

Evaluación de la diversidad genética de *Lepidochelys olivacea* en la colonia de anidación Ixtapilla, Michoacán

Ángela Patricia Rojas-Cortés, Sebastián Sánchez-Suárez y Omar Chassin-Noria

Facultad de Biología-CMEB, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. AV. Francisco J. Mújica S/N, Morelia, Michoacán, 58030. México

Resumen

Ixtapilla es una zona de anidación relativamente reciente (1997) para la tortuga golfiná donde en los últimos años esta especie ha presentado incrementos poblacionales significativos. Sin embargo, este sitio no cuenta con una categoría de protección ni con información sobre la diversidad genética. La generación de esta información es importante ya que la diversidad genética es el componente básico de la biodiversidad, dado que juega un papel fundamental tanto a corto como a largo plazo en la dinámica de las poblaciones, además su conocimiento ayuda a planear estrategias de conservación, a entender la forma, la velocidad y las causas de su pérdida. Por ello, en este trabajo se evaluó la diversidad genética de *Lepidochelys olivacea* en la zona de anidación Ixtapilla, mediante el uso de secuencias de la región control del ADN mitocondrial (ADNmt) de 33 tortugas. Se encontraron ocho haplotipos; de los cuales seis ya habían sido reportados para el Pacífico oriental y dos son privados para Ixtapilla. Se registró una diversidad haplotípica de 0.68 y una diversidad nucleotídica de 0.0029 para esta población, estos valores son similares con otras zonas de anidación del Pacífico oriental. Dados los valores de diversidad y la presencia de dos haplotipos privados para Ixtapilla, es de crucial importancia que se incrementen los esfuerzos de conservación para salvaguardar estos haplotipos, ya que de no aplicar las medidas de protección adecuadas, podría reducirse la población, llevando a la pérdida de variabilidad genética en esta población.

Palabras claves: Conservación, Diversidad genética, *Lepidochelys olivacea*, Región control.

Abstract

Ixtapilla is a relatively recent nesting site (1997) for the olive ridley turtle, where in the last years this species has shown significant increments in population size. However this site does not have any protection status and genetic diversity information is lacking. This information is important due to the role of genetic diversity as a main component of biodiversity, playing a fundamental role in the short as well as in the long term population dynamics. In addition, this knowledge helps to understand the speed and causes of diversity loss and helps to generate conservation strategies. This paper evaluates the genetic biodiversity of *Lepidochelys olivacea* in the nesting zone of Ixtapilla using mitochondrial DNA (mtDNA) control region sequences from 33 turtles. We found eight haplotypes; from which six had been reported before in the Eastern Pacific and two are private from Ixtapilla. We reported a haplotype diversity of 0.68 and a nucleotide diversity of 0.0029 for this population. Those values are similar to values reported in other nesting sites in the Eastern Pacific. Both the diversity values and the two unique haplotypes found in Ixtapilla remark the importance of increasing the conservation efforts to preserve those haplotypes since failing on this task may reduce the population leading to loss of genetic variability in this population.

Key words: Conservation, genetic diversity, *Lepidochelys olivacea*, control region.

Introducción

La tortuga golfiná (*Lepidochelys olivacea*, Eschscholtz, 1829) es una especie pantropical común en el Pacífico oriental, la costa noreste de la India y el océano Atlántico, donde se encuentran sus principales playas de anidación (Márquez, 1990). El Pacífico oriental es la segunda zona más importante de anidación en todo el mundo dadas las grandes agregaciones o arribadas que ocurren principalmente en México y Costa Rica (Pritchard, 1997; Delgado y Alvarado, 1997).

Particularmente en México se han destacado grandes arribadas con más de 2.000 nidos al año en playas como Mismaloya en Jalisco, Tlacoyunque en Guerrero, Chacahua, La Escobilla y Moro Ayuta en Oaxaca (Márquez, 1990), no obstante, la abundancia de estas tortugas en varias de estas colonias de anidación ha disminuido en gran medida resultado de la sobreexplotación (Abreu-Grobois y Plotkin, 2008), razón por la cual la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN)

coloca a esta especie en la categoría de especie vulnerable (Abreu-Grobois y Plotkin, 2008).

Actualmente, la tercera playa de anidación más importante en México después de La Escobilla y Morro Ayuta, es Ixtapilla en Michoacán, donde se empezó a registrar la llegada de esta especie en 1994 y la primera arribada en 1997. La Escobilla e Ixtapilla son las únicas zonas de anidación en México que han tenido un incremento significativo en los últimos años en la población de *L. olivacea*, por ejemplo en 1988 La Escobilla presentaba 50.000 nidos y en el año 2000 contó con más de un millón de nidos (National Marine Fisheries Service y U. S. Fish and Wildlife Service, 2014), en el caso de Ixtapilla, no se posee información sobre el tamaño de la población al inicio de las primeras arribadas, no obstante, se ha reportado entre 2008 y 2010, de seis a nueve arribadas por año contabilizando en promedio 30.325 nidos por arribada (Centro Mexicano de la Tortuga, inédito). Sin embargo, solo La Escobilla cuenta con acciones de protección, dado que es un área protegida bajo la categoría de Santuario y desde 1977 cuenta con un campamento tortuguero (Peñaflares y Natarén, 1988). Ixtapilla además de ser una colonia de anidación reciente sin categoría de protección, no cuenta con información sobre la

✉ **Autor de correspondencia:** Omar Chassin-Noria. Facultad de Biología-CMEB, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. AV. Francisco J. Mújica S/N, Morelia, Michoacán, 58030. México. email: ochassin@umich.mx

biología poblacional y diversidad con aproximaciones ecológicas o genéticas para la tortuga golfina.

La diversidad genética es un componente básico de la biodiversidad, esta juega un papel fundamental tanto a corto como a largo plazo en la dinámica de las poblaciones (Mills, 2007), su conocimiento ayuda a evaluar la capacidad de respuesta de las poblaciones ante cambios ambientales, a planear estrategias de conservación, a entender la forma, la velocidad y las causas de su pérdida (Piñero *et al.*, 2008), además de inferir características históricas demográficas de la población (Chassin-Noria *et al.*, 2004). Para evaluar la diversidad genética en diferentes especies de tortugas marinas se ha usado la región control o Dloop del ADN mitocondrial (ADNmt) (Encalada *et al.*, 1996; Chassin-Noria *et al.*, 2004) debido a su alta tasa de evolución nucleotídica, baja recombinación y gran variación intraespecífica (Eguiarte *et al.*, 2007).

Dada la importancia de Ixtapilla como zona de anidación, su creciente población y la carencia de información sobre la biología poblacional o diversidad para esta especie en esta población, en el presente estudio se evalúa la diversidad genética de *L. olivacea* en la colonia de anidación Ixtapilla, mediante el uso de la región control del ADNmt.

Materiales y métodos

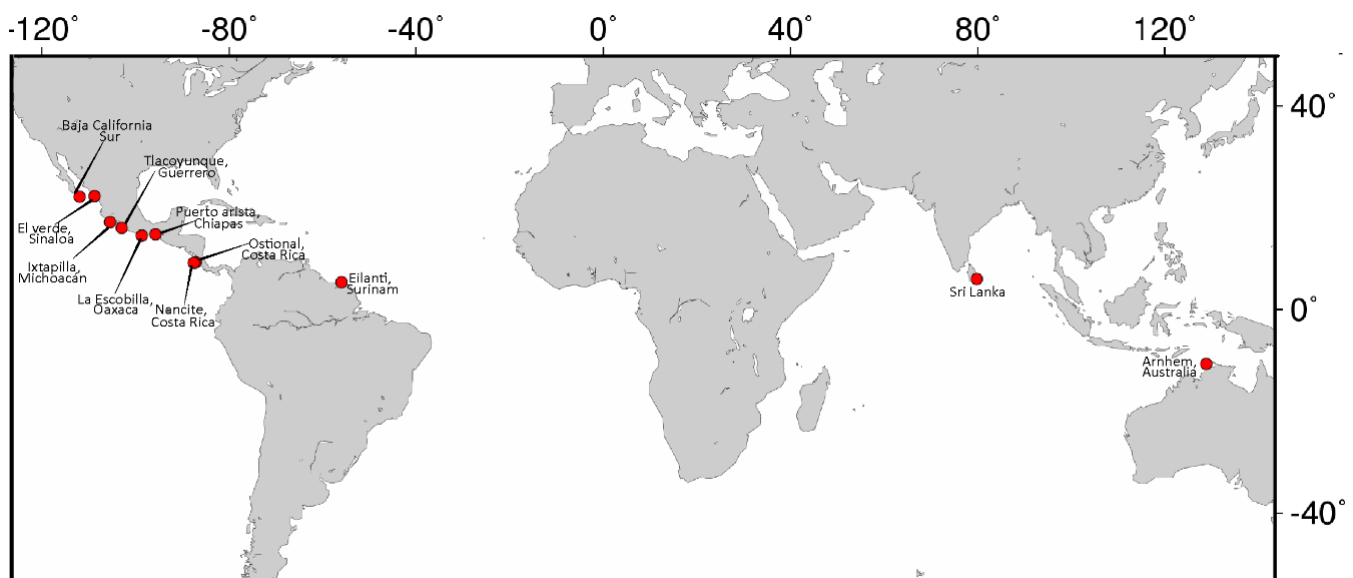
Durante el 2008 se colectaron en Ixtapilla, municipio de Aquila, Michoacán (Latitud 18° 25' 00.53" N, Longitud 103° 32' 05.88" O; **Figura 1**) muestras de sangre de 33 hembras adultas utilizando la técnica descrita por Owens y Ruiz (1980), inmediatamente después a la puesta de huevos. Todas las muestras se preservaron en 1mL de buffer lítico (100mM Tris-HCl, pH 8, 100mM EDTA, pH 8, 10mM NaCl y 1.0% SDS; Dutton, 1996).

La extracción de ADN se llevó a cabo de acuerdo al protocolo propuesto por FitzSimmons (1997). La amplificación se realizó mediante PCR usando los oligonucleótidos LCM-15382 y H950

(Abreu-Grobois *et al.*, 2006), para obtener un fragmento de la región control del ADNmt. Las amplificaciones por PCR se llevaron a cabo en un volumen total de 25 µL con 2.5 µL de buffer 10 X (100 mM Tris, 500 mM, KCl; pH 8), 0.5 µM de cada oligonucleótido, 200 µM de dNTPs, 3.5 mM de MgCl₂, 1µL de BSA (Albúmina de Suero Bovino), 2U de Taq polimerasa, y de 20 a 200 ng de ADN. El programa de amplificación fue el siguiente: 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C durante 60 s, 50°C durante 60 s, 72°C durante 60 s y una temperatura de extensión final de 72°C durante 7 min. Los productos de amplificación fueron observados en geles de agarosa al 1.5% teñidos con Syber Safe (Invitrogen). La secuenciación de los productos de PCR se realizó en un laboratorio de servicio (Macrogen USA) con el oligonucleótido LCM-15382.

Se usó el programa DnaSP (Librado y Rozas, 2009) para evaluar la variación nucleotídica de las secuencias obtenidas con el fin de determinar la región con mayor variación y el punto de corte de las secuencias que se obtuvieron, esto para poder comparar con secuencias de menor longitud. La edición de las secuencias se realizó en MEGA 5 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis; Tamura *et al.*, 2011). El alineamiento de secuencias se realizó con Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) en el programa MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011), y al mismo tiempo se compararon con cinco secuencias alojadas en el GenBank (Números de acceso: AY920519 – AY920523), 14 secuencias de la literatura (Bowen *et al.*, 1998; Briseño-Dueñas, 1998) y las secuencias obtenidas de Ixtapilla para determinar la cantidad e identidad de haplotipos encontrados.

Con las secuencias que se obtuvieron de Ixtapilla se calculó la diversidad haplotídica (*h*) y nucleotídica (π) utilizando el software Arlequin versión 3.5 (Excoffier, 2010), para compararlas con siete poblaciones pertenecientes al Pacífico oriental (La Escobilla, Baja California Sur, Puerto Arista, Tlacoayunque, El Verde, Nancite, Ostional), dos al Oeste Indopacífico (Sri Lanka y Australia) y



GMT 2014 Oct 10 23:06:44 seaturtle.org/maptool Projection: Mercator

Figura 1. Localización de la colonia de anidación Ixtapilla en el municipio de Aquila, Michoacán y las otras poblaciones utilizadas en este estudio (Bowen *et al.*, 1998; Briseño-Dueñas, 1998).

una al Atlántico (Eilanti; **Figura 1**), para las cuales tanto h como π se tomaron de la literatura (Bowen *et al.*, 1998; Briseño-Dueñas, 1998; López-Castro y Rocha-Olivares, 2005). La interpretación de la historia demográfica de la población se realizó como proponen Grant y Bowen (1998), donde: $h > 0,5$ es alta y $\pi < 0,005$ es baja, infiriendo cuatro escenarios demográficos: I. La población paso por un cuello de botella reciente o es producto de un efecto fundador por un solo o pocos linajes de ADNmt; II. La población paso por un cuello de botella seguido de un rápido crecimiento poblacional y acumulación de mutaciones; III. La población es producto de la divergencia entre poblaciones geográficamente subdivididas IV. La población es estable con una larga historia evolutiva o contacto secundario entre linajes diferenciados.

Resultados

Se obtuvieron 27 secuencias de la región control del ADNmt. El tamaño esperado era de ~880 nucleótidos (Abreu-Grobois *et al.*, 2006), pero al eliminar las porciones iniciales y finales debido a su baja calidad, se obtuvieron secuencias de ~750 nucleótidos. Sin embargo, para poder comparar con otras 19 secuencias, se cortaron los fragmentos a 400 nucleótidos, dado que la mayor parte de variación nucleotídica se encontró en la porción media de las secuencias. La composición nucleotídica de las secuencias, estuvo dada por 16.32% de C, 35.28% de T, 34.27% A y 14.13% G.

Se identificaron ocho haplotipos para Ixtapilla, derivados de siete sitios polimórficos, de los cuales seis ya habían sido reportados para el Pacífico oriental (K, O, I, B, E y N en Briseño-Dueñas, 1998); los otros dos haplotipos son nuevos para esta especie, uno de ellos es resultado de una transición en la posición 160 y un indel en la posición 331, mientras el segundo haplotipo resulto de un indel en la posición 376. De las 11 poblaciones comparadas (**Tabla 1**) el mayor número de haplotipos fue registrado para Ixtapilla y La Escobilla con ocho y siete haplotipos respectivamente, y el menor número de haplotipos (dos) fue registrado en las poblaciones de Eilanti en Surinam y Arnhem en Australia, poblaciones fuera del Pacífico Oriental.

La diversidad haplotídica (h) para Ixtapilla fue alta con un valor de 0.68 ± 0.09 y la diversidad nucleotídica (π) fue baja con un valor de 0.0029 ± 0.0022 , por tanto la interpretación demográfica según Grant y Bowen (1998), es que la población pudo haber pasado por un cuello de botella seguido de un rápido crecimiento poblacional y acumulación de mutaciones (categoría II).

Los valores de h de todas las poblaciones fluctuaron entre 0.16- 0.76, siendo las colonias de Ostional y Nancite, ambas en Costa Rica, las de mayor h . Del total de poblaciones, ocho registraron una diversidad haplotídica alta, mientras las poblaciones de Baja California Sur, Puerto Arista y Eilanti obtuvieron diversidades haplotípicas bajas. Por otra parte Sri Lanka fue la única población que obtuvo un valor alto de diversidad nucleotídica. Debido a las combinación de bajas diversidades haplotípicas y nucleotídicas reportadas en las poblaciones de Baja

California Sur, Puerto Arista y Eilanti obtuvieron una categoría demográfica I, por lo que las poblaciones pudieron pasar por un cuello de botella reciente o ser producto de un efecto fundador de un solo o pocos linajes de ADNmt, por otro lado, siete poblaciones registraron diversidades haplotípicas altas y nucleotídicas bajas (categoría demográfica II), por lo que las poblaciones pudieron haber pasado por un cuello de botella seguido de un rápido crecimiento poblacional y acumulación de mutaciones. Sri Lanka fue la única población que registro h y π altas, por tanto, pertenecen a una categoría demográfica IV, donde la población pudo ser estable con una larga historia evolutiva o tener un contacto secundario entre linajes diferenciados (**Tabla 1**).

Discusión

Al igual que secuencias de otras especies de tortugas marinas (Lahanas *et al.*, 1994), las secuencias obtenidas para *L. olivacea* en

Tabla 1. Diversidad haplotídica (h) y nucleotídica (π) por población para el gen control del ADNmt. En negrita se muestran los valores que se consideran altos (Grant y Bowen, 1998; Avise, 2000). n : Tamaño de muestra. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar, la cual solo en algunos trabajos fue reportada. Interpretación demográfica (Grant y Bowen, 1998; Avise, 2000): I. La población paso por un cuello de botella reciente o es producto de un efecto fundador por un solo o pocos linajes de ADNmt; II. La población paso por un cuello de botella seguido de un rápido crecimiento poblacional y acumulación de mutaciones; IV. La población es estable con una larga historia evolutiva o contacto secundario entre linajes diferenciados.

Poblaciones	n	Haplotipos	h	π	Categoría Demográfica	Referencia
Ixtapilla, Michoacán	27	8	0.68 (0.0940)	0.0029 (0.0022)	II	En este trabajo
La Escobilla, Oaxaca	21	7	0.61 (0.1164)	0.0022	II	Briseño-Dueñas, 1998
Baja California Sur	48	5	0.16 (0.0715)	0.0006 (0.0007)	I	López-Castro y Rocha-Olivares, 2005
Puerto Arista, Chiapas	20	4	0.49 (0.1167)	0.0020	I	Briseño-Dueñas, 1998
Tlacoyunque Guerrero	18	4	0.59 (0.1086)	0.0030	II	Briseño-Dueñas, 1998
El Verde, Sinaloa	15	4	0.62 (0.1196)	0.0023	II	Briseño-Dueñas, 1998
Nancite, Costa Rica	18	5	0.76	0.0029	II	Bowen <i>et al.</i> , 1998
Ostional, Costa Rica	15	4	0.73 (0.0669)	0.0025	II	Briseño-Dueñas, 1998
Sri Lanka	17	4	0.72	0.0207	IV	Bowen <i>et al.</i> , 1998
Eilanti, Surinam	13	2	0.28	0.0006	I	Bowen <i>et al.</i> , 1998
Arnhem, Australia	8	2	0.54 (0.1232)	0.0033	II	Briseño-Dueñas, 1998

Ixtapilla, contienen un alto porcentaje de las bases nitrogenadas A/T (69.5% de la composición total), esto coincide con lo reportado por Saccone *et al.* (1987), ya que indican que son menores los porcentajes de G/C en la región control del ADNmt para vertebrados.

Los valores de h y π para Ixtapilla concuerdan con otros valores registrados para el Pacífico oriental (en promedio $h=0.60$ y $\pi=0.0026$; Briseño-Dueñas, 1998), estos valores aunque no son los más altos de la región son comparables con los valores de La Escobilla, la cual tiene mayor densidad poblacional, una historia de arribadas más larga y mayor zona de anidación, (Peñaflores y Natarén, 1988), ya que es visitada actualmente por más de un millón de hembras en el año (Abreu-Grobois y Plotkin, 2008), por lo cual se observa que Ixtapilla cuenta con gran acervo genético para una población pequeña y de corta historia de arribadas en comparación con otras poblaciones del Pacífico oriental.

Los valores altos de h y bajos de π colocan a Ixtapilla como una población que pudo haber pasado por un cuello de botella seguido de un rápido crecimiento poblacional y acumulación de mutaciones, sin embargo, dada la corta historia de esta población (c.a. 11 años) y los 20 años de tiempo generacional que tiene la especie (Abreu-Grobois y Plotkin, 2008), no ha transcurrido el tiempo suficiente para que se produzca en esta población un cuello de botella, un crecimiento poblacional ni acumulación de mutaciones. Por lo que estos valores podrían ser resultado de procesos de inmigración, aunque, serían necesarios análisis más detallados que lo confirmen.

Los bajos valores de diversidad haplotídica y nucleotídica para la población de Baja California Sur es posible que se deban a una colonización reciente en vías de expansión, sin embargo, estos valores también pueden relacionarse con cuellos de botella capaces de reducir la variabilidad genética, extirpando algunos de los haplotipos colonizadores (López-Castro y Rocha-Olivares, 2005).

La población de Surinam en el Atlántico, tuvo bajos valores de diversidad haplotídica y nucleotídica, los cuales pudieron haber sido producto de una reciente colonización por linajes del océano Índico y el Pacífico occidental como lo resalta la hipótesis propuesta por Bowen *et al.* (1998). En contraste, los altos valores de diversidad haplotídica y nucleotídica de Sri Lanka pueden ser resultado de una larga historia evolutiva, ya que ha sido sugerida como la población ancestral de todas las tortugas golfinas (Shanker *et al.*, 2004).

Gran parte de las poblaciones del Pacífico oriental poseen valores de h y π similares, los valores bajos de π , pueden ser producto de una reciente colonización regional de poblaciones más estables del Oeste Indopacífico como lo señala Bowen *et al.* (1998), por tanto el poco tiempo transcurrido no ha permitido la acumulación de cambios nucleotídicos (diversidad nucleotídica) encontrados en otras especies de tortugas (Briseño-Dueñas, 1998).

La aparente homogeneidad en la variabilidad genética en las poblaciones del Pacífico oriental ha provocado que los esfuerzos de conservación se concentren en pocas poblaciones, ya que de esta forma, teóricamente se tendrá representada la mayor parte de la variabilidad genética de la especie (López-Castro, 2004), sin embargo, esto es solo aplicable para escalas de tiempo evolutivo,

mas no para periodos de tiempo menores, en los que se ejecutan programas de manejo y conservación, dado que la dinámica de intercambio entre colonias es muy lenta para la repoblación entre colonias (Briseño-Dueñas, 1998), por lo que sería más eficiente hacer esfuerzos de conservación en subpoblaciones aisladas, ya que estas permiten conservar la variabilidad genética de manera más eficiente que una sola población panmítica de tamaño similar (Pope, 1996; Chassin-Noria, 2000).

Adicionalmente existen algunas playas con características genéticas únicas, ejemplo de ello es Ixtapilla, donde se encuentran dos haplotipos privados, por lo cual es de crucial importancia que se incrementen los esfuerzos de conservación para salvaguardar estos haplotipos, ya que de no aplicar las medidas de protección adecuadas, podría reducirse la población, disminuyendo el tamaño efectivo, llevando a la pérdida de variabilidad genética y a la extirpación de la población en esta población (López-Castro, 2004), llevando a la población a comprometer la capacidad de respuesta a enfermedades o incluso a factores antropogénicos como el calentamiento global (Mills, 2007).

Agradecimientos

A seaturtle.org por el uso de MAPTOOL para la elaboración del mapa. Igualmente a D. A. Ariza-Pacheco por las observaciones al artículo y finalmente a los dos revisores anónimos por los comentarios al trabajo.

Referencias

- Abreu-Grobois A, Horrocks J, Formia A., Leroux R, Vélez-Zuazo X, Dutton PH, Soares L, Meylan A, Browne D.** 2006. *New mtDNA dloop primer which work for a variety of marine turtle species may increase the resolution capacity of mixed stock analysis.* En: 26th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, Crete, Greece. Ed MG Frick, A Panagopoulou, A Rees, KL Williams. P 179.
- Abreu-Grobois A, Plotkin P (IUCN SSC Marine Turtle Special Group).** 2008. *Lepidochelys olivacea.* The IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2014.2. <www.iucnredlist.org>.
- Avice JC.** 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species.* Harvard University Press, Cambridge. Pp 59-60.
- Bowen BW, Clark AM, Abreu-Grobois FA, Chaves A, Reichart HA, Ferl RJ.** 1998. Global phylogeography of the ridley sea turtles (*Lepidochelys* spp.) as inferred from mitochondrial DNA sequences. *Genetica* 101: 179-189.
- Briseño-Dueñas R.** 1998. *Variación genética en la región control del ADN mitocondrial de poblaciones de la tortuga golfinas Lepidochelys olivacea en el Pacífico oriental y las implicaciones para su conservación.* Tesis de maestría. Universidad autónoma de Sinaloa. 70 Pp.
- Chassin-Noria O.** 2000. *Estructura genética y conservación de la tortuga negra Chelonia agassizi en el Pacífico mexicano.* Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. Informe final SNIB CONABIO, proyecto No. L166. México D.F.
- Chassin-Noria O, Abreu-Grobois A, Dutton PH, Oyama K.** 2004. Conservation genetics of the east Pacific Green turtle (*Chelonia mydas*) in Michoacan, Mexico. *Genetica* 121: 195-206.
- Delgado TC, Alvarado DJ.** 1997. *Las tortugas marinas de la costa de Michoacán, México. Técnicas de conservación y manejo.* ECOTONIA, AC., UMSNH 48 Pp.

- Dutton PH.** 1996. Methods for collection and preservation of samples for sea turtle genetic studies. En: Bowen BW, Witzel WN (eds.), *Proceedings of the International Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-396. pp. 17-24.
- Eguiarte LE, Souza V, Aguirre X.** 2007. *Ecología Molecular*. Secretaría de Medio ambiente y Recursos naturales, Instituto nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad D.F., México. 592 Pp.
- Encalada SE, Lahanas PN, Bjorndal KA, Bolten AB, Miyamoto MM, Bowen BW.** 1996. Phylogeography and population structure of Atlantic and Mediterranean green turtle (*Chelonia mydas*): a mitochondrial DNA control region sequence assessment. *Molecular Ecology* 5: 473-483.
- Excoffier L, Lischer HEL.** 2010. Arlequin suite v. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
- FitzSimmons N.** 1997. *Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of Green turtle Chelonia mydas*. Tesis doctoral. Universidad de Queensland, Australia. 241 Pp.
- Grant WS, Bowen BW.** 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *The Journal of Heredity* 89: 415-426.
- Lahanas PN, Miyamoto MM, Bjorndal KA, Bolten AB.** 1994. Molecular evolution and population genetics of Greater Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*) as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. *Genetica* 94: 57-67.
- Librado P, Rozas J.** 2009. DnaSP v. 5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- López-Castro MC.** 2004. *Caracterización genética de la colonia anidante de Tortuga golfina Lepidochelys olivacea, en Baja California Sur, México*. Tesis de maestría Centro de investigación científica y de educación superior de Ensenada. 74 pp.
- López-Castro MC, Rocha-Olivares A.** 2005. The panmixia paradigm of Eastern Pacific olive ridley turtle revised: consequences for their conservation and evolutionary biology. *Molecular Ecology* 14: 3325-3334.
- Márquez R.** 1990. FAO Species Catalogue: Sea turtles of the world. *An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date*. FAO Fisheries Synopsis Vol. 11 No. 25, Rome. Pp 43-48.
- Mills LS.** 2007. Conservation of wildlife populations: demography, genetics, and management. *Blackwell, Malden, MA*.
- National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service.** 2014. *Olive ridley sea turtle (Lepidochelys olivacea). 5-year review: Summary and evaluation*. NMFS Silver Spring, MD.
- Owens DW, Ruíz GW.** 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetológica* 36: 17-20.
- Peñaflores SC, Natarén E.** 1988. *Resultados de acciones proteccionistas para las tortugas marinas en el estado de Oaxaca*. Los recursos pesqueros del país. Instituto nacional de pesca. Secretaría de pesca. México. Pp 339-350.
- Pérez RN.** 2003. *Caracterización fisicoquímica del sustrato incubatorio de los nidos de tortuga golfina (Lepidochelys olivacea) en la playa de Ixtapilla, Michoacán*. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Piñero D, Caballero-Mellado J, Cabrera-Toledo D, et al.,** 2008. *La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas*. Pp 437-494. En: Capital Natural de México, Vol. 1: Conocimiento actual de la Biodiversidad. Comp. J Sarukhán, J Soberón, G Halffter, J Llorente Bousquets. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*, México.
- Pope TR.** 1996. Socioecology, population fragmentation, and patterns of genetic loss in endangered primates. Pp 119-159 En: *Conservation genetics, case histories from nature* Ed JC Avise, JL Hamrick. Chapman y Hall USA
- Pritchard PCH.** 1997. Evolution, phylogeny and current status. En: *The Biology of Sea Turtles*. Ed PL Lutz, JA Musick, CRC Press, Boca Raton, FL, USA. pp. 1-28.
- Saccone C, Attimonelli M, Sbisá E.** 1987. Structural elements highly preserved during the evolution of the D-loop containing region in vertebrate mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*. 26: 205-211.
- Shanker K, Ramadevi J, Choudhury BC, Singh L, Aggarwal RK.** 2004. Phylogeography of olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) on the east coast of India: implications for conservation theory. *Molecular Ecology* 13: 1899-1909.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S.** 2011. Mega 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ.** 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.