2009 in Bahía de la Paz, Isla Espíritu Santo, Bahía de los Ángeles, and the Gorda Banks. Each individual was photo-identified, sex and size were determined, and the scars were recorded.

At Holbox Island, 350 sharks were photo-identified, of which 65% were male, 27% were female, and 8% could not be determined. Size ranged from 2.5 to 9.5 m total length (TL) in a bimodal pattern at 6 m and 7 m TL; 46 sharks were re-sighted in different years. The interval between re-sightings was typically one year.

In the Gulf of California, 252 whale sharks were photo-identified, of which 62% were male, 29% female, and 9% could not be determined. The size of the sharks ranged from 2 to 13 m TL. The photographic data provided 41 inter-annual re-sightings; the interval between re-sightings was typically two years.

At Holbox Island, the size and sex structure were similar to those reported at other localities, mainly juvenile males (6 m). In the Gulf of California, they segregate by size and

sex. Juvenile sharks (<8 m), predominantly small males, aggregate near the coast surrounding Bahía de Los Ángeles and Bahía de La Paz. Adults (>9 m) and pregnant females occur in oceanic waters in the southern part of the Gulf of California. Juvenile sharks showed movements between Bahía de los Ángeles and Bahía de la Paz, the data showed that around the 20% of the juveniles moved between the two localities.

Based on the Jolly-Seber open-population models, at Holbox Island, estimated abundance was 516–802 individuals, making this location the largest center of aggregation in the world. In the Gulf of California, estimated abundance was 396–509 individuals, a size similar to other localities. Abundance in Bahía de la Paz ranged from 136–197 individuals, lower than most aggregation, with the exception of the Maldives.

At Holbox Island, annual aggregations range from 70–105 to 211–260 individuals. Annual estimates of abundance in Bahía de La Paz ranged from a few to 58–72 and in Bahía de los Ángeles, ranged from 46–69 to 84–110. Isla Holbox has the largest aggregation reported; abundance in two bays of the Gulf of California is low.

At Isla Holbox, the kind of scars indicates that 13–33% of the sharks were injured by boats; for Bahía de La Paz, 33–67% of the sharks were injured by boats.

Key words: whale sharks, genetic population structure, abundance, population structure

A la vida...

Que me permite admirarla y sorprenderme de la naturaleza

A la naturaleza...

Por su majestuosidad

Al océano...

Por su inigualable belleza

Al pezapo...

Por su gran misterio y estar conmigo en la realización de mis sueños

A los sueños...

Que me permiten ser una soñadora y alcanzarlos

Al amor...

Por ser parte de la vida y permitirme conocerlo

A mi familia...

Por su gran apoyo y estar siempre ahí

A todos aquellos que con su apoyo creyeron en mí!

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta tesis fue una gran aventura y un proceso que representa un crecimiento personal y profesional. Estuvo llena de sueños, retos, aventuras, frustraciones y logros; logros que pude realizar gracias al apoyo de mucha gente, agradezco con todo mi amor a la vida y a toda gente que me ayudó en la realización de este sueño. Empezando con mi Director Ricardo Vázquez, quién siempre ha depositado en mí un apoyo incondicional y confianza, Ric gracias también por tu amistad.

Al comité tutorial de tesis: Dr. Ricardo Vázquez Juárez, Dr. Francisco García de León, Dr. Felipe Galván Magaña, Dr. Rocky Ward y Dr. Mark Meekan quienes me ayudaron enormemente con sus comentarios y sugerencias que enriquecieron el presente trabajo. Paco muchas gracias por hacerme valorar los datos logrados con genética y sacarles el mayor jugo posible.

Al CIBNOR como institución receptora de los estudios de Posgrado, al CONACyT por la beca otorgada (Registro: CVU: 219315) para la realización del Doctorado y por la beca Mixta otorgada para la realización de la estancia de investigación en el Australian Institute of Marine Science, para la realización del trabajo titulado “Análisis demográfico de la población de tiburón ballena en el Caribe Mexicano”. El trabajo genético y de campo realizado en Isla Holbox y los primeros años en el Golfo de California fue realizado con apoyo del fondo sectorial de la investigación ambiental (SEMARNAT-CONACyT) con el proyecto titulado “Variabilidad genética y habitats críticos del tiburón ballena (*Rhincodon typus*) en dos localidades aisladas: Caribe (Isla Holbox) y Pacífico (Golfo de California)” (proyecto No. FOSEMARNAT-2004-01-457). Las salidas de campo en Isla Holbox se llevaron a cabo con el apoyo de una embarcación otorgada por área de protección de Flora y Fauna Yum Balam. El trabajo de campo realizado en el Golfo de California del 2008 y 2009 fue gracias al apoyo financiero de Save our Seas Foundation.

Baja Expediciones apoyó con salidas de campo alrededor de la Isla Espíritu Santo en temporada de hembras en el 2009. Timoteo y Luis Garduño, gracias por creer en mí y por

armar conmigo estos viajes para la búsqueda de hembras preñadas y gracias a toda la tripulación del Don José. Las marinas La Paz, Palmira y Costa Baja apoyaron con el uso de rampa sin cobro, en la Bahía de La Paz.

A todo el personal de Posgrado, por su apoyo en todos los momentos que lo necesité. A las Directoras de Posgrado, Dra. Thelma R. Castellanos Cervantes y Dra. Elisa Serviere Zaragoza quienes otorgaron diversos apoyos durante mi período de estudio en El CIBNOR. A Leticia González Rubio y Osvelia Ibarra Morales, muchas gracias por todo el apoyo en trámites, procesos y becas.

A mis colegas del proyecto Dominó del Atlántico Mexicano, en especial a Rafael de la Parra y Paco Remolina, agradezco enormemente su apoyo para la realización del trabajo de campo en Isla Holbox, además de los buenos momentos, su amistad y por compartir su pasión por el Dominó. Agradezco también a Enrique, Montserrat Trigo y Norma Betancourt por su apoyo en campo y base de datos. Admiro el trabajo que han estado realizando en Isla Holbox con la comunidad y los prestadores de servicios turísticos, ha sido un ejemplo a seguir y me ha ayudado en su aplicación en la Bahía de la Paz. Espero que cada vez la actividad de observación y nado con tiburón ballena en la Bahía de la Paz sea ordenada y conforme a los códigos de conducta con prestadores conscientes y capacitados.

A mis colegas de la Asociación de Pesca Deportiva y Ecoturismo de Bahía de los Ángeles, quienes tomaron los datos de campo en las temporadas 2008 y 2009 en Bahía de los Ángeles y confiaron en mí para analizarlos, gracias a esto se enriqueció enormemente el trabajo del Golfo de California, muy en especial a Abraham Vázquez con quien he contado desde que lo conocí y con quien comparto la pasión por el pezapo. Nirari Cárdenas aportó fotos de esta localidad, gracias además por tu amistad!!

A mis queridos pezapólogos y amantes del Mar: Paul Ahuja (Weep! gracia por los viajes en la YIYA), Siddharta Velázquez (gracias por todo el apoyo con el zopilote), Carlos Aguilera, Paulina Godoy, Felipe Morales, Alfredo Barroso y Erick Higuera. Ha sido

maravilloso compartir con ustedes el trabajo de campo, tantas aventuras y experiencias, no pude contar con alguien mejor que ustedes para el trabajo de campo...mil gracias!!! Gracias por estar siempre dispuestos a salir, su incondicional apoyo y por compartir conmigo su pasión por el Mar y sobre todo gracias por su invaluable amistad!

A los pescadores de la Playita, en especial a Jaime Arista quien siempre estuvo dispuesto a informarme de la presencia de tiburón ballena en Gorda Banks y de organizar a la palomilla para su búsqueda!

La parte de genética poblacional fue posible gracias al apoyo de mis colegas de otras partes del mundo: Simon Pierce y Andrea Marshall (Mozambique, Manta Ray & Whale Shark Research), Mark Meekan (Australia y Djibouti, Australian Institute of Marine Science) y Ángela Quirós (Filipinas), Ángela muchas gracias por el apoyo otorgado para el trabajo de campo en Filipinas, se que fue difícil, estresante y toda una aventura, pero a pesar de todo...lo logramos!!! Muchas gracias por tu amistad!

Las extracciones de ADN se realizaron en el laboratorio de biotecnología de organismos marinos del CIBNOR, Hever Latisnere Barragán, Rukis muchas gracias por tu apoyo, paciencia y amistad!

El trabajo de laboratorio de microsatélites se llevo a cabo en el laboratorio Northern Appalachian Research Laboratory (USGS) en Wellsboro, Pensilvania y en Texas A&M, Canyon, bajo la supervisión de Rocky Ward y con el apoyo de Kristine Shaw, muchas gracias por compartir su conocimiento en el laboratorio, de los microsatélites, el análisis de datos, su apoyo y amistad.

Clara E. Galindo Sánchez del laboratorio de genética acuícola del CIBNOR, ayudó enormemente en el análisis de datos genéticos, Claruca mil gracias por tu paciencia y enseñanza con los múltiples programas para el análisis genético. Adrián Munguía y Miguel Tripp me enseñaron el uso del programa STRUCTURE, muchas gracias!.

El análisis de estimación de abundancia de Isla Holbox se hizo en el Australian Institute of Marine Science bajo la supervisión de Mark Meekan, Mark muchas gracias por tu apoyo y enseñanza, para la construcción del catalogo de esta localidad ayudó Ana y Conrad Speed ayudó enormemente en el análisis. Florecia Cerutti, mil gracias por todo tu apoyo logístico y moral durante mi estancia en Australia! Fuiste un ángel cuando me quede sin visa y sin dinero por allá! No lo hubiera logrado sin tu apoyo moral, y económico! Nos debemos un viaje al terminar nuestros respectivos Doctorados!. Eduardo Romero Vivas y Sergio Martínez fueron un apoyo en análisis estadístico, al igual que Adam Barnett.

Ira Fogel, ayudó enormemente en las ediciones y revisiones en inglés de los artículos del presente trabajo.

Jennifer Hile, Tom Campbell y Beth Davidow muchas gracias por creer en mí y por recomendarme con Save our Seas Foundation quienes en 2007 me apoyaron con la panga “El Zorro”, lo cual ayudo bastante en la logística de las salidas al campo, además del apoyo financiero en los siguientes años y para comenzar con el sueño del marcaje satelital en los tiburones ballena del Golfo de California.

Agradezco a mi familia quien siempre ha creído en mí y me ha apoyado en todos mis sueños! Mami y Papá gracias por todo su amor. Abel, Anel, Abelito, Lucía y Martha gracias por su buena vibra y el amor!! Martha gracias por todos los favores en conseguir boletos para mis viajes a Isla Holbox, Texas, etc. Mami, Abel y Anel, me encanto compartir con ustedes mi trabajo de campo en Isla Holbox. Mami se que te tuve trabaje y trabaje en la panga! Fue maravilloso compartir contigo ese pedazo de mí que me apasiona tanto como lo es el trabajo de campo!! Jajaja hasta te toco salir en el dingy!! Y vimos un pezapo en la Bahía de la Paz!! Suertuda!! Papi gracias por ese dingy, el trabajo de campo del 2005 y 2006 en la Bahía de la Paz fue muy intenso y divertido en el dingy!!

Agradezco a mis queridos amigos, compañeros de sueños, con quienes comparto, el viaje en esta vida, las parrandas, en las buenas y en las malas!! Mis queridas Doris (Claruca, Comadre y Lau Loca!!), Brujas gracias por estar tan locas, hacerme la vida más amena y

por su cariño!!, Pau (vieja gracias por estar siempre ahí, cada que estuve lejos y que había alguna situación estresante me encontraba con un correo tuyo que me recordaba que estaba logrando mis sueños y nada tenía más valor que eso!!) Carlos (Viejo!!), Orión, gracias por llevar tu energía al campo estando dentro de la pancita de tu mamá!! Siddharta (Sid), Los Mijos!! (Lili y Adrián) y Raulito!! aunque están lejos se que cuento con ustedes y han participado en muchas aventuras de campo!!. A mi Amor por siempre creer en mí y darme esa Fuerza, Energía y Paz llamada Amor.

A toda la gente que siempre me mando su buena vibra y mantuvo interés en mi trabajo!

Agradezco a la vida por permitirme admirarla y soñar, a la Mar/Océano!! Por compartir conmigo su magnificencia y darme maravillosas experiencias cuando estuve en busca del protagonista de este sueño...el Pezapo!!

GLOSARIO

ADN polimerasa. Es una enzima que sintetiza una cadena hija (o varias) de ADN (bajo la dirección de una plantilla molde de ADN). Puede participar en la reparación o en la replicación.

Alelo. Forma alternativa de un locus. En microsatélites, es una variante con diferente número de repeticiones de la secuencia motivo.

Alelos nulos. Alelos que no son amplificados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) debido a que presentan mutaciones en la región del iniciador o *primer* de la secuencia por lo que no son amplificados. La presencia de alelos nulos en una población puede originar desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg hacia un déficit de heterocigotos.

Amplificación génica. Proceso o procesos mediante los cuales la célula aumenta el número de copias de un determinado gen dentro del genoma.

Análisis de varianza molecular (AMOVA). Método estadístico para probar la distribución de la varianza genética a diferentes niveles jerárquicos de poblaciones, se basa en el análisis de varianza de las frecuencias genotípicas.

Área de crianza. En tiburones, son lugares donde las hembras paren a sus crías y éstas permanecen ahí por un corto tiempo.

Área de crianza primaria. En tiburones, son aquellos sitios donde las hembras paren a las crías y éstas permanecen ahí por un corto tiempo.

Área de crianza protegida. En tiburones, son áreas de crianza protegidas de los depredadores y no son frecuentadas por los adultos.

Área de crianza secundaria. En tiburones, son lugares donde se juntan los juveniles después de haber abandonado las áreas de crianza primaria y permanecen antes de alcanzar la madurez.

Cadena de Markov. En la teoría de la probabilidad, se conoce como **cadena de Márkov** a un tipo especial de proceso estocástico discreto en el que la probabilidad de que ocurra un evento depende del evento inmediatamente anterior.

Cadena de Markov Monte Carlo. Son algoritmos matemáticos para obtener a partir de una distribución de probabilidades basadas de una matriz de Markov una distribución de probabilidades en equilibrio. Método que se basa en la simulación de un tipo de proceso estocástico para estudiar las propiedades de una distribución de probabilidad que no puede ser estudiada fácilmente mediante métodos analíticos. Una cadena de Markov genera una serie de variables aleatorias, de manera que la distribución de probabilidad de estos futuros está completamente determinada por estado actual de la cadena. Bajo ciertas condiciones, la cadena llegara a un estado estacionario de manera que si se corre por un periodo suficiente, la cadena visitara una distribución de probabilidad específica.

Circuntropical. Se refiere a la distribución de especies que se encuentran en todo el mundo entre el trópico de cáncer y el trópico de capricornio.

Clonación genética. Producción de un número grande de copias de un segmento de ADN después de que dicho segmento de ADN sea insertado dentro de un vector e introducido en una célula. La clonación tiene lugar cuando el vector se replica.

Coefficiente de endogamia (F_{IS}). Es la proporción de la variación en la subpoblación que figuran en un individuo. Un alto F_{IS} implica un grado de consanguinidad considerable.

Corrección de Bonferroni. Procedimiento no paramétrico en el cual es empleado para reducir el error tipo 1 (rechazar una hipótesis nula verdadera) cuando se realizan múltiples pruebas o comparaciones.

Cuello de botella. Reducción transitoria en el tamaño poblacional.

Depresión por endogamia. Disminución del vigor, viabilidad o adecuación de la progenie de cruza entre individuos emparentados o con respecto a la progenie de individuos no emparentados.

Deriva génica. Es una fuerza que reduce heterocigosidad por la pérdida aleatoria de alelos, generando cambios en las frecuencias de los alelos. La acción de la deriva génica es inversamente proporcional al tamaño de la población. La deriva génica es una de las principales fuerza evolutivas (junto con la selección natural, mutación, migración genética y el apareamiento no aleatorio).

Desequilibrio de ligamento. Cuando los alelos de diferentes loci se encuentran ligados no existe una segregación independiente de los mismos, lo cual genera que a nivel poblacional se observen genotipos comunes entre individuos.

Diferenciación genética. Grado de diferencia entre los indicadores de diversidad genética (diversidad alélica, heterocigosidad, etc) entre dos poblaciones o especies.

Distancia genética. Es una medida de las diferencias entre las frecuencias alélicas en dos poblaciones o especies.

Diversidad genética. Es el grado de variación genética en una población, especie, o entre un grupo de especies medido en algún descriptor de diversidad genética tal como, heterocigosidad, diversidad alélica, heredabilidad, etc.

Efecto Wahlund. Reducción de la heterocigosidad en relación a lo esperado según el equilibrio de Hardy-Weinberg en una población separada en varias sub poblaciones parcialmente aisladas.

Endogamia. Cruzamiento entre individuos genéticamente relacionados (parientes).

Epipelágica. Organismos que viven en la zona epipelágica, la cual va desde la superficie hasta una profundidad de 200 metros.

Equilibrio de Hardy-Weinberg. Es el equilibrio alcanzado en las frecuencias alélicas en una población panmítica donde no hay perturbaciones por efecto de mutación, migración, selección o deriva. Si dos alelos A_1 y A_2 tienen frecuencias p y q , las frecuencias en equilibrio de Hardy-Weinberg para los genotipos $A_1 A_1$, $A_1 A_2$ y $A_2 A_2$ serán p^2 , $2pq$ y q^2 , respectivamente.

Especie Vulnerable. Una especie se encuentra en estado vulnerable cuando no está críticamente en peligro o en peligro pero enfrenta un alto riesgo de extinción en estado silvestre en el futuro a mediano plazo.

Estructura genética poblacional. Distribución no aleatoria de los alelos en tiempo y espacio. Ocurre cuando en dos o más sitios colectados presentan un grado de diferenciación genética tal que se consideran como sub poblaciones diferentes.

Estructura poblacional. Composición de una población de acuerdo con la edad y el sexo de los individuos y determinada por parámetros de abundancia, mortalidad y sobrevivencia de los individuos que conforman una población homogénea.

Filopatría. Deriva del griego amante de casa y es la tendencia del individuo a retornar o permanecer en un área, sitio natal o u otro tipo de localidad adoptada.

Filopatría específica del sexo. Cuando los organismos de un sexo son mas filópatras que el otro.

Filopatría natal. Regreso al área de nacimiento.

Flujo genético. Es el desplazamiento de genes de una población a otra, haciendo que las poblaciones sean más similares. La migración es el principal agente del flujo de genes.

Frecuencias génicas. Se refiere a las frecuencias de los alelos.

Heterocigoto. Individuo con dos alelos diferentes en un locus.

Heterocigotos, déficit o exceso. Cuando la heterocigosidad observada (H_o) y la esperada (H_e) bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg no coinciden, presentándose un déficit cuando la H_o es menor que la H_e , y un exceso en el caso contrario.

Heterocigosidad. Número de individuos heterocigotos para un locus dividido entre el número total de individuos de la muestra.

Heterocigosidad esperada. Proporción de organismos heterocigotos calculada a partir del equilibrio de Hardy-Weinberg. Su cálculo implica la obtención de las frecuencias genotípicas a partir de las frecuencias alélicas siguiendo un binomio al cuadrado $(p+q)^2$, en donde p y q son las frecuencias alélicas y $2pq$ corresponderá a la frecuencia de heterocigotos. También se conoce como diversidad genética.

Heterocigosidad observada = que Heterocigosidad. Proporción de organismos heterocigotos calculada a partir de los genotipos observados en una muestra poblacional.

Homocigoto. Individuo con dos copias del mismo alelo en un locus.

Índice de fijación F_{ST} . Proporción de la endogamia total en una población como consecuencia de la diferenciación entre subpoblaciones.

Lisis. Desintegración de una célula por la ruptura de su membrana celular.

Locus (plural: loci). Segmento de ADN en un cromosoma. Este segmento puede codificar un punto, tener una función regulatoria o ser una región de ADN definida por un método molecular como los microsatélites.

Microsatélites. Secuencias cortas de 1 a 6 pares de bases repetidas en tándem en un número de veces variable y que se encuentran en forma abundante y dispersa dentro del genoma. Por lo general, estos marcadores presentan polimorfismos y heterocigosidades elevadas en una población, por lo que son informativos para determinar la variabilidad y estructura genética poblacional.

Numero de alelos efectivos (n_e). Número de alelos que en igual frecuencia resultarían en la homocigosidad que el número de alelos observados.

Pantropical. Que se extiende o que aparece en toda la extensión del trópico y del subtrópico, o que al menos está diseminado en las regiones tropicales.

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

Población panmíctica = Población. Población en donde todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse, por lo que hay ausencia de diferenciación entre subpoblaciones.

Polimorfismo genético. Presencia de diferentes variables alélicas para un mismo locus en una muestra poblacional. Se dice que un locus es polimórfico cuando presenta al menos dos alelos. En microsatélites, un locus de moderado a elevado polimorfismo puede presentar de 10 a 20 alelos.

Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR). Método para amplificar rápidamente segmentos de ADN en ciclos de desnaturalización, adición de iniciadores y replicación.

Replicación. Proceso de copia o duplicación del ADN.

Riqueza alélica (AR). Número promedio de alelos por locus independientemente del tamaño de muestra.

Tamaño efectivo poblacional (N_e). Es el tamaño de una población idealizada (estable, panmíctica y estacionaria) que tendría el mismo grado de endogamia y deriva observado en una población verdadera. Se entiende también como, como el número de individuos de una población que dejan descendencia en la siguiente generación.

Variación genética. 1. Tendencia de los caracteres hereditarios a generar diversidad genética dentro de una población. 2. Media de los cuadrados de las variaciones calculada a partir de la media de una distribución de frecuencia génica.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
3. JUSTIFICACIÓN.....	6
4. OBJETIVOS.....	7
5. HIPÓTESIS	8
6. MATERIALES Y MÉTODOS	8
6.1 ANÁLISIS GENÉTICO	8
6.1.1 Aislamiento de microsatélites	8
6.1.2 Análisis poblacional	11
6.1.2.1 Obtención de muestras	11
6.1.2.2 Trabajo de Laboratorio.....	12
6.1.2.3 Análisis de datos.....	12
6.1.2.3.1 Variabilidad genética del tiburón ballena por localidad.....	13
6.1.2.3.2 Estructura genética poblacional del tiburón ballena	13
6.1.2.3.3 Asignación de individuos por métodos Bayesianos.....	15
6.1.2.3.4 Aislamiento por distancia.....	16
6.1.2.3.5 Estimación de número de migrantes	16
6.1.2.3.6 Estimación del tamaño efectivo poblacional.....	16
6.2 ESTIMACIÓN DE ABUNDANCIA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL POR SEXO Y TALLAS	17
6.2.1 Área de Estudio	17
6.2.1.1 Isla Holbox	17
6.2.1.2 Golfo de California.....	18
6.2.2 Trabajo de campo	20
6.2.3 Comparación de fotografías	22
6.2.4 Identificación de cicatrices.....	22
6.2.5 Estructura poblacional por sexo y tallas, estimación de la talla de madurez	23
6.2.6 Estimación del tamaño poblacional.....	25
6.2.7 Estimación de abundancia anual	31

7. RESULTADOS	32
7.1 ANÁLISIS GENÉTICO	32
7.1.1 Aislamiento de microsatélites	32
7.1.2 Análisis poblacional	33
7.1.2.1 Análisis por localidad	34
7.1.2.2 Estructura genética poblacional	36
7.1.2.3 Asignación de individuos por métodos Bayesianos	39
7.1.2.4 Aislamiento por distancia	41
7.1.2.5 Estimación de número de migrantes	41
7.1.2.6 Estimación del tamaño efectivo poblacional	42
7.2 ESTIMACION DE ABUNDANCIA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL POR SEXO Y TALLAS	43
7.2.1 Isla Holbox	43
7.2.1.1 Estructura poblacional por sexo y tallas	43
7.2.1.2 Talla de madurez sexual de los tiburones ballena machos	47
7.2.1.3 Tamaño poblacional y abundancia anual	48
7.2.1.4 Análisis de recapturas	49
7.2.1.5 Análisis de cicatrices	50
7.2.2 Golfo de California	51
7.2.2.1 Estructura poblacional por sexo y tallas	51
7.2.2.2 Estimación de Abundancia	54
7.2.2.3 Análisis de recapturas	54
7.2.2.4 Recapturas entre localidades	54
7.2.3 Golfo de California: Bahía de La Paz	55
7.2.3.1 Estructura poblacional por sexo y tallas	55
7.2.3.2 Estimación de Abundancia	61
7.2.3.3 Análisis de recapturas y abundancia anual de juveniles	61
7.2.3.4 Análisis de cicatrices	63
7.2.4 Golfo de California: Bahía de los Ángeles	65
7.2.4.1 Estructura poblacional por sexo y tallas	65
7.2.4.2 Abundancia anual de juveniles	67

7.2.4.3 Análisis de recapturas.....	68
7.2.5 Golfo de California: Banco Gorda	68
8. DISCUSIÓN.....	69
8.1 Análisis genético.....	69
8.1.1 Aislamiento de microsatélites.	69
8.1.2 Variabilidad genética.....	70
8.1.3 Estructura genética poblacional	72
8.2 Estimación de abundancia y estructura poblacional por sexo y tallas	77
8.2.1 Estructura poblacional por sexo y tallas.....	77
8.2.2 Estimación de talla de Madurez.	83
8.2.3 Estimación de Abundancia.....	83
8.2.4 Estacionalidad	87
8.2.5 Análisis de cicatrices	88
9. CONCLUSIONES	91
10. LITERATURA CITADA.....	94
ANEXO 1. Artículo publicado y sometido.	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localidades de colecta. Golfo de California (GC), Holbox (H), Dijibuti (D), Mozambique (M), Australia (A), Filipinas (F).	12
Figura 2. Localización de la zona de agregación de tiburón ballena en Isla Holbox.	18
Figura 3. Área de estudio Golfo de California. (BLA) Bahía de los Ángeles, (BLP) Bahía de la Paz, (BG) Banco Gorda, (IES) Isla Espiritu Santo, (BC) Baja California.	20
Figura 4. Clasificación de cicatrices por categoría. a) abrasiones, b) laceraciones, c) amputaciones, d) golpes e) mordidas f) muescas, g) otros.	23
Figura 5. Morfología de gonopterigios a) inmaduros, b) maduros.	24
Figura 6. Proceso experimental del modelo de Jolly Seber. El parámetro p_i es la probabilidad de captura en la muestra i , ϕ_i es la probabilidad de sobrevivencia entre la muestra i y la muestra $i + 1$. M_i y U_i son el número de individuos vivos marcados y no marcados en la muestra i	28
Figura 7. Proceso del modelo empleando la parametrización POPAN en el modelo de Jolly-Seber. p_i es la probabilidad de captura en la muestra i , ϕ_i es la probabilidad de sobrevivencia entre la muestra i y la muestra $i +$ 1 . b_i es la probabilidad de que un individuo de la super-población N entre en la población entre la muestra i y la muestra $i+1$ y sobreviva al próximo muestreo $i+1$	30
Figura 8. Análisis Factorial de Correspondencia para seis localidades (A=Australia, D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox) en 9 loci microsatelitales de tiburón ballena (<i>Rhincodon typus</i>).	36
Figura 9. Número de poblaciones inferidas (K) de tiburón ballena a partir del cálculo de LnP (D).	39
Figura 10. Número de grupos genéticamente homogéneos a partir de la tasa de cambio de la función de verosimilitud.	40
Figura 11. Número de poblaciones determinado a partir del programa STRUCTURE 2.2. El genoma de cada individuo está representado con una línea vertical. El color verde caracteriza a los individuos del Indo- Pacífico: Australia (1), Dijibuti (2), Filipinas (3), Mozambique (4) y el Golfo de California (5) y el color rojo caracteriza a los individuos del Atlántico: Isla Holbox.	40
Figura 12. Aislamiento por distancia entre las localidades.	41
Figura 13. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.	43
Figura 14. Porcentaje mensual de tiburones ballena fotografiados por sexo de Junio a Septiembre del 2005– 2008. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados.	44
Figura 15. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena medidos en Isla Holbox del 2005 al 2008 (n=330).	45

Figura 16. Histograma de frecuencias de tallas de los tiburones ballena foto-identificados en Isla Holbox del 2005 al 2008.....	46
Figura 17. Curva logística (al 95% de confianza) refleja la talla de madurez de los tiburones ballena machos en Isla Holbox.....	47
Figura 18. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices por categoría y por localidad. Ningaloo Reef, Seychelles y Mozambique tomado de Speed <i>et al.</i> (2008).....	51
Figura 19. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.	52
Figura 20. Tiburones ballena juveniles fotografiados por sexo y por localidad, Bahía de la Paz (BLP), Bahía de los Ángeles (BLA). Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por área.	53
Figura 21. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena medidos en el Golfo de California del 2003 al 2009 (n=219).....	53
Figura 22. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.	56
Figura 23. Estacionalidad de los tiburones ballena juveniles en la Bahía de la Paz de Noviembre del 2004 a Julio del 2010.....	57
Figura 24. Porcentaje mensual de tiburones ballena por sexo de Agosto del 2004 a Junio del 2010. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados.....	58
Figura 25. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena en la Bahía de la Paz (BLP, n=117) y alrededor de la Isla Espíritu Santo (IES, N=7), de Noviembre del 2004 a Junio del 2009.	59
Figura 26. Histograma de frecuencias de tallas de los tiburones ballena foto-identificados en la Bahía de la Paz de Noviembre del 2004 a Junio del 2009.....	60
Figura 27. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices por categoría.....	63
Figura 28. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices por categoría y por localidad. Ningaloo Reef, Seychelles y Mozambique tomado de Speed <i>et al.</i> (2008).....	64
Figura 29. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.	65
Figura 30. Porcentaje mensual de tiburones ballena fotografiados por sexo en el 2008 y 2009. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados.	66
Figura 31. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena medidos en Bahía de los Ángeles (n=127).....	67
Figura 32. Histograma de frecuencia de tallas de las hembras preñadas observadas en Banco gorda.....	69

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Características de 9 loci microsatelitales de tiburón ballena (<i>Rhincodon typus</i>): Locus, No. Acceso GenBank, motivos de repetición, tamaño de alelos, número de alelos observados, heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_E), secuencia de iniciadores.....	32
Tabla II. Frecuencia de alelos nulos (FAN) por localidad para nueve microsátélites probados en seis localidades (D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox) en el tiburón ballena.....	33
Tabla III. Variabilidad genética en 9 loci de microsátélites de tiburón ballena (<i>Rhincodon typus</i>) en seis localidades (A=Australia, D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox). A=número de alelos, n=tamaño de muestra, RA=Riqueza alélicas, H_o =heterocigosidad observada, H_E = heterocigosidad esperada, F_{IS} =Coeficiente de endogamia.* Localidades no en equilibrio de Hardy Weinberg.....	34
Tabla IV. Análisis de Variancia Molecular.....	37
Tabla V. Matriz de estimadores de subdivisión poblacional (θ). (A=Australia, D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox). Debajo de la diagonal se muestra el valor F_{ST} y por encima de la diagonal el valor p.....	37
Tabla VI. Diferenciación poblacional. (A=Australia, D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox).....	38
Tabla VII. Número de migrantes Nm por generación entre las diferentes localidades. (A=Australia, D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox).....	42
Tabla VIII. Estimación de tamaños efectivos poblacionales por localidad de acuerdo con el modelo de alelos infinitos y de paso a paso.....	42
Tabla IX. Tiburones ballena marcados y foto-identificados por año. Abundancia estimada por año al 95 % confianza.....	49
Tabla X. Tiburones ballena foto-identificados (lado izquierdo) y recapturas de cada año de estudio.....	50
Tabla XI. Tiburones ballena foto-identificados por año y análisis de recapturas.....	54
Tabla XII. Análisis de recapturas entre localidades. Tiburones ballena foto-identificados por localidad y año. Bahía de los Ángeles (BLA), Bahía de la Paz (BLP), tiburones ballena que presentaron movimientos en la misma temporada de Bahía de los Ángeles a Bahía de la Paz (BLA-BLP), tiburones ballena que presentaron movimientos en la siguiente temporada de Bahía de la Paz a Bahía de los Ángeles (BLP-BLA).....	55
Tabla XIII. Tiburones ballena foto-identificados por año, análisis de recapturas y abundancia estimada por año al 95 % confianza.....	63
Tabla XIV. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices y porcentaje de tiburones con daños antropogénicos por año.....	64
Tabla XV. Tiburones ballena foto-identificados por año. Abundancia estimada por año al 95 % confianza.....	68

Tabla XVI. Comparación de microsátélites entre diferentes especies de tiburones. LMR=Longitud máxima de repetición. PR=Promedio de repetición.....	70
--	----

1. INTRODUCCIÓN

El tiburón ballena (*Rhincodon typus*, Smith, 1828) pertenece a la Familia Rhincodontidae y género *R. typus* como única especie (Compagno, 1984). Son organismos que pueden llegar a medir hasta 20 metros (Compagno, 1984; Colman, 1997).

Es un tiburón de distribución epipelágica circuntropical, de aguas costeras y oceánicas, encontrándose desde el ecuador hasta los 30°N y 35°S en los Océanos Atlántico, Pacífico e Índico (Compagno, 1984; Wolfson, 1986). En todas las zonas donde se agrega, se ha observado una cierta estacionalidad (Norman, 2004). Es un tiburón altamente migratorio (Eckert y Stewart, 2001; Eckert *et al.*, 2002; Norman, 2004; Rowat y Gore, 2007), sus movimientos se han relacionado con el desove de corales y peces, con afloramiento de organismos planctónicos y con cambios en la temperatura de las masas de agua (Compagno, 1984; Clark y Nelson, 1997; Colman, 1997; Gunn *et al.*, 1999; Taylor y Pearce, 1999; Heyman *et al.*, 2001; Wilson *et al.*, 2001; Ketchum, 2003).

Es una de las tres especies de tiburones filtradores (Compagno *et al.*, 2005). Se alimentan de presas pequeñas, desde organismos planctónicos (preferentemente crustáceos), en su mayoría copépodos, eufáusidos, peces pequeños, huevos de peces y hasta cefalópodos (Compagno, 1984; Gunn *et al.*, 1999; Heyman *et al.*, 2001; Wilson y Newbound, 2001; Ketchum 2003; Hacohe-Domené *et al.*, 2006). Incluso, se sugiere que en algunas ocasiones estos tiburones llegan a alimentarse de algas (Colman, 1997).

Históricamente el tiburón ballena ha sido pescado en el Indo-Pacífico. A finales de la década de los 90's las poblaciones de los tiburones ballena se vieron drásticamente disminuidas (CITES, 2002). Es una especie vulnerable debido a que tiene características biológicas como lento crecimiento, maduración sexual tardía, y poblaciones pequeñas (Colman, 1997; Wintner, 2000; CITES, 2002). En el 2000 fue declarada como especie vulnerable por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Norman,

2000) y posteriormente incluida en el Apéndice II del CITES (CITES, 2002). En México, este tiburón no se explota pero tiene un valor económico importante desde el punto de vista turístico y en el 2002 fue declarado como especie amenazada en la NOM- 059-SEMARNAT-2001 (DOF, 2002).

Debido a la amplia distribución del tiburón ballena y a sus largas migraciones (Eckert y Stewart, 2001; Eckert *et al.*, 2002; Norman, 2004; Rowat y Gore, 2007), es necesario entender la organización poblacional desde un punto de vista genético y ecológico para poder plantear medidas adecuadas para su conservación con base en unidades de manejo.

La identificación de unidades de manejo puede abordarse mediante el análisis de las variaciones de los microsatélites, este marcador ha sido una herramienta para determinar estructura genética, flujo genético y movimientos migratorios entre diferentes poblaciones de peces y tiburones (Heis y Gold, 1999; Feldheim *et al.*, 2001; Pardini *et al.*, 2001; Schrey y Heist, 2003).

Los microsatélites o SSRs (del inglés Simple sequence repeats) son repeticiones cortas en tandem de una a seis pares de bases (pb), las cuales se encuentran presentes en todos los genomas procariotas y eucariotas analizados al momento. Se encuentran presentes tanto en regiones codificantes como no codificantes y son codominantes, son heredados tanto vía materna como paterna. Se asume que son marcadores neutrales e hipervariables con una tasa de mutación alta (Lambert y Millar, 1995).

Actualmente el desarrollo de microsatélites puede considerarse como algo rutinario, sin embargo en algunas especies puede ser difícil, y depende del número y distribución de los microsatélites en el genoma. Incluso empleando técnicas enriquecidas, en algunos casos puede ser difícil aislar y caracterizar microsatélites polimórficos (Zane *et al.*, 2002). El poder de detección de diferenciación entre poblaciones, depende del número loci

microsatelitales empleados, así como su nivel de polimorfismo y del número de muestras (Zane *et al.*, 2002).

Con el objetivo de evaluar si existe estructura poblacional del tiburón ballena a escala mundial, se aislaron y caracterizaron microsatélites, los cuales fueron empleados en el análisis de individuos de seis localidades.

En México existen dos poblacionales de tiburón ballena en Isla Holbox y en el Golfo de California (Castro *et al.*, 2007). En estas localidades, el tiburón representa un importante capital económico, por lo que en los últimos años se ha trabajado en el plan de manejo nacional para la actividad de observación y nado con tiburón ballena; sin embargo, es necesario, obtener información básica sobre su estructura poblacional, abundancia y fidelidad al área.

La técnica de marcaje-recaptura ha sido empleada para estimar la abundancia, patrones de movimiento, estructura de grupos, así como variables demográficas como la talla de madurez, tasa de sobrevivencia de muchas especies marinas (Cerchio, 1998; Hamilton *et al.*, 1998; Chaloupka *et al.*, 1999; Forcada *et al.*, 1999, 2003; Mizroch *et al.*, 2004; Castro y Rosa, 2005; Bansemer y Bennet, 2009).

En elasmobranquios la técnica de marcaje-recaptura se ha abordado mediante el empleo del marcaje convencional y la foto-identificación. Los estudios basados en el marcaje convencional han proveído información importante en la biología de los elasmobranquios, incluyendo parámetros del ciclo de vida, el estatus de la población, comportamiento, movimientos migraciones y patrones de distribución (Kohler y Turner, 2001). En comparación, la foto-identificación es un método no invasivo, en donde se toman fotografías en una parte distintiva del animal que permita identificarlo nuevamente cuando se vuelva a observar (Meekan *et al.*, 2006).

Con el objetivo de estimar la abundancia y describir la estructura poblacional de los tiburones ballena de Isla Holbox y el Golfo de California así como sus fluctuaciones a través del tiempo, se empleó la técnica de captura-recaptura mediante la foto-identificación.

2. ANTECEDENTES

Es poco lo que se conoce sobre el ciclo de vida, ecología y biología poblacional del tiburón ballena. Para la mayoría de las poblaciones, no hay datos de tasa de sobrevivencia, tasa de reproducción, crecimiento, edad de primera madurez, longevidad y tamaño poblacional (Stevens, 2007).

No obstante, los datos de distribución y patrones de migración han sido más estudiados, por ejemplo, mediante el uso de marcas satelitales se han observado los movimientos del tiburón ballena: 1) una migración de 12642 km desde el Golfo de California hasta el Pacífico Occidental, (Eckert y Stewart, 2001), 2) Más de 2000 km hacia Asia desde el Noroeste de Australia (Norman, 2004), 3) de 550 km de Belice (Norman, 2004), 4) migración de 4567 km desde Filipinas hacia el sur de Vietnam (Eckert *et al.*, 2002) y 5) dos tiburones ballena viajaron 5000 km de Seychelles hacia Sri Lanka y Tailandia (Rowat y Gore, 2007). Asimismo, mediante foto identificación también se han registrado migraciones, una de 650 km de Bahía de los Ángeles a la Bahía de la Paz en el Golfo de California (Ramírez-Macías *et al.*, 2007). A pesar que se han observado largos movimientos, no se sabe si existen migraciones sincrónicas poblacionales. Se ha discutido si estos movimientos reflejan la falta de diferenciación genética entre los océanos Pacífico e Índico.

Son pocos los estudios que han abordado aspectos de ecológicos y de genética poblacional del tiburón ballena. Ramírez-Macías *et al.* (2007) aislaron y caracterizaron la región control del ADNmt de tiburones ballena del Golfo de California donde se encontró que en esta localidad los tiburones ballena conforman una sola población. Por su parte Castro *et al.*

(2007) analizaron secuencias mitocondriales de 70 tiburones ballena de los océanos Atlántico, Pacífico e Índico, encontrando diferencias significativas entre los tiburones del océano Atlántico con los del océano Pacífico e Índico, los autores mencionan la necesidad de realizar más estudios, ya que el número de muestras analizadas fue bajo.

Por su parte, Schmidt *et al.* (2009) analizan 68 muestras de tiburones ballena muestreados en el Mar Caribe y los Océanos Pacífico e Índico, mediante el uso de ocho loci microsatelitales y encuentran diferencias significativas bajas entre tiburones muestreados en el Mar Caribe y el Océano Índico ($F_{ST} = 0.0296$, $p = 0.0495$), dado que mediante métodos bayesianos no encontraron estructura entre las poblaciones muestreadas, concluyen que existe flujo genético entre todas las poblaciones estudiadas, de igual manera el análisis fue realizado con un número de bajo de muestras.

En el tiburón ballena la técnica de marcaje-recaptura ha sido empleada mediante la foto-identificación para determinar el tamaño poblacional y estructura en Ningaloo Reef Australia (Meekan *et al.*, 2006; Holmberg *et al.*, 2009), Seychelles (Rowat *et al.*, 2009), Maldivas (Riley *et al.*, 2010) y se ha combinado con el marcaje convencional en Belice (Graham y Roberts, 2007).

Los trabajos anteriores indican que existe una segregación por tallas y sexos, encontrándose agregaciones de tiburones ballena juveniles principalmente en áreas costeras, siendo en su mayoría machos (Meekan, *et al.*, 2006; Graham y Roberts, 2007; Holmberg *et al.*, 2009; Rowat *et al.*, 2009; Riley *et al.*, 2010).

En el Golfo de California se ha reportado una aparente segregación latitudinal de tiburones ballena, acorde a su talla y sexo. Los individuos jóvenes (< 7 m), se distribuyen en aguas costeras de la Bahía de la Paz y de Bahía de los Ángeles, probablemente aprovechando la alta productividad del área, mientras que los tiburones más grandes (> 9 metros) se distribuyen en aguas oceánicas del Sur del Golfo, específicamente alrededor de la Isla Espíritu Santo y Banco Gordo, donde se encuentran la mayor parte de hembras maduras y

preñadas (Eckert y Stewart, 2001; Ketchum, 2003; Ramírez-Macías *et al.*, 2007), las cuales probablemente migran grandes distancias cruzando hacia el Pacífico occidental (Eckert y Stewart, 2001).

En la Bahía de La Paz Ketchum (2003) reporta una distribución de acuerdo a la tallas y sexos, encontrándose en aguas costeras tiburones ballena juveniles y en su mayoría machos, mientras que en las aguas alrededor de la Isla Espíritu santo hembras preñadas.

3. JUSTIFICACIÓN

El tiburón ballena tiene una distribución epipelágica circumtropical. Es una especie vulnerable debido a que tiene características biológicas como lento crecimiento, maduración sexual tardía, y poblaciones pequeñas (Colman, 1997; Wintner, 2000; CITES, 2002). Es un organismo altamente migratorio, por lo que el uso sustentable de esta especie amenazada depende de colaboraciones internacionales. El conocimiento sobre su biología, ecología, y desarrollo es limitado, no permitiendo la implementación de una protección adecuada para su conservación. En el 2000 fue declarado como especie vulnerable en la lista roja de la IUCN, debido a evidencias en la disminución de las poblaciones. Para un adecuado manejo de la especie, es necesario hacer análisis de las variaciones inter e intra poblacional, para establecer unidades de manejo.

El establecimiento de unidades de manejo permite plantear una gestión adecuada en los programas de recuperación y conservación de especies amenazadas. Esto mediante el empleo de marcadores moleculares (Haig, 1998; Parker, 1998).

Los microsatélites son los marcadores más sensibles para abordar los parámetros poblacionales necesarios para el establecimiento de medidas adecuadas para la conservación de las especie, por ello se aislaron caracterizaron microsatélites para la

valoración de las poblaciones de tiburón ballena y la valoración genética con un mayor número de muestras, que el realizado por Schmidt *et al.* (2009).

En México los lugares más conocidos de agregaciones de tiburones ballena son: El Golfo de California e Isla Holbox en el Mar Caribe, donde se realiza la actividad de observación y nado con el tiburón ballena. En ambas localidades se requiere de información básica sobre la estructura y abundancia poblacional, para el planteamiento de medidas adecuadas para la conservación y manejo de esta especie amenazada.

4. OBJETIVOS

General:

- Evaluar la variabilidad y diferenciación genética de los tiburones ballena de los océanos Atlántico, Pacífico e Índico.
- Generar información de la estructura poblacional y abundancia de los tiburones ballena en México: Isla Holbox y el Golfo de California.

Específicos:

- Aislar y caracterizar microsátélites de tiburón ballena.
- Determinar la variabilidad genética dentro y entre las poblaciones de los tiburones ballena en tres cuencas oceánicas.
- Determinar el tamaño de las agregaciones de tiburón ballena de Isla Holbox y el Golfo de California, así como su estructura poblacional por sexo y tallas.
- Determinar la abundancia de los tiburones ballena en Isla Holbox y el Golfo de California.
- Determinar los posibles impactos causados por embarcaciones en la Bahía de La Paz e Isla Holbox.

5. HIPÓTESIS

Existe evidencia de una capacidad de gran desplazamiento en el tiburón ballena y por medio del análisis genético usando ADN mitocondrial se pudo constatar que existen diferencias entre el Océano Atlántico, con respecto a otras localidades de los océanos Índico y Pacífico. Por ello, se espera que el tiburón ballena presente una estructura poblacional entre Isla Holbox, México (Atlántico) con respecto a otras localidades y una menor diferenciación genética entre los océanos Pacífico e Índico. Se espera que en aguas costeras de Isla Holbox la estructura de tallas y sexos sea similar a la reportada en otras localidades y una mayor abundancia. Por su parte en el Golfo de California se espera que exista una segregación latitudinal de tallas y sexos, con una abundancia similar a otras localidades pero menor al hacer el análisis por localidad.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 ANÁLISIS GENÉTICO

6.1.1 Aislamiento de microsatélites

Para el aislamiento de loci microsatélites se extrajo el ADN total de tres muestras de tiburones ballena de Bahía de los Ángeles (Golfo de California).

Se empleó de 20-50 mg de tejido previamente macerado y digerido durante tres horas a 60 °C en 500µl de buffer de extracción [10mM Tris a un pH 8.0, 2mM EDTA, 10mM NaCl, 1% dodecilsulfato sódico(SDS, por sus siglas en inglés), 8mgml⁻¹ dithiothreitol (DTT), y 0.2 mg ml⁻¹ proteinasa K] (Rosel y Block, 1996). El ADN fue lavado dos veces con fenol y una con cloroformo, seguido de su precipitación con etanol (Sambrook *et al.*, 1989).

Este ADN extraído fue utilizado para desarrollar una genoteca enriquecida de microsátélites siguiendo el protocolo de Glenn y Schable (2005). El ADN total fue fragmentado mediante enzimas de restricción (RsaI y BstU I), posteriormente los fragmentos de ADN de doble cadena fueron ligados con los adaptadores superSNX24 y SuperSNX24+4 en volúmenes y molaridades iguales. Esta etapa proporciona un sitio de inicio para la PCR, a su vez se agrega la enzima Xmm que permite cortar el adaptador de doble cadena y evitar posibles artefactos que interfieran con la reacción de ligación. El enriquecimiento de fragmentos de ADN se realizó mediante el empleo de sondas (nucleótidos de secuencia conocida con motivo repetido) marcadas con biotina en su extremo 3'. Las sondas fueron sintetizadas en Sigma-Genosys: AC¹² AG¹², AAT⁸, ATG⁸, GGAT⁶, ATCC⁶, AACC⁶, y AAGC⁶. La finalidad del empleo de estos oligos es la de permitir la hibridación de los fragmentos de ADN ligados a los adaptadores y poder seleccionar aquellos complementarios a las sondas con motivos de repetición, lo cual se hizo mediante el empleo de micro esferas con alta afinidad por la biotina las cuales recuperan el ADN de interés eliminándose el no hibridado.

Los fragmentos obtenidos por el enriquecimiento fueron clonados siguiendo las instrucciones del fabricante (Invitrogen). Las colonias positivas fueron directamente secuenciadas, cada colonia positiva fue individualmente extraída del medio de cultivo y se colocó en 20µL de agua destilada y lisadas a 95°C durante 5 minutos, posteriormente se enfriaron en hielo y centrifugadas a 4°C, 4000 RPM, durante 30 minutos.

Los lisados fueron utilizados como ADN templado para las subsecuentes reacciones de PCR. Se utilizó la enzima *Exo-SAP It* (USB Corp., Cleveland, OH) para limpiar el producto de PCR antes de la secuenciación en un CEQ™ 8000 DNA Analyzer (Beckman-Coulter, Inc., Fullerton, CA) empleando reactivos y protocolos de Beckman-Coulter.

Las secuencias generadas empleando los iniciadores M13 para ambas direcciones (Promega Corp., Madison, WI) fueron editadas por medio del consenso de las cadenas complementarias y la revisión de sus cromatogramas mediante el módulo de análisis de

secuencias del Software CEQ™ 8000. Las secuencias que presentaron microsatélites fueron seleccionadas para el diseño de iniciadores.

Se diseñaron iniciadores específicos mediante el Software Primer3 (Rozen y Skaletzky, 2000). A cada iniciador delantero (forward) diseñado se le agregó una cola marcada con tinte de M13 en el extremo 5' GAGTTTTCCCAGTCACGAC, para reducir costos e incrementar la fidelidad de los iniciadores durante la caracterización de los nuevos juegos de iniciadores diseñados. La amplificación se realizó en volúmenes de 10 µl empleando Promega PCR Master Mix (Promega Corp., Madison, WI), 0.4 µM 5' primer, 0.8 µM 3' primer, 0.4 µM tinte, M13 primer, y 20-40 ng de ADN templado. Las condiciones de PCR fueron: 3 minutos a 95° C para desnaturalizar. Seguidos de 32 ciclos tipo *touchdown* (la temperatura de alineación cambió 2° C en cada ciclo) comenzando con 30 segundos a 94° C, 30 segundos de temperatura de alineación entre 50-60°C, y 30 segundos a 72°C de extensión. Se empleó un termociclador MJ Research PTC-100 (Bio-Rad laboratories, Hercules, CA).

El tamaño de los alelos se determinó mediante un secuenciador Beckman Coulter (CEQ™ 8000 DNA Analyzer). Se empleó el programa computacional del secuenciador para el análisis de los fragmentos así como los reactivos y protocolos de Beckman-Coulter.

Se diseñaron 42 juegos de iniciadores, los cuales fueron probados en 50 muestras de tiburones ballena colectados en Isla Holbox, dichos iniciadores fueron caracterizados mediante análisis de fragmentos siguiendo la metodología antes mencionada.

Mediante el programa computacional Gene Pop 3.4 (Raymond y Rousset, 1995), se estimó el número de alelos por locus, frecuencia de los alelos, heterocigosidad observada y esperada. A su vez, el programa se empleó para la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg, (H-W) el cual prueba la hipótesis que los genotipos diploides observados son el producto de la unión azarosa de los gametos (Excoffier *et al.*, 1992), esto mediante la prueba exacta de Fisher a partir de la estimación del coeficiente de endogamia (F_{is}) empleando algoritmos

de cadenas de Markov con 10,000 demorizaciones, 100 archivos (batches) y 1,000 iteraciones. Finalmente, para realizar la prueba de desequilibrio de ligamiento entre los diferentes pares de loci se usó una prueba que supone que los loci son independientes y que siguen la herencia mendeliana (Excoffier *et al.*, 1992). El método se basa en cadenas de Markov aplicando una prueba exacta de Fisher, los parámetros empleados fueron 10,000 permutaciones con una significancia de 0.05 comparando locus por locus entre todas las poblaciones.

6.1.2 Análisis poblacional

6.1.2.1 Obtención de muestras

Para el análisis de genética a escala mundial se analizaron 422 muestras de tiburones ballena. Las muestras del Golfo de California (N=82), Isla Holbox (N=253) y Filipinas (N=21), fueron obtenidas nadando y mediante el empleo de un arpón Hawaiano con una punta modificada (Ramírez-Macías *et al.* 2007), para ello se obtuvo permiso de colecta científica por parte de la Dirección General de Vida Silvestre, en México y se obtuvo un permiso similar para la colecta en Filipinas, con el apoyo de Ángela Quirós. Las muestras fueron conservadas en alcohol al 98% y congeladas a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras de Mozambique (N=32), Australia (N=14) y Djibuti (N=20) fueron obtenidas con el apoyo de otros investigadores (Manta Ray & Whale Shark Research y Australian Institute of Marine Science). Todas las muestras extranjeras se importaron a México, para lo cual se obtuvieron permisos CITES tanto de importación como de exportación. La figura 1 muestra la localización del área de colecta y el número de muestras por localidad.

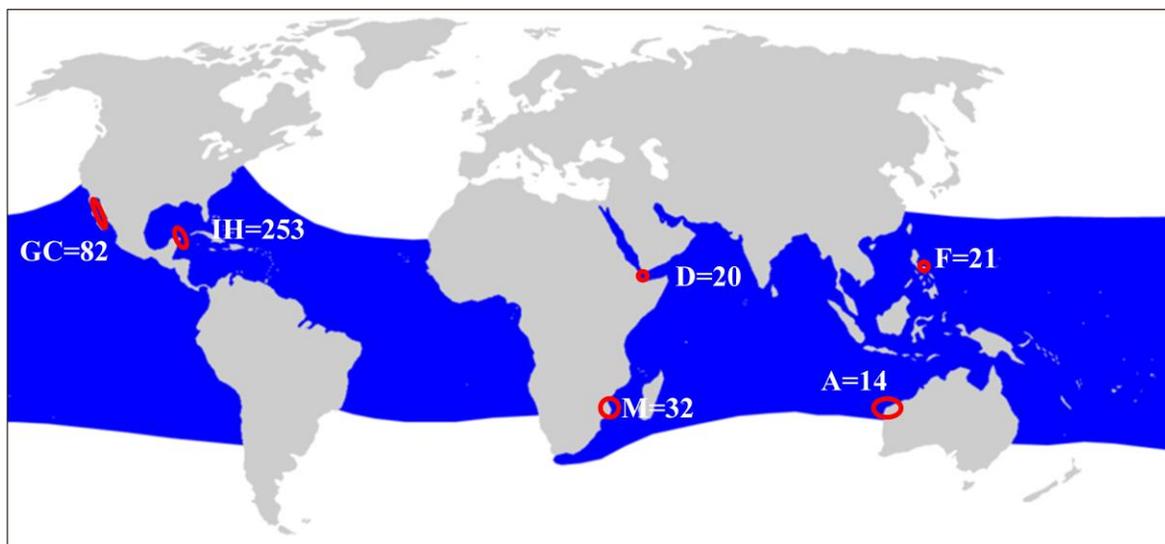


Figura 1. Localidades de colecta. Golfo de California (GC), Holbox (H), Dijibuti (D), Mozambique (M), Australia (A), Filipinas (F).

6.1.2.2 Trabajo de Laboratorio

Se extrajo el ADN total de todas las muestras siguiendo la metodología antes mencionada (Sambrook *et al.*, 1989). Todas las muestras fueron amplificadas con nueve pares de iniciadores específicos diseñados siguiendo la metodología antes mencionada y publicada en (Ramírez-Macías *et al.*, 2009).

6.1.2.3 Análisis de datos

A partir de los datos de alelos de cada locus se generó la base de datos para los distintos formatos de los programas utilizando MsTools (Park, 2001) y GenAlEx 6.41 (Peakal y Smouse, 2006) para el programa Excel.

Se valoró si existe error en la determinación de alelos en todas las muestras y la presencia de alelos nulos mediante el programa computacional Micro-Checker (Van Oosterhout *et al.*, 2004).

6.1.2.3.1 Variabilidad genética del tiburón ballena por localidad

Para cada localidad se obtuvieron niveles de variabilidad genética expresada en términos de número de alelos (N_a), alelos efectivos (N_E), riqueza alélica (R), heterocigosidad esperada (H_e) y heterocigosidad observada (H_o), así como el índice de endogamia (F_{IS}). Estas estimaciones se realizaron mediante el programa Genetix Ver. 4.01 (Belkhir *et al.*, 1998). A su vez para cada localidad se determinó si existía ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) siguiendo la metodología antes mencionada.

El análisis de equilibrio de H-W prueba la hipótesis nula que predice la existencia de panmixia; es decir, que las poblaciones son genéticamente homogéneas, dado que los individuos que constituyen a la población se reproducen sexualmente al azar y mantienen las frecuencias alélicas y genotípicas constantes generación tras generación. El índice de consanguinidad F_{IS} puede emplearse como una prueba de desviación de panmixia y por tanto al equilibrio de H-W ($F_{IS}=0$), donde se asume la ausencia de cambio con un balance entre la deriva génica y la mutación; por su parte la hipótesis alternativa indicaría ausencia de panmixia ($F_{IS} \neq 0$), no existiendo reproducción al azar en las poblaciones y por tanto fuera de equilibrio de H-W. El estimador F_{IS} varía entre -1 y +1, cuando es un valor negativo indica que existe un exceso de heterocigotos en la población, mientras que si el valor es mayor a cero, indica un déficit en heterocigotos.

6.1.2.3.2 Estructura genética poblacional del tiburón ballena

La identificación de la estructura genética poblacional se abordó por diferentes métodos. Se realizó un análisis factorial de correspondencia como método exploratorio para visualizar si existen diferencias entre los genotipos de las diferentes localidades; esto mediante el programa computacional GENETIX 4.05 (Belkhir *et al.*, 2000).

La diferenciación poblacional también fue estimada mediante análisis de varianza molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés) empleando el programa computacional Arlequin (Schneider *et al.*, 2000), la significancia se probó con 10,000 permutaciones. El

AMOVA calcula los componentes de variancia genética y un análogo al F-estadístico jerárquica, el F_{ST} y prueba la significancia de la variancia observada mediante el método de permutaciones (Schneider *et al.*, 2000). El valor de F_{ST} estadístico es comúnmente utilizado para medir la subdivisión poblacional (Avice, 2004). En este análisis, los individuos son asignados a poblaciones y las poblaciones son anidadas en grupos.

Se realizaron tres diferentes modelos de AMOVA, en donde las localidades se agruparon bajo diferentes criterios con el fin de maximizar la variancia entre grupos:

1. Modelo A. Las localidades se tomaron como unidades poblacionales individuales (Golfo de California vs Filipinas vs Australia vs Djibuti vs Mozambique vs Holbox).
2. Modelo B. Las localidades se agruparon con base en los océanos: océano Pacífico (Golfo de California, y Filipinas) vs océano Índico (Australia, Djibuti y Mozambique) vs océano Atlántico (Isla Holbox).
3. Modelo C. Las localidades se agruparon considerando su grado de diferenciación genética obtenida mediante los estimadores de F_{ST} por pares de poblaciones, agrupando aquellas poblaciones que no son significativamente diferentes. (Golfo de California) vs (Australia, Djibuti, Mozambique y Filipinas) vs (Isla Holbox).

El índice de fijación F sirve para cuantificar el efecto de endogamia en una población subestructurada; a su vez, es utilizado para determinar estructura genética poblacional en organismos diploides en términos de tres correlaciones alélicas: F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} (Hartl y Clark, 1997; Avice, 2004). Mediante el programa computacional GENETIX 4.05 (Belkhir *et al.*, 2000) se calculó valores de F_{ST} pareados para todas las poblaciones y para todos los pares de poblaciones utilizando el estimador θ de Weir y Cockerman (1984), la significancia fue probada mediante 10,000 permutaciones.

Se analizó el efecto de alelos nulos en las estimaciones de F_{ST} mediante el programa computacional FreeNA (Chapuis y Estoup, 2007), el cual corrige los datos genotípicos para alelos nulos y recalcula los valores de F_{ST} (Weir y Cockerman, 1984). La riqueza alélica

fue calculada y corregida para el tamaño mínimo de muestra utilizando el programa computacional FSTAT (Goudet, 2001) mediante un re-muestreo de 10 000 y corregido a N=13 individuos (menor número de muestra).

Se determinó si existen diferencias en las frecuencias alélicas entre las diferentes localidades mediante la prueba exacta de homogeneidad de frecuencias alélicas según Raymond y Rousset (1995) empleando el programa Gene Pop 3.4. Donde se prueba la hipótesis nula de que los alelos se encuentran en igual frecuencia en todas las poblaciones analizadas (Golfo de California, Filipinas, Australia, Djibuti, Mozambique y Holbox) utilizando pruebas exactas de Fisher de manera pareada entre poblaciones. El análisis se basa en algoritmos de Cadenas de Markov, los parámetros empleados fueron 10,000 demorizaciones, 100cadenas de archivos (batches) y 1000 iteraciones.

6.1.2.3.3 Asignación de individuos por métodos Bayesianos.

Se emplearon métodos bayesianos para inferir el número de poblaciones (K) a partir de la información de los genotipos de múltiples loci de cada individuo mediante el programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.*, 2000).

El análisis se basa en un modelo de probabilidades bayesianas, el cual asume que cada grupo es modelado por un juego característico de frecuencias alélicas, donde X denota el genotipo de los individuos muestreados, Z el número de poblaciones o grupos de origen de los individuos y P se refiere a las frecuencias alélicas en todas las poblaciones o grupos formados, donde cada una de las variables representa un vector dimensional (X, Z y P). El principal supuesto de este modelo es que las poblaciones se encuentran en equilibrio de H-W, por lo que cada alelo en cada locus y en cada genotipo es un evento independiente de la distribución de las frecuencias apropiadas. De tal manera que a partir de la distribución de probabilidad $\Pr(Z, P | X) \propto \Pr(Z) \Pr(P) \Pr(X | Z, P)$ se utilizan Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) para inferir Z y P con base en las probabilidades a posteriori. Las simulaciones se llevaron a cabo siguiendo el modelo de poblaciones mezcladas y con

frecuencias alélicas independientes entre poblaciones. Las MCMC consistieron en 100,000 pasos con un periodo de calentamiento de 25,000. Se probaron valores de K de 1 hasta 6 con 30 iteraciones para cada valor de K.

Se calculó el estadístico ΔK (Evanno *et al.*, 2005) que es la tasa de cambio en el logaritmo de la probabilidad de los datos entre los valores sucesivos de K.

6.1.2.3.4 Aislamiento por distancia

Se realizó una prueba de Mantel para probar si existe una correlación entre las distancias geográficas con las distancias genéticas, mediante el programa computacional ISOLDE dentro del programa GENEPOP en línea (Raymond y Rousset, 1995). En la prueba se consideran los valores de F_{ST} linearizados $F_{ST}/(1-F_{ST})$ y el ln de las distancias geográficas en Km. Se utilizaron 10,000 permutaciones para calcular el valor estadístico bajo la hipótesis nula de independencia entre las dos variables (distancia geográfica y distancia genética).

6.1.2.3.5 Estimación de número de migrantes

El número de migrantes por generación (Nm) entre las diferentes localidades se estimó mediante el programa Genetix 4.1 (Belkhir *et al.*, 1998). Para su cálculo se empleó la formula descrita por Wright (1951) en el modelo de isla donde $Nm = (1-F_{ST})/(4F_{ST})$, este estimador emplea la varianza estandarizada de todas las frecuencias alélicas y no el numero de alelos privados en cada población analizada, con el cual se relaciona el número de migrantes por generación con los valores de F_{ST} .

6.1.2.3.6 Estimación del tamaño efectivo poblacional

Se realizó la estimación del tamaño efectivo poblacional (N_e), dado que todos los análisis indicaron que Isla Holbox es una población, y en el Indo-Pacífico se encontró una

diferenciación genética baja, se estimó N_e para Isla Holbox y para el Indo-Pacífico. Para la estimación del Indo-Pacífico, estimó N_e juntando todas las localidades para tener una media y además para cada localidad con el fin de tener un rango. N_e se estimó de acuerdo con en el modelo de mutación de alelos infinitos y el modelo de paso a paso.

En el modelo de alelos infinitos se calcula siguiendo la fórmula: $N_e = (H/1-H) / 4\mu$, donde H es la heterocigosidad esperada y μ representa la tasa de mutación del marcador empleado, esta fórmula ha sido empleada en trabajos con microsatélites en peces (García de León *et al.*, 1997). Para la estimación de la media del Indo-Pacífico se calculó la H de todas las muestras, mediante la metodología antes mencionada y una tasa de mutación de 1×10^{-3} la cual fue empleada con anterioridad en el trabajo previo de microsatélites en tiburón ballena (Schmidt *et al.*, 2009).

En el modelo de paso a paso N_e se estimó a partir del parámetro poblacional $\theta_H = (1/(1-H)^2) - 1$, donde H es igual a la heterocigosidad esperada, por su parte $N_e = \theta_H / 4\mu$, donde N_e es el tamaño efectivo poblacional y μ es la tasa de mutación del marcador (1×10^{-3}), θ_H se calculó mediante el empleo del programa computacional Arlequin (Schneider *et al.*, 2000) de cada localidad y del Indo-Pacífico.

6.2 ESTIMACIÓN DE ABUNDANCIA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL POR SEXO Y TALLAS

6.2.1 Área de Estudio

6.2.1.1 Isla Holbox

Isla Holbox se encuentra en la punta norte de la Península de Yucatán, en el Estado de Quintana Roo (Fig. 2). Se encuentra ubicada en una zona de transición entre el Golfo de México y el mar Caribe. Está influenciada por la corriente de lazo con aguas provenientes

del fondo y la corriente del Mar Caribe, caracterizada por tener una baja saturación de oxígeno. La temperatura superficial del mar varía entre 22 y 30 °C. La salinidad varía entre 32 ‰ durante la época de lluvias debido al aporte de agua dulce de las mismas y 37 ‰ (Reyes, 2004). En la zona se han registrado 141 especies de fitoplancton, que durante las épocas secas presentan la riqueza más alta debido a eventos de surgencias. En cuanto al zooplancton, se registran 28 grupos, con una menor biomasa en el mes de Mayo y mayor durante el mes de Septiembre (Reyes, 2004).

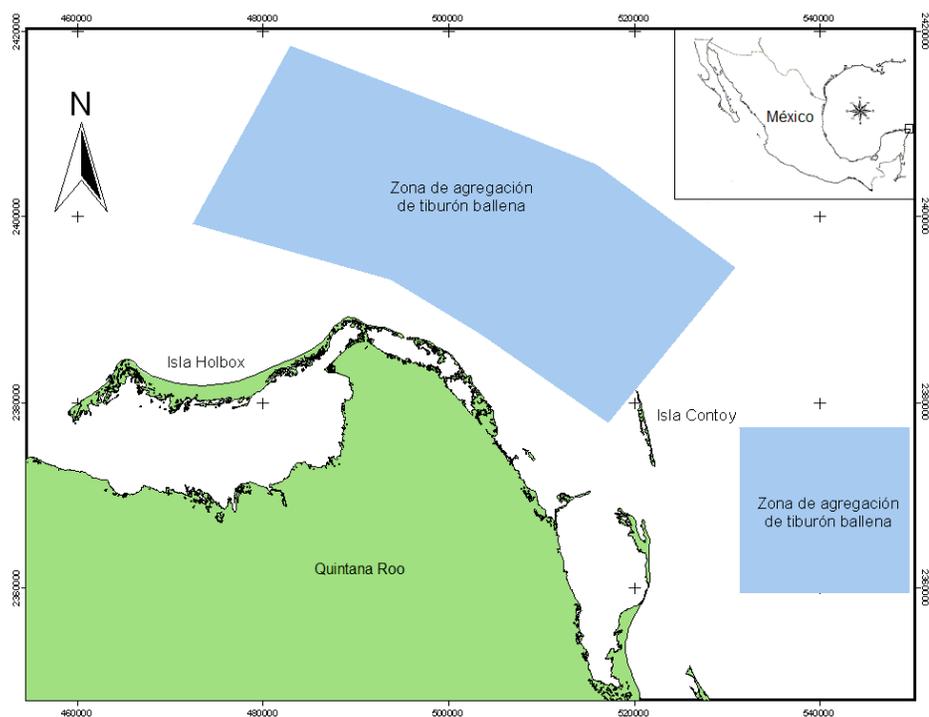


Figura 2. Localización de la zona de agregación de tiburón ballena en Isla Holbox.

6.2.1.2 Golfo de California

El área de estudio incluye a Bahía de Los Ángeles (BLA) en la región de las grandes islas del Golfo de California, a la Bahía de la Paz (BLP) tanto aguas costeras y alrededor de la Isla Espíritu Santo (IES) en la región del Golfo Medio y a Bajo Gorda (BG) en la región de la boca del Golfo (Fig. 3).

El Golfo de California es una cuenca considerada como un mar marginal en conexión con el Océano Pacífico, está situado en el noroeste de la República Mexicana entre las coordenadas 23° y 32° de Latitud Norte y 107° y 115° de Longitud Oeste (Fig. 3). Se encuentra limitado al Oeste por la península de Baja California y al Este por las costas de los estados de Sonora y Sinaloa (Licea *et al.*, 1995). El área ocupada por el Golfo es de 150,000 km², teniendo una longitud aproximada de 1,000 km y 150 km de amplitud promedio, constituyendo un volumen cercano a los 123 km³ de agua (Licea *et al.*, 1995).

El Golfo de California está sujeto a un forzamiento dinámico por el Océano Pacífico a través de la boca; además de las mareas, entran al Golfo 1) ondas internas, 2) perturbaciones causadas por huracanes, 3) ondas de origen ecuatorial atrapadas en la costa, 4) una invasión anual de agua superficial ecuatorial, 5) oscilaciones de periodo muy largo como El Niño. Sin embargo, dentro del Golfo existen procesos físicos regionales y locales como arrastre y mezcla por vientos, mezcla por mareas, intercambios de calor, evaporación, entre otros, que afectan la dinámica y alteran las características del agua siendo estas particulares y diferentes a la del Pacífico (Lavin *et al.*, 1997).

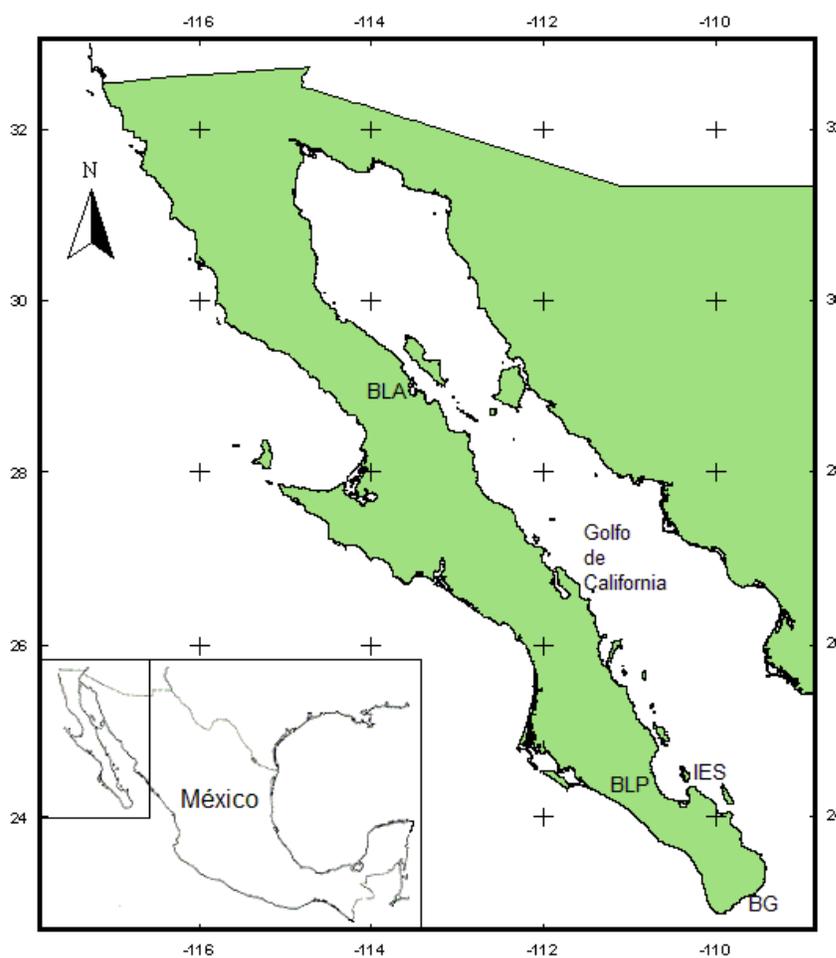


Figura 3. Área de estudio Golfo de California. (BLA) Bahía de los Ángeles, (BLP) Bahía de la Paz, (BG) Banco Gorda, (IES) Isla Espíritu Santo, (BC) Baja California.

6.2.2 Trabajo de campo

La información utilizada en el presente trabajo incluye datos colectados con anterioridad en el Golfo de California (Ramírez-Macías et al., 2007) y colectados durante la realización del proyecto “Variabilidad genética y hábitats críticos del tiburón ballena (*Rhincodon typus*) en dos localidades aisladas: Caribe (Isla Holbox) y Pacífico (Golfo de California)”, además de datos colectados durante el presente trabajo. El periodo de estudio en Isla Holbox fue de Julio-Agosto del 2005 al 2008, los datos del 2007 y 2008 fueron colectados por el “Proyecto Domino”. En el Golfo de California, el periodo de estudio en aguas costeras de la Bahía de La Paz comprende de Noviembre de 2003 a Julio del 2010, donde las salidas se

llevaron a cabo en los meses de agregación. Las observaciones alrededor de la Isla Espiritu Santo se llevaron a cabo en los años 2004-2009 en los meses de Mayo y Junio. Las salidas de campo en Bajo Gorda comprenden los años 2003, 2005-2007, en los meses de Abril a Junio, el mes dependió de la presencia de tiburón ballena en la zona. Por su parte el periodo de estudio en Bahía de los Ángeles comprende los años 2003- 2004, 2006-2007, en el mes de octubre, además se analizaron datos de las temporadas completas del 2008 (Julio- Noviembre) y 2009 (Mayo- Noviembre), que fueron colectados por la asociación de pesca deportiva y ecoturismo de Bahía de los Ángeles.

Las observaciones en campo se realizaron en embarcaciones tipo panga con motores fuera de borda. La fecha, hora, posición geográfica del avistamiento fue determinada con un Posicionador Geográfico Global (GPS) y la temperatura superficial del agua del mar se registro anotaron en formas previamente diseñadas.

Se empleó la foto-identificación para estimar la abundancia y tamaño poblacional con base en análisis de captura-recaptura. En Isla Holbox esta técnica fue complementada con el marcaje convencional, dado que en esta localidad los tiburones ballena son muy abundantes.

Las marcas fueron hechas de lámina de plástico amarillo numeradas secuencialmente. Cada marca es sujeta en la base por un monofilamento, el cual a su vez une a la marca con un ancla de acero inoxidable que entra en el tiburón y sujeta a la marca (Graham y Roberts, 2007; Rowat *et al.*, 2009). La leyenda de Proyecto Domino con su sitio de internet estaba en la marca para indicar el origen y el contacto. Todos los tiburones fueron marcados del lado izquierdo en la base de la aleta dorsal, lo cual se hizo nadando y usando equipo básico de buceo y mediante el empleo de un arpón hawaiano.

La foto-identificación se realizó con base en la metodología propuesta por Taylor (1994) siendo importante el área posterior a las aberturas branquiales izquierdas y derechas, a su vez se registraron características distintivas como cicatrices y heridas.

La longitud total (LT, punta de la boca al final de la aleta caudal) fue estimada colocando la embarcación (previamente marcada) paralelamente al tiburón o midiendo directamente al individuo con una cinta métrica, realizado por dos nadadores. El sexo se determinó por la presencia o ausencia de gonopterigios, en algunos casos no se pudo determinar el sexo, por lo que estos tiburones se consideraron dentro de la categoría de indeterminado. La morfología externa de los gonopterigios fue empleado para determinar la madurez sexual del tiburón. Todas las cicatrices presentes en los organismos a su vez fueron registradas y fotografiadas.

6.2.3 Comparación de fotografías

Las fotografías fueron organizadas en un archivo fotográfico, siendo divididas en tres grupos basados en el sexo (macho, hembra e indeterminado). Las imágenes fueron comparadas empleando el software computacional I³S (den Harton y Reijns, 2004) y confirmadas visualmente siguiendo las instrucciones de Speed *et al.* (2008). Cuando las fotografías no se podían comparar usando el I³S, se compararon visualmente empleando tanto el patrón de coloración como cicatrices y marcas convencionales.

Un problema potencial que ocurre en este procedimiento es de clasificar dos veces al mismo tiburón cuando únicamente se tomó fotografía de un solo lado del tiburón, lo cual aumenta artificialmente el tamaño de la base de datos. La mayor parte de los tiburones fueron fotografiados del lado izquierdo y fue posible clasificarlos como individuos. Aquellos tiburones que fueron fotografiados únicamente del lado derecho y sin ninguna característica distintiva como cicatrices fueron descartados del análisis.

6.2.4 Identificación de cicatrices

Un gran número de tiburones presentaron cicatrices tanto en aletas como en el cuerpo. Se siguió el criterio de clasificación de cicatrices mencionado por Speed *et al.* (2008): 1) abrasiones, 2) laceraciones, 3) muesca, 4) mordida 5) trauma, 6) amputación y 7) otros (Fig. 4). Cada imagen fue clasificada a una o varias categorías según la inspección visual.

Cuando las fotografías incluían cicatrices fueron empleadas también para la identificación del tiburón. De acuerdo con Speed et al. (2008) las laceraciones, amputaciones y traumas son causadas por embarcaciones, en el presente trabajo también se incluyeron las abrasiones como resultado del contacto con las embarcaciones.

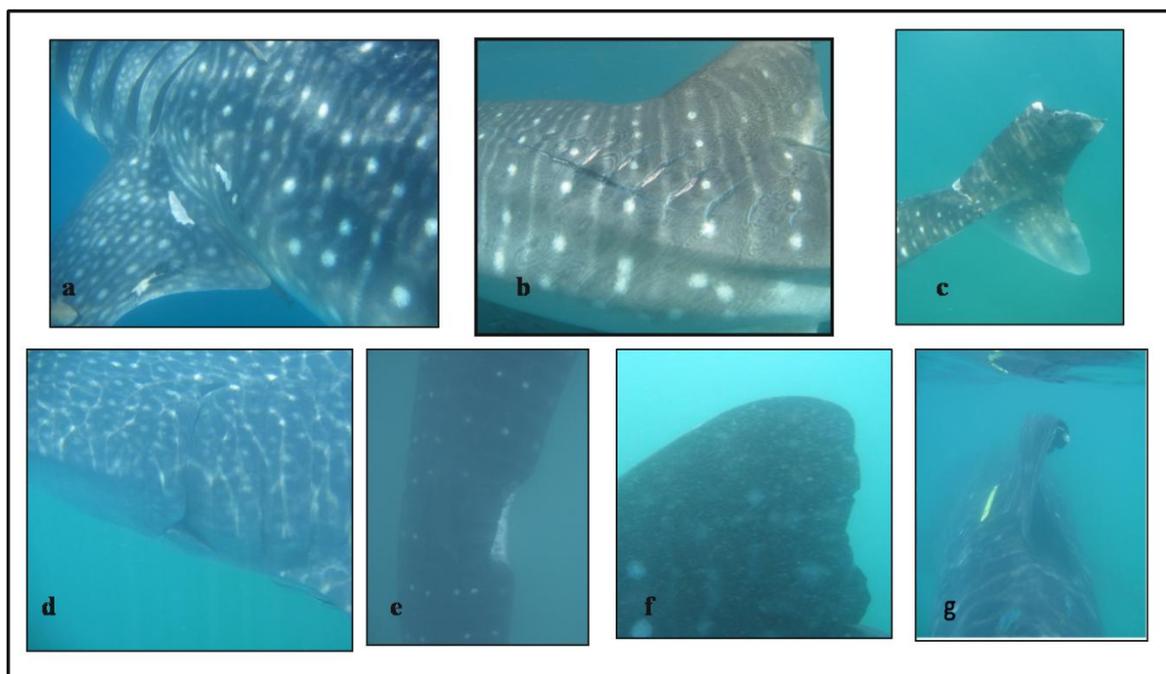


Figura 4. Clasificación de cicatrices por categoría. a) abrasiones, b) laceraciones, c) amputaciones, d) golpes e) mordidas f) muescas, g) otros.

6.2.5 Estructura poblacional por sexo y tallas, estimación de la talla de madurez

La morfología del gonopterigio puede ser empleada de una forma no invasiva para determinar la madurez sexual en tiburones machos (Joung y Chen, 1995; Norman y Stevens, 2007). Los gonopterigos son cortos, suaves y lisos en tiburones inmaduros; mientras que son más grandes y calcificados durante la madurez (Norman y Stevens, 2007).

Los tiburones ballena machos fueron clasificados con base en la morfología externa de los gonopterigos como inmaduros si los gonopterigos eran más cortos que las aletas pélvicas y lisos, o maduros si los gonopterigos estaban elongados y más largos que las aletas pélvicas (Norman y Stevens, 2007. Fig. 5).

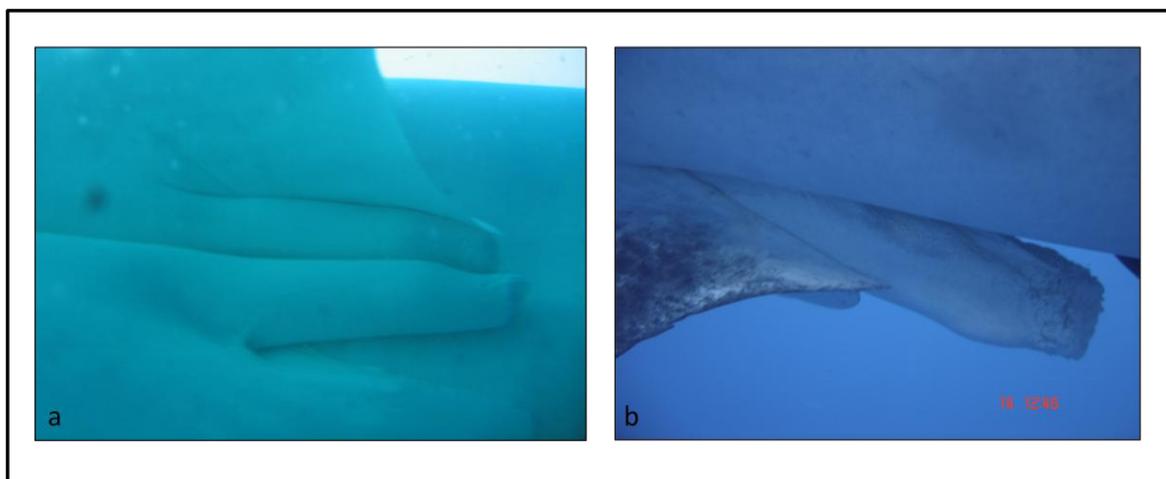


Figura 5. Morfología de gonopterigos a) inmaduros, b) maduros.

En el análisis se incluyeron aquellos tiburones de los que se tenía foto del gonopterigio o las anotaciones sobre la madurez tomadas en campo. La longitud total en la que el 50% (L_{50}) y 95% (L_{95}) (incluyendo su 95% del límite de confianza) de los tiburones ballena fueron maduros fue determinado para estimar la talla de madurez sexual, mediante un análisis de regresión logística, de la proporción de tiburones maduros en cada longitud total. La probabilidad de que un tiburón ballena sea maduro es P_L : (Smith *et al.*, 2004; Norman y Stevens, 2007).

$$P_L = \frac{1}{1 + e^{-\ln 19(L - L_{50}) / (L_{95} - L_{50})}} \quad (1)$$

Donde P_L es la proporción de tiburones ballena con gonopterigos maduros, en un intervalo de longitud L , mientras que L_{50} y L_{95} son las longitudes en las cuales el 50 y 95% de la población son maduros. De acuerdo con Norman y Stevens (2007) la talla de madurez en machos y hembras es igual, por lo que la talla de madurez calculada para machos fue la misma empleada en hembras. Una vez que se determinó la talla de madurez, todos los tiburones sexados fueron divididos en 2 clases: juveniles si la $LT \leq$ media LT ó maduros si la $LT >$ media, con la finalidad de examinar diferencias temporales en la distribución de clases de madurez. La hipótesis nula para probar si existen diferencias en las frecuencias de

clases (como sexo y talla) sobre el tiempo (años y meses) fueron probadas usando una prueba de independencia G.

6.2.6 Estimación del tamaño poblacional

La estimación del tamaño de la población se puede hacer mediante métodos absolutos o relativos. En los absolutos el resultado final es un valor exacto (junto a su correspondiente medida de error de la estimación), obtenido después de capturar una muestra representativa de la población. Los métodos relativos por el contrario, permiten comparar la abundancia entre diferentes espacios, pero no calcular el número o densidad real. Entre los métodos absolutos más habituales para el estudio de las poblaciones de peces están los métodos de marcaje-recaptura (Schwarz y Seber, 2001).

En el presente estudio se empleó el método de marcaje-recaptura para estimar el tamaño de la población. Esta técnica consiste en realizar un primer muestreo en donde se capturan y marcan una serie de individuos de la población y se liberan. En el caso del tiburón ballena la foto-identificación es el “marcaje”, donde no se requiere de capturar a los individuos. Posteriormente se hace un segundo muestreo, donde se capturan una serie de individuos de la misma población y se analiza la relación entre los recapturados con respecto al número total de capturados para estimar el tamaño de la población. Se recomienda hacer al menos tres muestreos. Al final cada individuo tendrá una historia de captura (Schwarz y Seber, 2001).

Los métodos de marcaje-recaptura presentan una serie de inconvenientes, como requerir un elevado esfuerzo de muestreo, una inversión económica de marcas y ofrecer estimaciones de baja precisión. A pesar de ello son muy utilizados ya que además de estimar la densidad permiten calcular la tasa de supervivencia y obtener información individual de aspectos como la tasa de crecimiento, desplazamientos o selección de hábitat.

Mediante el programa Mark (White y Burnham, 1999), se estimó la abundancia de los tiburones ballena por medio del modelo de Jolly-Seber (Ec. 2; Schwarz y Seber, 2001; Swarz, 2001) para poblaciones abiertas, dado que considera emigración, mortalidad, inmigración y reclutamiento dentro del área de estudio. Dado que el tiburón ballena se agrega estacionalmente tanto en Isla Holbox y el Golfo de California, además se han reportado movimientos de tiburones ballena marcados en el Golfo de California hacia el Pacífico (Eckert y Stewart, 2001) así como movimientos entre de tiburones marcados en el Caribe entre Utila, Belice, Isla Holbox y Golfo de México (Graham y Roberts, 2007; Gifford *et al.*, 2007).

Los supuestos del modelo son:

1. Muestras aleatorias.
2. Cada individuo tiene la misma probabilidad de ser capturado en el muestreo (sean o no marcados).
3. Cada individuo marcado tiene igual probabilidad de sobrevivir desde la ocasión i de muestreo hasta el suceso $i + 1$ de muestreo, así como de estar presente en la población en el acontecimiento $i + 1$ (dado que el individuo puede abandonar o estar en la población inmediatamente después de que fue marcado y liberado en el suceso i de muestreo).
4. Cada individuo capturado en el muestreo y puesto en libertad tiene la misma probabilidad de ser regresado a la población.
5. Los individuos no pierden sus marcas y las marcas no son sobrepuestas en la captura en caso de ser nuevamente atrapados, se consideran como recapturas.
6. El tiempo de muestreo es insignificante en relación a los intervalos entre los muestreos.
7. El área de estudio es constante.

Los estadísticos del modelo de Jolly Seber son:

n_i = Número de individuos foto-identificados en la muestra i ($i= 1, \dots, k$); tanto marcados como no marcados $n_i=m_i+u_i$

u_i = Número de individuos no marcados en la muestra i .

m_i = Número de individuos foto-identificados en $i-1$ que son foto-recapturados en la muestra i ($i= 2, \dots, k$).

R_i = En caso de realizar capturas físicas, es el número de individuos liberados de los que se capturaron en n_i ($i = 1, \dots, k-1$), en este caso es igual que n_i debido a que los organismos son foto-identificados.

r_i = Número de individuos foto-identificados en R_i en este caso n_i que son foto-recapturados en las muestras posteriores ($i=2, \dots, k-1$).

z_i = Número de individuos foto-recapturados antes y después de la muestra i , pero no en la muestra i ($i=2, \dots, k-1$);

Los parámetros del modelo son:

M_i = número de individuos foto-identificados en la población después de la muestra $i+1$

N_i = número total de individuos en la población en el tiempo en el cual es tomada la muestra i

B_i = número de nuevos entrantes a la población entre la muestra i y la muestra $i+1$

ϕ_i = probabilidad de sobrevivencia entre las muestras i e $i + 1$

p_i = es la probabilidad de captura en la muestra i

En la formulación del modelo de Jolly-Seber el proceso poblacional puede modelarse como en la figura 6. El parámetro p_i es la probabilidad de capturar tanto a los animales marcados como a los no marcados que están vivos en la ocasión i , el parámetro ϕ_i se refiere a la probabilidad de sobrevivencia de los animales marcados y no marcados entre las ocasiones i e $i + 1$.

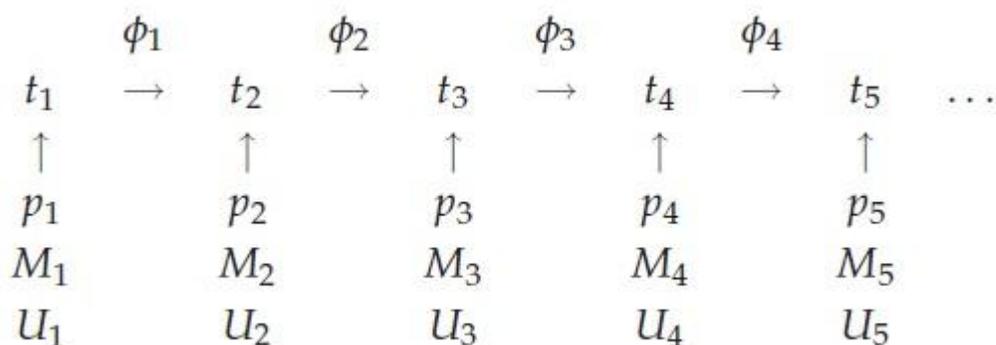


Figura 6. Proceso experimental del modelo de Jolly Seber. El parámetro p_i es la probabilidad de captura en la muestra i , ϕ_i es la probabilidad de sobrevivencia entre la muestra i y la muestra $i + 1$. M_i y U_i son el número de individuos vivos marcados y no marcados en la muestra i .

El número de individuos marcados en la población después de la muestra $i+1$ se representa en la ecuación 2.

$$M_{i+1} = (M_i + u_i) \phi_i \quad (2)$$

El número de nuevos entrantes a la población entre la muestra i y la muestra $i+1$ se define como:

$$B_i = U_{i+1} - \phi_i (U_i - u_i) \quad (3)$$

El valor B_i se refiere al número *neto* de nuevos entrantes a la población entre el muestreo i y la muestra $i+1$. El termino número *neto* de nuevos entrantes, implica los individuos entrantes entre dos muestreos. Como en el modelo Cormack-Jolly-Seber el término de sobrevivencia se refiere a la aparente sobrevivencia –emigración permanente es indistinta y tratada igual que mortalidad. Similarmente, el termino nacimientos se refiere a cualquier individuo nuevo que entra en la población independientemente si fue por nacimiento o inmigración.

El estimador del índice de sobrevivencia se puede calcular mediante la ecuación 4:

$$\hat{\phi} = \frac{\hat{M}_{i+1}}{\hat{M} - m + R_i} \quad (4)$$

La probabilidad de captura puede estimarse mediante la ecuación 5:

$$\hat{p} = \frac{m_i}{\hat{M}_i} = \frac{n_i}{\hat{N}_i} \quad (5)$$

Se empleó la opción POPAN en el programa MARK (White y Burnham, 1999) para estimar la abundancia. El programa POPAN es la parametrización del modelo Jolly-Seber (Schwarz y Arnason, 1996) que es particularmente robusto. Schwarz y Arnason (1996) postulan que existe una super-población (N) conformada por todos los individuos que nacieron en la población y el parámetro B_i (probabilidad de que un individuo de esta super-población entre en la población entre la muestra i y en la muestra $i + 1$ (Fig. 7, White y Burnham, 1999)). Para las ocasiones de captura t el modelo provee el estimador $t - 1$ para ϕ (sobrevivencia aparente), el estimador t de p (la probabilidad de captura dada si el individuo está vivo y está disponible para ser capturado), el estimador $t - 1$ de b (la probabilidad de entrar en la población por ocasión), y N (el tamaño poblacional ó super-population size). Los modelos fueron linearizados usando la función *logit* para $\hat{\phi}$ y \hat{p} . Para la estimación del tamaño poblacional no se calcularon los valores de p , b y ϕ dentro del modelo de Cormack-Jolly-Seber. Este modelo es general y está restringido para estimar la tasa de supervivencia aparente (ϕ) y la tasa de recaptura (p), las cuales varían en función del tiempo (t), es decir, incluye estimaciones para cada ocasión de encuentro. Estos parámetros pueden ser modelados en función de variables auxiliares como el sexo de los individuos, o la edad entre otros. En el presente trabajo se consideraron que ϕ , b y p son constantes en el tiempo (.).

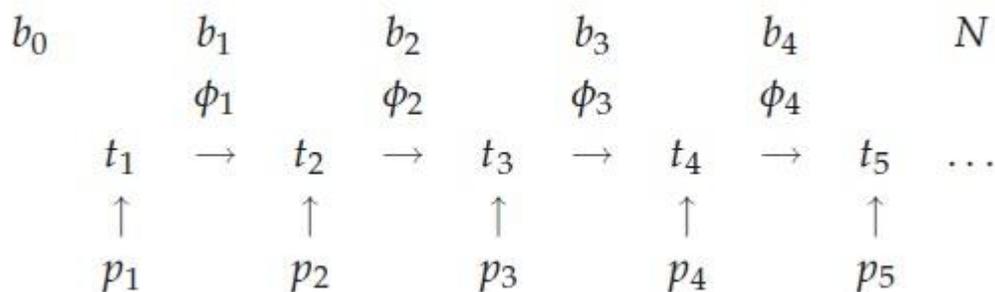


Figura 7. Proceso del modelo empleando la parametrización POPAN en el modelo de Jolly-Seber. p_i es la probabilidad de captura en la muestra i , ϕ_i es la probabilidad de sobrevivencia entre la muestra i y la muestra $i + 1$. b_i es la probabilidad de que un individuo de la super-población N entre en la población entre la muestra i y la muestra $i+1$ y sobreviva al próximo muestreo $i+1$.

La probabilidad de que un individuo de la super-población N entre a la población entre las ocasiones i e $i+1$ y sobreviva al próximo muestreo $i+1$ se calcula con la ecuación 6.

$$b_i = \frac{B_i}{N} \quad (6)$$

N =número total de individuos que entraron en la población y sobrevivieron hasta el próximo muestreo.

Una vez que se tienen los estimadores p , ϕ , b , N es estimado de los nacimientos a partir de $B_i = N b_i$ de esta forma se obtiene la estimación del tamaño poblacional:

$$\begin{aligned} N_1 &= B_0 \\ N_2 &= N_1 \phi_1 + B_1 \end{aligned} \quad (7)$$

Si ocurren pérdidas de individuos, son removidas antes de que el tamaño poblacional en el muestreo sea propagado al muestreo $i+1$.

En este caso, la estimación se realizó entre muestras anuales, tomando en cuenta también sólo un registro por individuo en cada muestra.

Para realizar las estimaciones en el programa MARK se requiere de las historias de captura de los individuos, en las cuales están registradas las veces en que cada individuo se ha fotografiado durante el periodo de estudio. En este historial el número 1 representa las ocasiones en las que se ha fotografiado y 0 en las que no ha sido así, durante las 6 ocasiones de encuentro en el Golfo de California (2003 a 2009); por ejemplo:

Individuo 01 0111111

Individuo 02 0111101

Las historias de capturas se construyeron con las fotos de buena calidad. Los años analizados en Isla Holbox fueron del 2005 al 2008 para Isla Holbox, 2003 al 2009 en el Golfo de California y 2004 al 2009 en la Bahía de la Paz.

6.2.7 Estimación de abundancia anual

Se estimó la abundancia anual en Isla Holbox, Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles. Se construyeron historias de capturas de cada año tomando en cuenta las recapturas (foto-identificación) de cada temporada. En el análisis de Isla Holbox se incluyeron las recapturas del marcaje, pero únicamente de los organismos foto-identificados y tomando en cuenta las recapturas de investigadores y de los prestadores de servicios turísticos. Cada temporada se dividió quincenalmente para la construcción de las historias de recaptura de cada tiburón foto-identificado. Se determinó la abundancia anual mediante el programa Mark siguiendo la metodología antes mencionada.

7. RESULTADOS

7.1 ANÁLISIS GENÉTICO

7.1.1 Aislamiento de microsatélites

Un total de 624 colonias fueron aisladas, amplificadas, purificadas y secuenciadas, de estas secuencias se pudieron diseñar 42 iniciadores, los cuales fueron probados con 50 muestras de Isla Holbox. Nueve juegos fueron polimórficos y dieron una alta calidad en el producto de PCR. La tabla I muestra el locus, número de acceso en GenBank, motivos de repetición, tamaño de producto de PCR, número de alelos observados, heterocigotos observados y esperados así como las secuencias de los iniciadores.

Tabla I. Características de 9 loci microsatelitales de tiburón ballena (*Rhincodon typus*): Locus, No. Acceso GenBank, motivos de repetición, tamaño de alelos, número de alelos observados, heterocigosidad observada (H_O) y esperada (H_E), secuencia de iniciadores.

Locus	GenBank	Motivo de repetición	Tamaño de alelos (bp)	No. de alelos	H_O	H_E	Iniciador (5'-3')
Rty_15	EU194373	(CA) ⁹ ... (CA) ⁵ CT (CA) ⁸ ...(CA) ²²	427-467	11	0.523	0.604	F: CTGTTCGCTGTCAGATGTTG R: GGAAGCTGGTCTTTG
Rty_16	EU194372	(G) ¹¹ AAC (AG) ²⁰	235-277	17	0.755	0.857	F: ACGACCACTGGGCATTACAG R: AAGGTTTAATATCCCTAGTTCAGACA
Rty_17	EU194371	(CA) ¹⁷	221-237	4	0.500	0.497	F: AATCAAGGCATTGGTCAGTTG R: TCCCTGTTTTTCAGGCATTT
Rty_18	EU194369	(AC) ¹³	197-207	3	0.380	0.373	F: CAAAAACGCAGACCCATGTA R: CACCAATGAACCTCTGCTGGA
Rty_21	EU194370	(AC) ¹⁰	230-232	2	0.240	0.347	F: AAATCCAAACCCTCCCCTC R: TTTGGGCCAGACCAAGTAAG
Rty_23	EU194368	(CA) ⁹ ... (CT) ⁴ (CA) ¹⁵	188-214	9	0.640	0.762	F: GGTGACATTTTAGGTCCGACA R: AAAGACACCTGTTGGTAGCAG
Rty_31	EU194367	(AG) ¹⁰	267-269	2	0.200	0.213	F: AACGGTGGTTGTCAGCTAGG R: GTTGGACCTTGATGCAGT
Rty_37	EU194375	(CAT) ² CGT (CAT) ¹⁰	202-218	3	0.523	0.535	F: TCAGCCACACACTCATGGAT R: CACCCATGGACTCACCTTG
Rty_38	EU194376	(CA) ¹³	194-202	5	0.826	0.789	F: CGGGTCTACAGCAGGTGAAT R: GACTCCAGACCCACAGCAAT

El número de alelos por locus varió de 2 (Rty_21) a 17 (Rty_16). La heterocigosidad observada varió de 0.020 a 0.82 con una media de 0.51; mientras que la heterocigosidad esperada varió de 0.213 a 0.85 con una media de 0.55. Después de un ajuste de Bonferroni, no se encontró desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0.006$) (Tabla I), concluyéndose que los genotipos diploides observados son el producto de la unión azarosa de los gametos. No se encontró desequilibrio de ligamiento ($p=0.0014$) soportando la suposición que los loci son independientes y heredados bajo las leyes de Mendel.

7.1.2 Análisis poblacional

El análisis de alelos nulos se realizó mediante el programa Micro-Checker, dicho análisis sugirió la posibilidad de existencia de alelos nulos en Djibuti (Rty_16), Filipinas (Rty_16, Rty_15, Rty_37), Mozambique (Rty_16, Rty_31) Golfo de California (Rty_31) y en Holbox (Rty_16, Rty_15, Rty_17, Rty_21, Rty_23, Rty_31), sin embargo, el análisis de la frecuencia de alelos nulos de cada población mostró una frecuencia baja, por lo que pueden ser ignorados para realizar los análisis posteriores (Tabla II).

Tabla II. Frecuencia de alelos nulos (FAN) por localidad para nueve microsatélites probados en seis localidades (D=Djibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox) en el tiburón ballena.

Locus	Localidad	FAN
Rty16	D	0.1117
Rty15	F	0.1935
Rty16	F	0.0766
Rty37	F	0.148
Rty16	M	0.054
Rty31	M	0.1609
Rty31	GC	0.1227
Rty15	H	0.1174
Rty16	H	0.0447
Rty17	H	0.0299
Rty21	H	0.0384
Rty23	H	0.0869
Rty31	H	0.0710

7.1.2.1 Análisis por localidad

El tamaño de muestra varió de 14 (Australia) a 253 (Holbox). El número medio de alelos para todos los loci entre las diferentes localidades varió de 5 (Australia) a 9 (Golfo de California y Holbox). La riqueza alélicas varió de 4.917 (Holbox) a 5.648 (Dijibuti) (Tabla III). Las heterocigosidades promedio mostraron valores cercanos entre las localidades: la heterocigosidad observada por localidad varió en un rango de 0.498 (Holbox) a 0.619 (Dijibuti), mientras que la esperada varió de 0.550 (Australia) a 0.624 (Dijibuti) (Tabla III). El coeficiente de endogamia F_{IS} varió de -0.005 (Dijibuti) a 0.130 (Holbox y Filipinas) (Tabla III).

Holbox, el Golfo de California, Mozambique y Filipinas presentaron una heterocigosidad observada menor a la esperada, lo cual se reflejó en que fueron las localidades fuera de equilibrio de Hardy Weinberg.

Tabla III. Variabilidad genética en 9 loci de microsatélites de tiburón ballena (*Rhincodon typus*) en seis localidades (A=Australia, D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox). A=número de alelos, n=tamaño de muestra, RA=Riqueza alélicas, H_O = heterocigosidad observada, H_E = heterocigosidad esperada, F_{IS} =Coeficiente de endogamia.* Localidades no en equilibrio de Hardy Weinberg.

Locus	Localidad							
		A	D	F*	M*	GC*	H*	Media
Rty_15	A (n)	9 (13)	10 (17)	10 (20)	11 (31)	16 (81)	16 (233)	12 (66)
	RA	9,000	8,959	9,245	9,074	9,506	7,411	8,898
	H_O	0,923	0,824	0,500	0,903	0,815	0,498	0,744
	H_E	0,864	0,836	0,860	0,876	0,872	0,693	0,833
	F_{IS}	-0,029	0,045	0,440	-0,014	0,072	0,283	0,133
Rty_16	A (n)	13 (14)	15 (20)	16 (21)	20 (32)	21 (82)	26 (251)	19 (70)
	RA	12,839	12,925	13,084	13,422	12,595	10,551	12,190
	H_O	0,929	0,750	0,762	0,813	0,915	0,797	0,827
	H_E	0,916	0,910	0,905	0,915	0,918	0,869	0,905
	F_{IS}	0,023	0,201	0,182	0,127	0,009	0,085	0,105
Rty_17	A (n)	3 (14)	4 (20)	4 (21)	4 (32)	4 (82)	6 (253)	4 (70)
	RA	2,997	3,952	3,950	3,645	3,867	3,985	3,937
	H_O	0,286	0,550	0,762	0,563	0,537	0,423	0,520
	H_E	0,401	0,619	0,632	0,547	0,569	0,460	0,538
	F_{IS}	0,320	0,136	-0,183	-0,012	0,062	0,082	0,068

Rty_18	A (n)	3 (14)	4 (20)	3 (21)	4 (32)	4 (82)	4 (253)	4 (70)
	RA	2,997	3,846	2,984	2,952	3,060	2,864	3,058
	H _O	0,357	0,550	0,571	0,375	0,451	0,411	0,453
	H _E	0,401	0,471	0,468	0,365	0,431	0,419	0,426
	F _{IS}	0,145	-0,142	-0,197	-0,011	-0,040	0,022	-0,037
Rty_21	A (n)	2 (14)	3 (20)	2 (21)	2 (32)	4 (82)	3 (253)	3 (70)
	RA	2,000	2,650	2,000	1,998	2,450	2,045	2,144
	H _O	0,357	0,500	0,286	0,281	0,366	0,237	0,338
	H _E	0,293	0,386	0,308	0,285	0,350	0,288	0,318
	F _{IS}	-0,182	-0,271	0,098	0,028	-0,039	0,179	-0,031
Rty_23	A (n)	7 (14)	9 (20)	10 (21)	12 (32)	15 (81)	11 (253)	11 (70)
	RA	6,923	7,792	7,939	9,016	8,268	7,089	7,771
	H _O	0,571	0,650	0,714	0,688	0,741	0,589	0,659
	H _E	0,765	0,789	0,766	0,793	0,772	0,739	0,771
	F _{IS}	0,288	0,201	0,092	0,149	0,047	0,205	0,164
Rty_31	A (n)	2 (14)	3 (20)	3 (21)	3 (32)	4 (82)	5 (253)	3 (70)
	RA	2,000	2,650	2,000	2,798	2,774	2,594	2,607
	H _O	0,214	0,550	0,238	0,250	0,146	0,261	0,277
	H _E	0,191	0,471	0,337	0,490	0,285	0,360	0,356
	F _{IS}	-0,083	-0,142	0,315	0,502	0,491	0,277	0,227
Rty_37	A (n)	2 (14)	3 (20)	3 (21)	3 (32)	3 (82)	3 (245)	3 (69)
	RA	2,000	2,883	2,619	2,798	2,502	2,767	2,712
	H _O	0,500	0,600	0,286	0,469	0,463	0,531	0,475
	H _E	0,477	0,526	0,509	0,541	0,523	0,533	0,518
	F _{IS}	-0,011	-0,115	0,458	0,148	0,120	0,007	0,101
Rty_38	A (n)	5 (14)	6 (20)	4 (21)	6 (32)	6 (82)	6 (246)	6 (69)
	RA	4,926	5,180	3,951	4,708	4,762	4,952	4,969
	H _O	0,643	0,600	0,714	0,656	0,707	0,736	0,676
	H _E	0,643	0,610	0,676	0,667	0,699	0,758	0,675
	F _{IS}	0,037	0,042	-0,033	0,032	-0,005	0,031	0,017
		A	D	F	M	GC	H	Media
Media	A(n)	5 (14)	6 (20)	6 (21)	7 (32)	9 (82)	9 (249)	7 (70)
	RA	5,076	5,648	5,308	5,601	5,531	4,917	5,365
	H _O	0,531	0,619	0,537	0,555	0,571	0,498	0,552
	H _E	0,550	0,624	0,607	0,609	0,602	0,569	0,593
	F _{IS}	0,056	-0,005	0,130	0,105	0,080	0,130	0,083

7.1.2.2 Estructura genética poblacional

El análisis factorial de correspondencia para las localidades permitió distinguir dos grupos ligeramente diferenciados (Fig. 8). El grupo 1 conformado por los organismos de Isla Holbox (izquierda) y el grupo dos conformado por los organismos de los Océanos Pacífico (Golfo de California y Filipinas) e Índico (Australia, Djibuti y Mozambique) (centro). A su vez, es evidente que hay organismos más alejados de ambos núcleos (derecha). Sin embargo, no existen centros de gravedad completamente diferenciados, por lo que este análisis exploratorio no mostró diferencias genéticas entre las localidades de los océanos. El porcentaje de varianza explicada por los tres primeros factores fue bajo 7.1% (Fig. 8). Este análisis exploratorio no proporciona un soporte estadístico riguroso para la definición de unidades genéticas discretas.

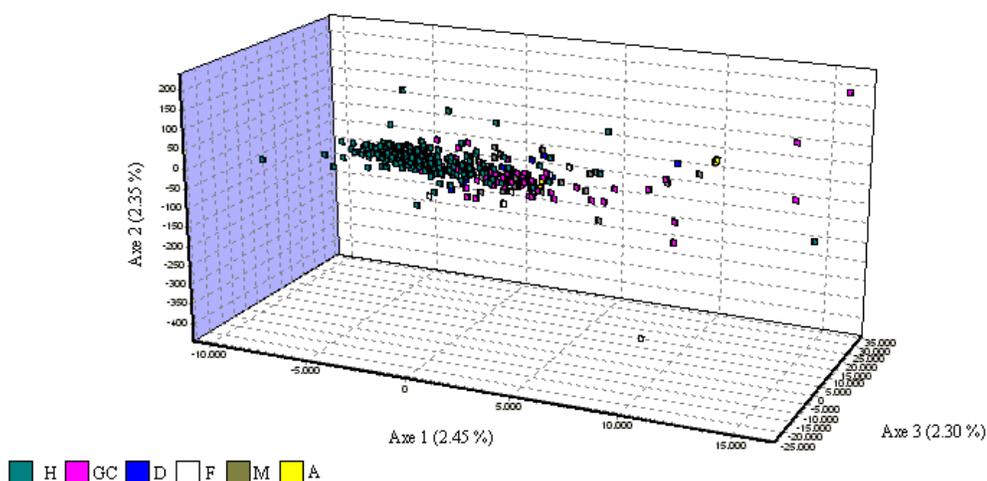


Figura 8. Análisis Factorial de Correspondencia para seis localidades (A=Australia, D=Djibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox) en 9 loci microsatelitales de tiburón ballena (*Rhincodon typus*).

El análisis de variancia molecular (AMOVA), mostró que la mayor parte de la variancia genética en los grupos probados se encontró dentro de las poblaciones con valores mayores a 97% de la variancia total. En todos los caso, los valores de F_{ST} fueron significativos ($p < 0.00$, Tabla IV), lo que indica que existe una estructura poblacional, sin embargo el modelo que maximiza la variancia entre grupos y poblaciones dentro de grupos fue el C.

Tabla IV. Análisis de Variancia Molecular

Estructura probada	Fuente de variación	varianza	% del total	F _{ST}	valor p
A. Un grupo	Entre poblaciones	0.051	2.25	0.022	0.00
	Dentro de poblaciones	2.225	97.75		
B. Tres grupos	Entre grupos	0.045	1.98	0.026	0.00
	Entre poblaciones dentro de grupos	0.014	0.64		
	Dentro de poblaciones	2.225	97.38		
C. Tres grupos	Entre grupos	0.046	2.04	0.023	0.00
	Entre poblaciones dentro de grupos	0.007	0.31		
	Dentro de poblaciones	2.225	97.64		

La prueba de diferenciación genética mediante el estimador θ por pares (Weir y Cockerham, 1984), mostró que existen diferencias genéticas estadísticamente significativas entre todas las localidades con Isla Holbox. También mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre Mozambique y Djibuti con el Golfo de California (Tabla V).

Tabla V. Matriz de estimadores de subdivisión poblacional (θ). (A=Australia, D=Djibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox). Debajo de la diagonal se muestra el valor F_{ST} y por encima de la diagonal el valor p.

	A	D	F	M	GC	H
A	-	0.289	0.452	0.248	0.308	0.000
D	0.0040	-	0.357	0.457	0.022	0.000
F	-0.0000	0.0018	-	0.337	0.737	0.000
M	0.0047	-0.0000	0.0018	-	0.007	0.000
GC	0.0023	0.0110	-0.0030	0.0102	-	0.000
H	0.0290	0.0391	0.0358	0.0389	0.0335	-

Con respecto a Holbox, el valor F_{ST} indicó que la mayor diferencia es con Djibuti (F_{ST}=0.0391), seguida por Mozambique (F_{ST}= 0.0389), Filipinas (F_{ST}= 0.0358), el Golfo de

California ($F_{ST}= 0.0335$) y Australia ($F_{ST}= 0.0290$). Con respecto al Golfo de California la mayor diferencia se presentó Djibuti ($F_{ST}= 0.0110$) seguida por Mozambique ($F_{ST}= 0.0102$) (Tabla V).

La estimación de F_{ST} mediante Weir (1996) para cada par de población mediante la corrección con ENA y sin ENA no mostró grandes diferencias. La estimación global de F_{ST} mediante Weir (1996) usando la corrección de ENA ($F_{ST}=0.026$) y sin usarla ($F_{ST}=0.028$) no mostró diferencias.

La Prueba Exacta de homogeneidad de frecuencias alélicas según Raymond y Rousset (1995) mostró que existen diferencias genéticas estadísticamente significativas entre todas las localidades con Holbox. También mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre Mozambique y Djibuti con el Golfo de California (Tabla VI).

Tabla VI. Diferenciación poblacional. (A=Australia, D=Djibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox).

Poblaciones pareadas	Chi2	df	Valor p
A & D	24.922	18	0.12709
A & F	21.233	18	0.26780
A & M	28.238	18	0.05852
A & GC	31.690	18	0.02392
A & H	Infinito	18	Altamente significativo
D & F	20.422	18	0.30955
D & M	23.147	18	0.18502
D & GC	29.629	18	0.04121
D & H	Infinito	18	Altamente significativo
F & M	24.722	18	0.13277
F & GC	21.104	18	0.27421
F & H	Infinito	18	Altamente significativo
M & GC	37.025	18	0.00520
M & H	Infinito	18	Altamente significativo
GC & H	Infinito	18	Altamente significativo

7.1.2.3 Asignación de individuos por métodos Bayesianos.

La prueba de asignación de individuos mediante métodos bayesianos detectó una estructura poblacional del tiburón ballena. La figura 9 muestra los valores promedio de probabilidad LnP (D) calculados para K inferidos en las 6 localidades, la mayor probabilidad se obtuvo con K=2.

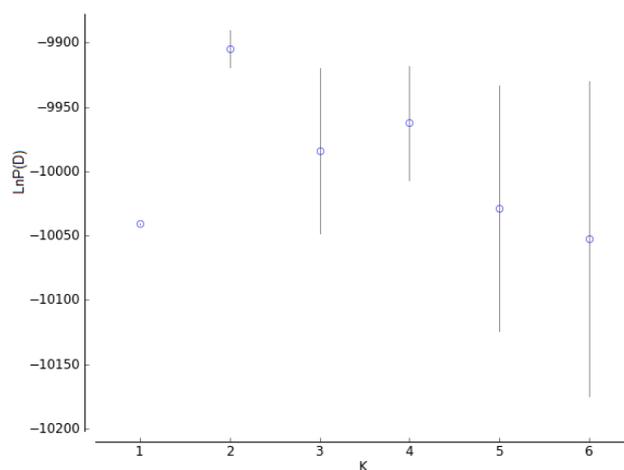


Figura 9. Número de poblaciones inferidas (K) de tiburón ballena a partir del cálculo de LnP (D).

El método de Evanno *et al* (2005) confirmó los resultados anteriores, en la figura 10 se observa la estimación de la tasa de cambio ΔK que corresponde a 2 como el número de grupos estimados.

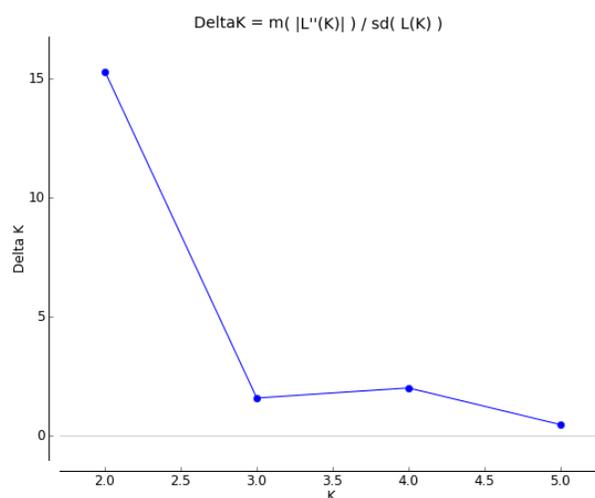


Figura 10. Número de grupos genéticamente homogéneos a partir de la tasa de cambio de la función de verosimilitud.

La figura 11 muestra que los grupos están compuestos por la población 1 en verde que corresponde a las localidades del Indo-Pacífico: Australia (1), Djibuti (2), Filipinas (3), Mozambique (4) y el Golfo de California (5) y la población 2 en rojo que corresponde a la localidad del Atlántico: Isla Holbox. Se puede ver que en las poblaciones existe la mezcla de colores lo que indica mezcla de poblaciones y/o flujo genético.

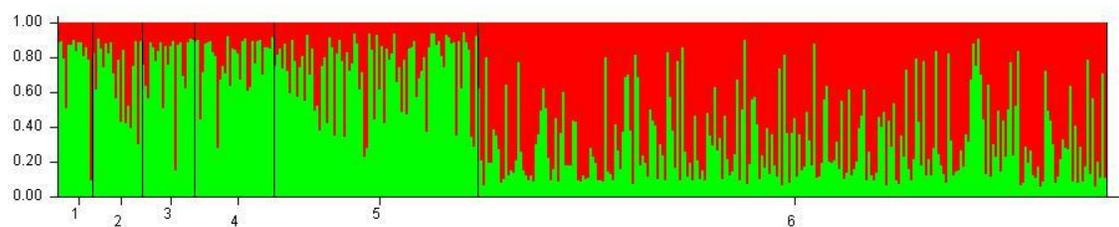


Figura 11. Número de poblaciones determinado a partir del programa STRUCTURE 2.2. El genoma de cada individuo está representado con una línea vertical. El color verde caracteriza a los individuos del Indo-Pacífico: Australia (1), Djibuti (2), Filipinas (3), Mozambique (4) y el Golfo de California (5) y el color rojo caracteriza a los individuos del Atlántico: Isla Holbox.

7.1.2.4 Aislamiento por distancia

La prueba de Mantel indicó que existe una correlación de las distancias geográficas ($\ln km$) y las distancias genéticas ($F_{ST}/(1-F_{ST})$) con un valor de $R^2=0.423$ y un valor $p=0.01$ (Fig. 12).

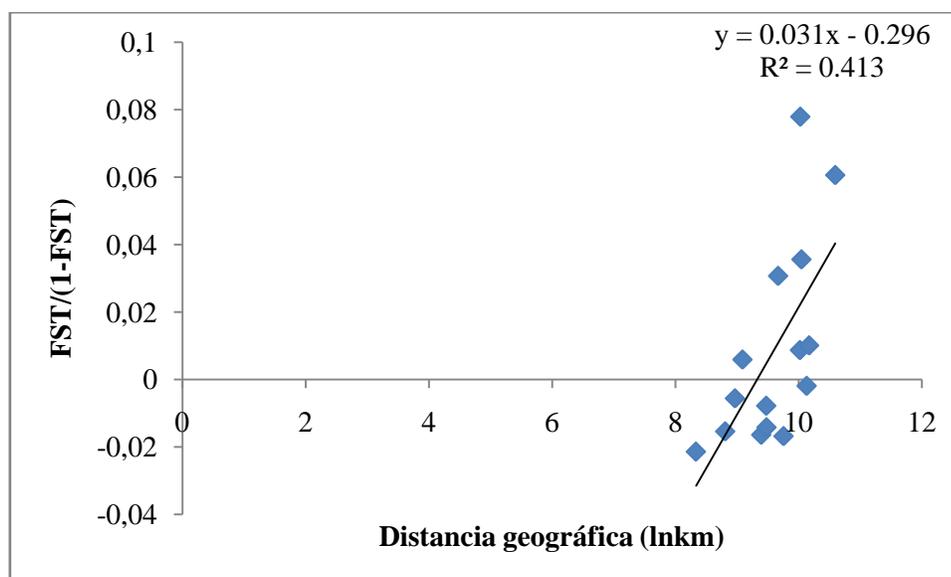


Figura 12. Aislamiento por distancia entre las localidades.

7.1.2.5 Estimación de número de migrantes

El número de migrantes (Nm) por generación estimado a partir de los valores de F_{ST} para las diferentes localidades variaron entre un valor mínimo de 6.14 entre Isla Holbox y Djibuti y valores infinitos entre Filipinas y Australia, Mozambique y Djibuti, y Filipinas y el Golfo de California (Tabla VII). Existe un flujo genético bajo entre todas las localidades e Isla Holbox con Nm entre 6.14 y 8.37, sin embargo sigue siendo alto como para permitir una amplia divergencia. A su vez existen valores intermedios de flujo genético entre el Golfo de California con Djibuti y Mozambique (22.43 y 24.24, respectivamente). Hubo valores de flujo genético altos de 52.16 (Mozambique y Australia) y 61.23 (Djibuti y Australia). Además de los valores infinitos mencionados los valores más altos de Nm

fueron entre Filipinas y Mozambique (137.72), Filipinas y Dijibuti (135.32) y entre el Golfo de California y Australia (108).

Tabla VII. Número de migrantes N_m por generación entre las diferentes localidades. (A=Australia, D=Dijibuti, F=Filipinas, M=Mozambique, GC=Golfo de California, H=Holbox).

	A	D	F	M	GC	H
A	-					
D	61.23	-				
F	∞	135.32	-			
M	52.16	∞	137.72	-		
GC	108.54	22.43	∞	24.24	-	
H	8.37	6.14	6.72	6.16	7.20	-

7.1.2.6 Estimación del tamaño efectivo poblacional

El tamaño efectivo poblacional estimado para Isla Holbox fue de 329, mientras que el estimado para el Indo-Pacífico fue de 397, mediante el modelo de alelos infinitos. Por su parte, mediante el empleo del modelo paso a paso, se estimó un tamaño efectivo en Isla Holbox de 384 y para el Indo-Pacífico de 402. La tabla VIII muestra los tamaños efectivos calculados por localidad.

Tabla VIII. Estimación de tamaños efectivos poblacionales por localidad de acuerdo con el modelo de alelos infinitos y de paso a paso

	Alelos infinitos	Paso a paso
Australia	305	385
Dijibuti	415	418
Filipinas	385	406
Mozambique	388	404
Golfo de California	378	398
Isla Holbox	329	385

7.2 ESTIMACION DE ABUNDANCIA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL POR SEXO Y TALLAS

7.2.1 Isla Holbox

7.2.1.1 Estructura poblacional por sexo y tallas

La comparación fotográfica reveló que en Isla Holbox del 2005 al 2008 en total se foto-identificaron 365 tiburones ballena. De estos tiburones 55 fueron fotografiados en ambos lados, 15 fueron fotografiados únicamente del lado derecho, por lo que en el análisis se consideraron 350 tiburones foto-identificados. De los 350 tiburones 229 (65%) fueron machos, 94 (27%) hembras y 27 (8%) fueron de sexo indeterminado. El análisis mostró que existe diferencias en la composición sexual de Isla Holbox ($Z=7.51160$, $p<0.001$) debido a la presencia mayoritaria de machos. La proporción sexual se mantuvo en todos los años ($G_3 = 3.37$, $p > 0.30$, Fig. 13).

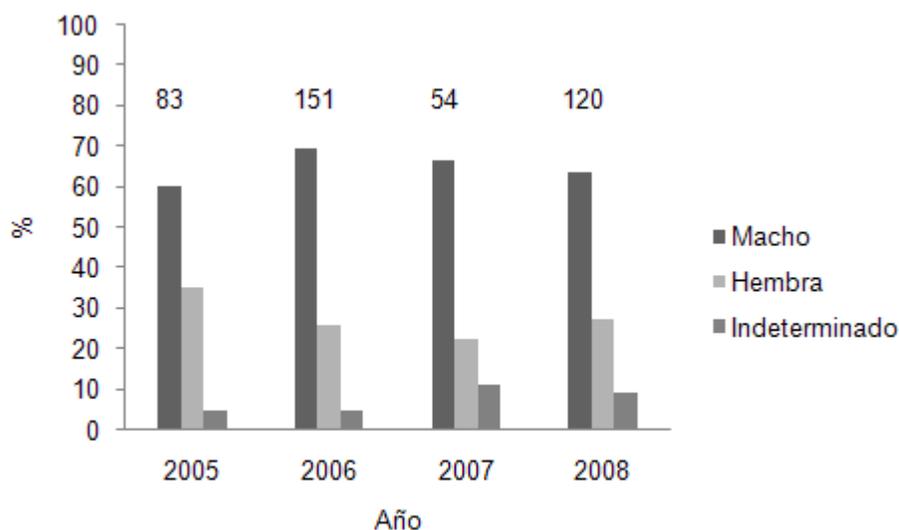


Figura 13. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.

La proporción sexual se examinó entre los meses de observación (Fig. 14). La mayor parte de los tiburones fueron fotografiados en Agosto y no se encontró cambios en la proporción

sexual entre los meses de cada año (2005 $G_3 = 4.86$ $p > 0.10$, 2006 $G_3 = 2.68$ $p > 0.44$, 2007 $G_3 = 2.99$, $p > 0.39$, 2008 $G_3 = 1.69$, $p > 0.63$).

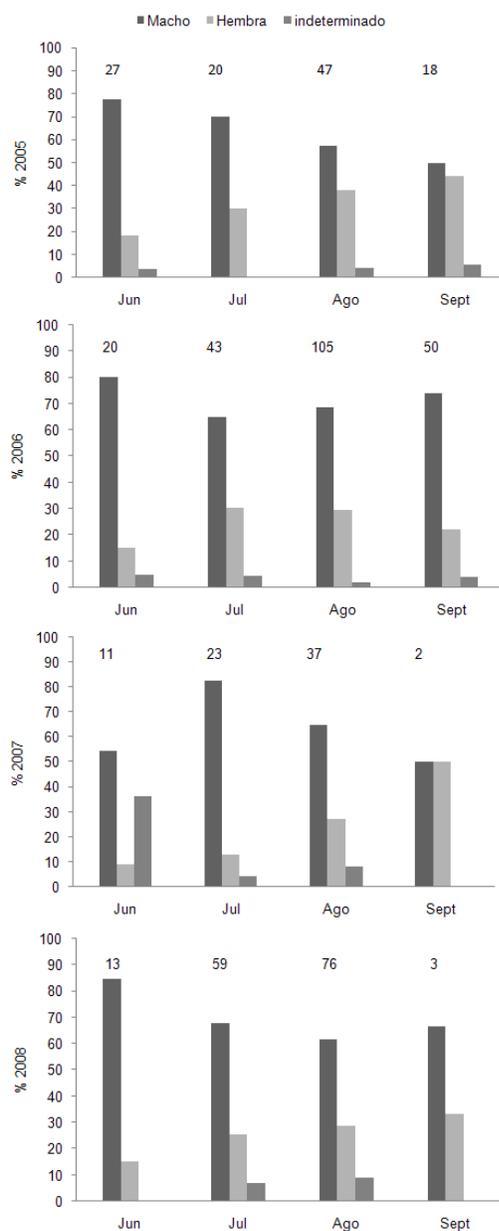


Figura 14. Porcentaje mensual de tiburones ballena fotografiados por sexo de Junio a Septiembre del 2005– 2008. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados.

El intervalo de tallas de los tiburones ballena fotografiados y medidos fue de 2.5 a 9.5 m de LT con una media de 6.2 m, la media de los tiburones machos fue de 6.2 m (LT) y la media de las hembras fue de 6 m (LT). La distribución de tallas total (incluyendo hembras, macho e indeterminados) fue bimodal con dos modas una a los 6 m y la otra a los 7 m de TL (Fig. 15).

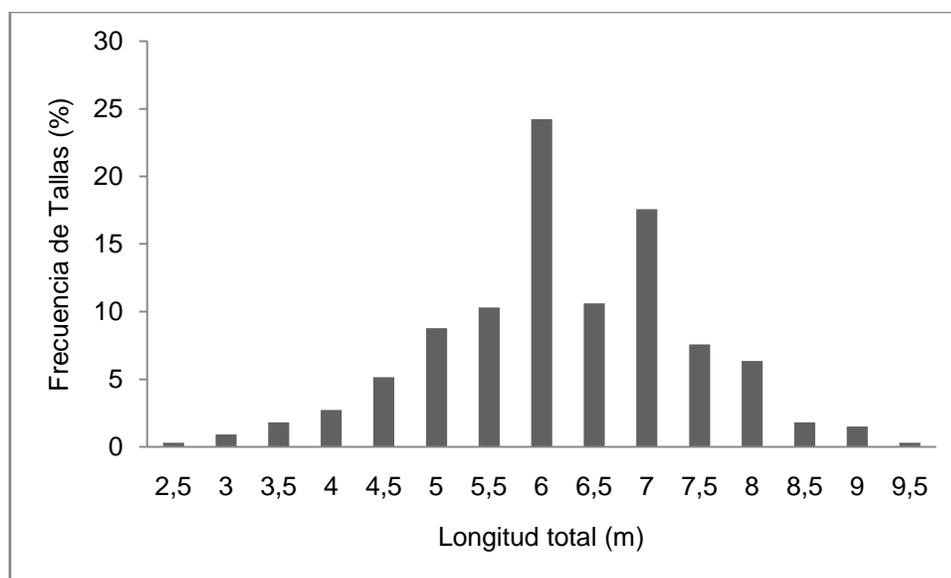


Figura 15. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena medidos en Isla Holbox del 2005 al 2008 (n=330).

En el 2005 el tiburón más pequeño observado en Isla Holbox fue de 3 m y el más grande fue de 9 m, la media para ese año fue de 5.5 m LT. La media de los machos encontrados en el 2005 fue de 6.2 m y la de hembras de 5.5 m LT. El intervalo de tallas para el 2006 fue de 2.5–9 m con una media de 6.1 m LT. La media de machos fue de 5.58 m y la de hembras de 5.4 m LT. En el 2007 la longitud de tallas fue de 4–8 m, con una media de 6.7 m LT. La media de los tiburones ballena machos fue de 6.65 m y la de hembras de 6.8 m LT. En el 2008 las tallas de los tiburones medidos fue de 4–9 m con una media de 6.5 m LT. La media de los machos fue de 6.45 m y la de las hembras de 6.7 m LT. La longitud modal de los tiburones ballena en el 2005 y 2006 fue de 6 m y para el 2007 y 2008 de 7 m (Fig. 16).

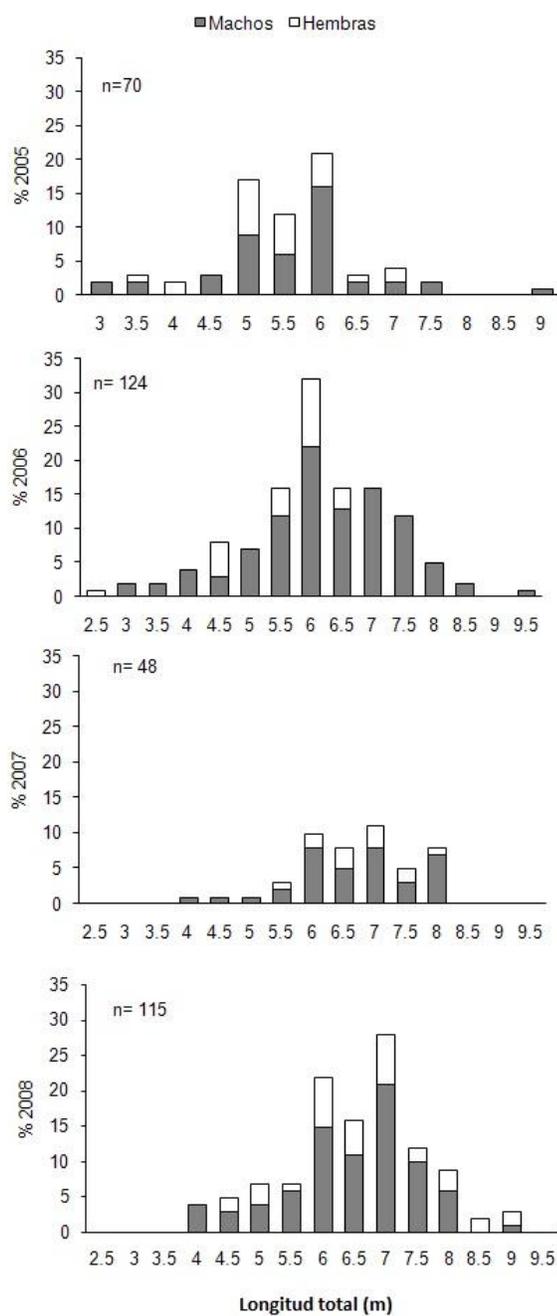


Figura 16. Histograma de frecuencias de tallas de los tiburones ballena foto-identificados en Isla Holbox del 2005 al 2008.

7.2.1.2 Talla de madurez sexual de los tiburones ballena machos

La morfología de los gonopterigios fue visualmente inspeccionada en 176 tiburones ballena machos del 2005 al 2008. Los gonopterigios mayores a las aletas pélvicas y calcificados no se encontraron en ningún tiburón ballena menor a 6 m LT (Fig. 17). Sin embargo, el 26% de los machos entre 6–6.5 m LT presentaron gonopterigios mayores a las aletas pélvicas y algunas veces calcificados, mientras que el 74% de los tiburones ballena de 7–7.5 m LT se consideraron maduros. De los 19 tiburones ballena machos > 8 m LT, todos se consideraron maduros (Fig. 17). Los datos fueron fijados en la función logística a la talla de madurez, mostrando que a la talla en donde el 50% (L_{50}) de los tiburones machos son maduros es a los ~7m LT (al 95% límites de confianza = 6.79–7.20 m TL) (Fig. 17) la talla a la que el 95% (L_{95}) de los tiburones machos presentaron madurez fue a los ~8m (95% límites de confianza = 7.84–8.7 m TL).

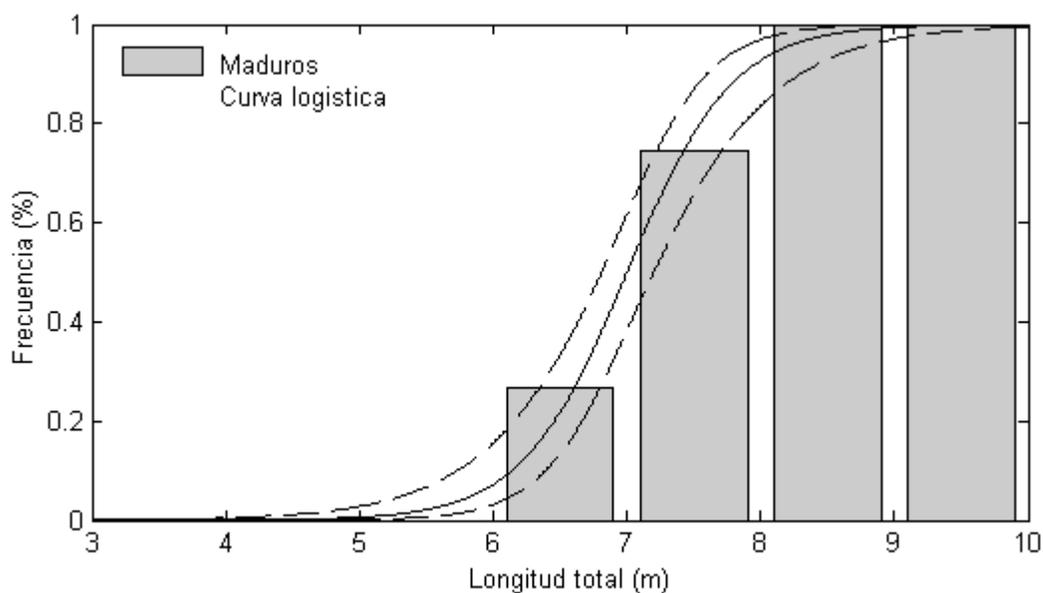


Figura 17. Curva logística (al 95% de confianza) refleja la talla de madurez de los tiburones ballena machos en Isla Holbox.

Hubo diferencias estadísticamente significativas en la distribución por tallas entre-años ($G_3 = 36.73$, $p < 0.001$) debido al incremento en la frecuencia de tiburones maduros en los últimos años (Fig. 16).

7.2.1.3 Tamaño poblacional y abundancia anual

Mediante el uso del modelo de Jolly Seber para poblaciones abiertas calculado con el programa computacional MARK, siguiendo el modelo $(\hat{\varphi}[\cdot]\hat{p}[\cdot]\hat{\beta}[\cdot]\hat{N}[\cdot])$ se determinó un tamaño poblacional de 516 a 802 (95% de confianza, $EE=71$) tiburones ballena del 2005 al 2008 (Tabla IX).

Durante el 2005 se marcaron 164 tiburones ballena, de los cuales se foto-identificaron 83 y 2 fueron remarcados en el mismo año. En el 2005 se realizaron 47 salidas al campo representadas en 8 quincenas las cuales se emplearon para el análisis de abundancia. De los 83 tiburones foto-identificados 27 fueron recapturados. Se determinó para el 2005 una abundancia de 94 a 122 (95% de confianza, $EE=6$) tiburones ballena (Tabla IX).

En el 2006 se marcaron 202 tiburones, de los cuales se foto-identificaron 151 y 2 fueron remarcados en la misma temporada. En este año se realizaron 68 salidas al campo representadas en 7 quincenas las cuales se emplearon para el análisis de abundancia de este año. De los 151 tiburones foto-identificados 89 fueron recapturados. La abundancia estimada en el 2006 fue de 211 a 260 (95% de confianza, $EE=12$) tiburones (Tabla IX).

Durante el 2007 se marcaron 68 tiburones ballena, de los cuales se foto-identificaron 54 y 1 fue remarcado en el mismo año. En el 2007 se realizaron 45 salidas al campo representadas en 7 quincenas las cuales se emplearon para el análisis de abundancia de este año. De los 54 tiburones foto-identificados 21 fueron recapturados. Se determinó una abundancia de 70 a 105 (95% de confianza, $EE=8$) tiburones ballena (Tabla IX).

En el 2008 se marcaron 144 tiburones ballena, de los cuales se foto-identificaron 120 y ninguno remarcado en el mismo año. En este año se realizaron 64 salidas al campo representadas en 8 quincenas las cuales se emplearon para el análisis de abundancia. De los 120 tiburones foto-identificados 46 fueron recapturados. Se estimó una abundancia de 152 a 202 (95% de confianza, EE=12) tiburones (Tabla IX).

En todos los años el tiempo de recaptura más común fue entre dos semanas y hasta 7 semanas.

Tabla IX. Tiburones ballena marcados y foto-identificados por año. Abundancia estimada por año al 95 % confianza.

	2005	2006	2007	2008
Tiburones marcados	164	202	68	144
Tiburones remarcados	2	2	1	0
Tiburones foto-identificados	83	151	54	120
N	94–122	211–260	70–105	152–202

7.2.1.4 Análisis de recapturas

Un total de 46 tiburones ballena fueron recapturados entre-años del 2005 al 2008, de estos, 35 fueron recapturados entre 2 años, 10 fueron recapturados entre 3 años y 1 entre 4 años (Tabla X). De los tiburones ballena recapturados el 68% fueron machos, el 30% fueron hembras y el 2% fueron de sexo indeterminado, la proporción sexual de los tiburones recapturados no fue diferente del total de los individuos identificados ($G_1 = 0.076$, $P > 0.76$).

Tabla X. Tiburones ballena foto-identificados (lado izquierdo) y recapturas de cada año de estudio.

	2005	2006	2007	2008	Total	Promedio
Individuos	83	151	54	120	408	102
Recapturas del año anterior		17	12	17	46	15.33
Recapturas de años anteriores			3	9	12	4
Total recapturas		17	15	26	58	19.33
Individuos nuevos	83	134	39	94	350	87.50
% Recapturas		11.26	27.78	21.67	60.70	

7.2.1.5 Análisis de cicatrices

El porcentaje de tiburones con cicatrices varió en todos los años. Siendo el 37% en el 2005, el 81% en el 2006, el 91% en el 2007 y en el 2008 el 60%. Muchos de los tiburones presentaron cicatrices por colisión con embarcaciones, quedando dentro de las categorías de laceraciones, amputaciones, abrasiones y traumas. Quitando del análisis las cicatrices causadas por efectos naturales (mordidas) y desconocidos (otros y muescas) el porcentaje total de cicatrices debidas a embarcaciones fluctuó del 13 al 33 % por año, el 13% en 2005, el 26% para el 2006, el 33% en el 2007 y el 26% para el 2008. Las cicatrices más comunes fueron las muescas (36%) y las laceraciones (14%), las poco comunes fueron las amputaciones (6%), mordidas (6.28%), abrasiones (3%), otros (2%) y traumas (1.4%, Fig. 18).

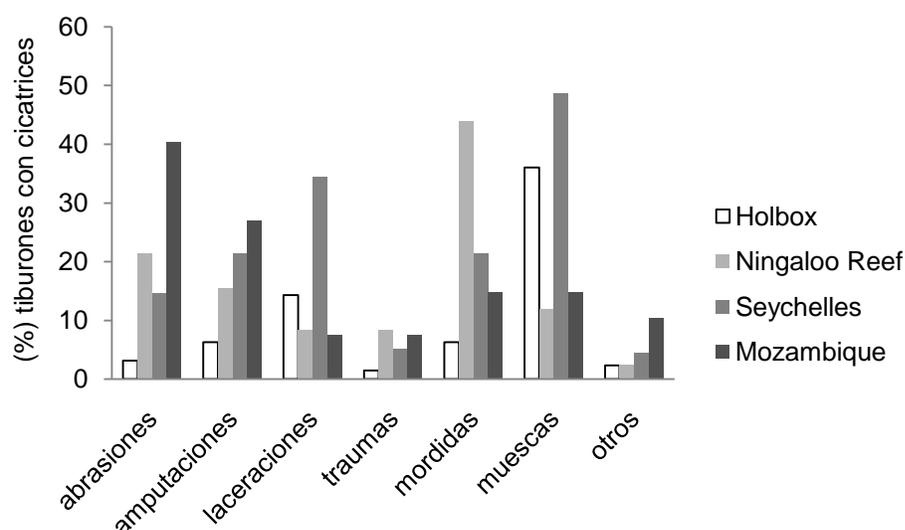


Figura 18. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices por categoría y por localidad. Ningaloo Reef, Seychelles y Mozambique tomado de Speed *et al.* (2008).

7.2.2 Golfo de California

7.2.2.1 Estructura poblacional por sexo y tallas

Se foto-identificaron 254 tiburones de los cuales 252 fueron identificados del lado izquierdo y dos sólo del derecho, los cuales fueron quitados del análisis. De los 252 tiburones el 62% fueron machos (157) el 29% hembras (73) y el 9% de sexo indeterminado (22).

El análisis mostró que existe diferencias en la proporción sexual de los tiburones en el Golfo de California ($Z= 5.59$, $p<0.001$) debido a la presencia de mas machos que hembras. La proporción sexual total del Golfo de California fue diferente entre-años ($G_6 = 39.29$, $p<0.001$ Fig. 19).

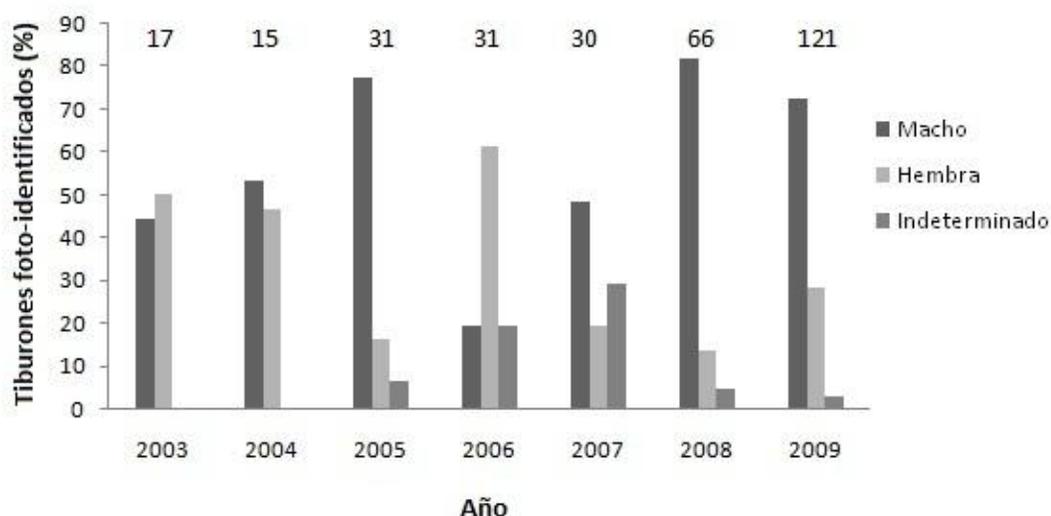


Figura 19. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.

De los 252 tiburones, 229 fueron organismos juveniles foto-identificados en aguas costeras de Bahía de los Ángeles y de la Bahía de la Paz, mientras que 23 fueron hembras preñadas identificadas alrededor de la Isla Espíritu Santo y Banco Gorda.

En aguas costeras de la Bahía de la Paz se encontraron tiburones ballena juveniles (69% machos y 23% hembras, y 8% indeterminado, $n = 125$) y en la Bahía de los Ángeles (68.5% machos y 21.5% hembras, 10% indeterminado, $n = 130$). La proporción sexual entre ambas localidades fue igual ($G_1 = 0.03$, $p > 0.86$, Fig. 20). No se incluyó en el análisis Bajo Gorda y alrededor de la Isla Espíritu Santo dado que únicamente se encontraron hembras preñadas.

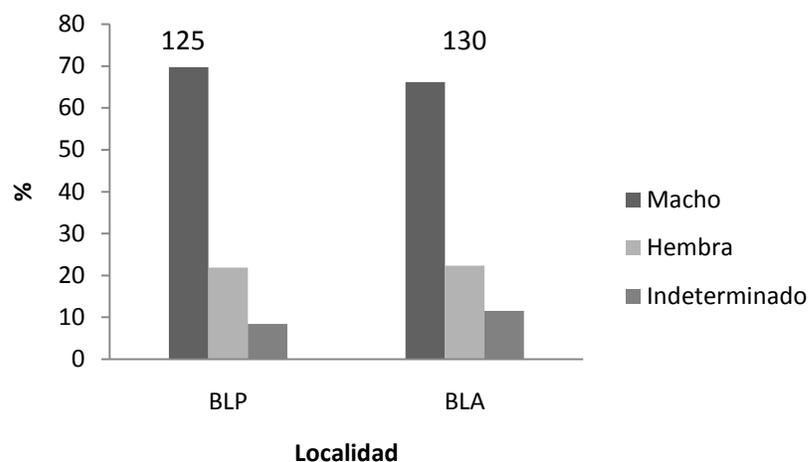


Figura 20. Tiburones ballena juveniles fotografiados por sexo y por localidad, Bahía de la Paz (BLP), Bahía de los Ángeles (BLA). Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por área.

El intervalo de tallas de los tiburones ballena fotografiados y medidos fue de 2 a 13 m de LT (N=220) con una media de 5.42 m. La distribución de tallas total (incluyendo hembras, macho e indeterminados) presentó una moda a los 5.5 m y otra a los 4 m TL (Fig. 21).

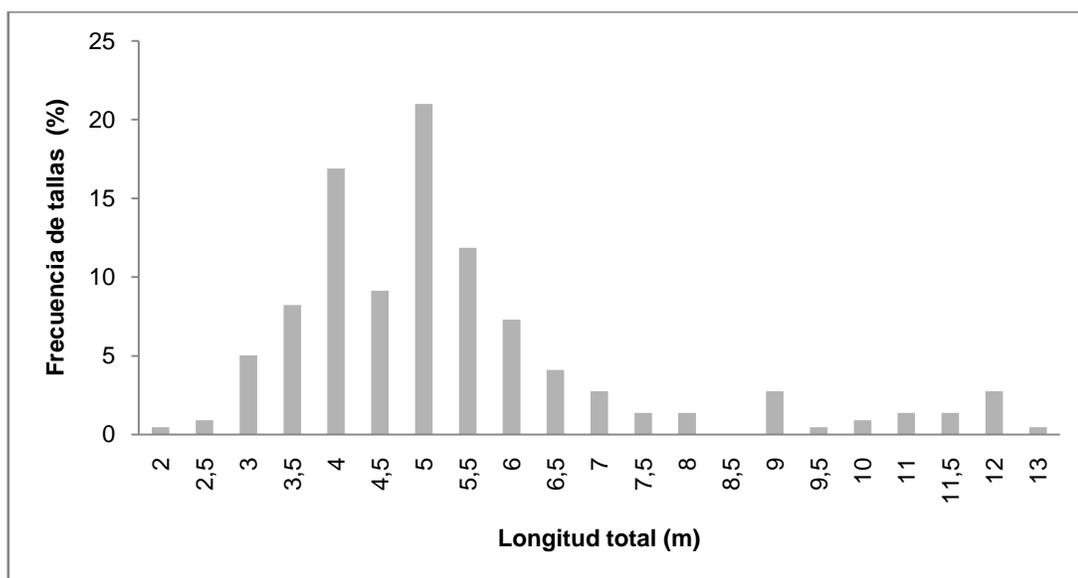


Figura 21. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena medidos en el Golfo de California del 2003 al 2009 (n=219).

7.2.2.2 Estimación de Abundancia

Mediante el uso del modelo de Jolly Seber para poblaciones abiertas calculado con el programa computacional MARK, siguiendo el modelo $(\hat{\varphi}[\cdot] \hat{p}[\cdot] \hat{\beta}[\cdot] \hat{N}[\cdot])$ se determinó una abundancia de 396 a 509 (95% de confianza, EE=28) tiburones ballena del 2003 al 2009.

7.2.2.3 Análisis de recapturas

Únicamente se recapturaron tiburones ballena juveniles entre-años. De los 229 juveniles foto-identificados, 41 (17.9%) fueron recapturados entre-años del 2003 al 2009. El intervalo típico de recapturas fue de 2 años, sin embargo hubo tiburones que se recapturaron durante 6 y 7 años (Tabla XI). De los tiburones ballena recapturados el 80% fueron machos y el 20% fueron hembras, no se encontró diferencias entre la proporción de la población y las recapturas ($G_1=2.22$, $p>0.13$).

Tabla XI. Tiburones ballena foto-identificados por año y análisis de recapturas.

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Total	promedio
Tiburones identificados	17	15	30	31	31	67	121	312	44.57
Recapturas año anterior		5	4	3	4	2	18	36	6.00
Recapturas años anteriores			2	2	5	4	11	24	4.00
Total recapturas		5	6	5	9	6	29	60	10.00
Individuos nuevos	17	10	24	26	22	61	92	252	36.00
% Recapturas		33.3	20	16.1	29	8.95	24	131.41	21.90

7.2.2.4 Recapturas entre localidades

Se recapturaron tiburones ballena juveniles entre Bahía de los Ángeles (BLA) y la Bahía de la Paz (BLP). Entre ambas localidades se foto-identificaron 229 tiburones ballena (BLA=130, BLP=125) de los cuales 26 (11.35%) mostraron movimientos entre las 2 localidades. En el 2004 en la Bahía de la Paz se recapturaron 2 tiburones previamente vistos en Bahía de los Ángeles, uno observado con un mes de anticipación y otro de un año anterior. En el 2006 en Bahía de la Paz se recapturaron dos tiburones vistos 2 meses atrás

en Bahía de los Ángeles. En el 2008 siete tiburones (17.5%) observados en Bahía de los Ángeles mostraron movimientos a la Bahía de la Paz. En el 2009 siete tiburones (21%) observados en la temporada del 2008 en la Bahía de la Paz se recapturaron en Bahía de los Ángeles y doce (16.43%) del mismo sitio se recapturaron en la Bahía de la Paz (Tabla XII).

Tabla XII. Análisis de recapturas entre localidades. Tiburones ballena foto-identificados por localidad y año. Bahía de los Ángeles (BLA), Bahía de la Paz (BLP), tiburones ballena que presentaron movimientos en la misma temporada de Bahía de los Ángeles a Bahía de la Paz (BLA-BLP), tiburones ballena que presentaron movimientos en la siguiente temporada de Bahía de la Paz a Bahía de los Ángeles (BLP-BLA)

	2004	2006	2007	2008	2009
BLA	8	4	10	40	73
BLP	8	19	21	33	54
BLA-BLP	1	2	0	7	12
BLA-BLP%				17.5	16.43
BLP-BLA					7
BLP-BLA%					21

7.2.3 Golfo de California: Bahía de La Paz

7.2.3.1 Estructura poblacional por sexo y tallas

En las aguas costeras de la Bahía de la Paz únicamente se encontraron tiburones ballena juveniles. Por su parte, en las aguas oceánicas se encontraron hembras preñadas, con la excepción de una hembra de 2 m en la lobera de Isla Espiritu santo encontrada en Agosto de 2007.

En el 2003 sólo se observaron tres tiburones ballena y sólo de uno se tomó fotografía del lado derecho por lo que este año se quitó del análisis. La comparación fotográfica reveló que en la Bahía de la Paz del 2004 al 2009 en total se foto-identificaron 133 tiburones ballena. De estos sólo 1 se foto-identificó del lado derecho, quedando un total de 132 tiburones foto-identificados. De los 132 tiburones 125 fueron juveniles y 7 hembras preñadas alrededor de la Isla Espiritu Santo. De los 125 juveniles 69% fueron machos, el

23% hembras, y el 8%. Hubo diferencias estadísticas significativas en las proporciones sexual en Bahía de la Paz ($Z= 5.6$, $p<0.001$) debido a la presencia de mas machos que hembras. La proporción sexual se mantuvo en todos los años ($G_3 = 2.25$, $p > 0.68$, Fig. 22), no se incluyó en el análisis el 2006 dado que se observó mayor número de hembras que de machos quizás debido a que a varios tiburones no se les determinó el sexo.

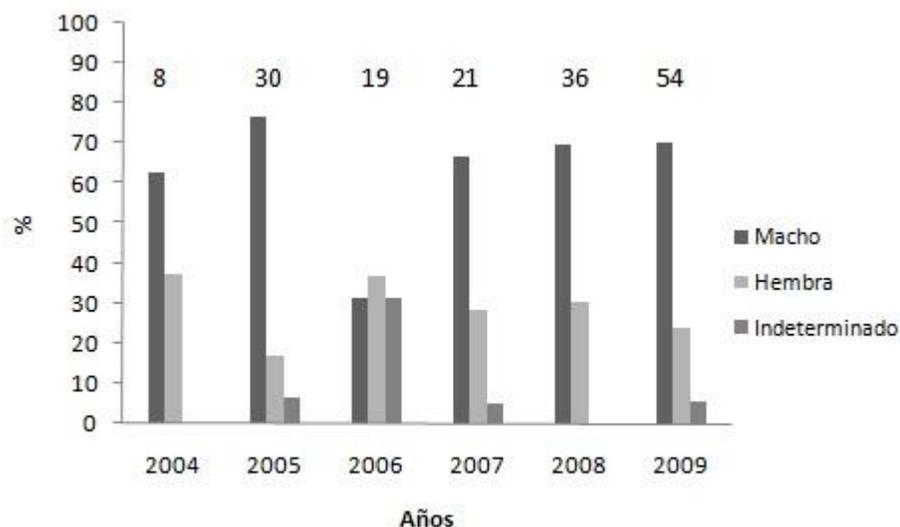


Figura 22. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.

Los meses de agregación de los tiburones ballena juveniles en la Bahía de la Paz variaron entre años, se encontraron de Agosto a Junio existiendo una estacionalidad de aproximadamente 4 meses, de Septiembre a Enero y en algunos años presencia de tiburones en los meses de Abril- Junio. En el 2008-2009 y 2009-2010 la temporada se recorrió de Noviembre a Marzo y Mayo respectivamente (Fig. 23). Por su parte las hembras preñadas alrededor de la Isla Espíritu Santo se encontraron en los meses de Mayo y/o Junio.

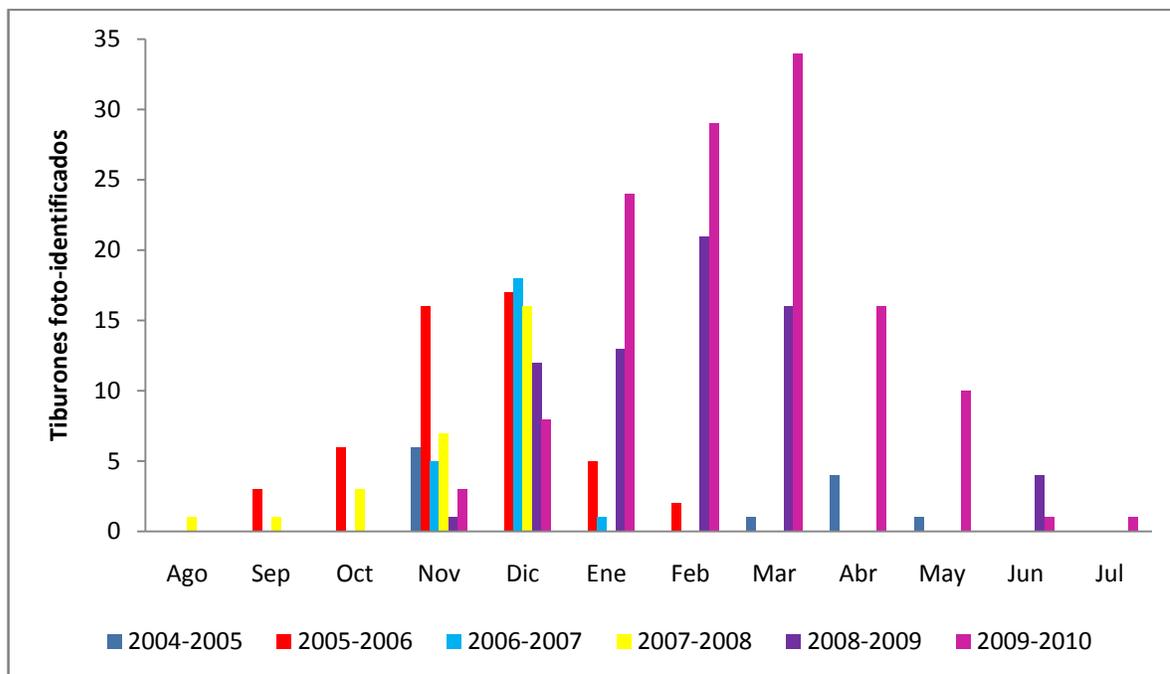


Figura 23. Estacionalidad de los tiburones ballena juveniles en la Bahía de la Paz de Noviembre del 2004 a Julio del 2010.

La proporción sexual en juveniles se examinó entre los meses donde se encontraron tiburones de ambos sexos (Fig. 24). No se encontró cambios en la proporción sexual entre los meses de cada año (2005 $G_4 = 0.89$, $p > 0.90$, 2006 $G_1 = 0.14$, $p > 0.70$, 2007 $G_1 = 0.71$, $p > 0.39$, 2008 $G_3 = 1.14$, $p > 0.76$, 2009 $G_4 = 2.71$, $p > 0.60$).

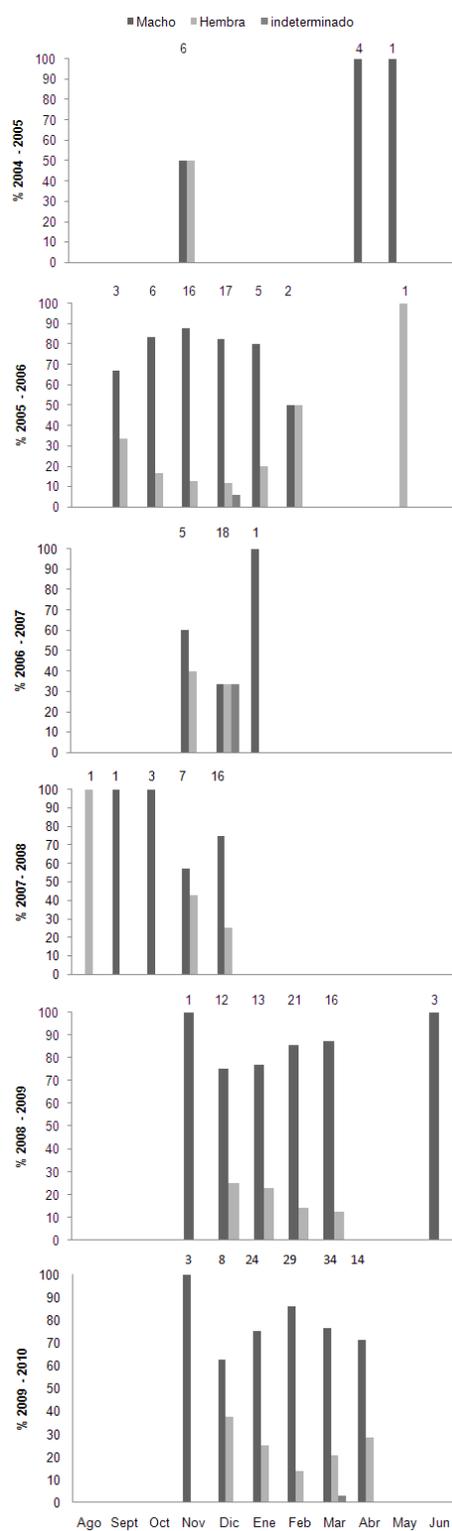


Figura 24. Porcentaje mensual de tiburones ballena por sexo de Agosto del 2004 a Junio del 2010. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados.

El intervalo de tallas de los tiburones ballena foto-identificados y medidos fue de 2 a 13 m de LT (N=124). De los tiburones medidos 117 fueron juveniles con una distribución de tallas de 2 a 7 m, con una moda a los 4 m y una media de 4.40 m. Siete fueron hembras preñadas alrededor de la Isla Espíritu Santo, con un rango de tallas de 10 a 13 m LT, con una moda a los 12 m y una media de 11.64 m (Fig. 25).

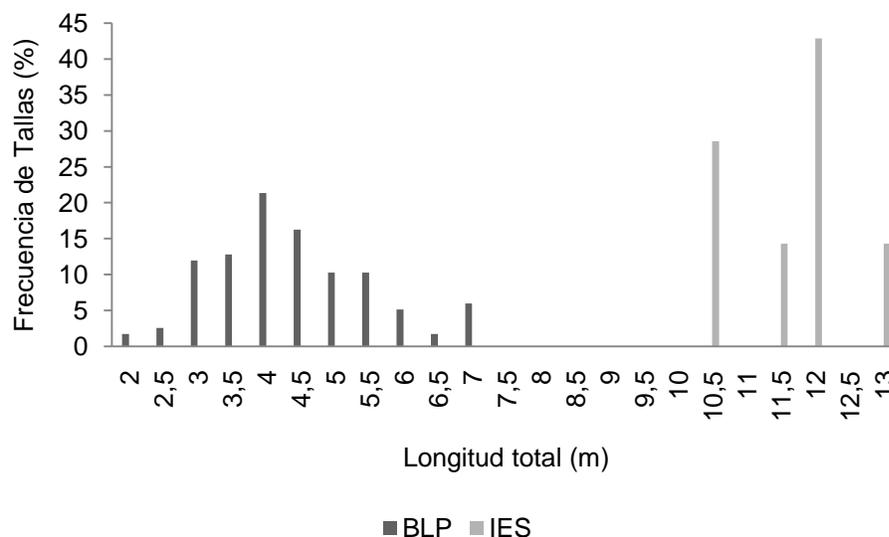


Figura 25. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena en la Bahía de la Paz (BLP, n=117) y alrededor de la Isla Espíritu Santo (IES, N=7), de Noviembre del 2004 a Junio del 2009.

En la temporada del 2004-2005 el rango de tallas fue de 2.5 – 6.5 m, con una media de 4.31 m LT. El rango de tallas para la temporada 2005-2006 fue de 3 – 6.5 m con una media de 4.68 m LT. En la temporada del 2006-2007 la longitud de tallas fue de 3 – 7.5 m, con una media de 4.88 m LT. En la temporada del 2007-2008 el rango de tallas de los tiburones fue de 2 a 10.5 m con una media de 4.47 m LT. En la temporada 2008-2009 la longitud total de los tiburones fue de 3 a 13 con una media de 4.5. Mientras que el rango de tallas de la temporada 2009-2010 fue de 2.5 a 7 m con una media de 4.6. La longitud modal de los tiburones ballena en el 2005-2006 fue de 4 m, en el 2006-2007 de 3 y 4 m, de 3.5 m en el 2007-2008 y en el 2008-2009 de 4 y 5 m (Fig. 26).

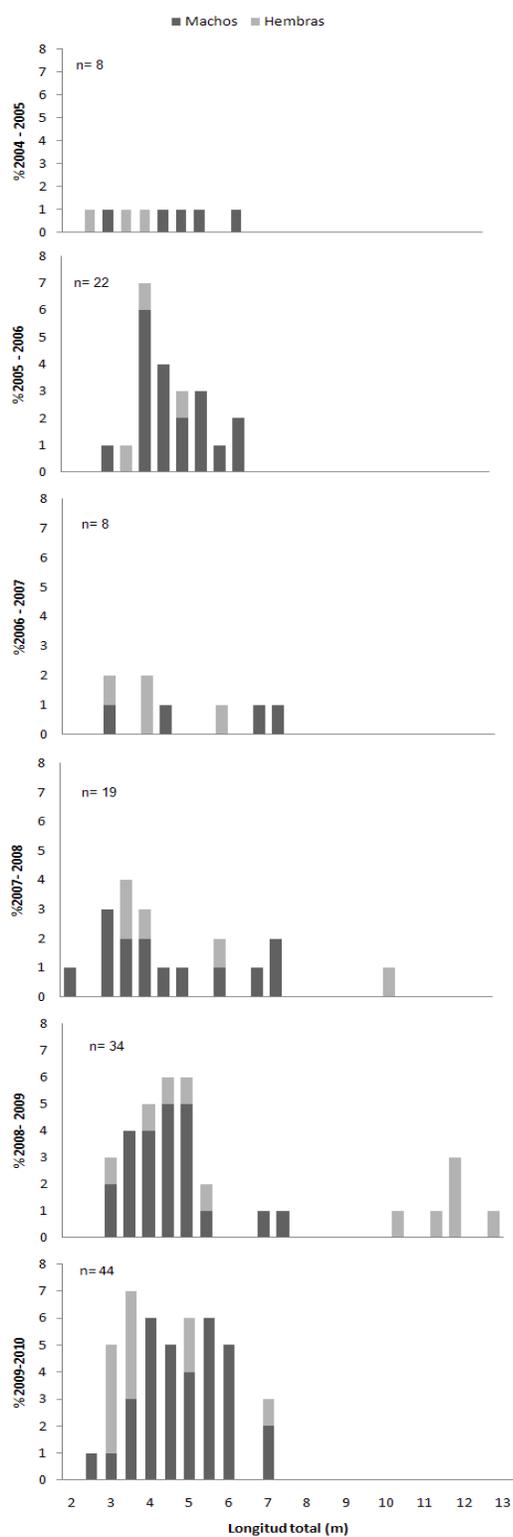


Figura 26. Histograma de frecuencias de tallas de los tiburones ballena foto-identificados en la Bahía de la Paz de Noviembre del 2004 a Junio del 2009.

7.2.3.2 Estimación de Abundancia

Se determinó una abundancia de 136 a 194 (95% confianza, EE=13) tiburones ballena de Noviembre del 2004 a Abril del 2010.

7.2.3.3 Análisis de recapturas y abundancia anual de juveniles

Un total de 22 tiburones ballena fueron recapturados entre-años de Noviembre del 2004 a Junio del 2010, el intervalo típico de recapturas fue de 2 y 3 años, sin embargo hubo tiburones que se recapturaron entre 4, 5 y 6 años (Tabla XIII). De los tiburones ballena recapturados el 82% fueron machos y el 18% fueron hembras. No se encontró diferencias entre la proporción de sexos de la población y las recapturas ($G_1=0.34$, $p>0.55$).

Durante la temporada 2004–2005 se foto-identificaron 8 tiburones ballena, en este año se hizo un esfuerzo de una semana en Noviembre y de dos días en Abril, por lo que no se modeló la abundancia de esta temporada.

En la temporada 2005–2006, 30 tiburones fueron foto-identificados de los cuales 5 fueron recapturas de años anteriores (16.66%). Veinte tiburones fueron recapturados en la misma temporada, la mayoría de éstos permanecieron en la Bahía de la Paz. Para la estimación de abundancia se modelaron las salidas de Septiembre–Febrero, donde se realizaron 31 salidas al campo representadas en 11 quincenas se estimó una abundancia de 32 a 47 (95% de confianza, EE=3) tiburones (Tabla XIII).

En la temporada 2006–2007 se foto-identificaron 19 tiburones de los cuales 6 fueron recapturas de años anteriores (31.57%). De los 19 tiburones foto-identificados 11 fueron recapturados en la temporada. Para la estimación de abundancia se modelaron los meses de Noviembre–Enero y se realizaron 8 salidas al campo representadas en 4 quincenas, se determinó que en el 2006–2007 hubo una abundancia de 19 tiburones ballena (95% de confianza, Tabla XIII).

Durante el 2007–2008 se foto-identificaron 20 tiburones ballena, de los cuales 7 fueron recapturas de años anteriores (35%). De los 20 individuos foto-identificados 11 fueron recapturados en la misma temporada. Para el análisis de abundancia se modeló de Octubre–diciembre ya que en los meses de Agosto y Septiembre se observó el mismo tiburón que también se observó en meses consecutivos. Se realizaron 11 salidas al campo representadas en 3 quincenas las cuales se emplearon para el análisis, se estimó una abundancia de 18 a 31 (95% de confianza, EE=2) tiburones (Tabla XIII).

En la temporada 2008–2009 se foto-identificaron 33 individuos, de los cuales 6 fueron recapturas de otros años (18.18%). De los 30 tiburones foto-identificados 23 fueron recapturados. Se estimó la abundancia de Noviembre a Marzo. En este periodo, se realizaron 29 salidas al campo representadas en 9 quincenas las cuales se emplearon para el análisis de abundancia donde se estimó de 30 a 42 (95% de confianza, EE=2) tiburones (Tabla XIII). En Junio se encontraron en el área 3 tiburones los cuales fueron foto-identificados, no se consideraron dentro de la estimación de abundancia de la temporada pero si dentro de la estimación de abundancia total de la Bahía de la Paz y del Golfo de California.

En la temporada 2009–2010 se foto-identificaron 54 tiburones, de los cuales 15 fueron recapturas de otros años (27.77%). De los 54 tiburones foto-identificados 53 fueron recapturados. Se estimó la abundancia de Diciembre a Mayo. En este periodo, se realizaron 48 salidas al campo representadas en 16 quincenas las cuales se emplearon para el análisis de abundancia donde se estimó de 58 a 72 (95% de confianza, EE=3) tiburones (Tabla XIII).

En todos los años los tiburones permanecieron de una semana hasta cuatro meses.

Tabla XIII. Tiburones ballena foto-identificados por año, análisis de recapturas y abundancia estimada por año al 95 % confianza.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Total	Promedio
Quincenas		11	4	4	9	16	44	8.80
Tiburones identificados	8	30	19	20	33	54	164	27.33
Recapturas año anterior		5	3	3	2	6	19	3.17
Recapturas años anteriores			3	4	4	9	20	3.33
Total recapturas		5	6	7	6	15	39	6.50
Individuos nuevos	8	25	13	13	27	39	125	20.83
% recapturas		16.66	31.57	35	18.18	27.77	35	5.83
N		32-47	19	20-31	30-42	58-72		

7.2.3.4 Análisis de cicatrices

En cada año, los tiburones presentaron cicatrices en un intervalo del 31 al 81% (Fig. 27). Es importante señalar que el porcentaje analizado representa el total de tiburones dañados por año; sin embargo, en todos los años hubo tiburones que presentaron de 2 a 4 cicatrices y la mayoría fueron ocasionadas durante la temporada de agregación.

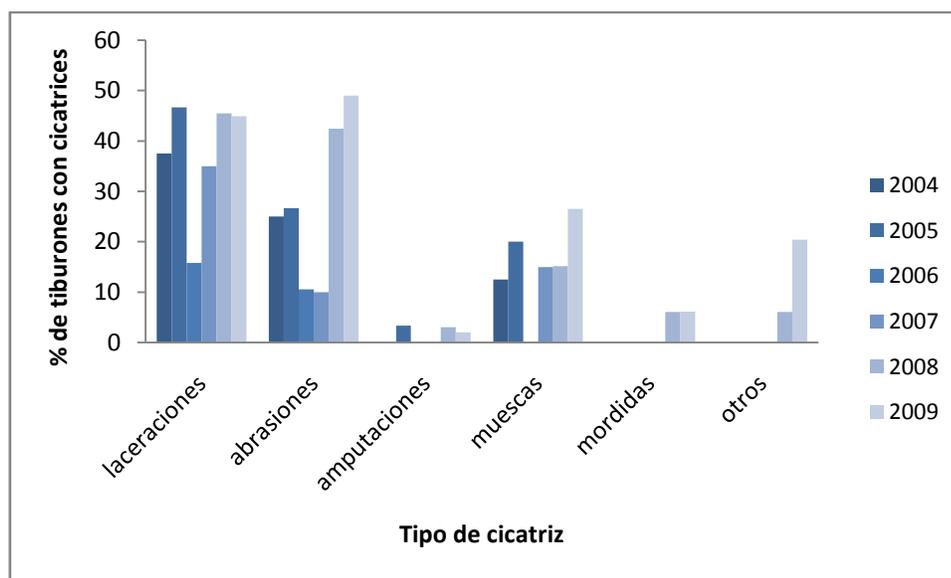


Figura 27. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices por categoría.

Muchos de los tiburones presentaron cicatrices por colisión con embarcaciones, quedando dentro de las categorías de laceraciones, amputaciones y abrasiones. Descartando del análisis las cicatrices causadas por efectos naturales (mordidas) y desconocidos (otros y muescas) el porcentaje total de cicatrices debidas a embarcaciones fue del 81.5%, el cuál fluctuó del 31 al 67% por año (Tabla XIV).

Tabla XIV. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices y porcentaje de tiburones con daños antropogénicos por año.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
%	50	60	31	40	66	82
% antropogénicos	37	53	31	35	54	67

Las cicatrices más comunes fueron las laceraciones (46%) y las abrasiones (35%), seguidas de las muescas (20%) y las poco comunes fueron las amputaciones, mordidas y otros, no se encontraron traumas (Fig. 28).

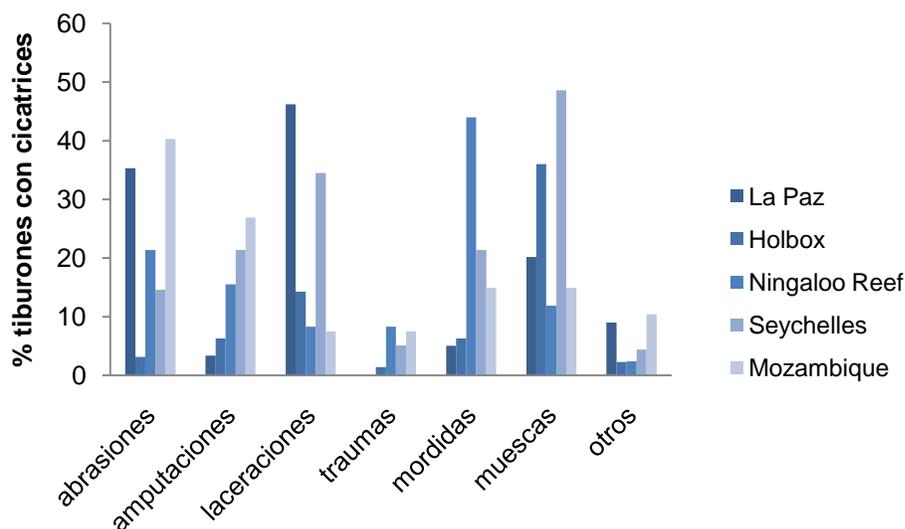


Figura 28. Porcentaje de tiburones ballena con cicatrices por categoría y por localidad. Ningaloo Reef, Seychelles y Mozambique tomado de Speed *et al.* (2008).

7.2.4 Golfo de California: Bahía de los Ángeles

7.2.4.1 Estructura poblacional por sexo y tallas

En las aguas costeras de la Bahía de los Ángeles únicamente se encontraron tiburones ballena juveniles.

La comparación fotográfica reveló que en Bahía de los Ángeles del 2003 al 2009 en total se foto-identificaron 130 tiburones ballena. De los 130 tiburones 86 (66%) fueron machos, 29 hembras (22%) y 15 (12%) fueron de sexo indeterminado. El análisis mostró que existe composición sexual en Bahía de los Ángeles ($Z= 5.59$, $p<0.001$) debido a la presencia de más machos que hembras. La proporción sexual se mantuvo en los años 2003, 2008 y 2009, ($G_2 = 1.91$, $p > 0.38$, Fig. 29), por su parte en el 2004 hubo más hembras que machos y en el 2006 sólo se encontraron hembras.

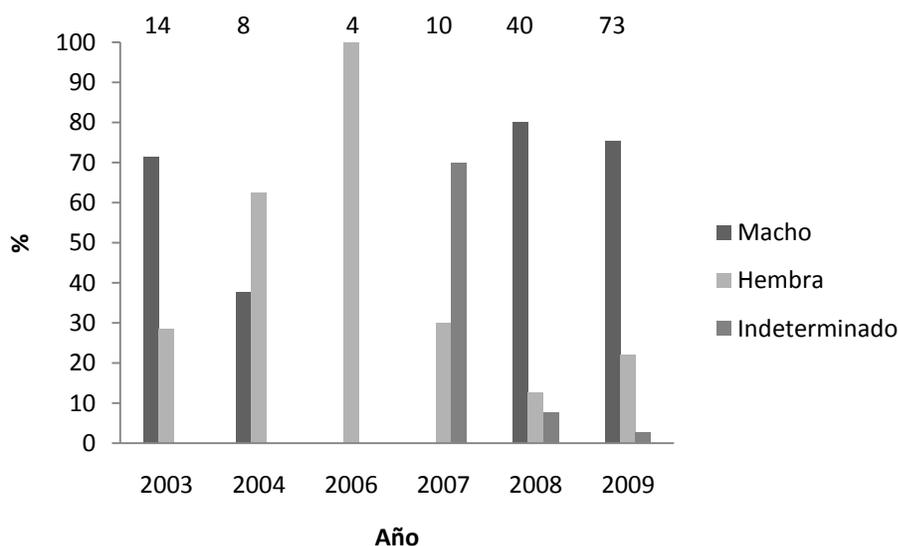


Figura 29. Tiburones ballena fotografiados por sexo y por año. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados por año.

En el 2008 y 2009 se obtuvieron datos de la temporada completa, en estos años los tiburones se agregaron de Julio a Noviembre en el 2008 y de Mayo a Noviembre en el 2009. En ambos casos en los primeros meses hubo pocos tiburones aumentando su número

en Agosto con una mayor abundancia en Octubre (Fig. 30). La proporción sexual se examinó entre los meses donde se encontraron tiburones de ambos sexos (Fig. 30). No se encontró cambios en la proporción sexual entre los meses de estos años (2008 $G_3 = 1.92$ $p > 0.59$, 2009 $G_5 = 4.45$ $p > 0.45$).

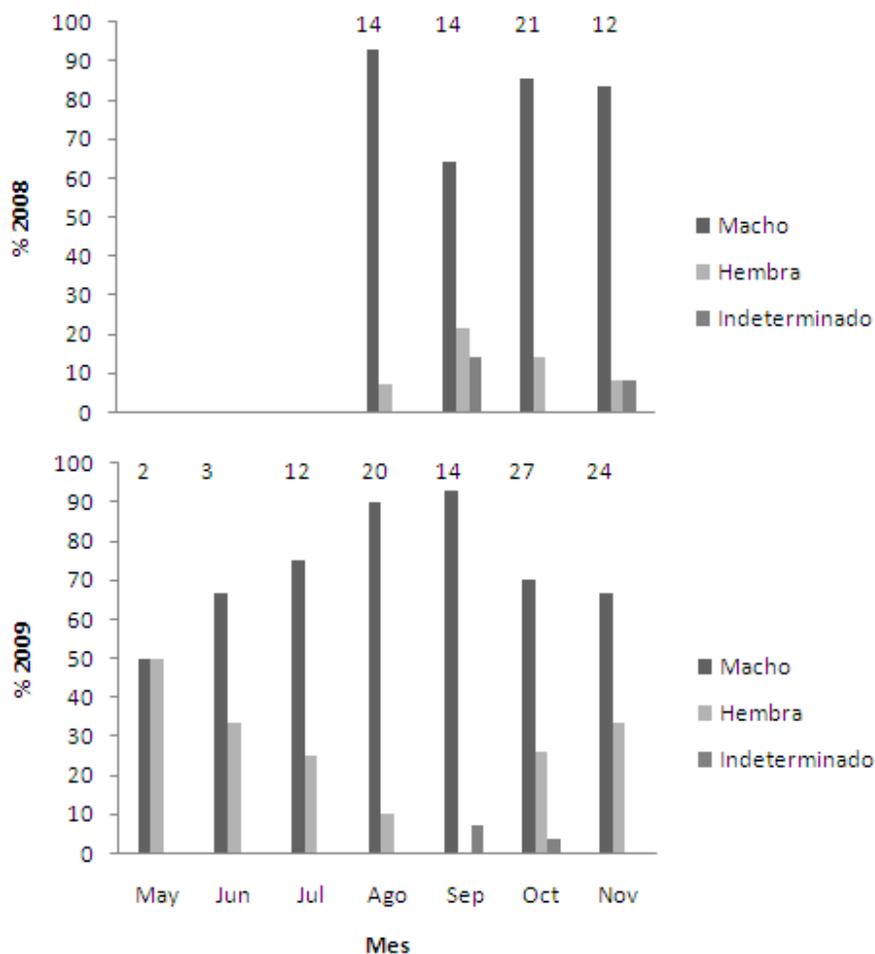


Figura 30. Porcentaje mensual de tiburones ballena fotografiados por sexo en el 2008 y 2009. Los números indican el número de tiburones ballena foto-identificados.

El rango de tallas de los tiburones ballena fotografiados y medidos fue de 2.5 a 8 m de LT con una media de 5.3 m la media de los tiburones machos fue de 5.26 m (LT) y la media de las hembras fue de 5.56 m (LT). La distribución de tallas total (incluyendo hembras, macho e indeterminados) fue modal con una clase frecuente a los 5 m TL (Fig. 31). Los machos de 8 m fueron inmaduros de acuerdo a la morfología del gonopterigio.

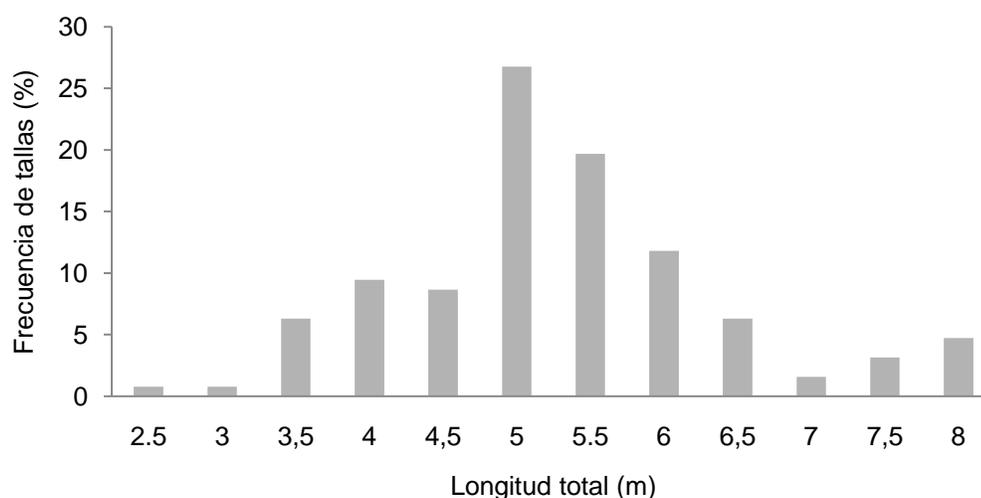


Figura 31. Distribución de frecuencias de tallas de los tiburones ballena medidos en Bahía de los Ángeles (n=127).

7.2.4.2 Abundancia anual de juveniles

Durante la temporada 2008 se foto-identificaron 40 tiburones ballena (32 machos, 5 hembras y 3 indeterminados). Dieciocho, fueron recapturados de los cuales uno tiburón estuvo 4 meses, cuatro permanecieron 3 meses y el resto un mes o menos. Para la estimación de abundancia se modelaron las salidas de Julio a Noviembre, donde se realizaron 18 salidas al campo representadas en 8 quincenas. Se estimó una abundancia de 46 a 69 (95% de confianza, EE=5) tiburones ballena en Bahía de los Ángeles (Tabla XV).

En la temporada 2009 se foto-identificaron 73 tiburones (55 machos, 16 hembras y 2 indeterminados) tiburones de los cuales 10 fueron recapturas del 2008. De los 73 tiburones foto-identificados 25 fueron recapturados en la temporada, la mayoría permanecieron un mes o menos, sin embargo dos estuvieron 5 meses, uno un mes y seis 3 meses. Para la estimación de abundancia se modelaron los meses de Junio–Noviembre. Se realizaron 24 salidas al campo representadas en 13 quincenas, se determinó una abundancia de 84 a 110 (95% de confianza, EE=6) tiburones ballena (Tabla XV).

Tabla XV. Tiburones ballena foto-identificados por año. Abundancia estimada por año al 95 % confianza.

	2003	2004	2006	2007	2008	2009	Total	Promedio
Quincenas					8	13	21	10.50
Tiburones identificados	12	8	4	11	40	73	148	24.67
Recapturas año anterior		4	0	0	1	10	15	3
Recapturas años anteriores		0	0	0	0	3	3	0.60
Total recapturas		4	0	0	1	13	18	3.60
Individuos nuevos	12	4	4	11	39	60	130	21.67
% recapturas		50	0	0	2.5	17.81	70.31	14.06
Abundancia					46–69	84–110		

7.2.4.3 Análisis de recapturas

Un total de 16 tiburones ballena fueron recapturados entre-años, de estos tres fueron recapturado a los 5, 4 y 3 años. De los tiburones ballena recapturados el 75% fueron machos y el 25% fueron hembras, no se encontró diferencias entre la proporción de la población y las recapturas ($G_1=0.003$, $p>0.95$).

7.2.5 Golfo de California: Banco Gorda

En las aguas oceánicas de Banco Gorda únicamente se encontraron hembras preñadas. El rango de tallas fue de 9 a 12 m de longitud total con una media de 10.5 m. En Junio de 2003 se encontraron 5 hembras adultas (grávidas), cuya talla osciló entre 9 y 12 metros de longitud total (LT) (Fig. 32). Se visitó el área en Junio del 2005 y no se encontró ningún organismo, sin embargo los pescadores informaron su presencia en los meses de Abril y Mayo. En Abril y Mayo del 2006 se encontraron 10 hembras preñadas cuyas tallas oscilaron entre 9 y 11 m de longitud total (Fig. 32). En el 2007 se visitó el área en Abril y Mayo y no se encontraron organismos. En el 2008 no se visitó el área ya que de acuerdo con los pescadores, se observaron tiburones en tránsito y no se agregaron como en otros años.

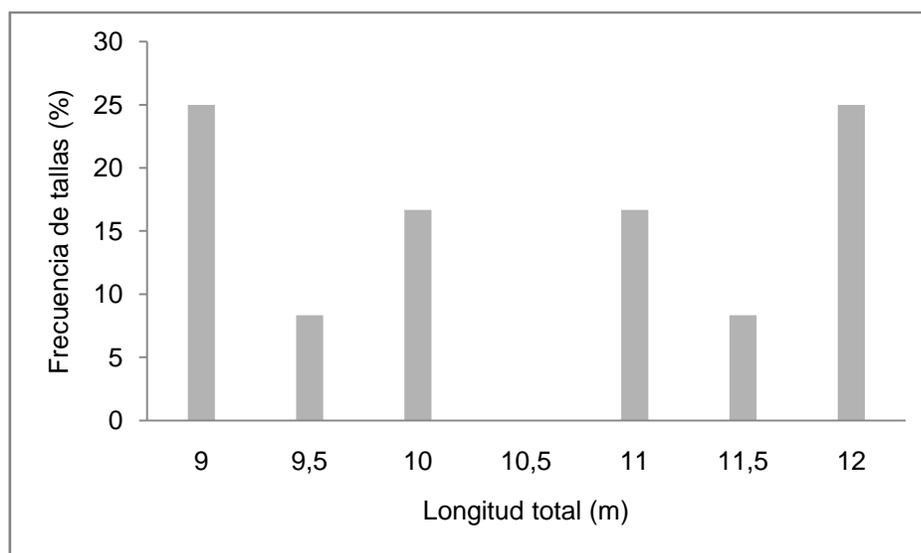


Figura 32. Histograma de frecuencia de tallas de las hembras preñadas observadas en Banco gorda.

8. DISCUSIÓN

8.1 Análisis genético

8.1.1 Aislamiento de microsatélites.

El número de microsatélites aislados en el presente trabajo fue de 9 (Tabla I), comparado con el número de clonas revisadas representa el 1.44%, a pesar de que se empleó un método enriquecido de ADN con motivos tipo microsatélites la eficiencia fue baja. En tiburones se han empleado diversos métodos de aislamiento de microsatélites, donde se han requerido un gran esfuerzo para encontrar microsatélites polimórficos, por ejemplo de 2304 clones se encontraron 4 (0.17%) loci polimórficos en *Carcharinus limbatus* (Keeney y Heist, 2003). En el trabajo realizado por Schmidt *et al.* (2009) en tiburón ballena aislaron 8 loci de 77 colonias (10%), sin embargo el 50% de los microsatélites encontrados fueron polimórficos. Felheim *et al.* (2001) mencionan que en el genoma de elasmobranchios hay una baja frecuencia de microsatélites, y una baja variabilidad en ellos, pero alta en repeticiones

largas (20), lo cual coincide en el presente trabajo dado que los loci mas polimórficos fueron el Rty_15 y Rty_16 con 11 y 17 alelos respectivamente y son los de repeticiones largas (20 y 22, respectivamente).

8.1.2 Variabilidad genética

Estudios previos han reportado niveles bajos de variación genética en tiburones, en comparación con otros peces. La heterocigosidad encontrada en el tiburón ballena fue un poco menor a la reportada con anterioridad por Schmidt *et al.* (2009), debido al mayor número de alelos presentes en los loci del trabajo anterior. En general los valores de heterocigosidad encontrados en tiburón ballena están dentro de los rangos reportados para otras especies de tiburones (Tabla XVI). La variación genética baja en tiburones puede deberse a que son organismos longevos con madurez sexual tardía dando como resultado lentas repeticiones en el ADN (Awise *et al.*, 1992; Martin y Palumbi, 1993).

Tabla XVI. Comparación de microsátelites entre diferentes especies de tiburones. LMR=Longitud máxima de repetición. PR=Promedio de repetición.

Especie	No. Loci	LMR	PR	No. de alelos	Promedio de alelos	Ho	He	Referencia
<i>Rhincodon typus</i>	9	22	14.44	2–17	6.22	0.50	0.52	Este trabajo
<i>Rhincodon typus</i>	8	41	17.2	3–34	9.0	0.66	0.69	Schmidt <i>et al.</i> , 2009
<i>Sphyrna lewini</i>	15	-	-	6–31	14	0.70	0.76	Nance <i>et al.</i> , 2009
<i>Squalus acanthias</i>	6	12	9.7	3–9	5.8	0.59	0.68	McCauley et a., 2004
<i>Hexanchus griseus</i>	10	-	-	5–26	12	0.45	0.61	Larson <i>et al.</i> , 2010
<i>Stegostoma fasciatum</i>	9	32	20.1	3–22	9.6	0.63	0.71	Dudgeon <i>et al.</i> , 2006
<i>Ginglymostoma cirratum</i>	9	26	12.0	2–15	5.0	0.55	0.54	Heist <i>et al.</i> , 2003
<i>Carcharias taurus</i>	5	20	13.4	3–9	6.2	0.62	0.61	Portnoy <i>et al.</i> , 2006
<i>Carcharodon carcharias</i>	5	23	18.2	2–10	5.4	0.70	0.66	Pardini <i>et al.</i> , 2000
<i>Isurus oxyrinchus</i>	5	53	22.4	14–57	31.6	0.86	0.89	Schrey y Heist, 2003
<i>Carcharhinus limbatus</i>	8	-	-	4–42	14.1	0.50	0.50	Keeney <i>et al.</i> , 2005
<i>Carcharhinus plumbeus</i>	5	42	22.8	4–39	22.6	0.87	0.85	Portnoy <i>et al.</i> , 2006
<i>Carcharhinus sorrah</i>	5	28	19.2	4–24	9.8	0.50	0.54	Ovenden <i>et al.</i> , 2006
<i>Carcharhinus tilstoni</i>	5	19	12.0	5–24	10.8	0.65	0.73	Ovenden <i>et al.</i> , 2006
<i>Negaprion brevirostris</i>	4	33	25.2	19–43	28.5	0.77	0.78	Feldheim <i>et al.</i> , 2001
<i>Sphyrna tiburo</i>	4	-	-	6–35	13.5	0.65	0.69	Chapman et a., 2004

Las localidades de Isla Holbox, Golfo de California, Mozambique y Filipinas estuvieron fuera del equilibrio de Hardy Weinberg debido a que la heterocigosidad observada fue menor a la esperada (Tabla III). El déficit de heterocigotos puede ser indicativo de la presencia de alelos nulos en los loci microsatelitales, a la deriva génica, la reproducción entre parientes cercanos (endogamia), al efecto Wahlund, es decir, poblaciones mezcladas, entre otros (Chakraborty y Zhong, 1994; Chapuis y Estoup, 2007).

El análisis de la frecuencia de alelos nulos realizado con Micro-Checker de cada población mostró una frecuencia baja, por lo que pueden ser ignorados para realizar los análisis posteriores (Tabla II). A su vez, la estimación global de F_{ST} mediante Weir (1996) usando la corrección de ENA ($F_{ST}=0.026$) y sin usarla ($F_{ST}=0.028$) no mostró diferencias. Dado que no se encontraron grandes diferencias entre las F_{ST} calculadas con y sin ENA por locus, se considera que el déficit de heterocigotos no se deba a la existencia de alelos nulos.

La deriva génica puede manifiesta cuando existe una reducción drástica del tamaño de las poblaciones, o en poblaciones pequeñas, produciendo cambios en las frecuencias alélicas de forma aleatoria (Sharma *et al.*, 2007). En el caso del tiburón ballena a finales de los noventas se reportó una disminución drástica en varias poblaciones del Indo-Pacífico, sin embargo dado que los tiburones ballena tardan 25 años en su primera reproducción, no se esperaría ver efectos de deriva en un tiempo tan corto. Sin embargo puede ser el reflejo de eventos anteriores a los noventas.

La endogamia también da como consecuencia un déficit en los heterocigotos; sin embargo, la presencia de endogamia afecta a todo el genoma, dando como resultado que todos los loci o la mayoría de ellos muestren déficit en los heterocigotos (Toth *et al.*, 2000), al analizar el déficit de los heterocigotos por loci y por localidad (Tabla III) no se observa que sea una constante, por lo que es probable que la endogamia no sea la causa del déficit de heterocigotos.

En el presente trabajo se analizaron muestras principalmente de tiburones ballena juveniles, en Isla Holbox se analizaron 48 muestras de adultos, el Golfo de California 15, en Australia 1 y en Filipinas 4. Estudios con marcas satelitales en tiburones ballena juveniles han mostrado que pueden recorrer grandes distancias (p ej. 5000 km, Rowat y Gore, 2007), lo cual puede dar como resultado que las áreas donde se alimentan pueden estar conformadas por organismos de poblaciones diferentes. Teóricamente poblaciones mezcladas deben de presentar deficiencia en heterocigosidad debido al efecto Wahlund (Wahlund, 1928), tal efecto explica que cuando hay una estructura subpoblacional hay una reducción en la heterocigosidad, si dos o más subpoblaciones tienen diferencias frecuencias alélicas la heterocigosidad será reducida, incluso si las subpoblaciones se encuentran cada una en equilibrio de Hardy Weinberg (Wahlund, 1928). A pesar que mediante el análisis de asignación de individuos por métodos Bayesianos, se diferenciaron dos grupos poblacionales (Isla Holbox e Indo-Pacífico), se puede ver en la figura 11 tanto en Holbox como en el Indo-Pacífico, individuos con características genéticas de ambos grupos, lo cual indica poblaciones mezcladas. De acuerdo a lo mencionado, la hipótesis más plausible para explicar el déficit de heterocigotos es el efecto Wahlund.

8.1.3 Estructura genética poblacional

Diversos estudios genéticos en peces cosmopolitas marinos han revelado bajos niveles de diferenciación genética entre océanos y altos niveles de dispersión entre poblaciones (Waples, 1998). Estudios realizados en tiburones muestran que la estructura genética esta modelada por la reproducción, en especies con hembras filopátricas (Pardini *et al.*, 2001; Schrey y Heist, 2003; Duncan *et al.*, 2006; Keeney y Heist, 2006). Por condiciones ambientales desfavorables como la temperatura o hábitat discontinuo. Por ejemplo, aguas oceánicas son una barrera para el flujo genético en especies como el martillo y el limón (Feldheim *et al.*, 2001, Duncan *et al.*, 2006; Schultz *et al.*, 2008), mientras que aguas ecuatoriales cálidas son un factor limitante para el flujo genético en tiburones de aguas templadas como el *Galeorhinus galeus* (Chabot y Allen, 2009).

En el presente trabajo, los tres modelos de AMOVA mostraron que la varianza que explica una diferenciación genética es del orden del 2.2 a 2.6 % ($F_{ST}=0.022$, $F_{ST}=0.023$, $F_{ST}=0.026$). Por su parte, la prueba de diferenciación genética mediante el estimador θ (Weir y Cockerham, 1984) mostró que existen diferencias genéticas estadísticamente significativas entre todas las localidades con Isla Holbox, donde el valor de F_{ST} varió de 0.029 a 0.039. También mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre Mozambique y Djibuti con el Golfo de California con valores de F_{ST} 0.010 y .0.011 respectivamente.

La prueba exacta de homogeneidad de frecuencias alélicas según Raymond y Rousset (1995) mostró la misma estructuración encontrada en la prueba de diferenciación genética usando el estimador θ , lo cual apoya los resultados encontrados.

En el presente trabajo los valores de F_{ST} de Isla Holbox (Atlántico) en relación con las otras localidades fue de 0.0391 a 0.0290 y estadísticamente significativos, lo cual coincide con los resultados obtenido con secuencias de región control reportados por Castro *et al.* (2007), aunque con niveles más bajos de F_{ST} . A su vez, se encontraron diferencias entre el Golfo de California y el Índico Oeste (Djibuti y Mozambique) con valores de F_{ST} de 0.0110 y 0.0102 respectivamente (Tabla IV), estructura que no se había reportado en ninguno de los trabajos genéticos anteriores (Castro *et al.*, 2007; Schmidt *et al.*, 2009), el que se hayan encontrado estas diferencias puede deberse al mayor número de muestras analizadas en el presente estudio.

Estudios realizados con región control y microsatélites en tiburón mako, blanco, martillo y puntas negras oceánico han encontrado valores mayores de F_{ST} con región control que con microsatélites, se ha propuesto que estas diferencias en ambos marcadores moleculares se debe a la presencia de hembras filopátricas; mientras que el flujo genético sucede a través de los machos (Heist *et al.*, 1996; Pardini *et al.*, 2001; Heist *et al.*, 2003; Keeney *et al.*, 2005). Los datos del presente trabajo y Castro *et al.* (2007) sugieren que en la población de tiburón ballena en el Atlántico, las hembras presentan filopatría natal, existiendo la mayor

dispersión por parte de los machos con el Indo-Pacífico. Al parecer la filopatría natal es un componente importante en el comportamiento de los tiburones (Hueter *et al.*, 2005), dado que la selección natural puede conducir a la filopatría natal por parte de las hembras debido a que incrementa la sobrevivencia de los neonatos, siendo una ventaja reproductiva. En especial en especies como los elasmobranquios que presentan un ciclo de vida con estrategia K. Lo anterior resalta la posibilidad de que en el Indo-Pacífico exista también filopatría natal por parte de las hembras, para ello es necesaria la realización de un análisis con región control con un mayor número de muestras.

De acuerdo con el análisis bayesiano el número de poblaciones más probable con la información analizada a escala mundial en tiburón ballena es dos, una conformadas por Isla Holbox (Atlántico) y la otra el Indo-Pacífico. Lo cual fue corroborado con el estadístico de Evanno. Sin embargo, dado que únicamente se analizó una localidad en el Atlántico es necesario realizar el análisis integrando diferentes localidades del Atlántico.

El método de Evanno *et al.* (2005) es apropiado solo cuando existe fuerte diferenciación genética, una tasa de flujo genético (Nm) de 5 migrantes efectivos, el empleo de loci con alta tasa de mutación (como microsatélites) y números adecuados de loci e individuos (Evanno *et al.*, 2005; Waples y Gaggiotti, 2006). El menor número de migrantes encontrado fue entre Isla Holbox y el resto de localidades ($Nm=6$ a 8) y claramente es esta localidad la que se diferenció del resto mediante STRUCTURE.

En tiburones en general se han visto una mayor estructuración entre el Océano Atlántico con respecto al Indo-Pacífico (Heist *et al.*, 1996; Schrey y Heist, 2003; Duncan *et al.*, 2006; Keeney y Heist, 2006; Castro *et al.*, 2007; Portnoy *et al.*, 2010). El uso del hábitat en elasmobranquios está muy influenciado por la temperatura del agua (Simpfendorfer y Heupel, 2004). Además los cambios en la temperatura del agua pueden afectar los patrones de dispersión y distribución de las poblaciones y especies. Actualmente, la parte Sur de África y América del Sur son un impedimento geográfico de conectividad tropical debido a las temperaturas frías. La fauna del Atlántico e Indo-Pacífico compartieron conexiones en

menor escala hace 3.5 millones de años (cuando se cerró el Istmo de Panamá), actualmente la dispersión es a través de África (Bowen *et al.* 1998; 2001), la cual es muy rara debido a la corriente fría de Bengala. Por su parte, en el Indo-Pacífico no existe la barrera geográfica de la temperatura, pero al parecer si la distancia.

Mediante la prueba de Mantel se observó una relación significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica, lo cual indica que las localidades más cercanas geográficamente tienen mayor tasa de intercambio de migrantes (Fig. 12).

Al analizar el número de migrantes entre localidades (tabla VII) se observan valores infinitos entre los individuos del Golfo de California y Filipinas; Filipinas y Australia; y entre Djibuti y Mozambique, y son las localidades geográficamente más cercanas, lo cual indica que no hay flujo restringido entre las localidades del Pacífico (Golfo de California y Filipinas), la parte que conecta al Indo-Pacífico (Filipinas y Australia) y entre el Sureste y Noreste del Índico (Mozambique y Djibuti). Al comparar el Índico Este (Mozambique y Djibuti) con el Oeste (Australia), los valores de número de migrantes fluctúan entre 52 y 61, sorpresivamente los valores entre Índico Este y Pacífico Oeste (Filipinas) van de 137 y 135, lo cual puede deberse al bajo número de muestras analizadas en Australia y quizás el número de migrantes sea similar con el de Filipinas. Al comparar el Índico Este con el Pacífico Oeste (Golfo de California) da valores de 24 y 22, lo cual se refleja en una diferenciación genética entre estas localidades y aislamiento por distancia, ya que son las localidades del Indo-Pacífico más alejadas.

El posible panorama que se plantea en el presente trabajo es que Isla Holbox representa una población con flujo genético restringido con el resto de localidades ($Nm=6$ a 8) y no se tiene información para saber que tan extensa es dentro del océano Atlántico, STRUCTURE sugiere que hay poca mezcla con otras localidades. Sin embargo, dado que no se incluyeron dentro del análisis otras localidades del Atlántico es difícil establecer si corresponde a otras localidades del Atlántico o del Indo-Pacífico; por lo que es necesario comparar con muestras de tiburones ballena más al Sur como Brasil así como del Atlántico Oeste. Por su

parte en el Indo-Pacífico existe una diferenciación genética baja entre el océano Índico Oeste con el océano Pacífico Oriental debido a las distancias geográficas.

En el presente trabajo se estimó un tamaño efectivo de 329 y 384 (modelo de alelos infinitos y paso a paso, respectivamente) para Isla Holbox y de 397 y 402 (modelo de alelos infinitos y paso a paso, respectivamente) para el Indo-Pacífico.

Castro *et al.* (2007) mediante el empleo de la región control y siguiendo el modelo de alelos infinitos calcularon tamaños efectivos mundiales de 238,000–476,000 (hembras efectivas: 119,000–238,000). Por su parte, Schmidt *et al.* (2009) con base en microsatélites y el modelo de paso a paso calcularon un tamaño efectivo de 27,401–179,794; estimación calculada mediante el empleo de θ_{Hom} el cual puede sobreestimarse con el empleo de pocos loci, por lo que se recomienda el uso de θ_{H} en microsatélites, (Excoffier *et al.*, 1997); el cual se empleó en el presente trabajo; con base en lo anterior se estimó el tamaño efectivo con los datos mencionados en Schmidt *et al.* (2009) de acuerdo con el modelo de alelos infinitos, el cual dio una estimación de 556. Todos los cálculos deben de tomarse con precaución. Los trabajos previos mencionados fueron realizados con un muy bajo número de muestras; además, no se han hecho estimaciones de la tasa de mutación de microsatélites en tiburones. Al comparar el cálculo de Castro *et al.* (2007) de hembras efectivas 119,000–238,000 calculado con un tiempo de generación de 25 años; con los calculados para *Sphyrna lewini* de 140,000 (tiempo de generación de 5.7 años) y de 47000 (tiempo de generación de 16.7 años, Duncan *et al.*, 2006) sorpresivamente es mucho mayor en tiburón ballena, dado que el tiburón martillo presenta una distribución global, abundante y una tasa de reproducción menor a la del tiburón ballena.

Son pocos los trabajos sobre abundancia poblacional del tiburón ballena, por medio de análisis de captura-recaptura y mediante el empleo del Modelo de Jolly-Seber para poblaciones abiertas, se han hecho estimaciones de tamaños poblacionales entre 320 y 440 tiburones en Ningaloo Reef, Australia, (Meekan *et al.*, 2006), entre 348 y 488 en Seychelles tiburones (Rowar *et al.*, 2009), entre 68 y 81 tiburones en Maldivas (Riley *et al.*, 2010), en

Isla Holbox entre 516 y 802 (presente trabajo) y en el Golfo de California entre 396 y 509 tiburones (presente trabajo). Todas las estimaciones son de pocos individuos; sin embargo, en todos los casos la mayoría de los tiburones que conforman las agregaciones están compuestas por organismos juveniles (ver discusión estructura poblacional).

De acuerdo con Frankham (1995) el tamaño efectivo poblacional es por lo general el 10 o 11% del tamaño real de la población. En el Indo-Pacífico se estimó un tamaño efectivo entre 397 y 402 si extrapolamos a que representa el 11% del total nos da un tamaño de 3609 y 3654 individuos respectivamente, al sumar los valores estimados conocidos en las localidades del Indo-Pacífico da un total de 1518, dado que hacen falta las estimaciones de otras localidades se puede pensar el tamaño efectivo calculado en el presente trabajo es más cercano a los calculados con anterioridad.

8.2 Estimación de abundancia y estructura poblacional por sexo y tallas

8.2.1 Estructura poblacional por sexo y tallas

El presente trabajo demostró que la técnica de foto-identificación puede ser empleada para estudiar y monitorear a los tiburones ballena en diferentes localidades a largo plazo. Por medio de esta técnica se obtuvieron recapturas entre-años y localidades, mostrando fidelidad al área tanto estacional como entre-años y movimientos entre localidades.

La técnica de foto-identificación es comparable con el empleo de las marcas convencionales. Con ambas técnicas, se puede evaluar la residencia, fidelidad al sitio y movimiento entre localidades, además en ambas técnicas se depende de la recaptura del organismo. No obstante, con la foto-identificación no se corre el riesgo de que la marca se pierda y sobre todo no se lastima al organismo. En ambas técnicas se requiere del buen trabajo en campo; para la foto-identificación es importante tener buenas fotos del área del cuerpo del animal previamente establecida y por su parte, la colocación de la marca convencional requiere de una buena técnica para su apropiada fijación.

Los tiburones de Isla Holbox se agregan cada año en números entre 70–105 y 211–260 , lo cual justifica el uso de marcas convencionales para la investigación, ya que durante el trabajo de campo es muy difícil identificar a cada tiburón y las marcas ayudan a realizar un trabajo de campo más eficaz y ayudó a aumentar el número de recapturas; sin embargo se recomienda el uso de ambas técnicas, dado que las marcas no permanecen en los individuos por tiempos prolongados y por medio de la foto-identificación se pueden ver recapturas entre años.

Debido a la baja densidad de tiburones ballena en el Golfo de California no es necesario el empleo de marcas convencionales y se puede realizar el monitoreo por largos periodos de tiempo usando la foto-identificación.

El empleo del programa computacional I³S (den Hartog y Reijns, 2004) ayudó a la construcción del archivo fotográfico, cuando se siguieron los lineamientos mencionados por Speed *et al.* (2008); sin embargo, se aumento el número de identificaciones mediante la inspección visual.

En Isla Holbox de los 350 tiburones identificados, el 65% fueron machos, el 27% hembras y el 8% de sexo indeterminado, patrón que fue consistente en cada año y entre-años. Por su parte, la proporción sexual en las agregaciones de tiburones ballena juveniles en la Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles fue igual (69% machos, 23% hembras y 8% indeterminado; y 68.5% machos, 21.5% hembras y 10% indeterminado, respectivamente, $G_1 = 0.03$, $p > 0.86$, Fig. 14). Los resultados mencionados, son similares a los reportados en Ningaloo Reef, Australia (Taylor, 1994; Arzoumanian *et al.*, 2005; Meekan *et al.*, 2006; Norman y Stevens, 2007), Djibuti (Rowat *et al.*, 2007), y Belice (Graham y Roberts, 2007) donde las agregaciones están compuestas en su mayoría por tiburones juveniles machos (Heyman *et al.*, 2001; Meekan *et al.*, 2006; Rowat *et al.*, 2007).

Las agregaciones de aguas oceánicas del sur del Golfo de California estuvieron conformadas únicamente por hembras grandes (+9m) y preñadas, siendo esta área junto con

Isla Galápagos (Antoniou, SRI, comunicación personal) y el Archipiélago de Revillagigedo (observaciones personales) las únicas excepciones reportadas a nivel mundial, donde las agregaciones están compuestas únicamente por hembras preñadas.

La segregación sexual o diferencias en la proporción sexual al parecer es una característica en tiburones (Springer, 1967; Klimley, 1987; Robins, 2007). Se piensa que la segregación se debe a una competencia por el alimento, por estrategias para la reproducción asociadas al comportamiento reproductivo o a diferencias en las necesidades de recursos o hábitat (Sims *et al.*, 2001). Diferencias en la proporción sexual pueden deberse a diferencias en los patrones de migración (Pratt, 1979) o a diferencias en la tasa de mortalidad (Heithaus, 2001). Lo anterior indica que los tiburones ballena tienen diferentes patrones de migración y uso de hábitat de acuerdo a sus tallas y sexos.

El intervalo de tallas de los tiburones ballena identificados en Isla Holbox fue de 2.5 a 9.5 m LT. Este intervalo de tallas es el típico reportado en otras localidades. Por ejemplo, Meekan *et al.* (2006) reportan tiburones ballena de 3 a 10 m LT en Ningaloo Reef. Tanto en Isla Holbox como en Ningaloo Reef la distribución de tallas es bimodal con dos clases frecuentes a los 6 y 7 m y a los 8 y 9 m. Graham y Roberts (2007) reportan datos similares en Belice, donde los tiburones ballena medidos fueron de 3 a 12.7 m LT con una media de $6.3 \text{ m} \pm 1.7 \text{ m}$. A pesar de que la mayoría de los organismos son juveniles, en Isla Holbox también hay organismos maduros, siendo en su mayoría machos.

La presencia de pocas hembras y pocos registros de organismos pequeños indica que Isla Holbox no corresponde al total de la población de los tiburones ballena del Caribe, Golfo de México y Atlántico, ¿Dónde están las hembras, los organismos pequeños y grandes? Hazin *et al.* (2006) reportan tiburones ballena en el Archipiélago de San Pedro y San Pablo, siendo en su mayoría entre 6 y 10 metros, sin embargo, no se cuenta con los datos de sexo. Hueter y colaboradores (2008) reportan el movimiento de una hembra madura (7.5 m) marcada en Isla Holbox hacia esta área (7213 km), siendo mar abierto en medio del Atlántico. De acuerdo con Wolfson (1983) y Kukuyev (1996) en aguas profundas del

Atlántico central y cerca de la costa oeste de África se han encontrado neonatos de tiburón ballena, en profundidades de 2000 a 4700 metros. Los escasos datos del Atlántico dejan resaltar una estructura de tallas y sexos en los diferentes sitios estudiados. Las agregaciones costeras están conformadas por organismos juveniles en su mayoría machos y los adultos en aguas oceánicas, mientras que los neonatos se observan en aguas profundas, sin embargo, es necesario hacer un esfuerzo de estudios de los tiburones ballena en el Atlántico, para conocer sobre estructura genética y poblacional del Atlántico.

La estructura de tallas fue similar en las agregaciones de tiburones juveniles de Bahía de los Ángeles (2.5 a 8.5 m) y de la Bahía de la Paz (2 a 7 m), con una moda a los 5 y 4 m respectivamente, los datos muestran que la agregación en ambas localidades está compuesta por organismos muy pequeños, siendo únicamente similar a la reportada en Djibuti compuesta principalmente por individuos pequeños (5 m, Rowat *et al.*, 2007). Lo anterior sugiere que estas localidades son áreas de crianza secundaria. El concepto de áreas de crianza en las poblaciones de tiburones se define como las regiones donde nacen los tiburones o viven hasta alcanzar la madurez. De acuerdo con Bass (1978) las áreas de crianza primaria son donde nacen los organismos y pasan la primer parte de su vida. Las áreas de crianza secundaria son donde habitan los juveniles y no se encuentran adolescentes o adultos. A su vez, las áreas de crianza pueden clasificarse de acuerdo a la presencia o ausencia de depredadores, siendo estas protegidas y no protegidas, respectivamente (Branstetter, 1990). Con base en los conceptos mencionados, Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles son áreas de crianza secundaria protegidas. Ketchum (2003) con base en la presencia de tiburones ballena de 2 m en la Bahía de la Paz sugirió que esta zona puede ser un área de crianza secundaria protegida.

Por su parte, la estructura de tallas de las hembras preñadas presentes en aguas oceánicas alrededor de la Isla Espíritu Santo en la Bahía de la Paz (10 a 13 m, Fig. 18) fue similar a la de las hembras preñadas en aguas oceánicas de Bajo Gorda en San José del Cabo (9 a 12 m, Fig. 25), siendo evidente que la agregación está compuesta por organismos grandes y

diferente a las reportadas en otras localidades del mundo, siendo junto con Isla Galápagos los únicos lugares donde se agregan únicamente organismos grandes (> 9 m).

Los datos confirman que en el Golfo de California existe una segregación latitudinal de tiburones ballena, acorde a su talla y sexo. Encontrándose los individuos jóvenes (< 8 m) en aguas costeras de la Bahía de la Paz y de Bahía de los Ángeles, siendo la mayoría machos; mientras que los organismos adultos (> 9 metros) se distribuyen en aguas oceánicas del Sur del Golfo de California, específicamente alrededor de la Isla Espíritu Santo y Bajo Gorda, donde la agregación es únicamente de hembras maduras y preñadas (Eckert y Stewart, 2001; Ketchum 2003; Ramírez-Macías *et al.*, 2007).

Por alguna razón las hembras visitan cada año las aguas oceánicas del sur del Golfo de California, de acuerdo con Ketchum (2003) en la Isla Espíritu Santo se encuentran condiciones muy específicas de temperatura y de alimento, estando compuesto por larvas de eufáusidos (*Nyctiphanes simplex*) y gasterópodos, no estando presentes con otras composiciones zooplanctónicas, de lo anterior surge la siguiente pregunta: ¿Las hembras encuentran en las aguas del Sur del Golfo de California los nutrientes requeridos para el desarrollo de sus crías? y/o ¿Las hembras usan las aguas profundas del Sur del Golfo de California como área de crianza primaria?.

Otros sitios donde existen reportes de hembra preñadas es en Islas Galápagos (Antoniou, SRI, comunicación personal) y el Archipiélago de Revillagigedo (Ramírez-Macías, observaciones personales). Wolfson (1983) reportó tiburones ballena neonatos en las aguas ecuatoriales del Pacífico Este, con tallas entre 550–930 mm, dichos individuos fueron capturados en profundidades entre 2650–4750 m. De acuerdo con Joung *et al.* (1996) el tipo de reproducción es vivíparo aplacentado llegando a tener hasta 300 crías, siendo el desarrollo diferente entre los embriones lo que indica que no nacen todos al mismo tiempo, por lo que todo el corredor de Islas del Pacífico Este donde se han observado hembras preñadas incluyendo las aguas del Sur del Golfo de California puede ser un área de crianza primaria.

En Taiwán fue capturada una hembra preñada, con algunos neonatos listos para nacer, se sugirió que cerca del sur de Taiwán en el área de la corriente de Kuroshio que es rica en nutrientes (Chang *et al.*, 1997). Filipinas es el único lugar en el mundo con dos reportes de neonatos juveniles (46 y 64 cm) en superficie (Aca y Schmidt, 2011) sorprendentemente la talla de 46 cm es menor a la reportada del tiburón más pequeño (64 cm) dentro del útero de la hembra capturada en Taiwán (64 cm) (Joung *et al.*, 1996), por lo que es incierto si los dos embriones encontrados en superficie en Filipinas son el resultado de la pesca ilegal de una hembra o por nacimiento natural (Aca y Schmidt, 2011). Sin embargo, los registros de neonatos tanto en el Atlántico como en el Pacífico en profundidades entre 2000 y 4700 m sugieren que nacen en las profundidades donde encuentran protección contra depredadores.

La presencia de juveniles pequeños de 2 m en la Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles así como la presencia de hembras preñadas en el sur del Golfo de California sugiere que las hembras preñadas usan las aguas profundas del sur del Golfo como área de crianza primaria. De acuerdo con Aca y Schmidt (2011) un tiburón ballena de 1.4 m puede ser considerado como animales de 4 meses, dado que el registro de los neonatos en cautiverio a los 4 meses tenían esta talla y se ha reportado un crecimiento similar entre tiburones en cautiverio y salvajes. Con lo anterior se puede considerar que los tiburones ballena de 2 m en estas bahías son animales de aproximadamente 1 año.

Los datos genéticos indican que los tiburones del Golfo de California son los mismos que Filipinas y Australia. Tanto en Australia (Meekan *et al.*, 2006) como en Filipinas (Aca, 2008) las agregaciones están compuesta por organismos más grandes (7 y 8 m, 7 y 7.5 m, respectivamente) que en las agregaciones de Bahía de los Ángeles y Bahía de la Paz, incluso hay presencia de machos adultos. Juntando trabajos anteriores con los datos del presente trabajo, se puede pensar que los tiburones ballena nacen en aguas profundas del Pacífico Este, siendo Bahía de La Paz y Bahía de los Ángeles áreas de crianza secundaria, donde los juveniles encuentran alimento y protección contra depredadores. Presentando los juveniles alta fidelidad al área y que una vez que alcanzan la madurez sexual migran a

lugares como Filipinas y Australia, donde se encuentran animales entre 7 y 8 m, por su parte las hembras regresan a los sitios de nacimiento a tener a sus crías. Dado que hay presencia de hembras preñadas en Australia y Filipinas, y a que no todos los animales nacen al mismo tiempo, quizás cerca de estas áreas en la profundidad también nacen. Sin embargo, siguen haciendo falta registros de hembras juveniles y machos grandes. Hacen falta estudios en otros sitios de agregación como Taiwán, Colombia, incluso en costas de México como San Blas, Nayarit y Salina Cruz, Oaxaca para poder establecer y completar el escenario del tiburón ballena.

8.2.2 Estimación de talla de Madurez.

De acuerdo con Norman y Stevens (2007) la talla de madurez sexual de los tiburones ballena en Ningaloo Reef es a los 8 m LT. El presente trabajo muestra que los tiburones ballena en Isla Holbox maduran a una talla menor (7 m LT). Por su parte, en el Golfo de California la talla máxima encontrada en machos fue de 7 m, en todos los casos, los gonopterigios eran organismos inmaduros. Estos resultados pueden interpretarse de dos maneras: 1) Los tiburones ballena del Caribe maduran antes que los tiburones de Australia y el Golfo de California; 2) Los tiburones ballena de Isla Holbox son más pequeños que los encontrados en Ningaloo Reef y el Golfo de California. Se han reportado diferencias en la talla de madurez sexual entre localidades en otras especies de tiburones (Simpfendorfer, 1992; Bonfil *et al.*, 1993; Wintner y Cliff, 1995; Castro, 1996; Villavicencio, 1996; Lucifora *et al.*, 2005) que sugirieren poblaciones locales diferentes, lo cual en tiburón ballena se confirma con los datos genéticos, dado que Isla Holbox conforma una población diferente a las estudiadas en el Indo-Pacífico. Sin embargo, las diferencias también pueden deberse a que las estimaciones de la LT fueron diferentes en el trabajo realizado por Norman y Stevens (2007) y en el presente trabajo.

8.2.3 Estimación de Abundancia

Con base en el modelo de Jolly-Seber para poblaciones abiertas se estimó un tamaño poblacional de 516 a 802 (95% confianza, EE=71) tiburones en Isla Holbox (2004 al 2008),

sin embargo, debido al aumento de los tiburones recapturados en el último año de estudio, el tamaño poblacional estimado debe de considerarse con precaución, siendo más cercana la estimación mayor. En el Golfo de California se estimó una abundancia entre 396 y 509 (95% confianza, EE=28) tiburones (2003 al 2009); mientras que la abundancia en la Bahía de la Paz fue de 136 a 194 (95% confianza, EE=13) organismos del 2004 al 2009. Al comparar las estimaciones realizadas en el presente trabajo con los reportados para otras localidades, siguiendo el mismo modelo de Jolly-Seber para poblaciones abiertas, se observa que la estimación del Golfo fue similar a la reportada para el Océano Índico en Ningaloo Reef, Australia (aproximadamente 320 a 440 tiburones, Meekan *et al.*, 2006) y Seychelles (348 a 488 tiburones, Rowat *et al.*, 2009) y mucho menor al calculado para Isla Holbox, siendo este sitio la mayor abundancia reportada. Por su parte la abundancia en la Bahía de la Paz fue mayor a la reportada en Maldivas (entre 68 y 81 tiburones, Riley *et al.*, 2010), y menor a reportada en los otros sitios mencionados, y no representa el total de los tiburones ballena transeúntes del Golfo de California ya que de los 133 tiburones identificados en la Bahía de la Paz únicamente el 19.54% (26) fueron recapturados en Bahía de los Ángeles.

A pesar de estas diferencias, existen patrones constantes de comportamiento y estructura poblacional de los tiburones en los diferentes sitios de agregación. Primero, las agregaciones incluyen tiburones con un grado de fidelidad entre-años, incluso en algunos sitios entre décadas y otros que se observaron solo una vez en el sitio durante la agregación al menos durante el periodo de estudio (>3 temporadas o años; Meekan *et al.*, 2006; Holmberg *et al.*, 2009). En el presente estudio en Isla Holbox se recapturaron 46 tiburones en diferentes años (13.14%), el intervalo típico de recapturas fue de un año, aunque tres individuos se recapturaron en todos los años de estudio, el análisis de recapturas mostró que cada año las recapturas son del 11 al 28% de los individuos. En el Golfo de California el análisis de recapturas entre-años mostró que el 18.38% de los tiburones ballena juveniles regresaron al área entre-años, algunos individuos fueron recapturados durante 6 y 7 años consecutivos, el intervalo típico de recapturas fue entre 2 y 3 años. El análisis de recapturas anual en la Bahía de la Paz mostró que existe un porcentaje de recapturas entre-años del 16

al 35%, por su parte el análisis de Bahía de los Ángeles (únicamente 2008 y 2009) mostró que del 17% de los tiburones presentes en el 2008 regresaron en el 2009. El porcentaje de recapturas anuales en la Bahía de la Paz es mayor al reportado para Seychelles (13.7–25%, Rowat *et al.*, 2009) y las otras localidades del presente estudio. Las agregaciones de hembras preñadas en la Isla Espíritu Santo y Banco Gorda no mostraron este patrón ya que no hubo recapturas entre-años y durante la temporada del mismo año las recapturas fueron entre días.

La abundancia anual en Isla Holbox fue de 70–105 y 211–260 tiburones. Sin embargo, debido a que durante el 2005 (94–122, 95% confianza, EE=6) y el 2007 (70–105, 95% confianza, EE=8) se realizó un menor número de salidas al campo, la estimación de abundancia baja en estos años debe de considerarse con cautela. En el 2006 y 2008 se realizó un mayor número de salidas al campo, en estos años se estimó una abundancia de 152–202 (95% confianza, EE=12) y 211–260 (95% confianza, EE=12) tiburones, quizás estos cálculos sean los más aproximados para esta localidad. Isla Holbox es la mayor agregación reportada para el tiburón ballena. Aunque no existen estimaciones de abundancia para Sudáfrica y Mozambique, censos aéreos realizados en la Costa de KwaZulu-Natal en Sudáfrica reporta entre 50 y 100 tiburones ballena por Km de costa (Beckley *et al.*, 1997) y 54 tiburones ballena a lo largo de 50 Km. de la costa de Mozambique (Cliff *et al.*, 2007) quizás las agregaciones de tiburones ballena en Sudáfrica y Mozambique sean mayores o similares a las reportadas en el presente estudio.

La variación en la estimación de abundancia por año sugiere que la población que visita Isla Holbox no representa el total de la población transeúnte del Mar Caribe y Golfo de México. El marcaje tanto satelital como convencional en tiburones ballena de Isla Holbox ha mostrado que algunos tiburones se van al Golfo del México; mientras que otros se van al sur (Honduras, Belice y Brasil, Hueter *et al.*, 2008). Los tiburones ballena marcados en Honduras y en Belice han mostrado movimientos hacia Isla Holbox y cruzan al Golfo de México (Gifford *et al.*, 2007, Graham y Roberts, 2007). Hoffman *et al.* (1981) sugieren que los tiburones ballena encontrados en el Norte del Golfo de México migra estacionalmente

(primavera/verano) a las aguas de Cuba. En este momento no se han establecido patrones de migración entre el Mar Caribe y el Golfo de México.

Debido a que los tiburones ballena a lo largo del Sistema Arrecifal Mesoamericano se encuentran interconectadas (Gifford *et al.*, 2007; Graham y Roberts, 2007), el incremento o disminución en los números en un sitio, puede deberse al cambio en la distribución entre los sitios de agregación más que a cambios en el tamaño poblacional. Por ello, para la determinación de su estatus y cambios en la abundancia requiere información de más de un solo sitio de agregación y varios años de estudio.

El análisis de abundancia anual mostró que en la Bahía de la Paz las agregaciones pueden ir de pocos (8) a 58–72 (95%, confianza, EE=3) tiburones, mientras que en Bahía de los Ángeles de 46–69 (95% confianza, EE=5) a 84–110 (95% confianza, EE=6) organismos. En ambas localidades la abundancia anual es mucho menor a la reportada para Isla Holbox y al estimado para Ningaloo Reef Australia (90–120 a 127–190 individuos, Holmberg *et al.*, 2009), calculados mediante el modelo de Jolly-Seber para poblaciones abiertas.

Hubo años como el 2003 en donde las agregaciones de juveniles en la Bahía de la Paz y el 2005 en Bahía de los Ángeles cuando los organismos no se agregaron para alimentarse. Wilson *et al.* (2001) menciona que los cambios en las condiciones oceanográficas puede afectar la presencia de tiburones ballena en Ningaloo Reef Australia, donde aumentó la abundancia durante un evento de la Niña. Lo anterior ha sido mencionado también para los organismos en la Bahía de la Paz por Ketchum (2003). Esto resalta la importancia del presente trabajo, debido a la naturaleza migratoria de la especie y a que la población del Golfo de California se encuentra interconectada en los diferentes sitios de agregación, el determinar el estatus de la especie en los diferentes sitios de agregación en esta área es importante para el manejo y conservación de la especie, ya que el aumento o disminución de los tiburones ballena en un solo sitio, puede ser el reflejo de cambios en la distribución de la población en los diferente sitios de agregación más que cambios en la abundancia total de la población.

8.2.4 Estacionalidad

El presente estudio confirma que el tiburón ballena año con año se agrega en Isla Holbox de Junio a Septiembre con una mayor agregación en Agosto, su estacionalidad se encuentra relacionada a la surgencia de Yucatán (Merino, 1997). Durante primavera y verano la surgencia de Yucatán aumenta la productividad de fitoplancton, zooplancton e ictioplancton (Falfán *et al.*, 2008). En Ningaloo Reef Australia, se agrega estacionalmente debido al desove de corales, lo cual aumenta la productividad de la zona (Taylor, 1996). Las recapturas en el mismo año mostraron que los tiburones permanecen en Isla Holbox hasta 3.5 meses; sin embargo, el mayor número de recapturas fue entre días o semanas.

En Bahía de los Ángeles los tiburones pueden agregarse de Mayo a Noviembre con una mayor abundancia en Octubre (Fig.23), lo cual coincide con lo mencionado con anterioridad por Cárdenas-Torres *et al.* (2007); mientras que en la Bahía de la Paz los tiburones ballena juveniles se pueden agregar entre Agosto y Junio (Fig. 17), en este sitio la estacionalidad de juveniles ha cambiado drásticamente. Wolfson (1987) menciona la presencia de tiburones en los meses de Agosto-Septiembre; por su parte Clark y Nelson (1997) mencionan un temporadas de Octubre-Noviembre (juveniles), finalmente Ketchum (2003) menciona una temporada de Septiembre-Noviembre con nula abundancia en invierno. La estacionalidad de juveniles en aguas costeras fue similar a la mencionada con anterioridad en los primeros años de estudio (Septiembre a Enero); la cual en los últimos dos años presentó un desfase cambiando de Noviembre a Marzo o Junio, por lo que en la Bahía de la Paz los cambios en las condiciones oceanográficas no sólo afectan la abundancia y/o presencia si no también su estacionalidad (Wilson *et al.*, 2001; Ketchum, 2003).

Los datos del 2008 y 2009 (Tabla X) sugieren que los tiburones ballena juveniles se agregan estacionalmente en Bahía de los Ángeles para alimentarse (Mayo–Noviembre) siguiendo las concentraciones de alimento en la Bahía de la Paz (Noviembre–Abril). La mayoría de recapturas de Bahía de los Ángeles hacia la Bahía de la Paz ocurrieron en un tiempo de 1 a 2 meses, mientras que de la Bahía de la Paz a Bahía de los Ángeles

ocurrieron de 3 a 4 meses, lo que hace suponer que existe un tercer sitio de agregación dentro del Golfo de California o quizás fuera. En el Golfo de California otro sitio de agregación reportado es San Luis Gonzaga, el cual se encuentra cerca de Bahía de los Ángeles por lo que muy probablemente se trate de los mismos organismos. Otros sitios donde se ha reportado presencia de tiburón ballena es en Guaymas, Cabo Pulmo y la Bahía de Loreto, sin embargo en estos sitios los reportes son de avistamientos esporádicos. Fuera del Golfo los sitios más cercanos de agregación de la especie son San Blas, Nayarit y Salina Cruz, Oaxaca.

En lo que respecta a la presencia de hembras preñadas en aguas oceánicas del Sur del Golfo de California, su estacionalidad se ha mantenido alrededor de la Isle Espíritu Santo Mayo–Junio y en Bajo Gorda Abril–Junio, lo cual coincide con lo reportado por Wolfson (1987) Clark y Nelson (1997) y Ketchum (2003). Sin embargo, no se encontraron en todos los años de estudio. De acuerdo con los datos se agregan en una Bajo Gorda o en la Isla Espíritu Santo; por ejemplo, en el 2006 no se encontraron en la Isla pero sí en Bajo Gorda. A pesar de que no se tiene ninguna recaptura entre estos sitios, la estacionalidad coincide en ambas localidades lo que sugiere que se trata del mismo grupo de hembras visitantes.

El análisis de recapturas durante el periodo de agregación mostró que en la Bahía de la Paz los tiburones ballena se pueden quedar hasta 5.5 meses; mientras que en Bahía de los Ángeles hasta 5 meses; sin embargo este análisis mostró que en la Bahía de la Paz la mayoría de los tiburones se quedan durante todos los meses de agregación, presentando una alta fidelidad a la zona mientras que en Bahía de los Ángeles la mayoría son transeúntes, encontrándose una o dos veces durante la temporada de agregación.

8.2.5 Análisis de cicatrices

En Isla Holbox, las cicatrices más comunes fueron las muescas (36%) y las laceraciones (14%); por su parte, las cicatrices no comunes fueron las amputaciones (6%), mordidas (6%), abrasiones (3%), otras (2%) y los traumas (1.5%). En la Bahía de la Paz las cicatrices

más comunes fueron las laceraciones (42%) y las abrasiones (29%), seguidas de las muescas (17.5%) y las poco comunes fueron las amputaciones, mordidas y otros (2%), no se encontraron traumas (Fig. 21). El mayor número de laceraciones, abrasiones, amputaciones y traumas son causadas por embarcaciones, esto quizás como resultado directo de la actividad de turismo con el tiburón ballena.

En la Bahía de la Paz, a pesar de que el tiburón ballena y su hábitat representan un importante capital natural, con uso turístico y que desde el 2006 se ha capacitado a los prestadores de servicios turísticos para la realización de la actividad de observación y nado con la especie, los datos científicos muestran que de Noviembre de 2004 a Abril de 2010 el porcentaje total de daños causados por embarcaciones ha fluctuado del 31 al 67 % por año estos daños son similares a los reportados para Mozambique donde no existe un plan de manejo (Fig. 21) para la actividad de observación y nado con la especie y a las reportadas con las de Seychelles donde a pesar de que existe un plan de manejo es evidente la necesidad de fortalecerlo.

En contraste, en Isla Holbox, Quintana Roo, a pesar de que existe una agregación de tiburón ballena muy grande y que hay muchos prestadores de servicios turísticos (130 embarcaciones con permisos de observación en el 2008), el porcentaje total de cicatrices debidas a embarcaciones del 2005 al 2008 ha fluctuado del 13% al 33% por año. Estas diferencias se deben principalmente a que en Isla Holbox desde el 2003 se han dado capacitaciones a los prestadores servicios turísticos, se ha dado difusión a los códigos de conducta del plan de manejo y se realiza inspección y vigilancia por parte de la PROFEPA. Speed *et al.* (2008) mencionan que los tiburones regresan a la zona independientemente de las cicatrices que presenten por lo que los eventos que causan las cicatrices en sí no afectan la sobrevivencia ni los patrones de migración. Sin embargo, Graham y Roberts (2007) mencionan que disminuyó la abundancia de tiburones ballena en Belice quizás debido al impacto de la actividad de turismo en la zona.

A pesar de que el análisis de cicatrices es una forma indirecta de medir el manejo implementado en Isla Holbox y en la Bahía de la Paz durante la actividad de turismo, es necesario ser cauteloso. Dado que el tiburón ballena es altamente migratorio (Eckert y Stewart, 2001; Eckert *et al.*, 2002; Norman, 2004; Rowat y Gore, 2007) es igualmente posible que las cicatrices observadas pudieron haberse ocasionado en otro lugar de su distribución, especialmente en Isla Holbox, en La Bahía de la Paz, son pocos los organismos y la mayoría se queda por tiempos prolongados, lo que permite monitorearlos individualmente y se ha visto como llegan los tiburones sin cicatrices y durante la temporada en la Bahía de la Paz son dañados incluso varias veces.

En lo que respecta a cicatrices causadas por depredadores (mordidas) tanto en Isla Holbox como en la Bahía de la Paz fue mucho menor (menos del 10%) a las reportadas para el Océano Índico (entre 20 y 45%). Sin embargo, en Isla Holbox se han observado depredadores en la zona durante temporada de avistamiento de tiburón ballena como el tiburón toro (*Carcharhinus leucas*) y el tiburón tigre (*Galeocerdo cuvier*). El bajo número de mordidas en estos tiburones en la Bahía de la Paz puede deberse que los tiburones ballena juveniles se alimentan en aguas costeras de la Bahía de la Paz y de Bahía de los Ángeles donde tienen protección contra depredadores, y es donde pasan la mayor parte del tiempo. Durante el periodo de estudio sólo se observó un tiburón mako (*Isurus oxyrinchus*) de aproximadamente 3 m durante la temporada de agregación en la Bahía de la Paz el 30 de enero del 2010. Existen reportes de grandes depredadores en otros sitios del Golfo de California, p. ej. tiburón tigre y toro en el Parque Marino Cabo Pulmo, tiburón mako alrededor de la Isla Espíritu Santo, en Bajo Gorda los tiburones antes mencionados y orcas en diferentes partes del Golfo de California, incluso existe un reporte del ataque de orcas a un tiburón ballena afuera de Bahía de los Ángeles (O' Sullivan, 2000). Lo anterior resalta la importancia que tienen ambas bahías para los tiburones ballena juveniles, siendo estas localidades áreas de alta productividad donde además de encontrar alimento (Clark y Nelson, 1997; Nelson y Eckert, 2007; García-García, 2002; Ketchum, 2003; Hacoheh, 2007) encuentran protección contra depredadores siendo áreas de crianza secundaria protegidas. Además de encontrarse tiburones ballena se encuentran otras especies

alimentándose p. ej. ballenas jorobadas, manta gigante, móbulas, lobos marinos, delfines, por lo que son sitios importantes para la conservación.

Actualmente Bahía de los Ángeles, Baja California es un área natural protegida (DOF, 2009) donde los prestadores de servicios turísticos realizan el monitoreo de la población y el plan de manejo se encuentra fortalecido teniendo la zona de agregación de tiburón ballena delimitada con boyas e informando a los usuarios mediante folletos y mamparas colocadas en los accesos marinos al ANP sobre los códigos de conducta para la observación y nado con la especie. El esfuerzo de protección en Bahía de los Ángeles debe fortalecerse en la Bahía de la Paz considerando que es la misma población de tiburones juveniles (Ramírez-Macías *et al.*, 2007).

9. CONCLUSIONES

1. La variabilidad genética en las poblaciones de tiburón ballena analizadas con microsatélites expresados en número de alelos, heterocigosidad y riqueza alélica fue baja y presentó valores similares a otras especies de tiburones.
2. Se observó desviación al equilibrio de Hardy-Weinberg en Holbox, el Golfo de California, Mozambique y Filipinas, el análisis de los datos sugiere que se debe a un efecto Wahlund.
3. Los valores de diferenciación genética encontrados entre las poblaciones del Atlántico, Pacífico e Índico, fueron bajos pero significativos.
4. El tiburón ballena no está constituido por una población panmíctica a lo largo de su distribución mundial, con la información disponible se detectó dos poblaciones diferentes: 1) Isla Holbox en el Atlántico, 2) El Indo-Pacífico.
5. En el Indo-Pacífico se encontró una baja diferenciación genética entre el Golfo de California con respecto a Mozambique y Djibouti.

6. Se detectó aislamiento por distancia, existiendo una diferenciación genética entre las localidades en relación con las distancias geográficas. Lo cual implica que las localidades más cercanas reciben un mayor número de migrantes que las más alejadas.
7. La estructura de tallas y sexos en Isla Holbox es similar a la reportada en otras localidades, siendo en su mayoría machos juveniles (6 m).
8. En el Golfo de California existe una segregación latitudinal, acorde a su talla y sexo. Encontrándose los individuos jóvenes (< 8 m), en aguas costeras de la Bahía de la Paz y de Bahía de los Ángeles, siendo la mayoría machos; mientras que los organismos adultos y hembras (> 9 metros) se distribuyen en aguas oceánicas del Sur del Golfo.
9. Las agregaciones de aguas oceánicas del Sur del Golfo de California estuvieron conformadas únicamente por hembras preñadas. Lo anterior sugiere que es un área de crianza primaria.
10. Las agregaciones de juveniles en Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles, están compuesta en su mayoría por individuos pequeños, con fidelidad al área. Lo que sugiere que ambas Bahías son áreas de crianza secundaria protegidas.
11. Los movimientos observados entre Bahía de los Ángeles y Bahía de la Paz indican que aproximadamente el 20% de los juveniles se mueven de un sitio a otro.
12. La abundancia en Isla Holbox es de 516–802 tiburones. Siendo este sitio la mayor abundancia estimada en el mundo. La abundancia en el Golfo de California es de 396–509 tiburones, siendo similar a reportada en otras localidades; mientras que la abundancia en la Bahía de la Paz es de 136–197, siendo más baja a la reportada en otras localidades con excepción de Maldivas.
13. La abundancia anual en Isla Holbox puede variar de 70–105 a 211–260 tiburones ballena. En la Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles las agregaciones pueden ir de pocos (8) individuos a 58–72 y 84–110 respectivamente. Siendo Isla Holbox el sitio de mayor agregación reportado en el mundo, mientras que en las Bahías del Golfo de California hay baja abundancia.

14. En todas las localidades el aumento o disminución de los tiburones ballena en un solo sitio, puede ser el reflejo de cambios en la distribución de la población en las diferentes localidades de agregación más que cambios en la abundancia total de la población.
15. En Isla Holbox existe una estacionalidad predecible en las agregaciones de tiburón ballena; mientras que en el Golfo de California, la presencia y abundancia ha variado entre años y localidades, presumiblemente debido a cambios en las condiciones oceanográficas.
16. En Isla Holbox Del 20 al 22% de los tiburones ballena son afectados por las embarcaciones. Mientras que en la Bahía de la Paz del 31 al 67% de los tiburones ballena son afectados por las embarcaciones.
17. El bajo porcentaje de cicatrices causadas por depredadores en los tiburones juveniles en la Bahía de la Paz confirma que esta zona es un área de protección contra depredadores.
18. Aéreas de crianza primaria y secundaria son sitios importantes para la conservación de la especie, por lo que deben de generarse acciones para su conservación.

10. LITERATURA CITADA

- Aca, E.Q. 2008. Tracking Whale Shark (Butanding) in Donsol, Sorsogon, Philippines. 2nd International whale shark conference. Holbox, México.
- Aca, E.Q. y Schmidt. 2010. Revised size limit for viability in the wild: Neonatal and young of the year whale sharks identified in the Phillipines. *Asia Life Sci.* 20(2): 361–367.
- Avise, J.C., B.T. Lamb, A.B. Meylan, E. Bermingham. 1992. Mitochondrial DNA evolution at turtle's pace: evidence for low genetic variability and reduced microevolutionary rates in Testudines. *Mol Biol Ecol.* 9: 457–473.
- Avise, J.C. 2004. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution.* Sinauer. USA. 684p.
- Bansemmer, C.S., y M.B. Bennet. 2009. Reproductive periodicity, localized movements and behavioural segregation of pregnant *Carcharias taurus* at Wolf Rock, southeast Queensland, Australia. *Mar Ecol Prog Ser.* 374: 215–227.
- Beckley, L.E., G. Cliff, M.J. Smale, L.J. Compagno. 1997. Recent stranding and sightings of whale sharks in South Africa. *Environ Biol Fish.* 50: 343–348.
- Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste, F. Bonhomme. 2000. Genetix, A Windows Based Software for Population Genetic Analyses. Laboratoire Genome Populations, Interactions. CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. <http://www.univmontp2.fr/genetix/genetix.htm>.
- Castro, J.I. 1996. Biology of the blacktip shark, *Carcharhinus limbatus*, off the southeastern United States. *Bull Mar Sci.* 59: 508–522.
- Castro, A.L.F. y R.S. Rosa. 2005. Use of natural marks on population estimates of the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*, at Atol das Rocas Biological Reserve, Brazil. *Environ Biol Fishes.* 72(2): 213–221.
- Castro, A.L.F., B.S. Stewart, S.G. Wilson, R.E. Hueter, M.G. Meekan, J. Motta, B.W. Bowen, A. Karl. 2007. Population genetic structure of Earth's largest, the whale shark (*Rhincodon typus*). *Mol Ecol.* 16(24): 5183–5192.

- Cárdenas-Torres, N., R. Enríquez-Andrade, N. Rodríguez-Dowdell. 2007. Community-based management through ecotourism in Bahía de los Angeles, Mexico. *Fish Res.* 84(1): 114–118.
- Cerchio, S. 1998. Estimates of humpback whale abundance off Kauai, 1989–1993: evaluating biases associated with sampling the Hawaiian Islands breeding assemblage. *Mar Ecol Prog Ser.* 175: 23–24.
- CITES. 2002. Proposal to include the whale shark (*Rhincodon typus*). In: Appendix II, the Convention on International Trade in Endangered Species (CITES). The Philippines and India to the 12th Conference of Parties to CITES, Chile, November 2002. (www.cites.org).
- Clark, E. y D. Nelson. 1997. Young whale shark, *Rhincodon typus*, feeding on a copepod bloom near La Paz, México. *Env Biol Fishes.* 50(65): 63–73.
- Cliff, G., M.D. Anderson-Reade, A.P. Aiken, G.E. Charter, V.W. Peddemors. 2007. Aerial census of whale sharks (*Rhincodon typus*) on the northern KwaZulu-Natal coast, South Africa. *Fish Res.* 84(1): 41–46.
- Colman, J.G. 1997. A review of the biology and ecology of the whale shark. *J Fish Biol.* 51(6): 1219–1234.
- Compagno, L.J. 1984. FAO species catalogue. vol 4, sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1. Hexanchiformes to Lamniformes. FAO fisheries synopsis. 125: 209–211.
- Chakraborty, R. y Y.X. Zhong. 1994. Statistical power of an exact test of Hardy-Weinberg proportions of genotypic data at a multiallelic locus. *Human Heredity.* 44:1–9.
- Chaloupka, M., M. Osmond, G. Kaufman. 1999. Estimating seasonal abundance trends and survival probabilities of humpback whales in Hervey Bay (east coast of Australia). *Mar Ecol Prog Ser.* 184: 291–301.
- Chapman, D.D., P.A. Prodöhl, J. Gelsleichter, C.A. Manire, M.S. Shivji. 2004. Predominance of genetic monogamy by females in a hammerhead shark, *Sphyrna tiburo*: implications for shark conservation. *Mol Ecol.* 13: 1965–1974.
- Chapuis, M.P. y A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol Biol Evol.* 24: 621–631.

- den Hartog, J. y R. Reijns. 2004. Interactive Raggie Identification System, Manual.0.2. 28p.
- DOF. 2002. Diario Oficial de la Federación, 6 de marzo de 2002. T (582:4). México, D.F. pp. 1–80.
- DOF. 2009. Diario Oficial de la Federación, 5 de Junio de 2009. Primera Sección. México, D.F. pp. 1–5.
- Dudgeon, C.K., K. Feldheim, M. Schick, J.R. Ovenden. 2006. Polymorphic microsatellite loci for the zebra shark *Stegostoma fasciatum*. Mol Ecol Notes. 6: 1086-1088.
- Duncan, K.M., A.P. Martin, B.W. Bowen, H.G. de Couet. 2006. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). Mol Ecol. 15: 2239–2251.
- Eckert, S.A. y B.S. Stewart. 2001. Telemetry and satellite tracking of whale sharks, *Rhincodon typus*, in the Sea of Cortez, Mexico, and the North Pacific Ocean. Env Biol Fishes. 60: 299–308.
- Eckert, S.A., L.L. Dolar, G.L. Kooyman, W. Perrin, R.A. Rahman. 2002. Movements of whale sharks (*Rhincodon typus*) in South-east Asian waters as determined by satellite telemetry. J Zool Lond. 257: 111–115.
- Excoffier, L., P.E. Smouse, J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics. 131(2): 479–491.
- Evanno, G., S. Regnaut, J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Mol Ecol. 14(8):2611–2620.
- Falfán, E., U. Ordoñez, M. Órnelas. 2008. Variación espacial de larvas de Lutjánidos y Serránidos en la Plataforma de Yucatán. Hidrobiológica. 18: 69–76.
- Frankham, R. 1995. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. Genet Res. 66:95–107
- Feldheim, K.A., S.H. Gruber, M.V. Ashley. 2001. Population genetic structure of the lemon shark (*Negaprion brevirostris*) in the western Atlantic: DNA microsatellite variation. Mol Ecol. 10:295–303.

- Forcada, J., P.S. Hammond, A. Aguilar. 1999. Status of the Mediterranean monk seal *Monachus monachus* in the western Sahara and the implications of a mass mortality event. *Mar Ecol Prog Ser.* 188: 249–261.
- García-García, B.M. 2002. Relación entre la biomasa zoopláctica y los avistamientos de tiburón ballena (*Rhincodon typus*, Smith, 1828) en Bahía de los Ángeles, B.C., México. Tesis de Licenciatura. UABC. Ensenada, México 50p.
- García de León, F.J., L. Chikhi, F. Bonhomme. 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Mol Ecol.* 6: 51–62.
- Gifford, A., L.J. Compagno, M. Levine, A. Antoniou. 2007. Satellite tracking of whale sharks using tethered tags. *Fish Res.* 84(1): 17–24.
- Glenn T.C. y Schable N.A., 2005. Isolating microsatellite DNA loci. *Method Enzymol.* 395: 202–222.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995).
- Graham, R.T. y C.M. Roberts. 2007. Assessing the size and structure of a seasonal population of whale sharks (*Rhincodon typus* Smith 1828) using conventional tagging and photo identification. *Fish Res special issue.* 84(1): 71–80.
- Gunn, J.S., J.D. Stevens, T.L. Davis, B.N. Norman. 1999. Observations on the short-term movements and behaviour of whale sharks (*Rhincodon typus*) at Ningaloo Reef Western Australia. *Mar Biol.* 135(3): 553–559.
- Hacohen-Domené, A., F. Galván-Magaña, J.T. Ketchum-Mejía. 2006. Abundance of whale shark (*Rhincodon typus*) preferred prey species in the southern Gulf of California, México. *Cybium.* 30(4): 99–102.
- Hacohen, A.D. 2007. Ecología alimentaria del tiburón ballena (*Rhincodon typus*, Smith 1828) en la costa occidental del Golfo de California, México 57p.
- Haig, S.M. 1998. Molecular contributions to conservation. *Ecology.* 79: 413–425.

- Hamilton, P.K., A.R. Knowlton, M.K. Marx, S.D. Kraus. 1998. Age structure and longevity in North Atlantic right whales *Eubalaena glacialis* and their relation to reproduction. *Mar Ecol Prog Ser.* 171: 285–292.
- Hartl, D.L. y A.G. Clark. 1997. *Principles of Population Genetics.* Sinauer. Canada. 542 pp.
- Heist, J., J.A. Musick, J.E. Graves. 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., J.L. Jenkot, D.B. Keeney, R.L. Lane, G.R. Moyer, B.J. Reading, N.L. Smith. 2003. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in nurse shark (*Ginglymostoma cirratum*). *Mol Ecol Notes.* 3: 59–61.
- Heyman, W.D., R.T. Graham, B. Kjerfve, R.E. Johannes. 2001. Whale sharks *Rhincodon typus* aggregate to feed on fish spawn in Belize. *Mar Ecol Prog Ser.* 215: 275–282.
- Hoffman, W., T.H. Fritts, R.P. Reynolds. 1981. Whale sharks associated with fish schools off south Texas. *Northeast Gulf Sci.* 5:55–57.
- Holmberg, J., B. Norman, Z. Arzoumanian. 2009. Estimating population size, structure, and residency time for whale sharks *Rhincodon typus* through collaborative photo-identification. *Endang Species Res.* 7: 39–53.
- Hueter, R., J. Tyminski, R. de la Parra. 2008. The Geographical Movements of Whale Sharks Tagged with Pop-Up Archival Satellite Tags off Quintana Roo, Mexico. 2nd International whale shark conference. Holbox, México.
- Hueter, R., M. Heupel, Heist, E.J. D.B. Keeney. 2005. Evidence in philopatry in sharks and implications for the management of sharks fisheries. *J Norwest Fishery Sc.* 35: 239–247.
- Joung, S.J. y C.T. Chen. 1995. Reproduction in the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*, in the waters of northeastern Taiwan. *Copeia.* 3: 659–665.
- Joung, S., C.T. Chen, E. Clark, S. Uchida, W. Huang. 1996. The whale shark, *Rhincodon typus*, is a livebearer: 300 embryos found in one 'megamamma' supreme. *Env Biol Fishes.* 46(3): 219–223.

- Ketchum, M.K. 2003. Distribución espacio-temporal y hábitos alimentarios del tiburón ballena en la Bahía de la Paz y áreas adyacentes. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B.C.S., México. 91p.
- Klimley, A.P. 1987. The determinants of sexual segregation in the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. *Environ Biol Fishes*. 18: 27–40.
- Kohler, N.E. y P.A. Turner. 2001. Shark tagging: a review of conventional methods and studies. *Environ Biol Fish*. 60: 191–223.
- Kukuyev, E.I. 1996. The new finds in recently born individuals of the whale shark *Rhiniodon typus* (Rhiniodontidae) in the Atlantic Ocean. *J Ichthyology*. 36 (2): 279–281.
- Lambert, D.M. y C.D. Millar. 1995. DNA Science and Conservation. *Pac Conserv Biol*. 2: 21–38.
- Lavin, M.F., E. Beier, A. Badan. 1997. Estructura hidrográfica y circulación del Golfo de California: Escalas estacional e interanual. En: *Contribuciones a la Oceanografía física en México*. Lavin. MF (Ed) 113–140p.
- Larson S, J. Christiansen, D. Griffing, J. Ashe, D. Lowry, K. Andrews. 2010. Relatedness and polyandry of sixgill sharks, *Hexanchus griseus*, in an urban estuary. *Conserv Genet*. DOI:10.1007/s10592-010-0174-9.
- Licea, S., J.L. Moreno, H. Santoyo, G. Figueroa. 1995. Dinoflagelados del Golfo de California. UABCS. 165 pp.
- Lucifora, L.O., R.C. Menni, A.H. Escalant. 2005. Reproduction and seasonal occurrence of the copper shark, *Carcharhinus brachyurus*, from north Patagonia, Argentina. *ICES J Mar Sci*. 62: 107–115.
- Martin, A.P. y S.R. Palumbi. 1993. Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock. *Proc Nat Acad Sci*. 90: 4087–4091.
- McCauley L., C. Goecker, P. Parker, P. Rudolph, F. Goezt. 2004. Characterization and isolation of DNA microsatellite primers in the spiny dogfish (*Squalus acantias*). *Mol Ecol notes*. 4:494–496.

- Meekan, M.G., J.A.C. Bradshaw, M. Press, C. McLean, A. Richards, S. Quasnicka, J.G. Taylor. 2006. Population size and structure of whale sharks *Rhincodon typus* at Ningaloo Reef, Western Australia. *Mar Ecol Prog Ser.* 319: 275–285.
- Mizroch, S.A., Herman L.M., Straley J.M., Glockner-Ferrari D.A. and 6 others. 2004. Estimating the adult survival rate of central North Pacific humpback whales (*Megaptera novaeangliae*). *J Mammal.* 85: 963–972.
- Nance, H.A., T.S. Daly-Engel, P.B. Marko. 2009. New microsatellite loci for the endangered scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. *Mol Ecol Res.* 9: 955–957.
- Nelson, J.D. y S.A. Eckert. 2007. Foraging ecology of whale sharks (*Rhincodon typus*) within Bahia de Los Angeles, Baja California Norte, Mexico. *Fish Res* 84:47–64.
- Norman, B.M. 2000. In: 2000 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 61 pp. (Book and CD) also on <http://www.redlist.org/>
- Norman, B.M. 2004. Review of the current conservation concerns for the whale shark (*Rhincodon typus*), a regional perspective. AMCS. 74p.
- Norman, B.M. y J.D. Stevens. 2007. Size and maturity status of the whale shark (*Rhincodon typus*) at Ningaloo Reef in Western Australia. *Fishes Res special issue.* 84(1): 81–86.
- O’Sullivan, J.B. 2000. A fatal attack on a whale shark (*Rhincodon typus*) by killer whales *Orcinus orca* off Bahia de los Angeles, Baja California. American Elasmobranch Society 16th annual meeting. 282p.
- Ovenden, J.R., D. Broderick, R. Street. 2006. Microsatellite primers for two carcharid sharks (*Carcharinus tilstoni* and *C. sorrah*) and their usefulness across a wide range of shark species. *Mol Ecol notes.* 6: 415–18.
- Pardini, A.T., C.S. Jones, M.C. Scholl, L.R. Noble. 2000. Isolation and characterization of dinucleotide microsatellite loci in the great white shark, *Carcharodon carcharias*. *Mol Ecol notes.* 9:1176–1178.

- Pardini, A.T., C.S. Jones, L.R. Noble, B. Kreiser, H. Malcolm, B.D. Bruces, J.D. Stevens, G. Cliff, M.C. Scholl, M. Francis, C.A.J. Duffy, A.P. Martin. 2001. Sex-biased dispersal of great white sharks. *Nature*. 412: 139–140.
- Park, S. 2001. MS Tools v 3.1 Smurfit Institute of Genetics, Trinity College, Dublin 2, Ireland spark@tcd.ie / sdepark@hotmail.com; <http://acer.gen.tcd.ie/~sdepark/ms-toolkit/>
- Parker, P.G. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*. 79: 361–382.
- Peakal R. y P.E. Smouse. 2006. GENALEX: genetic analysis in Excel. Population genetic software teaching and research. *Mol Ecol notes*. 6:288–295.
- Portnoy, D.S. J.R. McDowell, K. Thompson, J.A. Musick, J.E. Graves. 2006. Isolation and characterization of five dinucleotide microsatellite loci in the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeos*. *Mol Ecol Notes*. 6: 431–433.
- Portnoy, D. S., J. R. McDowell, E. J. Heist, J. A. Musick, and J. E. Graves. 2010. World phylogeography and male mediated gene flow in the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*. *Mol Ecol*. 19:1994-2010.
- Pritchard, J.K., M. Stephens, P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype. *J Hered*. 86: 248–249.
- Ramírez-Macías, D., R. Vázquez-Juárez, F. Galván-Magaña, A. Munguía-Vega. 2007. Variations of the mitochondrial control region sequence in whale sharks (*Rhincodon typus*) from the Gulf of California, Mexico. *Fish Res special issue*. 84(1): 87–95.
- Ramírez-Macías, D., K. Shaw, R. Ward, F. Galván-Magaña, R. Vázquez-Juárez. 2009. Isolation and characterization of microsatellite loci in the whale shark (*Rhincodon typus*). *Mol Ecol Res*. 9 (3): 798–800.
- Raymond, M. y F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered*. 83: 248–249.
- Reyes, O. 2004. Manejo sustentable del recurso tiburón ballena (*Rhincodon typus*), en la zona aledaña al Área Natural Protegida Yum Balam: generación de información

- técnica básica y su transferencia a las comunidades. Reporte Técnico Proyecto Mex 04/27. PRONATURA. 116p.
- Rieman B.E. y F.W. Allendorf. 2001. Effective Population Size and Genetic Conservation Criteria for Bull Trout. *North Am. J. Fish Manage.* 21:756–764.
- Riley M.J., M.S. Hale, A. Harman, R.G. Rees. 2010. Analysis of whale shark *Rhincodon typus* aggregations near South Ari Atoll, Maldives Archipelago. *Aquat Biol.* 8: 145–150.
- Robins, R.L. 2007. Environmental variables affecting the sexual segregation of great white sharks *Carcharodon carcharias* at the Neptune Islands South Australia. *J Fish Biol.* 70: 1350–1364.
- Rowat, D., Meekan M.G., Engelhardt, U.B. Pardigon, M. Vely. 2007. Aggregation of juvenile whale shark (*Rhincodon typus*) in the Gulf of Tadjoura, Djibouti. *Environ Biol Fish.* 80(4): 465–472.
- Rowat, D. y Gore M. 2007. Regional scale horizontal and local scale vertical movements of whale sharks in the Indian Ocean off Seychelles. *Fish Res.* 84(1): 32–40.
- Rowat, D., Speed C.D., Meekan M.G., Gore M.A., Bradshaw C.J.A. 2009. Population abundance and apparent survival of the Vulnerable whale shark *Rhincodon typus* in the Seychelles aggregation. *Oryx.* 43(4): 591–598.
- Schmidt, J.V., C.L. Schmidt, F. Ozer, R.E. Ernst, K.A. Feldheim, M.V. Ashley, M. Levine. 2009. Low Genetic Differentiation across Three Major Ocean Populations of the Whale Shark, *Rhincodon typus*. *PLoS ONE.* 4(4): 1–9.
- Schwarz, C.J., Arnason A.N. 1996. A general methodology for the analysis of open-model capture recapture experiments. *Biometrics.* 52: 860–873.
- Schwarz, C.J. y G.A.F. Seber. 2001. A review of estimating animal abundance III. *Statist Sci* 4: 427–456.
- Schneider, S., D. Roessli, L. Excoffier. 2000. Arlequin ver. 2.000: A Software of Population Genetic Data Analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Schrey, A.W. y E.J. Heist. 2003. Microsatellite analysis of population structure in the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*). *Can J Fish Aquat Sci.* 60: 670–675.

- Schultz J.K., K.A. Feldheim, S.H. Gruber, M.V. Aschley, T.M. McGovern, B.W. Bowen. 2008. Global phylogeography and seascape genetics of the lemon sharks (genus *Negaprion*). *Mol Ecol.* 17:5336–5348.
- Sharma, P.C., A. Grover, G. Kahl. 2007. Mining microsatellites in eukaryotic genome. *Trends Biotechnol.* 25: 490–498.
- Simpfendorfer, C.A. 1992. Reproductive strategy of the Australian sharpnose shark, *Rhizoprionodon taylori* (Elasmobranchii: Carcharhinidae), from Cleveland Bay, northern Queensland. *Aust J Mar Freshw Res.* 43: 67–75.
- Simpfendorfer, C.A. M.R. Heupel. 2004. Assessing habitat use and movements. In: *Biology of Sharks and their relatives*. En: J.C. Carrier, J.A. Musick, M.R. Heithaus (eds). CRC Press, Boca Raton, FL, USA.553–572.
- Sims, D.W., Nash J.P., Morritt D. 2001. Movements and activity of male and female dogfish in tidal sea lough: alternative behavioural strategies and apparent sexual segregation. *Mar Biol.* 139: 1165–1175.
- Speed, C.W., M.G. Meekan, D. Rowat, S.J. Pierce, A.D. Marshall, C.J.A. Bradshaw. 2008. Scarring patterns and relative mortality rates of Indian Ocean whale sharks. *J Fish Biol.* 72(6): 1488–1503.
- Springer, S. 1967. Social organisation of shark populations. In: Gilbert PW, Mathewson RF, Rall DP (eds) *Sharks, skates and rays*. Johns Hopkins Press, Baltimore, MD, p 149–174.
- Taylor, J.G. 1994. *Whale sharks, the giants of Ningaloo Reef*. Angus & Robertson. Sydney. 176p.
- Taylor, J.G. 1996. Seasonal occurrence, distribution and movements of the whale sharks, *Rhincodon typus* at Ningaloo Reef, Western Australia. *Mar Freshwater Res.* 47: 637–642.
- Taylor, J.G. y A.F. Pearce. 1999. Ningaloo Reef currents: implications for coral Shawn dispersal, zooplankton and whale shark abundance. *J Roy Soc WA.* 82: 57–65.
- Toth, G., Z. Gaspari, J. Jurka. 2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research.* 10:967–981.

- Van Oosterhout, C., W.F. Hutchinson, P.D.M. Wills, P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes*. 4:535–538.
- Villavicencio, G.C. 1996. Aspectos poblacionales del angelito, *Squatina californica* Ayres, en Baja California, México. *Rev Inv Cient Ser Cienc Mar*. 7:15–21.
- Wahlund, S. 1928. Composition of populations from the perspective of the theory of heredity. *Hereditas*. 11: 65–105.
- Waples, R.S. 1998. Separating the wheat from the chaff: Patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *J Hered*. 89(5): 438–450.
- Weber, J.L. 1990. Informativeness of human (dC dA)_n(dG dT)_n polymorphisms. *Genomics*. 7: 524–530.
- Weir, B.S. y C.C. Cockerham. 1984. Estimating-Fstatistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 38: 1358–1370.
- Weir, B.S. 1996. Genetic data analysis II. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- White, G.C., K.P. Burnham. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Stud*. 46: 120–138.
- Wilson, S.G., J.G. Taylor, A.F. Pearce. 2001. The seasonal aggregation of whale sharks at Ningaloo Reef, Western Australia: currents, migrations and the El Nino/Southern Oscillation. *Environ Biol Fish*. 61(4): 1–11.
- Wilson, S.G. y D.R. Newbound. 2001. Two whale shark faecal samples from Ningaloo Reef, Western Australia. *Bull Mar Sci*. 68: 361–362.
- Wintner, S.P. y G. Cliff. 1995. Age and growth determination of the blacktip shark, *Carcharhinus limbatus*, from the east coast of South Africa. *Fish Bull US*. 94: 135–144.
- Wolfson, F.H. 1983. Records of seven juveniles of the whale shark, *Rhincodon typus*. *J Fish Biol*. 22:647–655.
- Wolfson, F.H. 1986. Occurrences of the whale shark, *Rhincodon typus*, Smith. Pp. 208–226. In: Indo-Pacific Fish Biology. Uyeno T, R Arai, T Taniuchi, K Matsuura (Eds.) Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes, Ichthyological Society of Japan, Tokio.

- Wolfson, F.H.1987. The whale shark, *Rhincodon typus*, Smith 1828, off Baja California, México (Chondrichthyes: Rhincodontidae). Mem V Simp Biol Mar. UABCS, México 5: 103–108.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of population. Ann Eugenics. 15: 323–354.
- Zane, L., L. Bargelloni, T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. Mol Ecol. 11: 1–16.

Comunicaciones personales:

- Alex Antoniou, Shark Research Institute.