



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS  
DE HIDALGO**



**Facultad de Biología**

**Coordinación de Estudios de Posgrado**

**Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas**

**Historia evolutiva del género *Malaccoctenus* (LABRISOMIDAE)  
en el Pacífico Oriental Tropical**

**TESIS**

**Para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Biológicas  
(Ecología y Conservación)**

**Que presenta:**

***Biól. Carmen del Rocío Pedraza Marrón***

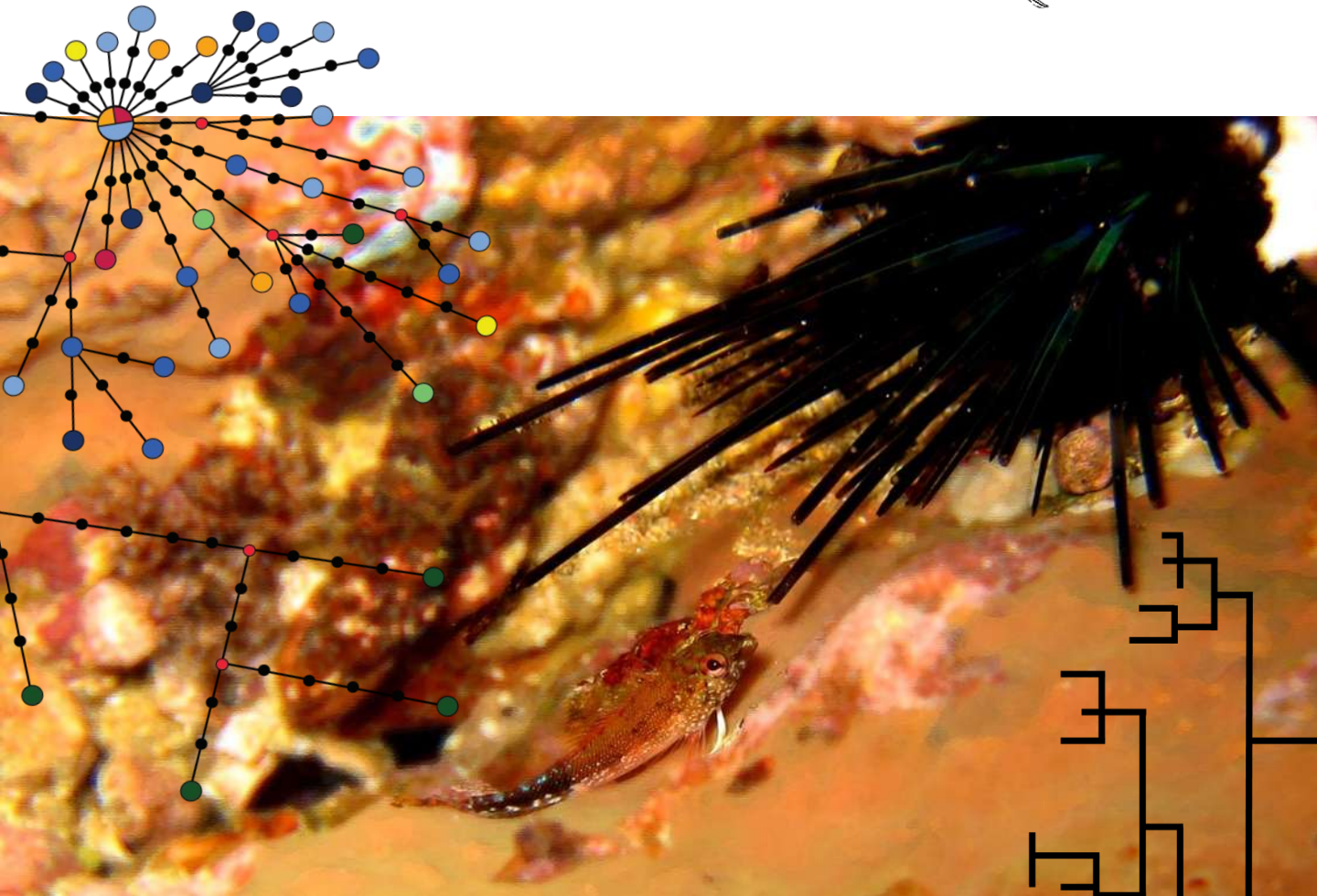
**Director de tesis:** Doctor en Ciencias Omar Domínguez Domínguez

**Codirector de tesis:** Doctor en Biología Oscar Puebla Ranz

Morelia Michoacán, Agosto del 2014



# Historia evolutiva del género *Malaccoctenus* (LABRISOMIDAE) en el Pacífico Oriental Tropical



Alumna: Biól. Carmen del Rocío Pedraza Marrón

Director de tesis: Dr. Omar Domínguez Domínguez

Codirector de tesis: Dr. Oscar Puebla Ranz

*A mi familia y amigos*



## *Agradecimientos*

*Primeramente agradezco a Dios por llenar mi vida de personas maravillosas y además haberme dado la oportunidad de crecer como científico y como persona.*

*Ni el mejor de mis sueños hubiera podido prepararme para el increíble viaje al que me llevaría esta maestría. Le agradezco infinitamente a mi asesor y amigo el Dr. Omar Domínguez Domínguez, por haberme dado la oportunidad de unirme a su equipo... a este laboratorio que ha sido mi casa durante varios años. Gracias por confiar en mí, por todas tus enseñanzas académicas, en campo y de la vida. Por permitirme participar en este proyecto que adoro y que ahora forma parte crucial de mi vida. Patrón... en verdad te agradezco toda tu paciencia, enseñanzas y amistad.*

*De manera especial, le agradezco al Dr. Oscar Puebla por haber aceptado participar en mi proyecto de tesis y recibirme como su estudiante en el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Panamá. Le agradezco mucho todo su apoyo y amistad.*

*Agradezco además al resto de los integrantes de mi comité tutorial el Dr. Antonio González, el Dr. Horacio Cano y la Dra. Sabina Lara, quienes me han proporcionado todo su apoyo además de sus valiosos consejos.*

*A CONACYT por la beca otorgada para la realización de esta maestría así como la asistencia a eventos académicos y permitirme crecer profesionalmente.*

*Le agradezco infinitamente al Dr. Ross Robertson, por su interés en mi trabajo y su todo su apoyo. Por su valioso tiempo, enseñanza en la toma de fotografías y la donación de una cámara al laboratorio que seguramente será de gran ayuda en nuestros estudios sobre los peces crípticos. Muchas gracias por haber despertado en nosotros una curiosidad y pasión fotográfica por estos asombrosos peces.*

*Deseo agradecer de manera particular al Dr. Hastings y al Dr. Arturo Ramírez por la donación de muestras para la realización de este trabajo. Agradezco al Dr. Arturo y al Dr. Gorgonio por permitirme realizar estancias académicas en sus laboratorios.*

*Muy especialmente debo agradecer al Dr. Jeff Williams, la Dra. Carole Baldwin y el Dr. Victor Springer por permitirme visitar la colección científica del Museum Support Center Smithsonian en Washington. Por su interés, apoyo y consejos en este proyecto, muchas gracias.*

*Debo agradecer también a M. en C. Arturo Sibaja, Dr. Washington Tapia, Dr. Eduardo Espinoza y Enrique Barraza por todo su apoyo en las jornadas de campo en Costa Rica, Ecuador y El Salvador. Agradezco además a todos mis compañeros de laboratorio que participaron en las colectas, curado y procesado de muestras.*

*Mi gran aprecio para los Domínguez Boy'z, Eliotris, Edgar y Fer. Esta maestría no hubiera sido la misma sin ustedes. Gracias por compartir conmigo alegrías, estrés, tristeza, viajes... traumas moleculares y demás. A mis amigos Gina, Diushi, Llanet, Sesángari, Chavo, Lore,*

*Alma, Paola, Oscar y Juan, con quienes no tuve tanto el privilegio de trabajar en el labo pero si el de contar con sus consejos y amistad. A todos ustedes mis queridos pecesólogos... mi humilde agradecimiento.*

*Gracias Eliotris por estar siempre a mi lado, tanto en las buenas como en las malas. Por todos tus consejos, compañía y tu valiosa amistad... por hacer mejor cada día de mi vida.  
Gracias morra!*

*Queridos "Mole...ritos": Pao, Bere y Moy... mi regreso de Panamá no hubiera sido el mismo si no los hubiera encontrado. Es una gran alegría que hayan llegado a formar parte de este maravilloso laboratorio liderado por el "patrón". Su entusiasmo y ocurrencias hacen soportable un gel sin PCRs.*

*A mis amigos de la vida Coria, Chantal, Vania, Fany y Gaby, quienes a pesar de que nuestros caminos se han separado me han brindado su amistad en todo momento.*

*De manera particular, deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas a quienes conocí durante mis estancias científicas. Tania, Raquel, Evelyn, Hilda, Sophie, Eyda, Gisela, Fernando les agradezco toda la ayuda, cariño y amistad que brindaron a una desconocida.*

*Agradezco a mis padres, hermano y el resto de mi familia. Quienes siempre me han apoyado incondicionalmente y en todo momento. Gracias por la confianza, enseñanzas y cariño que me brindan día a día. Ustedes siempre son mi puerto en medio del mar... simplemente mi eterno agradecimiento.*

*Especialmente le doy gracias a mis tíos Toño y Rosi por recibirme en su casa. Muchas gracias... me permitieron encontrar un cálido hogar en un país extraño. Por siempre...  
gracias.*

ÍNDICE

	Pág.
I. Resumen.....	1
II. Summary.....	2
III. Introducción general.....	3
3.1 El Pacífico Oriental Tropical.....	6
Características físicas generales.....	6
Diversidad ictiológica.....	7
3.2 Trambollos - <i>Malaccoctenus</i> Gill, 1860.....	9
Especies de <i>Malaccoctenus</i> en el POT.....	10
IV. Planteamiento del problema.....	13
V. Hipótesis.....	14
VI. Objetivos.....	14
6.1 Objetivo general.....	14
6.2 Objetivos particulares.....	14
VII. Referencias bibliográficas.....	15
VIII. Capítulo I.....	18
Probando barreras, procesos de especiación dentro del género <i>Malaccoctenus</i> (LABRISOMIDAE) en el Pacífico Oriental Tropical.....	19
8.1 Introducción.....	19
8.2 Materiales y métodos.....	23
Colecta de organismos.....	23
Localidades y especies muestreadas.....	26
Extracción de ADN, PCR y Secuenciación.....	28
Alineamiento de secuencias y selección de modelo evolutivo.....	30
Análisis filogenéticos.....	30
Construcción de árboles filogenéticos.....	30
Redes de haplotipos.....	31
Distancias genéticas ( $\bar{D}p$ ) y diferenciación $F_{ST}$ .....	31
Tasas de mutación y tiempos de divergencia.....	32
8.3 Resultados.....	33
Árboles filogenéticos.....	34
Redes de haplotipos.....	41
Distancias genéticas ( $\bar{D}p$ ) y diferenciación $F_{ST}$ .....	43
Tiempos de divergencia.....	45
8.4 Discusión.....	47
Biogeografía.....	47
Patrones biogeográficos.....	47
Eventos biogeográficos independientes.....	51
Consideraciones biogeográficas generales.....	53
Crípticos entre crípticos, implicaciones taxonómicas.....	55
Implicaciones de conservación.....	61
8.5 Referencias bibliográficas.....	63

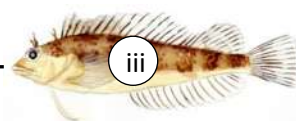


	Pág.
IX. Capítulo II.....	69
Filogeografía de <i>Malacoctenus tetranemus</i> (Cope, 1877) (LABRISOMIDAE) a lo largo del Pacífico Oriental Tropical.....	70
9.1 Introducción.....	70
9.2 Materiales y métodos.....	74
Colecta de organismos.....	74
Localidades de colecta.....	75
Extracción de ADN, PCR y Secuenciación.....	77
Alineamiento de secuencias y selección de modelo evolutivo.....	78
Redes de haplotipos.....	78
Estadística descriptiva.....	78
Tasas de mutación y tiempos de divergencia.....	80
9.3 Resultados.....	81
Secuencias obtenidas con marcadores mitocondriales y nucleares.....	81
Redes de haplotipos.....	82
Estadística descriptiva.....	85
Estructura poblacional.....	86
Demografía histórica.....	88
Tiempos de divergencia.....	89
9.4 Discusión.....	90
Biogeografía.....	90
Grupo Ecuador continental.....	90
Grupo POT.....	91
Aislamiento reproductivo ante un contacto secundario.....	92
Sistemática y taxonomía.....	98
9.5 Referencias bibliográficas.....	100
X. Discusión general e integración de resultados.....	104
XI. Conclusiones.....	107



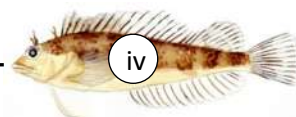
Índice figuras

Figuras	Pág.	
1	a) Área geográfica del Pacífico Oriental Tropical. b) Producción primaria y principales afloramientos del POT.....	7
2	a) <i>Emblemaria hypacanthus</i> (Chaenopsidae). b) <i>Labrisomus dendriticus</i> (Labrisomidae).....	8
3	Especies del género <i>Malacoctenus</i> del Pacífico Oriental Tropical.....	12
4	a) Provincias biogeográficas del POT propuestas por Hastings (2010). b) Provincias biogeográficas del POT propuestas por Robertson y Cramer (2009).....	20
5	Colecta de organismos de arrecife y pozas de marea..... a) Arrecife rocoso en Morros de Potosí, Ixtapa México. b) <i>Malacoctenus ebisui</i> , Tangolunda, Oaxaca México. c) Pozas de marea, Reserva San Miguel, Puntarenas Costa Rica. d) <i>Malacoctenus zonifer sudensis</i> , Dominicalito, Puntarenas Costa Rica. e) Colecta de organismos de arrecife, Morros de Potosí, Ixtapa México. f) Colecta de organismos de pozas de marea, Dominicalito, Costa Rica	24
6	Identificación de los organismos, toma de tejido, etiquetado de los organismos y toma de fotografías..... a) Etiquetado y toma de tejido de los organismos. b) Toma de fotografías a los organismos. c) <i>Malacoctenus zonifer sudensis</i> , Pedasí, Panamá. d) <i>Malacoctenus gigas</i> , San Luis Gonzaga, B.C., México. e) <i>Malacoctenus ebisui</i> , Isla de la Plata, Ecuador.	25
7	Localidades de colecta de las especies del género <i>Malacoctenus</i> a lo largo del Pacífico Oriental Tropical.....	26
8	Hipótesis filogenética del gen <i>Cytb</i> de las especies del género <i>Malacoctenus</i> del POT, obtenida por método Bayesiano y Maximum Likelihood. Se muestran los valores de soporte BY/ML en porcentaje y en rojo los valores de la $\bar{D}p$ entre grupos.....	36
9	Hipótesis filogenética obtenida con el gen <i>Rhod</i> por método Bayesiano utilizando como grupos externos: <i>Labrisomus xanti</i> , <i>Labrisomus multiporosus</i> , <i>Labrisomus striatus</i> , <i>Alloclinus holdieri</i> y <i>Gibbonsia elegans</i> . Se muestran los valores de soporte BY/ML.....	37
10	Hipótesis filogenética del gen <i>Rag1</i> obtenida por método Bayesiano y Maximum Likelihood utilizando como grupos externos: <i>Labrisomus xanti</i> . Se muestran los valores de soporte BY/ML.....	38
11	Árbol filogenético concatenado de los genes mitocondrial <i>Cytb</i> y nucleares <i>Rhod</i> y <i>Rag1</i> obtenida por método Bayesiano utilizando como grupos externos: <i>Labrisomus multiporosus</i> , <i>Heterostichus rostratus</i> y <i>Diodon holocanthus</i> . Se muestran los valores de soporte BY y en rojo los valores de la $\bar{D}p$ media entre grupos.....	40



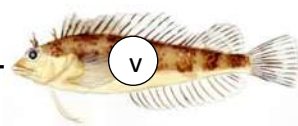


12	Red de haplotipos del gen <i>Cytb</i> de <i>M. tetranemus</i> .....	41
13	Red de haplotipos del gen <i>Cytb</i> de a) <i>M. ebisui</i> , b) <i>M. margaritae</i> y c) <i>M. zonifer</i> . <i>n</i> : número de individuos, $\pi$ : diversidad nucleotídica, <i>H<sub>d</sub></i> : diversidad haplotípica.....	42
14	Reconstrucción filogenética por inferencia bayesiana y estimación de los tiempos de divergencia usando los genes <i>Cytb</i> , <i>Rhod</i> y <i>Rag1</i> entre las especies de <i>Malacoctenus</i> del POT, subespecies y grupos divergentes.....	46
15	Principales factores oceanográficos que influyen en la fragmentación de <i>Malacoctenus ebisui</i> . Basado en Hastings (2000), Fiedler <i>et al.</i> , (2003) y Robertson y Allen (2008).....	53
16	Subespecies de <i>M. margaritae</i> y <i>M. zonifer</i> ..... a) <i>M. m. mexicanus</i> . b) <i>M. m. margaritae</i> . c) <i>M. z. zonifer</i> . Pozas intermareales San Agustín, Oaxaca México. d) <i>M. z. sudensis</i> . Pozas Intermareales Isla Contadora, Archipiélago de las Perlas Panamá.	58
17	<i>M. tetranemus</i> ..... a) Hembra. Bahía Salinas, Santa Elena, Ecuador continental. b) Macho. El Pelado, Santa Elena, Ecuador continental.	59
18	<i>M. ebisui</i> ..... a) Macho y hembra. Costa de México. b) Macho y hembra. Ecuador continental.	58
19	Colecta de organismos de <i>M. tetranemus</i> ..... a) Colecta por medio del uso de jeringa de succión y aceite de clavo. b) <i>Malacoctenus tetranemus</i> , Tangolunda, Oaxaca México.	74
20	Localidades de colecta de especies del género <i>Malacoctenus</i> a lo largo del Pacífico Oriental Tropical.....	76
21	Red de haplotipos obtenida con el gen mitocondrial <i>Cytb</i> de 101 individuos de <i>Malacoctenus tetranemus</i> grupo POT y cuatro del grupo de Ecuador continental.....	83
22	Red de haplotipos obtenida con el gen nuclear <i>Rhod</i> de 23 individuos de <i>Malacoctenus tetranemus</i> (grupo POT) y seis de <i>M. tetranemus</i> (Ecuador continental). El círculo representa un cambio nucleotídico.....	85
23	Reconstrucción filogenética por inferencia bayesiana y estimación de los tiempos de divergencia de los haplogrupos de <i>M. tetranemus</i> grupo POT, por medio del gen <i>Cytb</i> . Se utilizó como grupo externo a <i>M. mexicanus</i> .....	89
24	Provincias biogeográficas, brechas arenosas y principales corrientes, basado en Hastings (2000) y Cortés (1997).....	94
25	<i>Malacoctenus tetranemus</i> ..... a) Haplogrupo I, El Pelado, Santa Elena, Ecuador continental. b) Haplogrupo II, Barco hundido de Karagua, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador. c) Haplogrupo III, Roca Ballena, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos. d) Haplogrupo III, Roca Ballena, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos.	97



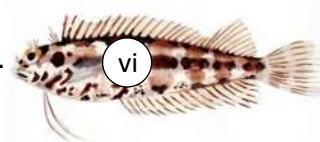
- e) Haplogrupo III, Barco hundido de Karagua, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador.
- f) Haplogrupo IV, Barco hundido de Karagua, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador.
- g) Haplogrupo IV, Punta Pitt, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador.
- h) Haplogrupo IV, Punta Pitt, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador.

26 a) *M. tetranemus* grupo Ecuador continental y b) *M. tetranemus* grupo POT..... 99

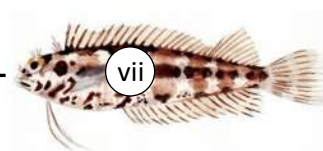


Índice cuadros

Cuadro	Pág.
1	5
2	27
3	29
4	30
5	33
6	43
7	44
8	44
9	45
10	57
11	75
12	78
13	81
14	84
15	86



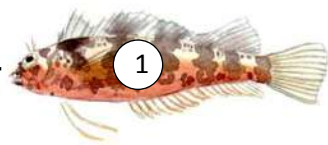
16	Valores del índice de diferenciación $F_{ST}$ entre los haplogrupos de <i>M. tetranemus</i> grupo POT.....	86
17	Análisis de AMOVA entre poblaciones de <i>Malacoctenus tetranemus</i> con base en las secuencias del gen <i>Cytb</i> .....	87
18	Pruebas de neutralidad de las secuencias de <i>Cytb</i> de <i>M. tetranemus</i> .....	88



## I. Resumen

El Pacífico Oriental Tropical (POT) es una región biogeográfica caracterizada por una costa rocosa, interrumpida por dos porciones de arena, lodo o manglares sin afloramientos rocosos significativos, llamadas Brecha de Sinaloa y Brecha Centroamericana. Las especies del género *Malacoctenus* están fuertemente asociadas al lecho rocoso, por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar por medio de los marcadores moleculares *Cytb*, *Rhod* y *Rag1*, la influencia de éstas brechas de hábitat sobre la estructuración genética de las poblaciones de las especies de *Malacoctenus* a lo largo de la región. En el presente trabajo, los árboles filogenéticos de los tres genes y el árbol concatenado mostraron a las especies y subespecies como grupos monofiléticos bien diferenciados. Se encontró que la brecha Centroamericana influye en la estructuración genética de *M. margaritae*, *M. zonifer* y *M. ebisui*. Los resultados obtenidos soportan la idea de elevar al nivel de especie a las subespecies *M. m. mexicanus*, *M. m. margaritae*, *M. z. zonifer* y *M. z. sudensis*, mientras que no se encontró evidencia de la existencia de las subespecies *M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus*. El gen *Cytb* mostró una estructuración genética entre las poblaciones de *M. ebisui* al sur de la brecha Centroamericana: Panamá-Ecuador y Costa Rica ( $\bar{D}p = 2.8$  y  $4.9\%$ ,  $F_{ST} = 0.7927$  y  $0.8712$ ), mientras que con los marcadores genéticos *Cytb*, *Rhod* y *Rag1* se encontró un grupo hermano de *M. tetranemus*, genéticamente divergente en Ecuador continental ( $\bar{D}p = 3.9\%$  *Cytb*). Se observó que *M. ebisui* y *M. tetranemus* en realidad conforman un complejo de especies, en donde los grupos genéticos *M. ebisui*-México, *M. ebisui*-Costa Rica y *M. tetranemus*-Ecuador continental superan la distancia genética mínima reconocida para especies hermanas, por lo cual, a reserva de estudios morfológicos detallados, podría tratarse de especies aún no descritas. Los resultados obtenidos sugieren que los procesos de especiación en este género han sido causa de la biología de las especies, factores oceanográficos e historia evolutiva, en donde las glaciaciones del Plio-Pleistoceno y la formación del Istmo Centroamericano jugaron un papel importante.

**Palabras clave:** *Pacífico Oriental Tropical*, *Malacoctenus*, *crípticos*, *estructura genética*, *brechas arenosas*.



## II. Summary

The Tropical Eastern Pacific (TEP) is a biogeographic region distinguished by a rocky coast, interrupted in two major portions by sandy, muddy bottoms, and often mangrove-lined lagoons, without significant rocky outcroppings, called 'Sinaloan Gap' and 'Central American Gap'. The species of the genus *Malacoctenus* are strongly associated to the rocky bottom, hence, the present study aims to evaluate through of the molecular markers *Cytb*, *Rhod* and *Rag1*, the influence of these habitat gaps on the genetic structure of the populations of *Malacoctenus* species along the region. Herein, the phylogenetic trees of the three genes and the concatenated tree showed the species and subspecies as well differentiated monophyletic groups. It was found that the Central American Gap influences the genetic structure of *M. margaritae*, *M. zonifer* and *M. ebisui*. These results support the proposal to consider the subspecies *M. m. mexicanus*, *M. m. margaritae*, *M. z. zonifer* and *M. z. sudensis* as species, whereas, there was no evidence of the existence of the subspecies *M. t. multipunctatus* and *M. t. tetranemus*. In addition, the *Cytb* revealed a genetic structure among the populations of *M. ebisui* to the south of the Central American Gap: Panama-Ecuador and Costa Rica ( $\bar{D}p = 2.8$  and 4.9%,  $F_{ST} = 0.7927$  and 0.8712), with the genetic markers *Cytb*, *Rhod* y *Rag1* it was found a genetically divergent sister group of *M. tetranemus* in Continental Ecuador ( $\bar{D}p = 3.9\%$  *Cytb*). It was observed that *M. ebisui* and *M. tetranemus* are species complexes. The genetic groups *M. ebisui*-México, *M. ebisui*-Costa Rica and *M. tetranemus*-Continental Ecuador exhibited superior genetic distances than the recognized for sister species, therefore, subject to more detailed morphologic studies, they could be undescribed species. The results obtained suggest that the speciation processes in this group had resulted from the biology of the species, oceanographic factors and the evolutionary history, where the Plio-Pleistocene glaciations and the conformation of the Central American Isthmus had an important role.

**Key words:** Tropical Eastern Pacific, *Malacoctenus*, cryptics, genetic structure, habitat gaps.

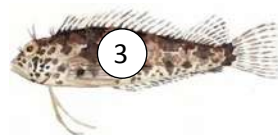


### III. Introducción general

Los peces conforman el grupo de vertebrados más diverso con cerca de 27,977 especies descritas, las cuales presentan una enorme variación morfológica y biológica, siendo capaces de encontrarse en hábitats muy heterogéneos (Nelson, 2006). Los ambientes arrecifales presentan una de las mayores riquezas de especies de peces del mundo (Rocha *et al.*, 2005), ya que a pesar de que solamente cubren alrededor del 0.1% de la superficie del océano (Spalding y Grenfell, 1997) albergan aproximadamente un tercio de las 15,000 especies de peces marinos descritas actualmente (Helfman *et al.*, 1997).

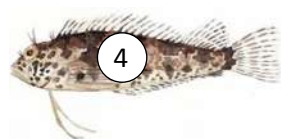
Debido a la complejidad de los ambientes marinos, se sabe poco de los patrones y procesos que modelan esta diversidad de especies. Entender los patrones de diversidad en organismos marinos tropicales dentro de las regiones biogeográficas es crítico al momento de hacer inferencias sobre los orígenes de la biodiversidad (Duda y Lessios, 2009). Sin embargo, debido a que las corrientes oceánicas facilitan la dispersión de los organismos marinos que presentan una fase de larva planctónica (Waples, 1998, Lessios *et al.*, 2001; Rocha y Bowen, 2008), el elucidar los factores que intervienen en la especiación y estructuración genética de las poblaciones de peces tropicales es una tarea compleja. Uno de los factores principales que afectan la estructuración genética dentro de las especies es el flujo genético existente entre estas (Von der Hayden *et al.*, 2013), dado que su ausencia puede conllevar a un aislamiento reproductivo (Whitlock y McCauley, 1999) y por consecuencia a la evolución de linajes filogenéticos discretos (Taylor y Hellberg, 2006).

Diversos estudios atribuyen la estructuración genética dentro y entre poblaciones a barreras oceanográficas que impiden o limitan el flujo génico, entre las que se encuentran características propias del medio como la temperatura, corrientes marinas, influencia de los vientos oceánicos, discontinuidad del hábitat, aislamiento por distancia, entre otros. Sin embargo, estos factores también pueden ser los



causales del transporte de larvas (e.g. corrientes marinas) y con ello provocar la conectividad entre las poblaciones, homogeneizándolas genéticamente (Cuadro 1a), mientras que otros trabajos proponen que la falta o presencia de estructura genética se debe a características ecológicas o intrínsecas de las especies, tales como: una baja capacidad de dispersión, fidelidad a las áreas de crianza, historias tempranas de vida entre las que se encuentran la duración de la larva pelágica, tipo de huevo (demersal/pelágico) y lugar de desarrollo larval (cerca de la costa/fuera de la costa), entre otros (Cuadro 1b).

Evaluar la conectividad genética entre las poblaciones es esencial para entender los factores que han modelado la variación genética, lo cual ayuda en el desarrollo de estrategias de conservación (Hurtado *et al.*, 2007). En este sentido, los análisis con marcadores genéticos de alta resolución han demostrado ser efectivos para entender los patrones genéticos de las poblaciones marinas, reflejando barreras históricas y actuales al flujo genético (Sandoval-Castillo *et al.*, 2004). Por lo que el identificar dichas barreras y comprender cómo están fragmentadas o interconectadas las poblaciones es fundamental para el entendimiento de la estructura o conexión genética en espacio y tiempo, de igual manera, esto es de gran importancia en el manejo de las especies marinas y de reservas naturales, manteniendo así la diversidad biológica de un ecosistema de manera efectiva (Craig *et al.*, 2006; Galarza *et al.*, 2009).





**Cuadro 1.**

**a) Estudios en donde la conectividad/fragmentación de las poblaciones es atribuida a factores oceanográficos.**



*Ophioblennius steindachneri*  
Foto: Gerald Allen

Muss *et al.* (2001), estudiaron las poblaciones del trambollo negro, *Ophioblennius steindachneri*, en el POT, en donde no encontraron una concordancia entre la estructura genética y las provincias biogeográficas, lo cual lo atribuyen a una circulación de corrientes inestables.



*Conus ebraeus*  
Foto: Seaweek

Duda y Lessios (2009), muestran que existe una predominancia del flujo genético hacia el oeste en las poblaciones del gasterópodo *Conus ebraeus*, reflejando diferencias genéticas entre las poblaciones del occidente y centro del Pacífico con las del POT.

Saarman *et al.* (2010), analizaron poblaciones de *Hippocampus ingens* en la Bahía de San Diego y el POT, encontrando ESU's en las poblaciones del Golfo de California, lo cual atribuyen a barreras geográficas y eventos geológicos.



*Hippocampus ingens*  
Foto: Ross Robertson

Saavedra-Sotelo *et al.* (2011) observaron un flujo genético limitado entre las poblaciones en el Pacífico Mexicano del coral *Pavona gigantea*, el cual ocasiona una heterogeneidad que presenta una congruencia parcial con los patrones de conectividad y circulación oceanoaráfica.



*Pavona gigantea*  
Foto: Josua Feingold.



*Pocillopora damicornis*  
Foto: Tim Wijgerde

Paz-García *et al.* (2012) analizaron la estructura genética de las poblaciones de *Pocillopora damicornis* y *Porites panamensis* en la costa occidental de México encontrando un flujo genético restringido entre las poblaciones del sur y el resto, lo cual atribuyen a las corrientes superficiales y una discontinuidad de hábitat.



*Elacatinus puncticaulus*  
Foto: Aqua Marine Imports

Sandoval-Huerta (2014) demuestra que existen diferencias genéticas sustanciales entre las poblaciones del POT separadas por la brecha Centroamericana, en donde atribuye la diferenciación encontrada a procesos oceanográficos persistentes.

**b) Estudios en donde la conectividad/fragmentación de las poblaciones es atribuida a características ecológicas o intrínsecas de las especies.**



*Axoclinus nigricaudus*  
Foto: Gerald Allen

Riginos y Nachman (2001) observaron que la discontinuidad genética de las poblaciones de *Axoclinus nigricaudus* del Golfo de California coinciden con los cambios abruptos en las características ecológicas del medio ambiente y a un patrón de aislamiento por distancia.



Foto: Paul Human

Riginos y Victor (2001), por medio de la comparación de la estructura genética en las poblaciones de *A. nigricaudus*, *M. hubbsi* y *O. steindachneri* (Duración de la larva pelágica-DLP corta, intermedia y larga respectivamente) concluyen que la DLP es un buen predictor de la estructura genética.

Craig *et al.* (2006) atribuyen la falta de estructuración genética entre las poblaciones a lo largo del POT a una duración de la larva pelágica larga.



*Epinephelus labriformis*  
Foto: Roger Steene

Hurtado *et al.* (2007) observaron que las poblaciones de *Nerita scabricosta* separadas por la brecha Centroamericana muestran diferencias genéticas, las cuales concuerdan con diferencias morfológicas, ecológicas y de comportamiento. Mientras que no se encontró una estructuración para *Nerita funiculata*.



*Nerita scabricosta*  
Foto: Michael Gianechini.



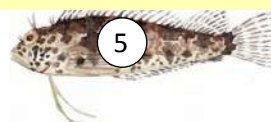
*Scomberomorus sierra*  
Foto: Tim Wijgerde

Domínguez-López *et al.* (2010) asocian la estructura genética encontrada en *Scomberomorus sierra* a una dispersión limitada entre las áreas de mayor abundancia, las cuales están ligadas a los sitios de desove.



*Acanthemblemaria spinosa*  
Foto: Kip Evans

Eytan *et al.* (2012) proponen que los procesos de especiación del género *Acanthemblemaria* en el Atlántico este, han estado fuertemente influenciados por las preferencias ecológicas de las especies.

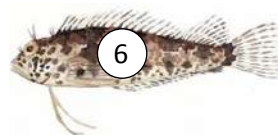


### 3.1 El Pacífico Oriental Tropical

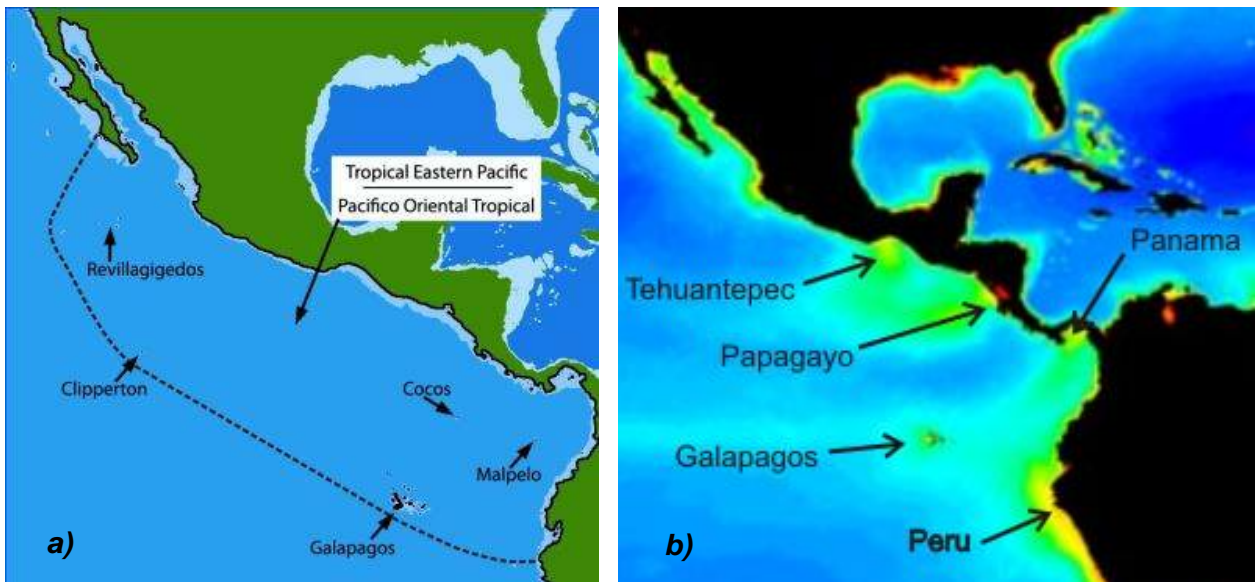
#### *Características físicas generales*

La región biogeográfica del POT se encuentra delimitada al norte por la corriente fría de California, al sur por la corriente fría costera de Perú (Glynn y Ault, 2000), al oeste por una vasta cantidad de océano abierto conocido como la Barrera del Pacífico Este y al este por el continente Americano (Allen y Robertson, 1998; Hastings, 2000). Abarca la costa continental de América, desde Bahía Magdalena en la península de Baja California, México, el Mar de Cortés y hacia el sur hasta Cabo Blanco, al norte de Perú (Zapata y Robertson, 2007). Se encuentra conformada por una costa rocosa interrumpida por dos grandes porciones de fondos arenosos, lodo o manglares sin afloramientos rocosos significativos, llamados la brecha de Sinaloa, desde Topolobampo a Mazatlán, Sinaloa, con una extensión aproximada de 370km, y la brecha Centroamericana, con aproximadamente 750km de largo, iniciando al sur del Istmo de Tehuantepec hasta el Golfo de Fonseca (Fig. 1a) (Allen y Robertson, 1998; Hastings, 2000; Craig *et al.* 2006; Robertson y Allen, 2008).

Se trata de una cuenca abierta de corrientes inestables (Muss *et al.*, 2001), que varían a lo largo del año (Kessler, 2006). Las corrientes principales dentro de la región son la Corriente Costera de Costa Rica, que va desde Costa Rica hacia el norte hasta el Golfo de California, la Corriente de Panamá, que presenta un giro ciclónico (contra reloj) en la Ensenada de Panamá y fluye hacia el Archipiélago de las Galápagos, la Contra Corriente Norecuatorial que entra en el este del Pacífico Central, y las corrientes Norecuatorial y Surecuatorial que fluyen hacia el este (Glynn y Ault, 2000). Dentro de la región ocurren afloramientos importantes estacionales, los cuales suceden en zonas donde la cordillera montañosa es baja y permite que los vientos alisios durante el invierno provoquen una zona de surgencia y afloramiento. Se caracterizan por traer corrientes frías y altos niveles de nutrientes y producción primaria. Destacan aquellos que ocurren en el Golfo de Tehuantepec,



Golfo de Papagayo y en la Ensenada de Panamá (Fig. 1b) (Glynn y Ault, 2000; Wang y Fiedler, 2006).

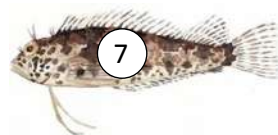


**Fig. 1.** a) Área geográfica del Pacífico Oriental Tropical. Imagen del Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales. b) Producción primaria y principales afloramientos del POT. Imagen NOAA.

### *Diversidad ictiológica*

El POT cuenta con una diversidad de peces costeros relativamente pobre en comparación con otras áreas como el Mar Caribe o el Indo-Pacífico Occidental (Allen y Robertson, 1998), sin embargo, Zapata y Robertson (2007) proponen, mediante el uso de extrapolaciones de la frecuencia de la distribución de diferentes grupos ecológicos de peces, que la riqueza de especies de la región está subestimada y es al menos 12-15% mayor de la considerada. No obstante, cabe resaltar que se trata de una región que posee un elevado porcentaje de especies endémicas con cerca del 72% en peces costeros (Robertson y Allen, 2002), además de poseer una composición particular de las comunidades de peces que lo habitan, las cuales le confieren una “identidad especial” a la región (Allen y Robertson, 1998).

Esta región cuenta con una importante representación de peces crípticos, los cuales comprenden especies de tamaño pequeño (<10cm durante su fase adulta) que se encuentran generalmente asociadas al lecho de los arrecifes rocosos, los





cuales presentan patrones de coloración que les permiten confundirse con el medio en el que habitan (Galván-Villa, 2011). Las especies crípticas que habitan en el POT se encuentran principalmente representadas por blénidos, con aproximadamente 140 especies de las cuales cerca del 88% son endémicas (Hastings, 2009), en donde destacan las familias Chaenopsidae y Labrisomidae (Fig. 2) (Allen y Robertson, 1998), de esta última sobresale el género *Malacoctenus* que cuenta con nueve especies endémicas (Robertson y Allen, 2008).



**Fig. 2.** a) *Emblemaria hypacanthus* (Chaenopsidae). Foto: Julian Cohen, tomada de: <https://www.flickr.com/photos/juliancohen/5052380505/>.  
b) *Labrisomus dendriticus* (Labrisomidae). Foto: Gerard Allen, tomada de: [http://www.discoverlife.org/mp/20p?see=|\\_RR1553&res=640](http://www.discoverlife.org/mp/20p?see=|_RR1553&res=640).

### 3.2 Trambollos – *Malacoctenus* Gill, 1860

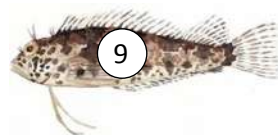
El género *Malacoctenus* (Labrisomidae), está comprendido por 18 especies, una en el Atlántico Oriental, nueve en el Atlántico Occidental y nueve en el Pacífico Oriental Tropical (Springer, 1959; Greenfield y Johnson, 1981; Guimarães *et al.*, 2010).

Los trambollos son peces alargados y pequeños que viven en arrecifes, asociados al lecho rocoso o entre la vegetación. Son especies carnívoras que se alimentan de invertebrados de tamaño pequeño como cangrejos, gasterópodos, estrellas de mar, erizos, poliquetos y quitones (Allen y Robertson 1998).

*Descripción.* Espinas y radios de las aletas: dorsales XVIII, 10-12; XIX, 9-13; XX, 9-14; XXI, 8-13; XXII, 8-13; XXIII, 9-10 ó 13; anales II, 17-24; caudal 13; pectorales 13-17; pélvicas I,3. Línea lateral: 40-66 escamas. La quijada contiene una sola hilera de dientes cónicos largos (excepto en *M. erdmani*, *M. boehlkei* y *M. macropus*). Dientes vomerinos presentes, palatinos ausentes. Branquiespinas: 8-15 en el primer arco. Cirros presentes en la parte anterior de las narinas, arriba del ojo y en la nuca (Springer, 1959).

*Dimorfismo sexual.* Los machos tienen una papila posterior al ano conteniendo una abertura para el sistema urogenital. Las hembras tienen una abertura genital más alargada posterior al ano y una protuberancia carnososa y rugosa que contiene varias papilas, una de las cuales contiene una abertura a los riñones. *Dimorfismo sexual secundario.* Se exhibe en la mayoría de las especies, los machos tienen mandíbulas más grandes y las hembras presentan una coloración más fuerte (Springer, 1959).

*Comportamiento:* Se ha observado que los machos de *M. macropus* y *M. hubbsi* son territoriales ya que defienden los sitios de oviposición y presentan cuidado parental al defender los huevos de los depredadores (Petersen, 1988).



Especies de *Malacoctenus* en el POT<sup>1</sup>:

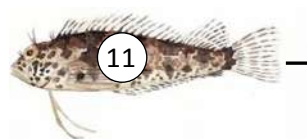
- *Malacoctenus costaricanus*, Trambollo de Costa Rica (Springer, 1959), cabeza clara con puntos oscuros detrás del ojo. Cuerpo con 6 barras irregulares, oscuro por encima de la línea media y extendiéndose a la aleta dorsal. El Salvador a Costa Rica (Fig. 3).
- *Malacoctenus hubbsi*, Trambollo panza roja (Springer, 1959), presenta un sutil dimorfismo sexual. Machos: verde claro en la mitad superior, rojizo en la mitad inferior, 5-6 barras café oscuro en el costado. Hembras: similares pero sin el matiz rojizo en el vientre. Se reconocen dos subespecies: *M. hubbsi hubbsi* ocurre en el Golfo de California, *M. hubbsi polyporosus* al centro y sur de México (Fig. 3).
- *Malacoctenus ebisui*, Trambollo dorado (Springer, 1959), presenta un dimorfismo sexual marcado. Los machos son café rojizo en el dorso con 2-3 parches negros en la parte posterior, vientre verde-amarillento. Hembras: presentan una coloración morada en la parte superior con 2-3 parches negros en la parte posterior, vientre amarillento. Golfo de California a Panamá (Fig. 3).
- *Malacoctenus gigas*, Trambollo de Sonora (Springer, 1959), verde oliva en la mitad superior, blanco en el torso y en el vientre, 4-5 barras irregulares café oscuro en el costado. Presenta un sutil dimorfismo sexual. Machos: aletas dorsal y anal de un color cenizo. Hembras: aletas dorsal, anal y caudal con manchas, y un patrón de líneas oscuras en los costados. Golfo de California (Fig. 3).
- *Malacoctenus margaritae*, Trambollo margarita (Fowler, 1944), presenta un dimorfismo sexual marcado. Hembras: color blanco con numerosas manchas amarillas a los costados, una mancha café que cubre el opérculo. Machos: color verde a gris, barras oscuras en el costado y 3 manchas negras en la parte posterior. Se reconocen dos

<sup>1</sup> Robertson y Allen, 2008. Peces costeros del Pacífico Oriental Tropical: Sistema de Información en línea. Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales



subespecies: *M. margaritae mexicanus* ocurre en el Golfo de California y México, *M. margaritae margaritae* se distribuye de Costa Rica a Ecuador (Fig. 3).

- *Malacoctenus zacaе*, Trambollo aleta amarilla (Springer, 1959), oliva pálido con barras difusas en el cuerpo, franja café a verde desde el ojo a la base de la aleta caudal, con manchas oscuras y pequeñas en donde se cruza con las franjas, aletas amarillas. Punta de Baja California, suroeste del Golfo de California y México central (Fig. 3).
- *Malacoctenus zonifer*, Trambollo de pozo (Jordan y Gilbert, 1882), color oliva en el dorso con series de manchas negras en forma de montura, parte inferior color blanco. Presenta un sutil dimorfismo sexual. Machos: cabeza aleta anal oscura, una línea clara en el opérculo. Hembras: dos manchas oscuras en la parte ventral del opérculo, aleta anal con manchas. Se reconocen dos subespecies: *M. zonifer zonifer* en México y *M. zonifer sudensis* desde Nicaragua a Ecuador (Fig. 3).
- *Malacoctenus zonogaster*, Trambollo panzimanchado (Heller y Snodgrass, 1903), verde en la mitad superior y blanco abajo, con 5-6 barras oscuras en el costado y una mancha oscura grande en el opérculo. Presenta un sutil dimorfismo sexual. Machos: pocas manchas en la aleta dorsal, mientras que la caudal presenta manchas. Hembras: aletas dorsal, anal y caudal densamente manchadas. Archipiélago de las Galápagos (Fig. 3).

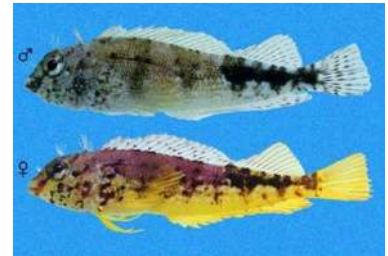




*M. costaricanus* (Springer, 1959)



*M. hubbsi* (Springer, 1959)



*M. ebisui* (Springer, 1959)



*M. gigas* (Springer, 1959)



*M. margaritae* (Fowler, 1944)



*M. tetranemus* (Cope, 1877)



*M. zacaе* (Springer, 1959)



*M. zonifer* (Jordan y Gilbert, 1882)



*M. zonogaster* (Heller y Snodgrass, 1903)

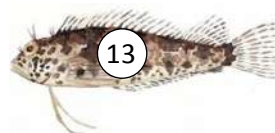
**Fig. 3.** Especies del género *Malacoctenus* del Pacífico Oriental Tropical. Fotografías tomadas por Ross Robertson.



#### IV. Planteamiento del problema

Dentro del género *Malacoctenus* se han descrito 8 subespecies (*M. h. hubbsi*, *M. h. polyporosus*, *M. m. margaritae*, *M. m. mexicanus*, *M. z. zonifer*, *M. z. sudensis*, *M. t. tetranemus* y *M. t. multipunctatus*) que habitan en el POT, las cuales se encuentran separadas geográficamente de la subespecie hermana por alguna de las brechas de Sinaloa y Centroamericana. Dado que estas especies se encuentran fuertemente asociadas a los arrecifes rocosos, las brechas arenosas pueden conformar un hábitat inadecuado, por lo que se espera que las diferencias morfológicas encontradas en las subespecies pudieran corresponderse a una estructuración genética entre las poblaciones.

El presente trabajo, por medio de diversos marcadores moleculares, pretende responder a las siguientes preguntas: **1)** ¿Las brechas arenosas de Sinaloa y Centroamericana influyen en la estructuración de las poblaciones de las especies de *Malacoctenus* que habitan en el POT?, **2)** ¿Las subespecies del género, presentan linajes evolutivos independientes como para ser consideradas especies? y **3)** ¿Es posible detectar patrones biogeográficos en estas especies/subespecies? Y con ello determinar la eficacia de las barreras al flujo genético y elucidar la historia evolutiva de posibles eventos vicariantes y de dispersión que han conllevado a la especiación.



## V. Hipótesis

Las especies *M. tetranemus*, *M. hubbsi*, *M. margaritae* y *M. zonifer* presentan una estructuración genética evidente entre las poblaciones a lo largo de su distribución en el Pacífico Oriental Tropical e islas Galápagos, ocasionada por la discontinuidad de hábitat rocoso de las Brechas de Sinaloa y Centroamericana, y la distancia de mar abierto entre el Archipiélago de las Galápagos y el continente americano.

## VI. Objetivos

### 6.1 Objetivo general

Reconstruir la historia evolutiva de las especies del género *Malaccoctenus* que habitan en el Pacífico Oriental Tropical.

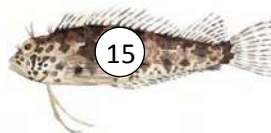
### 6.2 Objetivos particulares

- Entender los procesos que han conformado la diversidad de los *Malaccoctenus* del Pacífico Oriental Tropical.
- Identificar de qué manera influyen la brecha de Sinaloa y la brecha Centroamericana en la estructura genética de las poblaciones de *Malaccoctenus* que habitan en el Pacífico Oriental Tropical.
- Evaluar con datos moleculares si las subespecies del género *Malaccoctenus* que habitan en el Pacífico Oriental Tropical deben ser elevadas al nivel de especie.



## VII. Referencias bibliográficas

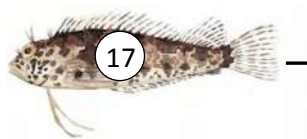
- Allen, G.R.** y R. Robertson. 1998. Peces del Pacífico Oriental Tropical. CONABIO-Agrupación Sierra Madre. México, 2ªed., 328pp.
- Craig, M.T.**, P.A. Hastings, D.J. Pondella, R. Robertson y J.A. Rosales-Casián. 2006. Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): Implications for the biogeography of the Tropical Eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *Journal of Biogeography* 33: 969-979.
- Domínguez-López, M.**, M.U. Alcocer y P. Díaz-Jaimes. 2010. Phylogeography and historical demography of the Pacific Sierra mackerel (*Scomberomorus sierra*) in the Eastern Pacific. *BMC Genetics* 11:34.
- Duda, T.F.Jr.**, y H.A. Lessios. 2009. Connectivity of populations within and between major biogeographic regions of the tropical Pacific in *Conus ebraeus*, a widespread marine gastropod. *Coral Reefs* 28: 651-659.
- Galarza, J.A.**, J. Carreras-Carbonell, E. Macpherson, M. Pascual, S. Roques, G.F. Turner y C. Rico. 2009. The influence of oceanographic fronts and early-life-history traits on connectivity among littoral fish species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(5): 1473-1478.
- Galván-Villa, C.M.** 2011. Peces crípticos: Componente importante de los sistemas arrecifales. CONABIO. *Biodiversitas* 97: 1-5.
- Glynn, P.W.** y Ault, S.J. 2000. A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs* 19: 1-23.
- Greenfield, D.W.** y R.K. Johnson. 1981. The blennioid fishes of Belize and Honduras, Central America, with comments on their systematics, ecology, and distribution (Blenniidae, Chaenopsidae, Labrisomidae, Tripterygiidae). *Fieldiana Zoology* 8: 1-106.
- Guimarães, R.Z.P.**, G.W. Nunan y J.L. Gasparini. 2010. *Malacoctenus brunoi* sp. N. (Blennioidi: Labrisomidae), a new scaled-blenny from Trinidad Island, off Brazil. *Zootaxa* 2567: 50-56.
- Hastings, P.A.** 2000. Biogeography of the Tropical Eastern Pacific: distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society* 128: 319-335.
- Hastings, P.A.** 2009. Biogeography of New World Blennies. En: Patzner, R., E. GonCalves, P. Hastings y B. Kapoor (Eds.), *The Biology of Blennies*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire. pp. 95-118.
- Helfman, G.S.**, B.B. Collette y D.E. Facey. 1997. *The Diversity of Fishes*. Malden, MA: Blackwell Science, Inc.
- Hurtado, L.A.**, M. Frey, P. Gaube, E. Pfeiler y T.A. Markow. 2007. Geographical subdivision, demographic history and gene flow in two sympatric species of intertidal snails, *Nerita scabricosta* and *Nerita funiculata*, from the tropical Eastern Pacific. *Marine Biology*. DOI 10.1007/s00227-007-0620-5.
- Kessler, W.S.** 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69: 181-217.



- Lessios, H.A.**, B.D. Kessing y J. Pearse. 2001. Population structure and speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin *Diadema*. *Evolution* 55(5): 955-975.
- Muss, A.**, R. Robertson, C.A. Stepien, P. Wirtz y B.W. Bowen. 2001. Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. *Evolution* 55(3): 561-572.
- Nelson, J.S.** 2006. Fishes of the World. Wiley, Nueva York. 601pp.
- Paz-García, D.A.**, H.E. Chávez-Romo, F. Correa-Sandoval, H. Reyes-Bonilla, A. López-Pérez, P. Medina-Rosas y M.P. Hernández-Cortés. 2012. Genetic Connectivity Patterns of Corals *Pocillopora damicornis* and *Porites panamensis* (Anthozoa: Scleractinia) along the West Coast of Mexico. *Pacific Science* 66(1): 43-61.
- Petersen, C.W.** 1988. Male mating success, sexual size dimorphism, and site fidelity in two species of *Malacoctenus* (Labrisomidae). *Environmental Biology of Fishes* 21(3): 173-183.
- Riginos, C.** y B. Victor. 2001. Larval spatial distributions and other early life-history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proceedings of the Royal Society of London* 268: 1931-1936.
- Riginos, C.** y M.W. Nachman. 2001. Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Molecular Ecology* 10: 1439-1453.
- Robertson, D.R. y Allen, G. R.** 2002. Shorefishes of the tropical eastern Pacific: an information system. CD-ROM. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panamá.
- Robertson, D.R.** y G.R. Allen. 2008. Shorefishes of the tropical eastern Pacific online information system. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa (disponible en: [www.stri.org/sftep](http://www.stri.org/sftep)).
- Rocha, L.A.** y B.W. Bowen. 2008. Speciation in coral-reef fishes. *Journal of Fish Biology* 72: 1101-1121.
- Rocha, L.A.**, D.R. Robertson, J. Roman y B.W. Bowen. 2005. Ecological speciation in tropical reef fishes. *Proceedings of the Royal Society* 272: 573-579.
- Saarman, N.P.**, K.D. Louie y H. Hamilton. 2010. Genetic differentiation across Eastern Pacific oceanographic barriers in the threatened seahorse *Hippocampus ingens*. *Conservation Genetics* DOI 10.1007/s10592-010-0092-x.
- Saavedra-Sotelo, N.C.**, L.E. Calderon-Aguilera, H. Reyes-Bonilla, R.A. López-Pérez, P. Medina-Rosas, A. Rocha-Olivares. 2011. Limited genetic connectivity of *Pavona gigantea* in the Mexican Pacific. *Coral Reefs* 30: 677-686.
- Sandoval-Castillo, J.**, A. Rocha-Olivares, C. Villavicencio-Garayzar y E. Balart. 2004. Cryptic isolation of Gulf of California shovelnose guitarfish evidenced by mitochondrial DNA. *Marine Biology* 145: 983-988.
- Sandoval-Huerta, E.R.** 2014. Filogeografía de *Elacatinus puncticulatus* (Teleostei, Gobiidae) en el Pacífico Oriental Tropical. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 83pp.
- Spalding, M.** y A.M. Grenfell. 1997. New estimates of global and regional coral reef areas. *Coral Reefs* 16: 225-230.
- Springer, V.G.** 1959. Systematics and Zoogeography of the Clinid Fishes of the Subtribe Labrisomini Hubbs. Department of Zoology and Institute of Marine Science, University of Texas 5:417-492.



- Taylor, M.S.** y M.E. Helleberg. 2006. Comparative phylogeography in a genus of coral reef fishes: biogeographic and genetic concordance in the Caribbean. *Molecular Ecology* 15: 695-707.
- Von der Heyden, S.**, E. Gildenhuys, G. Bernardi y R.C.K. Bowie. 2013. Fine-scale biogeography: tidal elevation strongly affects population genetic structure and demographic history in intertidal fishes. *Frontiers of Biogeography* 5: 29-38.
- Wang, C.** y P.C. Fiedler. 2006. ENSO variability and the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69: 239-266.
- Waples, R.S.** 1998. Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *The American Genetic Association* 89: 438-450.
- Whitlock, M.C.** y D.E. McCauley. 1999. Indirect measures of gene flow and migration:  $F_{st} \approx 1/(4Nm+1)$ . *Heredity* 82:117-125.
- Zapata, F.A.** y D.R. Robertson. 2007. How many species of shore fishes are there in the Tropical Eastern Pacific? *Journal of Biogeography* 34: 38-51.



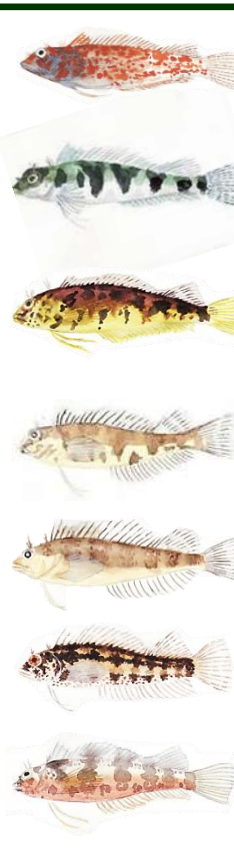
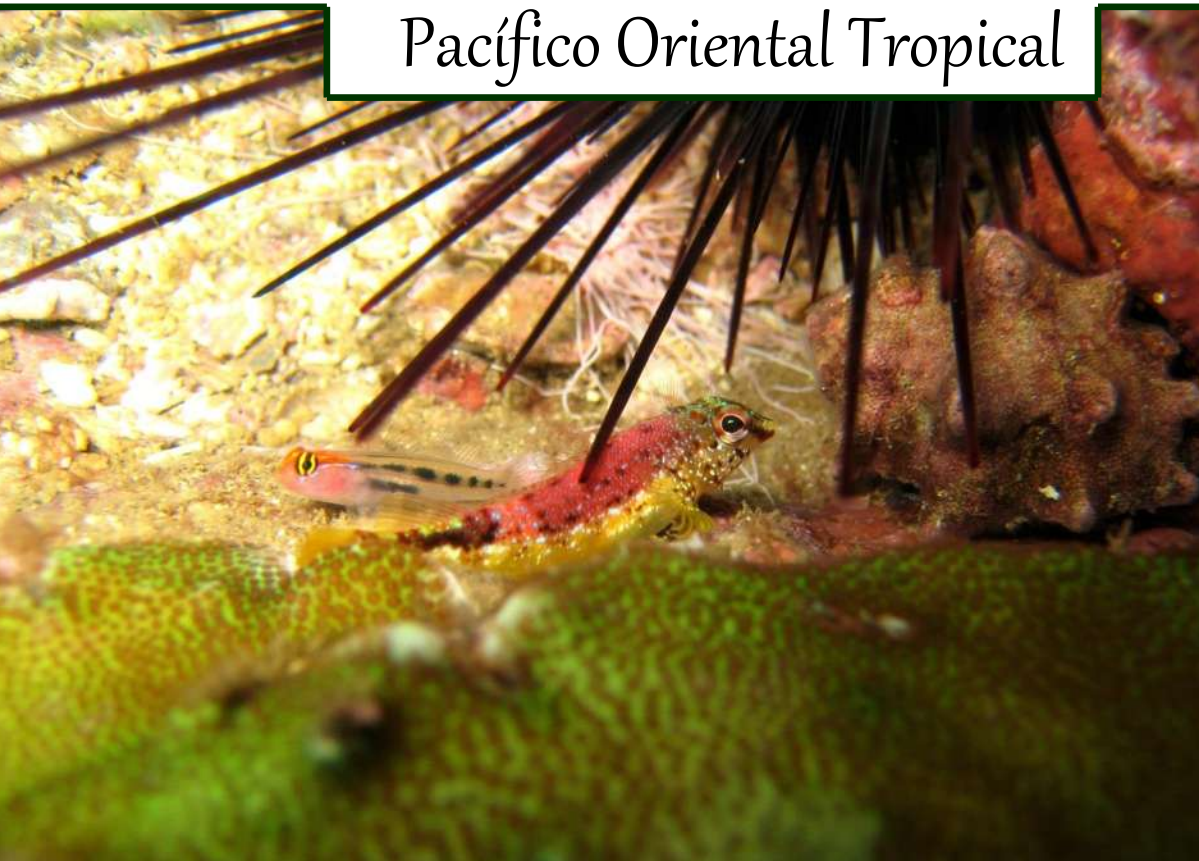


# CAPÍTULO 1



Probando barreras, procesos de especiación dentro del género *Malacoctenus* (LABRISOMIDAE) en el

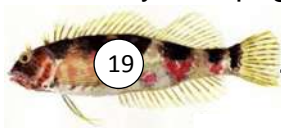
Pacífico Oriental Tropical



## **Probando barreras, procesos de especiación dentro del género *Malacoctenus* (LABRISOMIDAE) en el Pacífico Oriental Tropical**

### **8.1 Introducción**

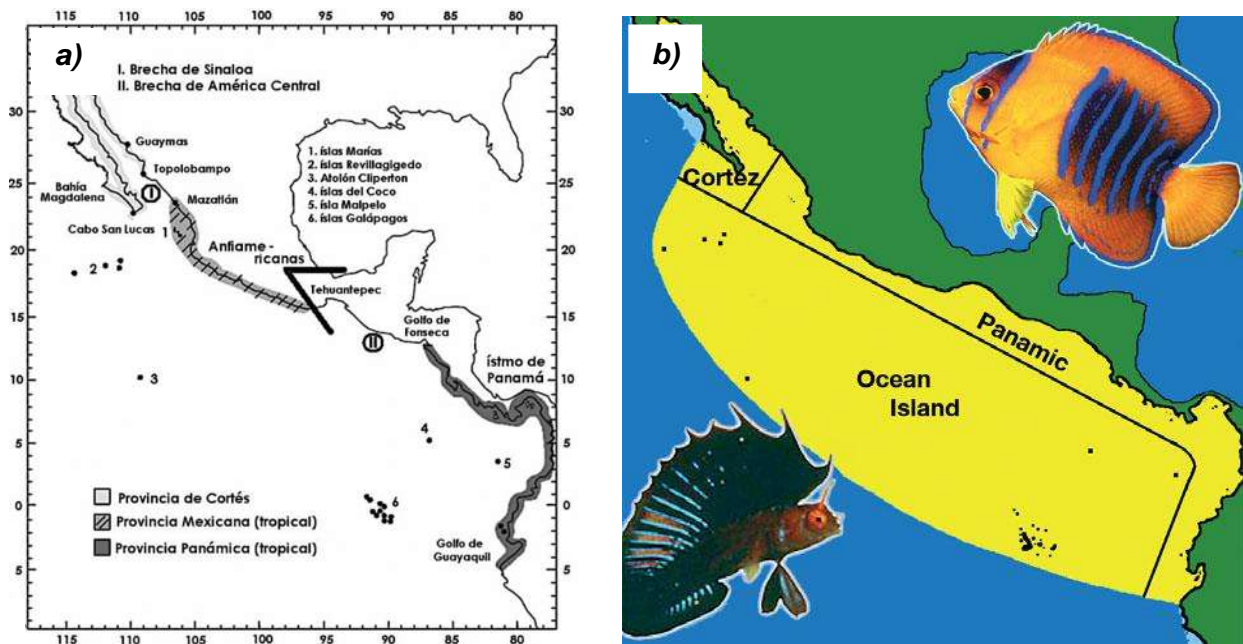
El Pacífico Oriental Tropical (POT) es una región biogeográfica de corrientes inestables (Muss *et al.*, 2001), comprendida desde el Golfo de California y hacia el sur hasta el norte de Perú, incluyendo las islas oceánicas del Archipiélago de las Galápagos, Revillagigedo, isla Cocos, isla Malpelo y el Atolón de Clipperton (Allen y Robertson, 1998; Hastings, 2000). Los límites de la región están conformados por las corrientes frías de California al norte y Peruana al sur, al oeste por una gran porción de océano abierto conocido como la Barrera del Pacífico Este y el continente Americano al este (Hastings, 2000; Briggs y Bowen, 2012). Se encuentra conformada por una costa estrecha de arrecifes rocosos, los cuales se ven interrumpidos por dos grandes extensiones de arena, lodo o manglares conocidas como las Brechas de Sinaloa, desde Topolobampo hasta Mazatlán con aproximadamente 370km de longitud, y la Brecha Centroamericana, desde el sur del Istmo de Tehuantepec hasta Acajutla en el Golfo de Fonseca con cerca de 750km de extensión (Glynn y Ault, 2000). Históricamente, se ha propuesto que estas brechas arenosas y el océano abierto actúan como límites de las provincias biogeográficas de la región. Sin embargo, durante más de 60 años se ha discutido ampliamente sobre el número y extensión de estas provincias. Trabajos enfocados en la distribución y taxonomía de especies crípticas que habitan fondos rocosos, proponen la existencia de cuatro provincias biogeográficas: de Cortés, Mexicana, Panámica (Hubbs, 1952; Springer, 1959) y Galápagos (Fig. 4a) (Allen y Robertson, 1998; Hastings, 2000). Por otro lado, estudios que toman en cuenta la composición ictiológica, endemismos, y distribución de peces costeros muestran discrepancias en el reconocimiento y delimitación de las provincias. Walker (1960), basado en la distribución de especies endémicas, propone la existencia de solamente dos provincias (Cortés y Mexicana), mientras que Briggs (1974) propone que la provincia de Cortés no forma parte del POT, reconociendo por tanto tres provincias (Mexicana, Panámica y Galápagos). Por otro lado, Spalding *et*





al. (2007), propone la existencia de las provincias Galápagos y Panámica. Por su parte, basados en la comparación de la endemidad, composición ictiológica de las provincias, además de la distribución geográfica de los peces residentes de arrecife, Robertson y Cramer, (2009) soportan la existencia de las provincias Cortés y Panámica, en este trabajo se propone también incluir a los cinco grupos de islas principales del POT como una nueva provincia: Islas Oceánicas (Fig. 4b).

Finalmente, una revisión de las regiones marinas del mundo por Bowen y Briggs (2012) concluye la existencia de tres provincias: Cortés, Panámica (la cual incluye a la Mexicana) y Galápagos. Sin embargo, se ha propuesto que la extensión de la distribución de los peces costeros del POT, así como el límite de las provincias, pueden variar durante eventos estacionales como el Niño (ENSO), ya que provocan cambios en la temperatura y dirección de las corrientes que posiblemente afectan la capacidad de dispersión de las especies (Robertson y Cramer, 2009).



**Fig. 4.** a) Provincias biogeográficas del POT propuestas por Hastings (2010).  
b) Provincias biogeográficas del POT propuestas por Robertson y Cramer (2009).

A pesar de la controversia en torno al número y límites de las regiones biogeográficas en el POT, es claro que las brechas arenosas conforman el límite de



la distribución de muchas especies (Springer, 1959; Hastings, 2000; Hastings y Springer, 2009a), incluyendo un importante número de especie arrecifales.

Por otro lado, cabe destacar que a pesar de que el POT tiene una ictiofauna costera relativamente pobre en comparación con otras regiones, como el Indo-Pacífico Oriental (Allen y Robertson, 1998), presenta una elevada cantidad de géneros y especies endémicos, entre los que destaca la presencia de blenios autóctonos del género *Malacoctenus*.

Los trambollos (especies del género *Malacoctenus*) son peces crípticos, carnívoros forrajeros que se alimentan de pequeños invertebrados como gusanos, gasterópodos, crustáceos bénticos y moluscos sésiles (Kotrschal y Thomson, 1986; Robertson y Allen, 2008). Presentan un huevo bentónico y larva pelágica (Robertson y Allen, 2008). Se conoce que las especies *M. hubbsi* y *M. zonifer* tienen una duración de la larva pelágica intermedia, de 24 y 25 días (Brogan, 1992, 1994; Bernardi *et al.*, 2014). Se ha demostrado que las especies *M. boehlkei*, *M. gilli*, *M. macropus* y *M. triangulatus* en el Atlántico presentan adaptaciones facultativas que les permiten asociarse a anémonas del género *Condylactis* para evitar ser depredados (Hanlon y Hixon, 1986). *Malacoctenus ebisui* está asociada a corales del género *Pocillopora* en el Pacífico Mexicano (Galván-Villa, 2008).

Estas especies se encuentran fuertemente asociadas al lecho rocoso, por lo que las brechas de hábitat presentes en el POT, en este caso las brechas arenosas, podrían estar actuando como barreras al flujo genético conllevando a una estructuración genética entre las poblaciones. En la región, se reconocen nueve especies (Springer, 1959; Greenfield y Johnson, 1981). La identificación taxonómica de estas especies es compleja debido a la plasticidad fenotípica que exhiben los organismos dentro y entre especies y a la semejanza de los caracteres utilizados para su identificación taxonómica. Springer (1959), realizó una revisión taxonómica de las especies de *Malacoctenus*, donde propone la existencia de ocho subespecies, las cuales están separadas de la otra subespecie hermana por alguna de estas brechas arenosas. La brecha de Sinaloa separa a las subespecies *M. h. hubbsi* y *M. h. polyporosus*, mientras que la brecha Centroamericana separa a las subespecies



*M. m. margaritae* y *M. m. mexicanus*, *M. M. t. tetranemus* y *M. t. multipunctatus*, y *M. z. zonifer* y *M. z. sudensis*. Más tarde, una revisión de los caracteres morfológicos de las especies *M. hubbsi*, *M. margaritae* y *M. zonifer* propone que estas subespecies presentan las diferencias morfológicas suficientes como para ser elevadas al nivel de especie (Hastings y Springer, 2009a).

Por estas razones, los trambollos son ideales para estudiar la influencia de las Brechas arenosas sobre las poblaciones de peces crípticos que habitan en el POT. El presente trabajo utiliza secuencias de genes mitocondriales y nucleares para evaluar el papel que han tenido las brechas arenosas en la conformación de la diversidad del género en la región, y por tanto corroborar si las diferencias morfológicas se corresponden con una estructuración genética.



## 8.2 Materiales y Métodos

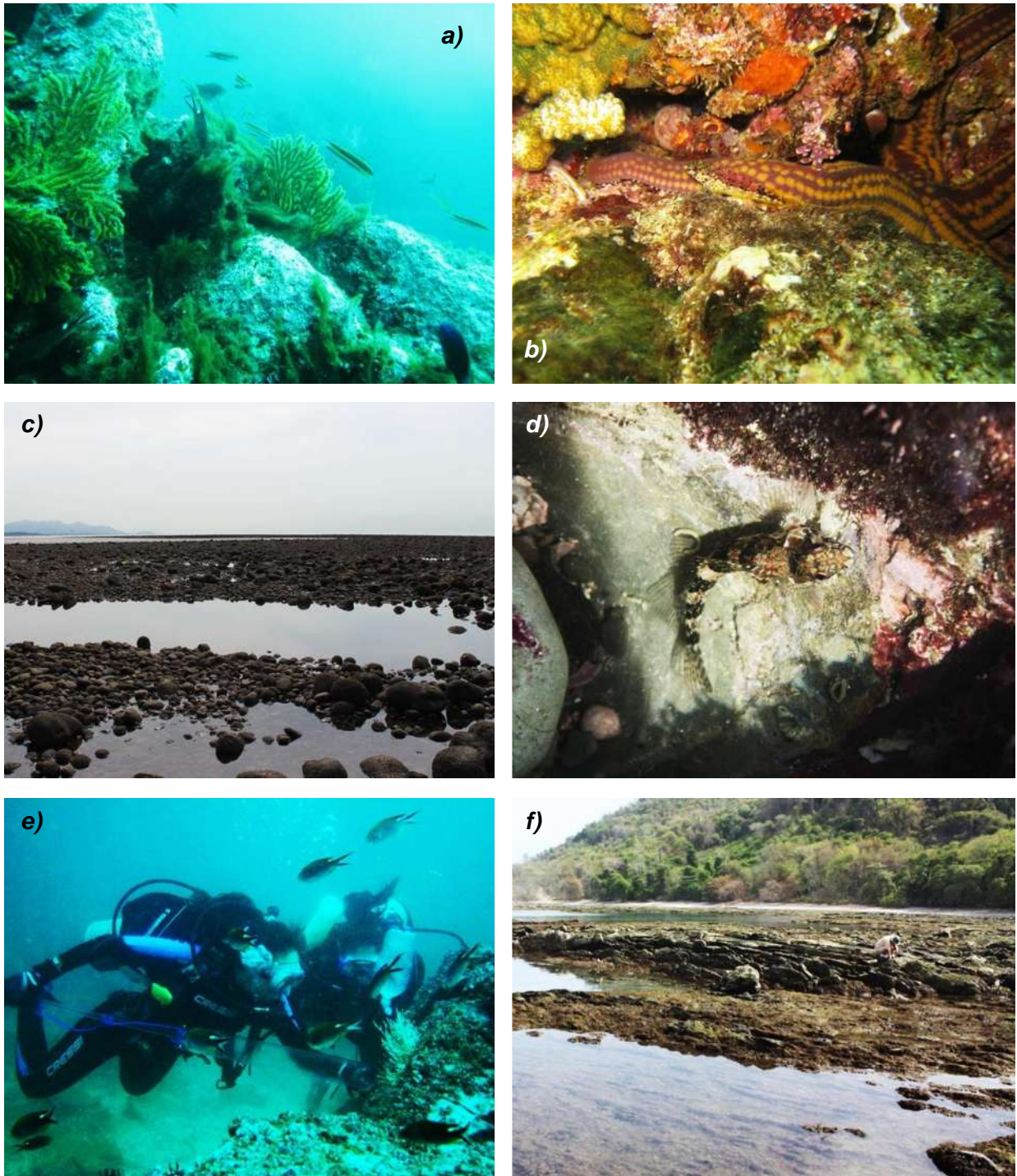
### *Colecta de organismos*

Se realizaron jornadas de campo en las costas y algunas islas, morros e islotes de México, El Salvador, Panamá, Costa Rica y Ecuador para la colecta de organismos. Se colectó a los organismos con ayuda de equipo de Buceo Autónomo (SCUBA) y de aceite de clavo como anestésico (diluido al 5% en etanol). Para la colecta de los organismos de arrecife, una vez anestesiados, los peces fueron capturados con ayuda de una jeringa de succión de acrílico. Mientras que para la colecta de los organismos de pozas del intermareal rocoso, primeramente se colocó aceite de clavo en las pozas y los peces fueron colectados cuando se encontraban adormecidos (Fig. 5).

Posteriormente, se tomaron fotografías de gran parte de los individuos y se obtuvieron porciones de tejido de los organismos capturados preservándolos en viales con etanol grado analítico al 70% (Fig. 6), los cuales se almacenan a -75°C en la colección de tejidos del Laboratorio de Biología Acuática de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

Los organismos colectados fueron fijados en formaldehído al 5% neutralizado con borato de sodio, posteriormente lavados con agua y preservados en alcohol etílico al 70%. La identificación taxonómica de los organismos fue llevada a cabo con la ayuda de literatura especializada utilizando principalmente la clave de identificación de *Malacoctenus* del Pacífico (Springer, 1959). Posteriormente éstos fueron depositados en la Colección Ictiológica del Laboratorio de Biología Acuática de la UMSNH (Registro: PEC-227-07-09).





**Fig. 5.** Colecta de organismos de arrecife y pozas de marea.

a) Arrecife rocoso en Morros de Potosí, Ixtapa México. Foto: Georgina Palacios.

b) *Malacoctenus ebisui*, Tangolunda, Oaxaca México. Foto: Salvador Romero.

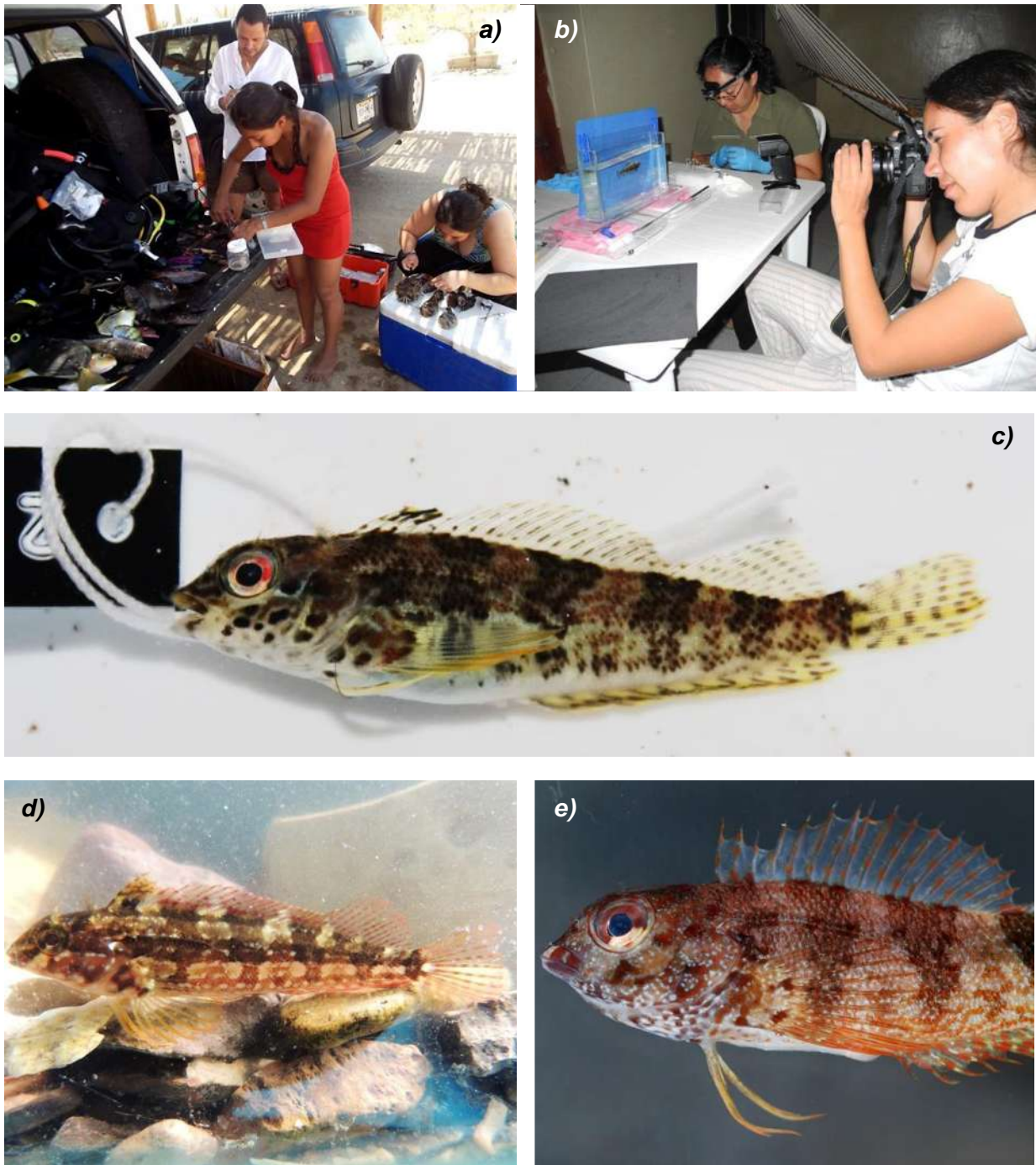
c) Pozas de marea, Reserva San Miguel, Puntarenas Costa Rica. Foto: Salvador Romero.

d) *Malacoctenus zonifer sudensis*, Dominicalito, Puntarenas Costa Rica. Foto: Salvador Romero.

e) Colecta de organismos de arrecife, Morros de Potosí, Ixtapa México. Foto: Georgina Palacios.

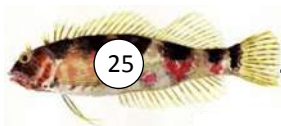
f) Colecta de organismos de pozas de marea, Dominicalito, Costa Rica. Foto: Salvador Romero.





**Fig. 6.** Identificación de los organismos, toma de tejido, etiquetado de los organismos y toma de fotografías.

- a) Etiquetado y toma de tejido de los organismos. Foto: Salvador Romero.
- b) Toma de fotografías a los organismos. Foto: Eduardo Espinoza.
- c) *Malacoctenus zonifer sudensis*, Pedasí, Panamá. Foto: Salvador Romero.
- d) *Malacoctenus gigas*, San Luis Gonzaga, B.C., México. Foto: Eloísa Torres.
- e) *Malacoctenus ebisui*, Ecuador continental. Foto: Carmen Pedraza



Localidades y especies muestreadas

Se colectaron 110 organismos pertenecientes a las 9 especies reconocidas (de entre las cuáles se contemplan 7 de las 8 subespecies), en 47 localidades del Pacífico Oriental Tropical (Fig. 7, Cuadro 2). A pesar de la intensa búsqueda, no se colectó ningún individuo de la subespecie *M. h. polyporosus*, por lo que no se realizó la comparación genética entre las subespecies de *M. hubbsi*.

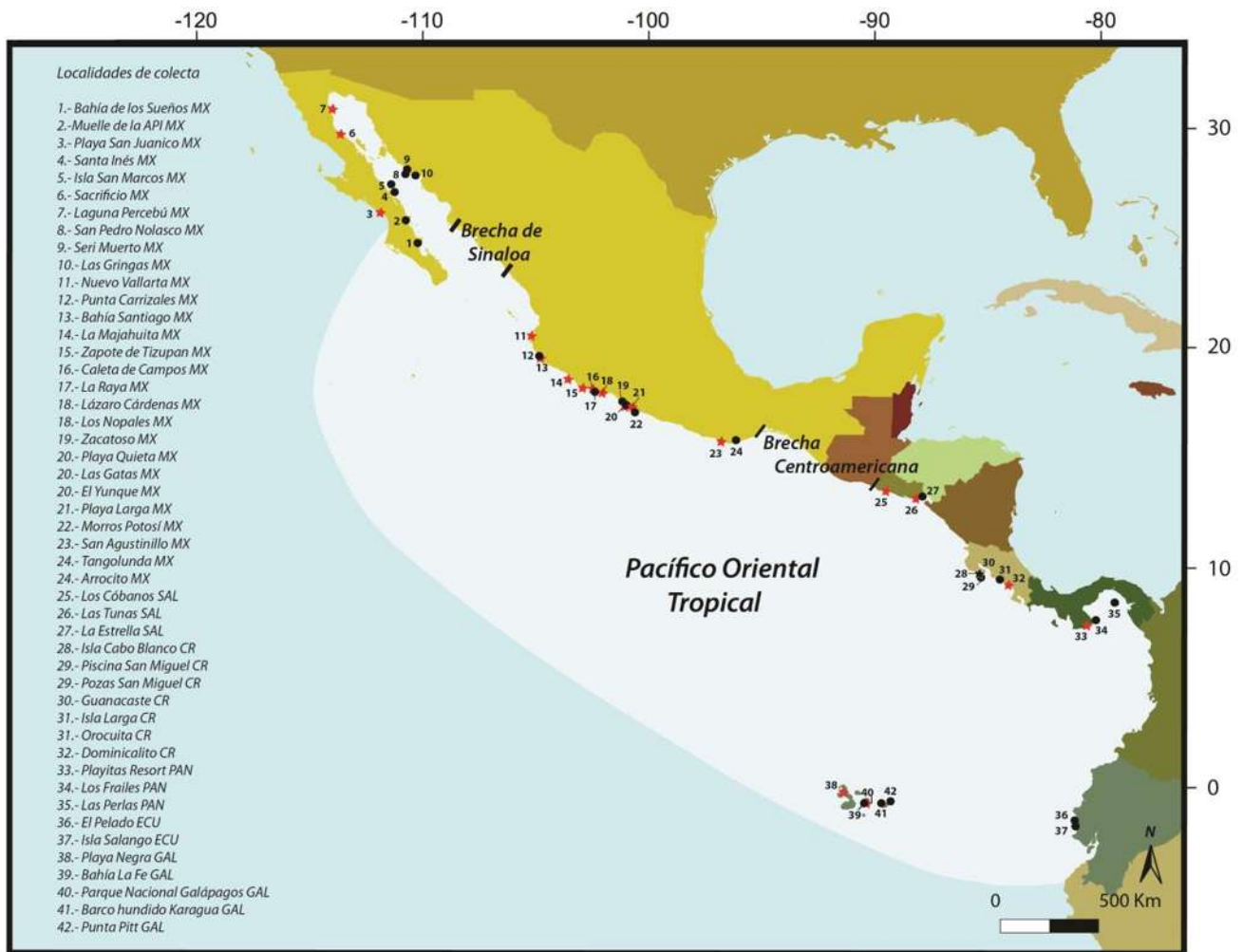
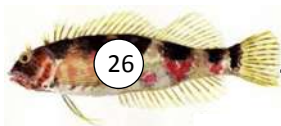


Fig. 7. Localidades de colecta de las especies del género *Malacoctenus* a lo largo del Pacífico Oriental Tropical. ● arrecifes, ★ pozas de intermarea profundas, ★ pozas de intermarea someras.



**Cuadro 2**

Localidades muestreadas y especies colectadas en cada una de ellas.

Especies	Localidad	País	Coordenadas geográficas	Hábitat
f	Bahía de Los Sueños, BCS	México	23°59'37.1"N 109°49'32.5"O	A
g	Isla San Marcos, BCS	México	27°12'34.8"N 112°2'33.1"O	A
d	Las Gringas, Sonora	México	27°53'7.5"N 110°57'17.7"O	A
g	Muelle de la API, Sonora	México	25°48'36.8"N 111°18'27.9"O	A
c	Laguna Percebú, BC	México	30°49'2.2"N 114°42'1.5"O	P
d	Playa San Juanico, BCS	México	26°15'0.72"N 112°28'35.8"O	P
d	Sacrificio, BC	México	29°45'4.7"N 114°20'42.4"O	A
d	San Pedro Nolasco, Sonora	México	27°58'30.6"N 111°22'44.7"O	A
f, d, g	Santa Inés, BCS	México	27°1'59.1"N 111°54'49.1"O	A
d	Seri Muerto, Sonora	México	28°4'59"N 111°16'32.3"O	A
b	Arrocito, Oaxaca	México	15°45'31.8"N 96°5'43"O	P
l	Bahía Santiago, Colima	México	19°6'31.4"N 104°21'7.31"O	P
l	Caleta de Campos, Michoacán	México	18°4'23.3"N 102°45'4.5"O	P
f	El Yunque, Guerrero	México	17°37'19.4"N 101°33'6.9"O	A
b	Las Gatas, Guerrero	México	17°37'19.4"N 101°33'6.9"O	A
l	Playa Larga Ixtapa, Guerrero	México	17°37'23.2"N 101°30'48.8"O	P
l	La Majahuita, Michoacán	México	18°24'7.2"N 103°41'47.3"O	P
g	La Raya, Michoacán	México	18°1'3"N 102°30'52.5"O	A
l	Lázaro Cárdenas, Michoacán	México	18°2'51"N 102°37'2"O	P
l	Los Nopales, Michoacán	México	18°2'51"N 102°37'2"O	P
b, g	Morros de Potosí, Guerrero	México	17°32'2.8"N 101°29'50.4"O	A
l	Nuevo Vallarta, Nayarit	México	20°45'14.7"N 105°28'23.2"O	P
*n	Playa Quieta, Guerrero	México	17°37'19.4"N 101°33'7"O	P
b	Punta Carrizales, Colima	México	19°5'47.8"N 104°26'20.6"O	A
l, j	San Agustín, Oaxaca	México	15°39'50.7"N 96°32'50.9"O	P
b, f, g	Zacatoso, Guerrero	México	17°39'14.3"N 101° ' ' "O	A
l	Zapote de Tizupan, Michoacán	México	18°11'48.2"N 103°6'55.8"O	P
g	Tangolunda, Oaxaca	México	15°45'46.5"N 96°5'7"O	P
k	Dominicalito, Puntarenas	Costa Rica	9°13'22.7"N 83°50'32.4"O	P
b, h	Isla Cabo Blanco, Puntarenas	Costa Rica	9°32'38.6"N 85°6'49.9"O	A
b	Isla Larga, Puntarenas	Costa Rica	9°22'52.8"N 84°9'56.7"O	A
h	Isla Orocuitta, Puntarenas	Costa Rica	9°22'52.8"N 84°9'56.7"O	A
e, a	Piscina San Miguel, Puntarenas	Costa Rica	9°34'47.6"N 85°8'12.9"O	I
k	Pozas San Miguel, Puntarenas	Costa Rica	9°34'47.6"N 85°8'12.9"O	P
k	Guanacaste, Puntarenas	Costa Rica	9°34'47.6"N 85°8'12.9"O	P
h, i	El Pelado, Santa Elena	Ecuador	1°56'9.5"N 80°47'19.9"O	A
b, i	Isla Salango, Manabí	Ecuador	1°37'13.6"N 80°49'35.5"O	A
k	Los Cóbano, Sonsonate	El Salvador	13°31'35.8"N 89°48'5"O	P
h	Pedrería La Estrella, La Unión	El Salvador	13°10'4.2"N 87°43'25.6"O	A
k	Las Tunas	El Salvador	13°9'41.5"N 87°57'22.7"O	P
b, e, h	Las Perlas	Panamá	8°38'20.9"N 79°3'23.2"O	A
h, b	Los Frailes, Pedasí	Panamá	7°20'51.6"N 80°8'11.5"O	A
k	Playitas Resort, Pedasí	Panamá	7°25'12"N 80°10'56.2"O	P
h	Bahía La Fe, Galápagos	Ecuador	0°45'57.3"S 90°24'43.7"O	A
h	Barco hundido de Karagua	Ecuador	0°53'40.2"S 89°37'2.1"O	A
*n	Parque Nacional Galápagos	Ecuador	0°44'30.6"S 90°18'26.4"O	P
m	Playa Negra, Galápagos	Ecuador	0°11'33.3"S 91°23'14.2"O	P
h	Punta Pitt, Galápagos	Ecuador	0°42'44.9"S 89°14'52.8"O	A

a) *M. costaricanus*, b) *M. ebisui*, c) *M. gigas*, d) *M. h. hubbsi*, e) *M. m. margaritae*, f) *M. m. mexicanus*, g) *M. t. multipunctatus*, h) *M. t. tetranemus*, i) *M. cf. tetranemus*, j) *M. zacae*, k) *M. z. sudensis*, l) *M. z. zonifer*, m) *M. zonogaster*, \*grupo externo: n) *Labrisomus multiporosus*. Tipo de hábitat: A, arrecife; P, pozas de marea someras; I, poza intermareal.





### Extracción de ADN, PCR y Secuenciación

Para la extracción del ADN se utilizó el método estándar proteinasa K/fenol/cloroformo de Hillis *et al.* (1996) modificado de Sambrook *et al.* (1989).

Posteriormente se amplificó el gen citocromo b (*Cytb*) por el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para cada muestra de ADN (Saiki *et al.*, 1988) con los primers LA (*forward*) 5' *gtgacttgaaaaaccaccggtg* 3' y HA (*reverse*) 5' *caacgatctccggtttacaagac* 3' (Dowling *et al.* 2002). La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: activación de la Taq a 94°C durante dos minutos, desnaturalización a 94°C durante 45 segundos, alineamiento a 43.3-48°C durante un minuto, elongación a 72°C durante un minuto y medio los cuales se repitieron 35 ciclos, elongación final a 72°C durante 5 minutos y refrigeración a 4°C.

Se amplificó también el gen nuclear de la rodopsina (*Rhod*) mediante los primers RH193 (*forward*) 5' *cntatgaataycctcagtactacc*3' y RH1073 (*reverse*) 5' *ccrcgcacarcgtggtgatcatg*3' (Chen *et al.*, 2003). La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: activación de la Taq a 94°C durante cuatro minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30 segundos, alineamiento a 49.9°C durante 45 segundos, elongación a 72°C durante 45 segundos, para terminar con la elongación final a 72°C durante 5 minutos y refrigeración a 10°C.

Finalmente se amplificó el gen activante de la recombinación (*Rag1*) mediante el uso de los primers externos RAG1F (*forward*) 5' *agctgtagtcagtaycacaaratg* 3' y RAG9R (*reverse*) 5' *gtgtagagccagtgrtytt* 3' y los primers internos RAG3F (*forward*) 5' *gggtgatgtcagygagaagca* 3' y RAG8R (*reverse*) 5' *cgccacacaggyttcatct* 3' (Quenouille *et al.*, 2004). La primera PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: se utilizó un touchdown de 35 ciclos, con una temperatura de desnaturalización a 94°C durante 3 minutos, seguida de 10 ciclos de 94°C por 45 segundos, 58°C por 45 segundos y 72°C por un minuto con 15 segundos, con una reducción de 0.5°C en la temperatura de alineamiento con cada ciclo (de 58°C a 53°C). Seguido de 25 ciclos adicionales con la temperatura de alineamiento





establecida a 53°C, y el ciclo final con terminado con una elongación de 72°C durante 5 minutos. La segunda PCR se llevó a cabo utilizando el mismo protocolo pero con una temperatura de alineamiento de 55°C.

Los productos de PCR de los genes *Cytb* y *Rhod* fueron enviados para su secuenciación a High Throughput Sequencing, Washington, EUA. Mientras que para los productos de PCR de *Rag1* se llevó a cabo la reacción de purificación utilizando columnas de Sephadex y fueron analizadas utilizando un secuenciador automático Applied Biosystem 377 en el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI).

Para algunos análisis se utilizaron además algunas secuencias obtenidas del *Genbank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Especies, número de voucher, gen utilizado y número de acceso de las secuencias genéticas que fueron tomadas del Genbank en los análisis.

Especie	Individuo	Gen	pb	Núm. de acceso Genbank
<i>Malacoctenus ebisui</i>	01-48-1-SIO	<i>Rhod</i>	726	GBhq168957
<i>Malacoctenus gigas</i>	06-54-1-SIO	<i>Rhod</i>	726	GBhq168958
		<i>Rag1</i>	1402	GBhq168837
<i>Malacoctenus hubbsi hubbsi</i>	06-54-1-SIO	<i>Rhod</i>	726	GBhq168959
		<i>Rag1</i>	1401	GBhq168838
<i>Malacoctenus zonifer sudensis</i>	01-170-1-SIO	<i>Rhod</i>	704	GBhq168963
		<i>Rag1</i>	1402	GBhq168842
<i>Malacoctenus zacaе</i>	07-2-1-SIO	<i>Rhod</i>	704	GBhq168962
		<i>Rag1</i>	1401	GBhq168841
<i>Malacoctenus zonogaster</i>	02-88-1-SIO	<i>Rhod</i>	704	GBhq168964
		<i>Rag1</i>	1401	GBhq168843
<i>Labrisomus xanti</i>	98-34-1-SIO	<i>Rhod</i>	726	GBhq168954
		<i>Rag1</i>	1401	GBhq168833
<i>Heterostichus rostratus</i>	01-179-1-SIO	<i>Cytb</i>	670	GBay973062
		<i>Rhod</i>	726	GBha168988
		<i>Rag1</i>	1402	GBhq168866
<i>Diodon holocanthus</i>	229062	<i>Cytb</i>	1050	GBjq681853
		<i>Rhod</i>	768	GBkc442241
		<i>Rag1</i>	1362	GBjx189934

pb: pares de base utilizadas



*Alineamiento de secuencias y selección de modelo evolutivo*

Las secuencias fueron alineadas de manera manual usando el programa MEGA v5.05 (Tamura *et al.* 2011), se corroboró la congruencia de las bases por medio de los cromatogramas, para descartar que la variabilidad se deba a artefactos del proceso de secuenciación. Para conocer el modelo evolutivo de sustitución que más se ajusta a las secuencias se utilizó el programa jMODELTEST v2.1.5 (Darriba *et al.*, 2012). Los modelos fueron elegidos utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC por sus siglas en inglés) como método de selección (Cuadro 4).

**Cuadro 4.**

Modelos evolutivos de sustitución y parámetros estimados por el Criterio de Información de Akaike (AIC).

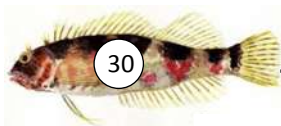
Gen	Modelo evolutivo	-lnL	Frecuencia de bases nucleotídicas empíricas	Parámetro: Forma de la distribución Gamma	Proporción de sitios invariables
<i>Cytb</i>	TIM3+I+G	7071.4802	freqA = 0.2397 freqC = 0.3651 freqG = 0.1162 freqT = 0.2791	1.2550	0.6060
<i>Rhod</i>	TPM2uf+I	1488.4197	freqA = 0.1674 freqC = 0.3339 freqG = 0.2362 freqT = 0.2625	---	0.8160
<i>Rag1</i>	TIM+I	3024.36	freqA= 0.2368 freqC= 0.2623 freqG= 0.2987 freqT= 0.2022	---	0.7640

-lnL: logaritmo de la verosimilitud, Ti: transiciones, Tv: transversiones.

*Análisis filogenéticos*

*Construcción de árboles filogenéticos*

Se obtuvieron árboles filogenéticos para cada gen (*Cytb*, *Rhod* y *Rag1*) con el objetivo de probar la monofilia de las diferentes especies de *Malacoctenus* que habitan a lo largo del POT, corroborar si existe una concordancia entre la estructura genética y las subespecies, además de buscar patrones biogeográficos en la



estructuración de las poblaciones dentro de las especies. Para ello se obtuvo la inferencia filogenética por el método bayesiano (IB) por medio del software Mr.Bayes v3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001) utilizando los modelos evolutivos de sustitución, la proporción de sitios invariables (pinv), la forma de la curva gamma (shape), bajo 2 simulaciones a través de 10,000,000 millones de generaciones, 4 cadenas de Markov, muestreando cada 100 árboles. Se descartó el 10% (1,000,000) de las topologías muestreadas del total de inferencias reconstruidas, con el resto se obtuvo un árbol consenso con una desviación estándar menor al  $S_D = 0.003$ . Se utilizó el valor de probabilidades posteriores bajo intervalos de confianza del 95% (Highest Posterior Density-HPD) para evaluar el soporte de los nodos. Posteriormente se obtuvo un árbol concatenado de los tres genes, utilizando los modelos y valores previamente obtenidos para cada gen con el programa Mr.Bayes v3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001).

Posteriormente, se realizó una inferencia a través del método de Máxima Verosimilitud para cada uno de los genes analizados, se corrió con 1,000 réplicas de bootstrap por medio del programa informático raxmlGUI v1.3.2 (Stamatakis, 2006; Silvestro y Michalak, 2012) utilizando el modelo GTR (Generalized Time Reversible) y 10,000 réplicas de bootstrap. Se utilizaron además la proporción de sitios invariables y la forma gamma estimadas en los modelos evolutivos de sustitución.

### *Redes de haplotipos*

Con la finalidad de observar la estructuración genética de las poblaciones de una manera gráfica, se construyeron redes de haplotipos para las especies y subespecies que se encuentran ampliamente distribuidas a lo largo del POT (*M. margaritae*, *M. ebisui*, *M. zonifer* y *M. tetranemus*) por medio del programa NETWORK v4.5.1.6 (Bandelt *et al.* 1999).

### *Distancias genéticas ( $\bar{D}_p$ ) y diferenciación $F_{ST}$*

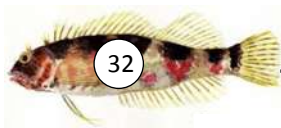
Para conocer el grado de divergencia en el gen *Cytb* entre las especies y subespecies reconocidas en el POT, se obtuvieron las distancias genéticas ( $\bar{D}_p$ ) por medio del software Mega v5.05 (Tamura *et al.*, 2011) con 1000 réplicas de *bootstrap*.



También se obtuvieron las  $\bar{D}_p$  para el análisis filogenético concatenado, las cuales se representan directamente en los nodos del árbol filogenético obtenido previamente. Para observar el grado de diferenciación genética entre las subespecies de *M. tetranemus*, *M. margaritae* y *M. zonifer* se obtuvieron los valores  $F_{ST}$ . Estos resultados fueron obtenidos también para realizar una comparación entre los grupos genéticos encontrados en *M. ebisui* y *M. tetranemus*. Los valores  $F_{ST}$  fueron obtenidos utilizando el programa informático ARLEQUIN v3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).

#### *Tasas de mutación y tiempos de divergencia*

Para estimar los tiempos de divergencia entre las subespecies y los grupos genéticos identificados, se utilizó un análisis bayesiano con el programa informático BEAST v.1.7.2 (Drummond *et al.*, 2012), se usaron los modelos de sustitución nucleotídica estimados anteriormente para las secuencias de los genes *Cytb*, *Rhod* y *Rag1*, por el método de especiación Birth-Death Process (Gernhard *et al.*, 2008). Se utilizó un reloj molecular relajado, calibrado con tasa mutacionales estimadas en peces arrecifales: para *Cytb* 0.0085-0.012 sustituciones/sitio/Ma (1.5-2.5% por Ma, Bowen y Grant, 1997), para *Rhod* 0.0023-0.0025 sustituciones/sitio/Ma) (0.45-0.5% por Ma, Keith *et al.*, 2011) y para *Rag1*  $4.69 \times 10^{-4}$ - $1.02 \times 10^{-2}$  sustituciones/sitio/Ma (Eytan y Hellberg, 2010). Se utilizaron 80,000,000 generaciones, muestreando cada 1,000 topologías. Se utilizaron Tamaños Efectivos de Muestra (ESS) >250, descartando el 10% de las topologías para la construcción del árbol consenso, con un límite de probabilidad igual a 0.5 y límites de confianza mayores al 95% (HPD>95%).



### 8.3 Resultados

Se obtuvo un total de 212 secuencias de los marcadores mitocondrial *Cytb* (1050pb, n=94), nucleares *Rhod* (768pb, n=63) y *Rag1* (1401pb, n=55) de organismos de las nueve especies y siete de las ocho subespecies a lo largo del POT (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Localidades de colecta para las especies de *Malacoctenus*, y el grupo externo, *Labrisomus dendriticus*. Las columnas representan el número de individuos utilizados en el estudio.

Especie	Localidad de colecta	n	n Secuencias
<i>Malacoctenus costaricanus</i>	Piscina San Miguel, Puntarenas Costa Rica	4	4 <i>Cytb</i> 4 <i>Rhod</i> 3 <i>Rag1</i>
<i>Malacoctenus ebisui</i>	Las Perlas, Panamá	2	16 <i>Cytb</i>
	Zacatoso, Guerrero México	2	7 <i>Rhod</i>
	Punta Carrizales, Colima México	1	7 <i>Rag1</i>
	Isla Salango, Manabi Ecuador	4	
	Las Gatas, Guerrero México	1	
	Morros de Potosí, Guerrero México	1	
	Arrocito, Guerrero México	1	
	Isla Cabo Blanco, Puntarenas Costa Rica	2	
	Isla Larga, Puntarenas Costa Rica	1	
Los Frailes, Pedasí, Panamá	2		
<i>Malacoctenus gigas</i>	Laguna Percebú, Baja California México	1	2 <i>Cytb</i>
	Sacrificio, Baja California México	1	3 <i>Rhod</i>
	Bahía de los Ángeles, Baja California México		2 <i>Rag1</i>
<i>Malacoctenus hubbsi hubbsi</i>	San Pedro Nolasco, Sonora México	1	7 <i>Cytb</i>
	Las Gringas, Sonora México	1	5 <i>Rhod</i>
	Santa Inés, Baja California Sur México	1	5 <i>Rag1</i>
	Seri Muerto, Sonora México	2	
	Playa San Juanico, Baja California Sur	1	
	Puerto Libertad, Sonora		
<i>Malacoctenus margaritae margaritae</i>	Piscina San Miguel, Puntarenas Costa Rica	2	6 <i>Cytb</i>
	Las Perlas, Panamá	4	6 <i>Rhod</i> 3 <i>Rag1</i>
<i>Malacoctenus margaritae mexicanus</i>	Santa Inés, Baja California Sur México	2	5 <i>Cytb</i>
	Zacatoso, Guerrero México	1	5 <i>Rhod</i>
	El Yunque, Guerrero México	1	4 <i>Rag1</i>
	Bahía de los Sueños, Baja California Sur México	1	
<i>Malacoctenus tetranemus</i>	La Raya, Michoacán México	2	17 <i>Cytb</i>
	Santa Inés, Baja California Sur México	1	14 <i>Rhod</i>
	Isla San Marcos, Baja California Sur México	1	12 <i>Rag1</i>
	Muelle de la API, Baja California Sur México	2	
	El Pelado, Santa Elena Ecuador	4	
	Barco hundido de Karagua, Galápagos Ecuador	2	
	Bahía La Fe, Galápagos Ecuador	1	
	Morros de Potosí, Guerrero México	1	
	Tangolunda, Oaxaca México	1	
	Isla Cabo Blanco, Puntarenas Costa Rica	1	

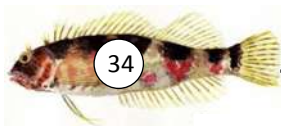


	Isla Orocuila, Puntarenas Costa Rica	1	
	Los Frailes, Pedasí Panamá	1	
	Pedrera La Estrella, La Unión El Salvador	2	
	Las Perlas, Panamá	1	
	Isla Salango, Manabi Ecuador	4	
<i>Malacoctenus zacaе</i>	San Agustinillo, Oaxaca México	3	3 <i>Cytb</i> 3 <i>Rhod</i> 3 <i>Rag1</i>
<i>Malacoctenus zonifer zonifer</i>	Caleta de Campos, Michoacán México	2	21 <i>Cytb</i>
	Los Nopales, Michoacán México	1	7 <i>Rhod</i>
	Lázaro Cárdenas, Michoacán México	1	8 <i>Rag1</i>
	Zapote de Tizupan, Michoacán México	5	
	La Majahuita, Michoacán México	1	
	Bahía Santiago, Colima México	2	
	Nuevo Vallarta, Nayarit México	2	
	Playa Larga Ixtapa, Guerrero México	5	
	San Agustinillo, Oaxaca México	3	
<i>Malacoctenus zonifer sudensis</i>	Los Cóbanos, El Salvador	2	9 <i>Cytb</i>
	Guanacaste, Costa Rica	3	5 <i>Rhod</i>
	Pozas San Miguel, Puntarenas Costa Rica	1	4 <i>Rag1</i>
	Dominicalito, Puntarenas Costa Rica	1	
	Playitas Resort, Pedasí Panamá	2	
	Pozas Las Tunas, El Salvador	1	
	Guanacaste, Costa Rica	2	
	Playa Grande, Guanacaste Costa Rica		
<i>Malacoctenus zonogaster</i>	Playa Negra, Galápagos Ecuador	4	4 <i>Cytb</i> 4 <i>Rhod</i> 4 <i>Rag1</i>
<b>Grupos externos</b>			
<i>Labrisomus multiporosus</i>	Playa Quieta, Guerrero México	1	2 <i>Rag1</i>
	Parque Nacional Galápagos	1	
<i>Labrisomus dendriticus</i>	Barco hundido de Karagua	1	1 <i>Cytb</i>

n, número de individuos colectados de cada localidad ; n Secuencias, número de secuencias de cada gen por especie.

### Árboles filogenéticos

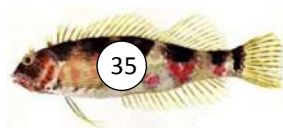
En el árbol filogenético del *Cytb* (Fig. 8) aparecen dos grupos principales, uno que contiene a *M. ebisui*, y el otro conformado por el resto de las especies, entre los cuales no se resuelven las relaciones, uno de los grupos está conformado por *M. gigas*, *M. hubbsi*, *M. zonifer*, *M. zonogaster* y *M. zacaе*. Dentro de este aparecen dos grupos, uno formado por *M. hubbsi* y *M. gigas* y otro conformado por *M. zonifer*, *M. zonogaster* y *M. zacaе*, sin embargo, las relaciones entre estos dos grupos no están bien soportadas. Otro grupo lo conforman las especies *M. tetranemus* y *M. margaritae*.



Las especies y subespecies aparecen bien diferenciadas en grupos monofiléticos genéticamente divergentes, en donde las subespecies se encuentran relacionadas entre si. Otros patrones divergentes hasta ahora desconocidos se encontraron en *M. ebisui*, mostrándose estructura y diferenciación genética entre las poblaciones de México, Costa Rica y Ecuador-Panamá. Por otro lado, se observó una población de *M. tetranemus* bien diferenciada conformada por individuos pertenecientes a Ecuador continental (Fig. 8).

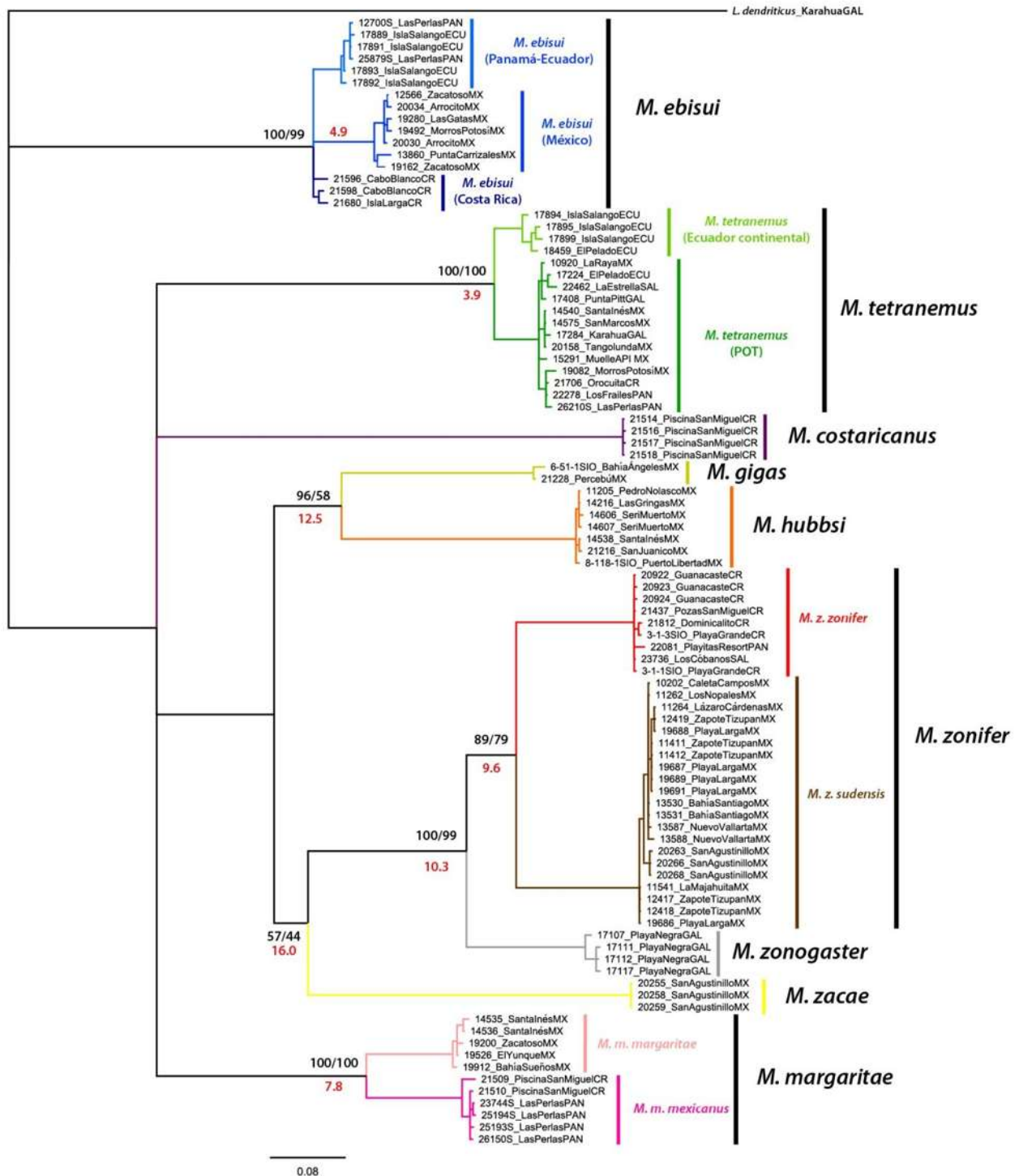
Los árboles filogenéticos obtenidos con los genes nucleares *Rhod* (Fig. 9) y *Rag1* (Fig. 10) muestran patrones similares que para *Cytb*. Las especies y subespecies conforman grupos monofiléticos, diferenciado a las subespecies. En ambos árboles se observaron dos grupos principales: 1) conformado por especies que habitan en arrecifes rocosos: *M. tetranemus*, *M. margaritae* y *M. ebisui*, y 2) integrado principalmente por especies que habitan en pozas del intermareal rocoso *M. gigas*, *M. zacaе*, *M. zonogaster*, *M. zonifer* y una especie de arrecife, *M. hubbsi*. *Malacoctenus costaricanus* no conforma parte de ninguno de los grupos en el árbol de *Rhod* pero en el árbol de *Rag1* se relaciona con el segundo grupo. Por otro lado, en el árbol de *Rhod* se encontró una relación estrecha entre las especies *M. gigas* y *M. hubbsi*, mientras que en el árbol de *Rag1* *M. hubbsi* se encuentra relacionada filogenéticamente a *M. zacaе* (Figs. 9 y 10).

En los dos árboles fue posible encontrar la estructuración previamente observada en el árbol de *Cytb* en las poblaciones de *M. tetranemus*, en donde se observan dos grupos, uno conformado por individuos pertenecientes a las cuatro provincias del POT y otro integrado por individuos de Ecuador continental, con valores de soporte altos. Para la especie *M. ebisui*, no se formaron los grupos observados con el gen *Cytb*.





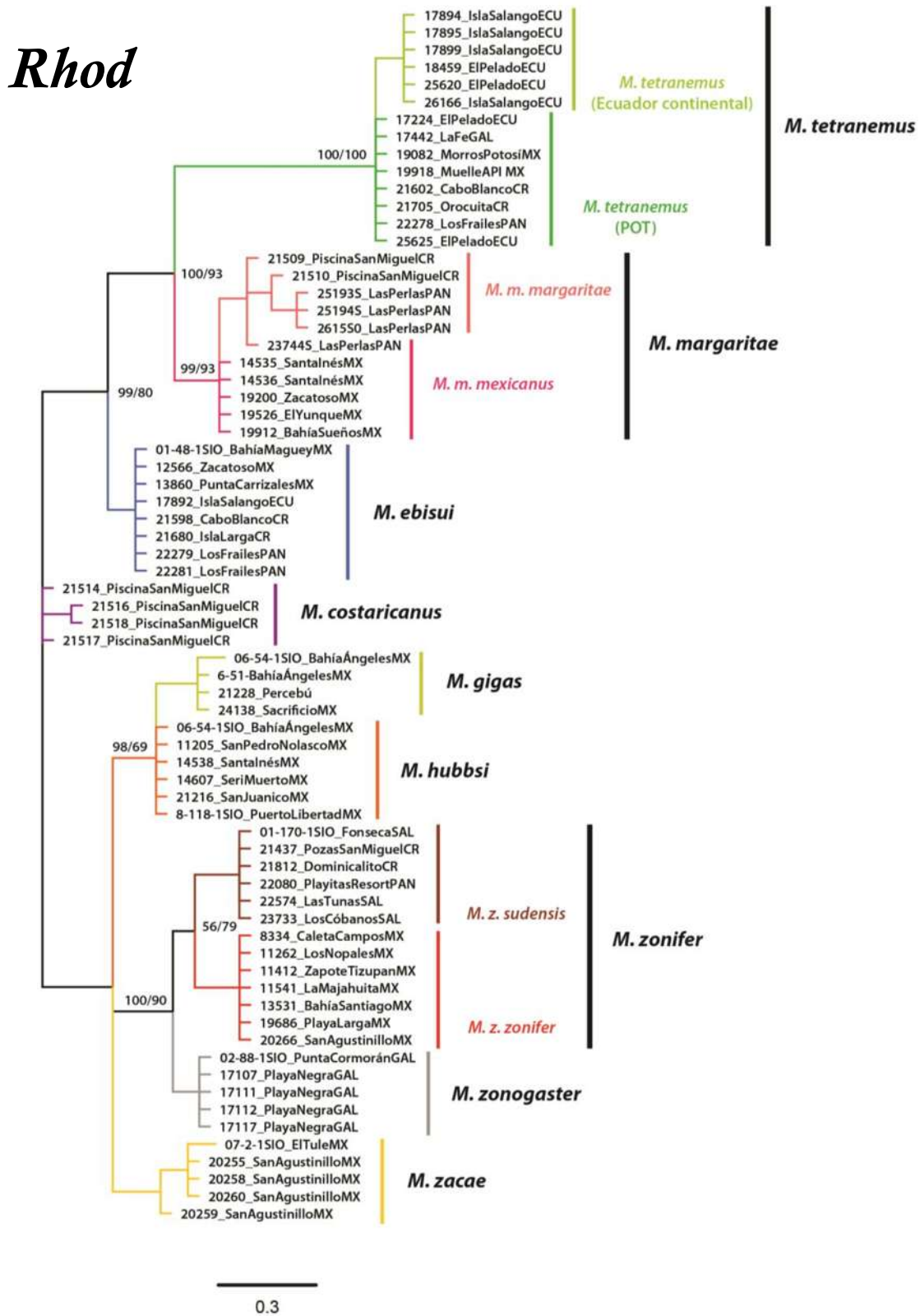
# Cytb



**Fig. 8.** Hipótesis filogenética obtenida con el gen *Cyt b* de las especies del género *Malacoctenus* del POT, obtenida por método Bayesiano. Se muestran los valores de soporte BY/ML en porcentaje y en rojo los valores de la  $D_p$  entre grupos.



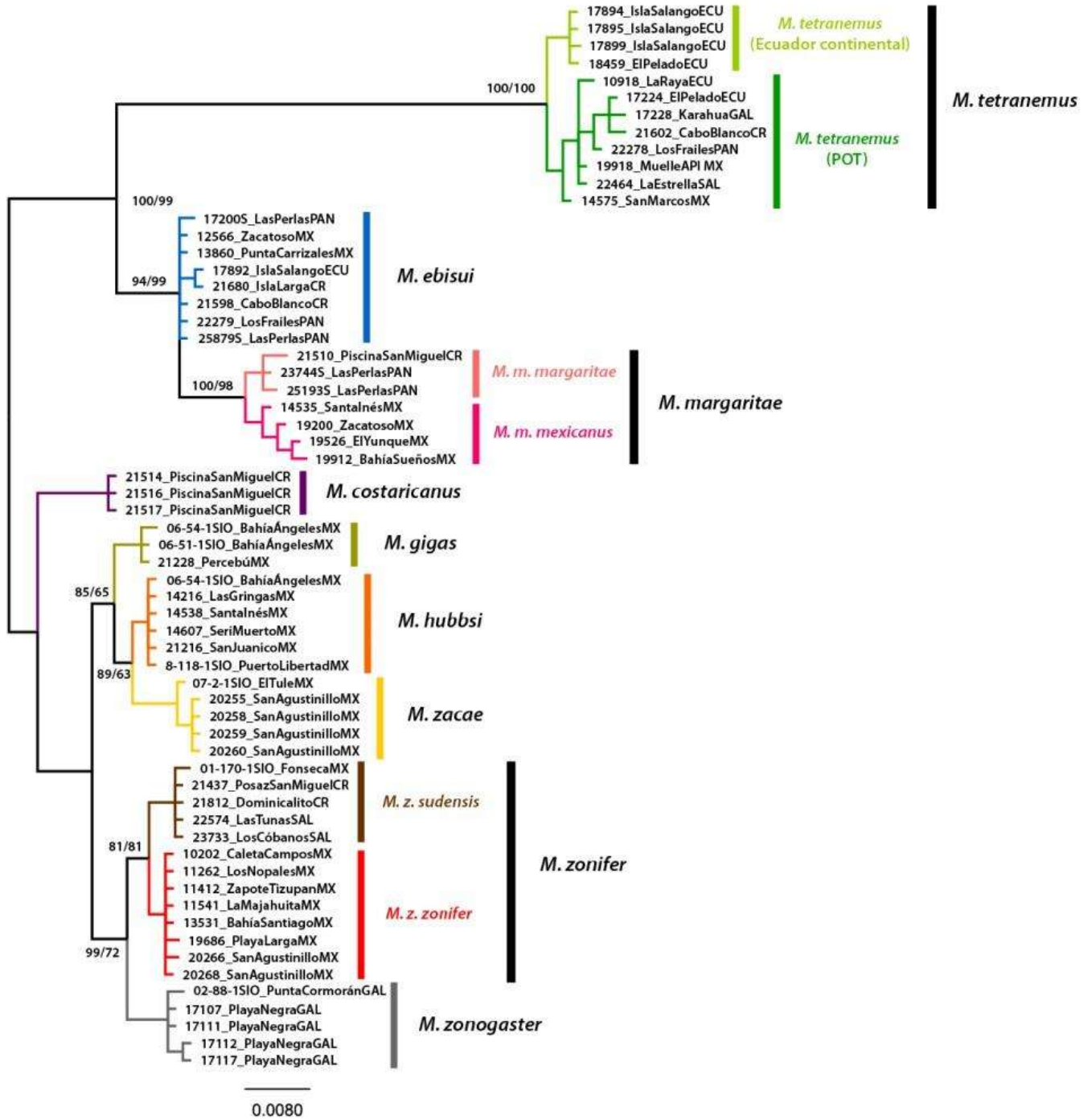




**Fig. 9.** Hipótesis filogenética obtenida con el gen *Rhod* por método Bayesiano utilizando como grupos externos: *Labrisomus xanti*, *Labrisomus multiporosus*, *Labrisomus striatus*, *Alloclinus holdieri* y *Gibbonsia elegans*. Se muestran los valores de soporte BY/ML.



# Rag1



**Fig. 10.** Hipótesis filogenética obtenida con el gen *Rag1* por método Bayesiano utilizando como grupos externos: *Labrisomus xanti*. Se muestran los valores de soporte BY/ML.

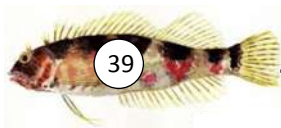


En el árbol concatenado se resuelven mejor tanto las relaciones basales como las terminales, con excepción de *M. costaricanus*, que aparece en una politomía basal junto con otros dos clados que se forman. El Clado I está representado por las especies *M. tetranemus*, *M. ebisui* y *M. margaritae*, mientras que el Clado II está representado por las especies *M. gigas*, *M. hubbsi*, *M. zonifer*, *M. zonogaster* y *M. zacaе* (Fig. 11).

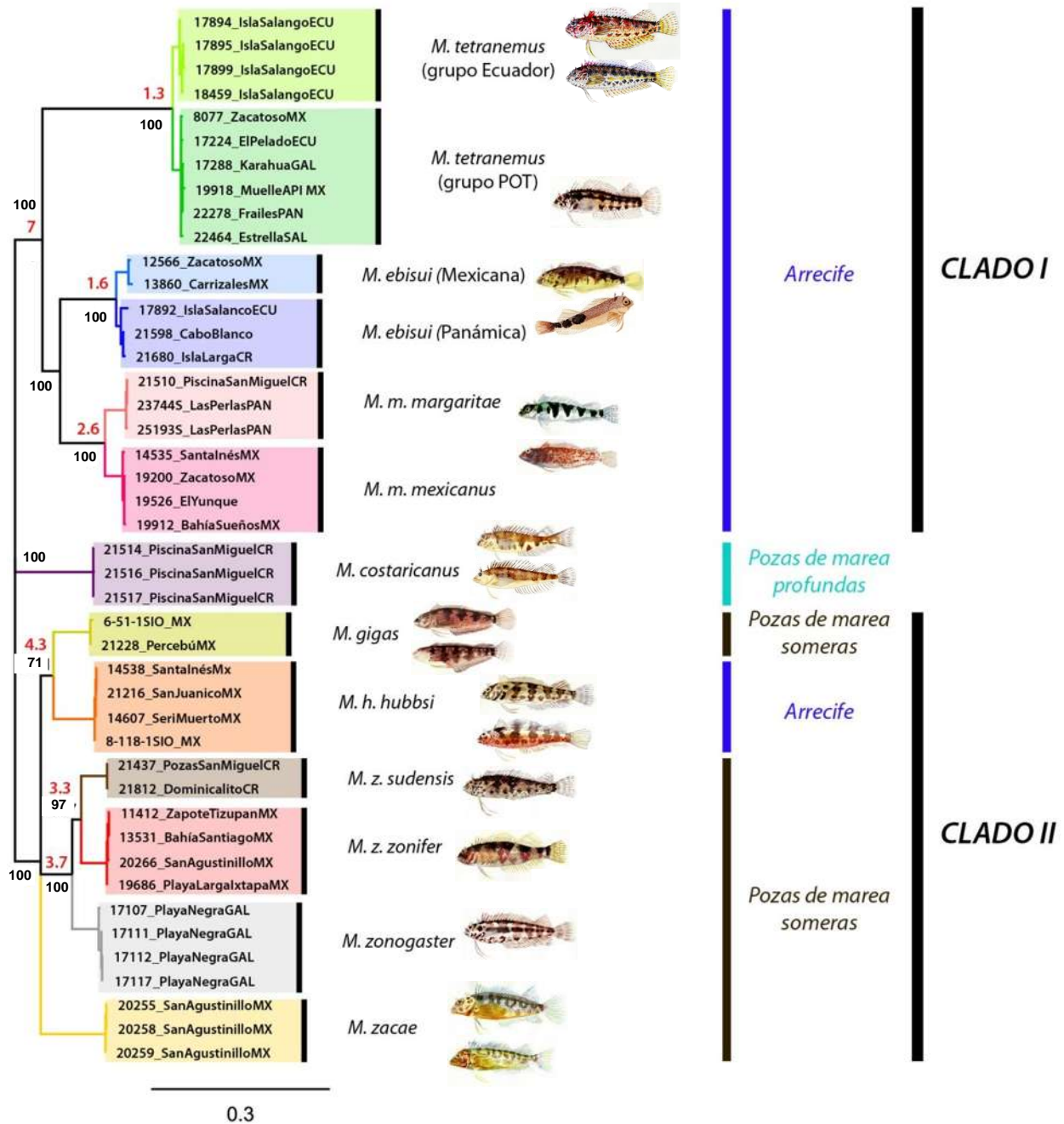
*Malacoctenus hubbsi* aparece como especie hermana de *M. gigas*, al igual que los resultados recuperados con los genes *Cytb* y *Rhod*, sin embargo, esta relación muestra un valor de soporte bajo (pp 0.71). La relación entre las especies *M. zonifer* y *M. zonogaster* se mantuvo constante en los árboles obtenidos con los tres genes y en el árbol concatenado, con un valor de soporte de 0.97. Por otro lado, *M. ebisui* y *M. margaritae* son grupos hermanos, al igual que en los resultados obtenidos con *Rag1*, en donde el valor de soporte es igual a 1.

Las especies y subespecies aparecen como grupos monofiléticos bien diferenciados. Las subespecies de *M. margaritae* y *M. zonifer* son filogenéticamente cercanas, estas relaciones están soportadas con valores altos (pp 100 y 97 respectivamente).

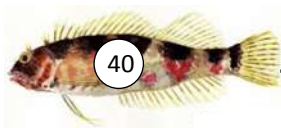
La especie *M. tetranemus* aparece un grupo integrado por dos grupos monofiléticos altamente soportados (pp 100), uno de los cuales está conformado por individuos de Ecuador continental y el otro por individuos colectados en todo el rango de distribución de la especie, incluyendo Ecuador continental, los cuales presentan una divergencia genética de  $\bar{D}p = 1.3\%$ . De igual forma, se observa una estructuración de las poblaciones de *M. ebisui* en dos grupos altamente soportados (pp 100): uno representado por organismos recolectados en el centro de México y otro representado por las poblaciones recolectadas al sur del Golfo de Fonseca (Centroamérica y Sudamérica), con una divergencia genética de  $\bar{D}p = 1.6\%$ .



# Concatenado



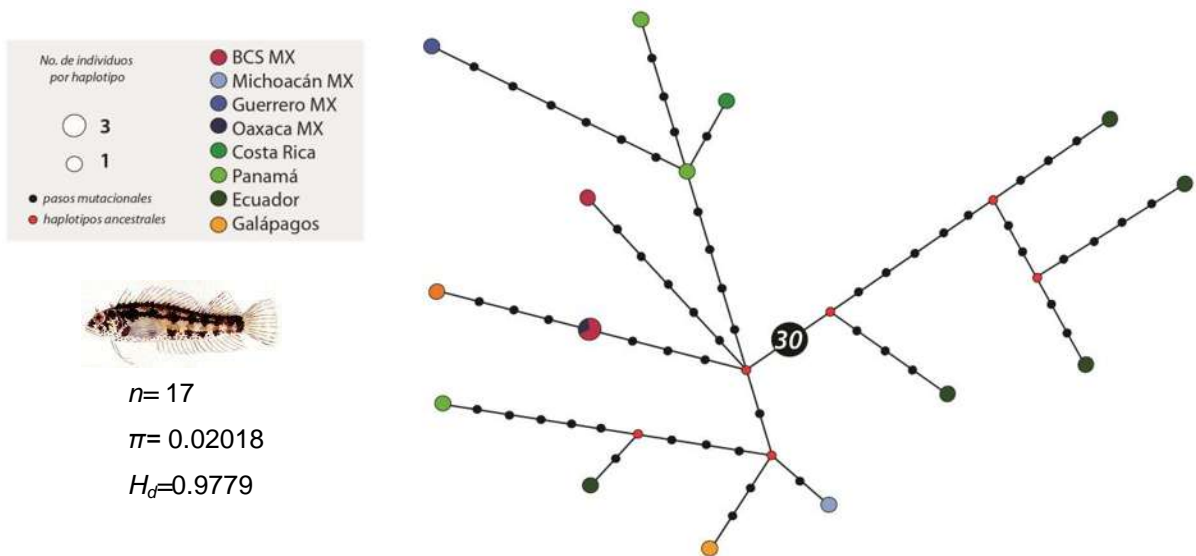
**Fig. 11.** Árbol filogenético concatenado de los genes mitocondrial *Cytb* y nucleares *Rhod* y *Rag1* obtenida por método Bayesiano utilizando como grupos externos: *Labrisomus multiporosus*, *Heterostichus rostratus* y *Diodon holocanthus*. Se muestran los valores de soporte BY y en rojo los valores de la  $\bar{D}_p$  media entre grupos. Dibujos: Sergio Godínez.



### Redes de haplotipos

Se obtuvieron las redes de haplotipos usando el gen mitocondrial *Cytb* para las especies que se encuentran ampliamente distribuidas a lo largo del POT (*M. tetranemus*, *M. margaritae*, *M. ebisui* y *M. zonifer*).

La red de haplotipos de *M. tetranemus*, mostró congruencia con el árbol filogenético, en donde no se observa ninguna estructuración genética conforme a la geografía del POT y se observa un grupo conformado por individuos de Ecuador continental separado por más de 30 pasos mutacionales (Fig. 12).



**Fig. 12.** Red de haplotipos del gen *Cytb* de *M. tetranemus*.

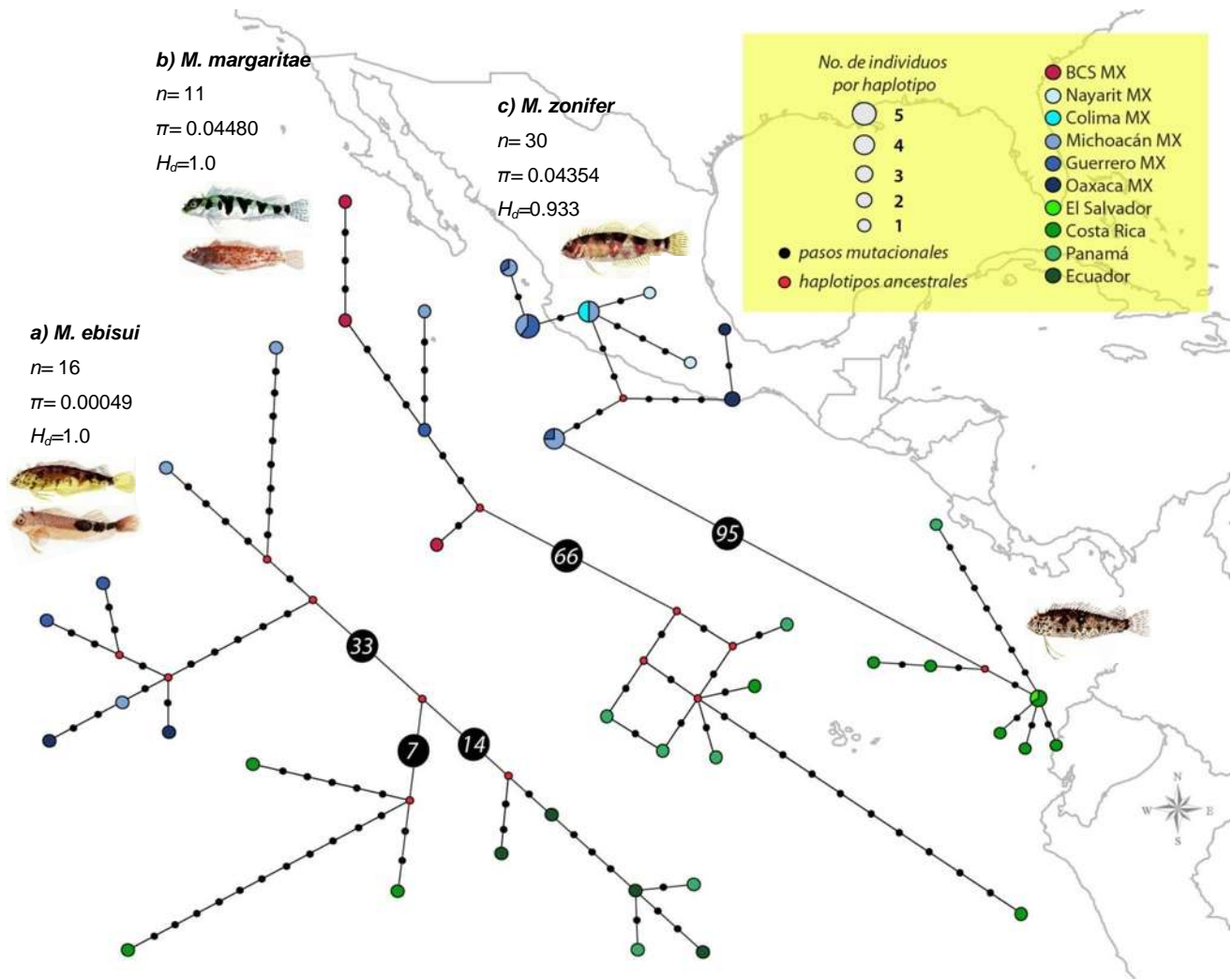
Por otro lado, las redes de haplotipos de *M. margaritae*, *M. ebisui* y *M. zonifer* mostraron estructuración genética correspondiente a las provincias biogeográficas dentro del POT. En el caso de *M. margaritae* y *M. zonifer* se pueden observar dos grupos principales correspondientes a las poblaciones de las subespecies reconocidas, mientras que para la especie *M. ebisui* se visualizan tres grupos, de igual manera que en el árbol filogenético.

Las subespecies de *M. zonifer* se encuentran separadas por 96 pasos mutacionales, las subespecies de *M. margaritae* se encuentran diferenciadas por 72

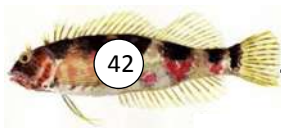


pasos mutacionales, mientras que las poblaciones de *M. ebisui* a ambos lados de la brecha arenosa Centroamericana se encuentran separadas entre 52 y 57 pasos mutacionales. Los grupos genéticos de *M. ebisui* Costa Rica y Panamá-Ecuador se encuentran separados por 21 pasos mutacionales.

Las especies mostraron una diversidad haplotípica ( $H_d$ ) elevada y una diversidad nucleotídica baja ( $\pi$ ), las cuales son características de poblaciones que sufrieron una reciente expansión poblacional (Fig. 13).



**Fig. 13.** Red de haplotipos del gen *Cytb* de a) *M. ebisui*, b) *M. margaritae* y c) *M. zonifer*.  $n$ : número de individuos,  $\pi$ : diversidad nucleotídica,  $H_d$ : diversidad haplotípica.





Distancias genéticas ( $\bar{D}_p$ ) y diferenciación  $F_{ST}$

Se observaron distancias genéticas con valores entre  $\bar{D}_p = 7.8$  a 18.2% para las especies y subespecies. *Malacoctenus m. margaritae* y *M. m. mexicanus* presentan con una distancia genética de  $\bar{D}_p = 7.8\%$ , mientras que las subespecies *M. z. zonifer* y *M. z. sudensis* presentan una distancia de  $\bar{D}_p = 9.6\%$  (Cuadro 6).

*Malacoctenus ebisui* y *M. costaricanus* fueron las especies que mostraron las distancias genéticas más elevadas con respecto al resto de las especies y subespecies ( $\bar{D}_p = 15.7-17.6$ , 16.4-18.2% respectivamente). La distancia más elevada se encontró entre la subespecie *M. m. margaritae* y la especie *M. costaricanus* ( $\bar{D}_p = 18.2\%$ ) (Cuadro 6).

**Cuadro 6**

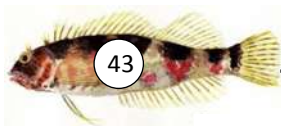
Estimados de la  $\bar{D}_p$  utilizando el gen *Cytb* entre especies y subespecies descritas.

	Cost	Ebis	Gig	Hub	Mar	Mex	Sud	Tetra	Zac	Zon	Zng
Cost		0.011	0.011	0.012	0.012	0.012	0.011	0.011	0.012	0.012	0.011
Ebis	0.169		0.011	0.012	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.012	0.011
Gig	0.166	0.170		0.010	0.011	0.010	0.010	0.011	0.011	0.011	0.010
Hub	0.171	0.169	0.125		0.011	0.011	0.010	0.010	0.011	0.011	0.011
Mar	0.182	0.162	0.145	0.158		0.008	0.011	0.011	0.011	0.012	0.011
Mex	0.178	0.157	0.140	0.160	0.078		0.011	0.010	0.011	0.012	0.011
Sud	0.164	0.163	0.132	0.134	0.154	0.152		0.011	0.012	0.009	0.009
Tetra	0.173	0.171	0.157	0.154	0.156	0.145	0.167		0.011	0.011	0.011
Zac	0.176	0.172	0.144	0.152	0.160	0.157	0.152	0.178		0.012	0.011
Zon	0.173	0.176	0.147	0.145	0.164	0.163	0.096	0.173	0.162		0.009
Zng	0.171	0.176	0.142	0.139	0.160	0.159	0.106	0.176	0.165	0.102	

Cost) *M. costaricanus*, Ebis) *M. ebisui*, Gig) *M. gigas*, Hub) *M. h. hubbsi*, Mar) *M. m. margaritae*, Mex) *M. m. mexicanus*, Sud) *M. z. sudensis*, Tetra) *M. tetranemus*, Zac) *M. zaca*, Zon) *M. z. zonifer*, Zng) *M. zonogaster*.

Los números bajo la diagonal representan la  $\bar{D}_p$  entre grupos, números arriba de la diagonal representan la desviación estándar.

Se observaron valores significativos de  $F_{ST}$  altos para la comparación entre subespecies, los cuales van de 0.933 para *M. margaritae* y 0.966 para *M. zonifer* y el valor bajo de 0.066 para *M. tetranemus* (Cuadro 7). El valor obtenido para *M.*



*tetranemus* no incluye a las poblaciones del grupo Ecuador continental debido a que conforma un grupo monofilético a parte, diferente genéticamente al grupo POT.

**Cuadro 7**

Estimados de los valores  $F_{ST}$  del gen *Cytb* entre las subespecies de *M. tetranemus*, *M. margaritae* y *M. zonifer* separadas por la brecha Centroamericana.

	$F_{ST}$
<i>Malacoctenus tetranemus</i>	0.0662*
<i>Malacoctenus margaritae</i>	0.9330*
<i>Malacoctenus zonifer</i>	0.9656*

Las comparaciones fueron llevadas a cabo entre las poblaciones de México vs Centro y Sudamérica. \*Valores de  $F_{ST}$  con  $p < 0.05$ .

Al analizar las distancias genéticas y la diferenciación de los grupos genéticos encontrados dentro de las especies *M. tetranemus* y *M. ebisui*, se encontró que el grupo de *M. tetranemus* de Ecuador continental muestra una divergencia genética de  $\bar{D}_p = 3.9\%$  respecto al grupo de *M. tetranemus* conformado por individuos provenientes de localidades a lo largo del POT, además de un valor de  $F_{ST}$  alto y significativo (0.784) (Cuadro 8), ambos grupos se encuentran en simpatria.

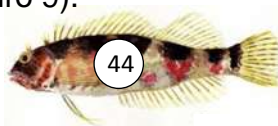
**Cuadro 8**

Estimados de las  $\bar{D}_p$  y  $F_{ST}$  del gen *Cytb* entre grupos genéticos de *M. tetranemus*.

	$F_{ST}$	$\bar{D}_p$
<i>Malacoctenus tetranemus</i>	*0.7839	0.039

Las comparaciones fueron llevadas a cabo entre el grupo POT vs grupo Ecuador continental. \*  $p < 0.05$ .

Las diferencias genéticas encontradas entre las poblaciones de *M. ebisui* a lo largo de su distribución en el POT son elevadas, se muestra una  $\bar{D}_p = 4.9\%$  entre las poblaciones de México vs Panamá-Ecuador,  $\bar{D}_p = 4.6\%$  para la comparación de las poblaciones de México vs Costa Rica y  $\bar{D}_p = 2.8\%$  entre Panamá-Ecuador vs Costa Rica. Los valores de  $F_{ST}$  encontrados para estos grupos fueron significativos y elevados, entre 0.77 y 0.87 (Cuadro 9).



**Cuadro 9**

Estimados de las  $\bar{D}_p$  y  $F_{ST}$  del gen *Cytb* entre grupos genéticos de *M. ebisui*.

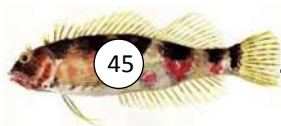
	México	Costa Rica	Panamá-Ecuador
México	-	0.7927*	0.8712*
Costa Rica	0.046	-	0.7705*
Panamá-Ecuador	0.049	0.028	-

Los valores de la media de las  $\bar{D}_p$  se muestran abajo de la diagonal, los valores  $F_{ST}$  arriba de la diagonal. \*Valores de  $F_{ST}$  con  $p < 0.05$ .

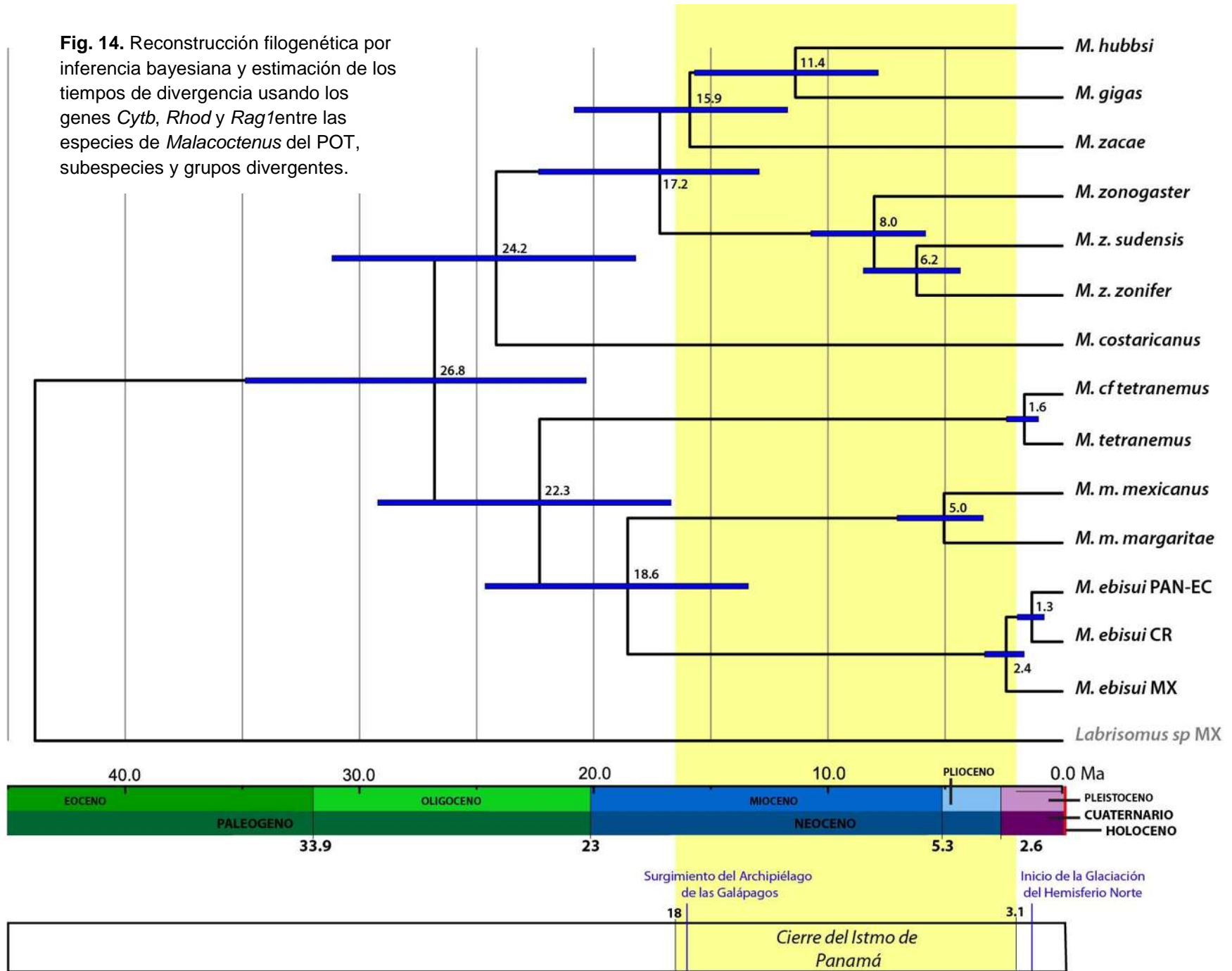
### Tiempos de divergencia

La filogenia obtenida en el proceso de fechamiento de los eventos cladogenéticos concuerda en su mayoría con el árbol concatenado (Fig. 14).

Se encontró que las subespecies de *M. margaritae* se separaron hace aproximadamente 5 Ma, mientras que las de *M. zonifer* hace aproximadamente 6 Ma. Las poblaciones de *M. ebisui* separadas por la brecha Centroamericana divergieron hace aproximadamente 2.4 Ma, además de que los grupos poblacionales Panamá-Ecuador y Costa Rica se separaron hace cerca de 1.3 Ma. Mientras que para las poblaciones de *M. tetranemus* de Ecuador continental se estimó un fechamiento de 1.6 Ma.



**Fig. 14.** Reconstrucción filogenética por inferencia bayesiana y estimación de los tiempos de divergencia usando los genes *Cytb*, *Rhod* y *Rag1* entre las especies de *Malaccoctenus* del POT, subespecies y grupos divergentes.



## 8.4 Discusión

Los estudios taxonómicos en el género *Malacoctenus* han sido escasos (Greenfield y Johnson, 1981; Springer, 1959; Stepien *et al.*, 1997; Hastings y Springer, 2009a), todos ellos usan caracteres morfológicos, existiendo una controversia importante en relación a la identidad taxonómica de algunas especies, incluso algunos de ellos usan información biogeográfica para delimitar especies. Los análisis moleculares realizados en el presente trabajo permiten evaluar la historia evolutiva de las especies del género *Malacoctenus* en el Pacífico Oriental Tropical, así como los procesos que pudieron influir en su evolución e historia biogeográfica, además de hacer recomendaciones taxonómicas y de conservación.

### **Biogeografía**

Históricamente se ha hipotetizado que las brechas de Sinaloa y Centroamericana actúan como barreras al flujo genético de las poblaciones de los peces costeros que habitan fondos rocosos, especialmente para las especies crípticas (Hubbs, 1953; Springer, 1959; Briggs, 1974; Hastings y Springer, 2009a; Hastings, 2000). Esto ha sido atribuido principalmente a la ausencia de un hábitat adecuado (Hastings, 2000) y a que, a pesar de presentar una larva planctónica, generalmente, las especies de talla pequeña presentan poca conectividad, ya que se trata de especies sedentarias que exhiben cierto grado de filopatría (Duncan *et al.* 2006). Por tanto, las brechas arenosas, aunado a procesos oceanográficos y algunas características intrínsecas de las especies, podrían estar actuando como barreras a la migración de individuos entre poblaciones, influyendo fuertemente en los procesos de especiación que ocurren en la región.

### *Patrones biogeográficos*

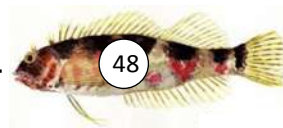
En los análisis moleculares realizados en la presente investigación se observó que tres especies ampliamente distribuidas a lo largo del POT presentan una estructuración genética poblacional, cuya separación coincide con la brecha arenosa Centroamericana. Dos de ellas, *M. margaritae* y *M. zonifer*, habían sido



identificadas con diferencias morfológicas importantes entre sus poblaciones distribuidas al sur de la brecha y al norte de la brecha, estas diferencias permitieron reconocer a estas poblaciones como subespecies (Springer, 1959), e incluso se ha propuesto que sean elevadas al nivel de especie (Hastings y Springer, 2009). La tercera corresponde a *M. ebisui*, donde las poblaciones al sur y al norte de la brecha se encuentran fuertemente diferenciadas, siendo esta la primera ocasión que se documenta dicha diferenciación, en este caso con caracteres moleculares.

Es evidente que las poblaciones alopátricas de *M. margaritae*, *M. zonifer* y *M. ebisui* distribuidas a cada lado de la brecha arenosa de Centroamérica han seguido una historia evolutiva independiente por un largo periodo de tiempo, existiendo una ausencia de flujo genético entre las poblaciones alopátricas. Esto es sustentado por los resultados filogenéticos, donde se recupera a estas especies como monofiléticas y a las poblaciones a ambos lados de la brecha como grupos hermanos, en todos los casos con altos valores de soporte (Figs. 8, 9, 10 y 11). Las redes de haplotipos del *Cytb* (Fig. 13) muestran esta misma separación, donde las subespecies de *M. m. mexicanus* y *M. m. margaritae* se encuentran separadas por 72 pasos mutacionales, *M. z. zonifer* y *M. z. sudensis* por 96 pasos mutacionales, mientras que *M. ebisui* por 52 a 57 pasos mutacionales. La hipótesis de una historia evolutiva independiente es reforzada por las distancias genéticas entre dichas subespecies, siendo *Cytb* = 7.8% y concatenado *Con* = 2.6% para las subespecies de *M. margaritae*, *Cytb* = 9.6% y *Con* = 3.3% para *M. zonifer* y para las poblaciones divergentes de *M. ebisui* de *Cytb* = 4.6-4.9% y *Con* = 1.6%. Estando estos valores muy por arriba de las distancias aceptadas para especies bien reconocidas, que es del 2% para el gen mitocondrial *Cytb* (Avice, 2000). De igual forma, los altos valores de  $F_{ST}$  (*M. margaritae* 0.9330, *M. zonifer* 0.9656) refuerzan esta hipótesis (Cuadros 6 y 7, Fig. 8).

Generalmente, la estructuración genética de las poblaciones de peces marinos ha sido atribuida a factores oceanográficos y ecológicos, entre los que destacan las corrientes oceánicas y la ausencia de hábitat adecuado (Rocha-Olivares y Vetter, 1999; Riginos y Nachman, 2001). Según Hastings (2000) y Pondella (2003), la brecha arenosa de Centroamérica juegan un papel muy

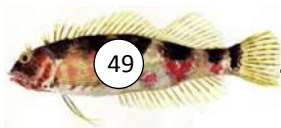




importante en los eventos de especiación de los organismos que habitan esta región (Craig *et al.*, 2006), especialmente para los peces arrecifales que habitan en fondos rocosos (Hastings, 2000).

Los tiempos de divergencia estimados para las subespecies de *M. margaritae* y *M. zonifer* (5 y 6 Ma respectivamente) indican que divergieron en el Mioceno tardío y Plioceno temprano (Fig. 14). Lo cual coincide con los tiempos de divergencia propuestos por Springer (1959) entre las poblaciones de *Malacoctenus* a ambos lados de la brecha Centroamericana, basada en los trabajos paleo-geológicos de Schuchert (1955).

Generalmente, la estructura genética e historia demográfica de las especies está ligada a procesos geológicos (Taylor y Hellberg, 2006). En este caso, la formación del Istmo Centroamericano y el calentamiento global durante el Plioceno temprano han sido propuestos como eventos históricos importantes que modelaron la evolución y distribución actual de los blénidos, incluidos los labrisómidos (Lin y Hastings, 2013). El cierre del Istmo de Panamá (18-3.1 Ma, Lessios, 2008), fue un evento crucial en los procesos de especiación de los organismos marinos, no solo entre el POT y el Atlántico, sino también en las especies distribuidas a lo largo del POT (Lessios, 2008; McCartney *et al.*, 2000). Se ha propuesto que hace aproximadamente 5 Ma existieron fuertes cambios en la circulación de las corrientes oceánicas dentro del POT (Lessios, 2008), lo cual es coincidente con el tiempo de divergencia de las subespecies de *M. margaritae* y *M. zonifer*. Por lo que el continuo cierre del estrecho de Panamá, la caída en el nivel del mar y el cambio en las corrientes oceánicas (Palumbi, 1996; Cannaciato y Ravelo, 1997), pudieron actuar en conjunto y ocasionar las restricciones del flujo genético entre las poblaciones, aislándolas a cada lado de lo que en ese entonces era el Istmo Centroamericano, las cuales, a partir de aquí, siguieron una línea evolutiva independiente, que con el paso del tiempo divergieron de manera importante y se formaron los linajes evolutivos independientes que vemos en la actualidad. Una vez establecido cada linaje a cada lado del istmo, la formación de la brecha arenosa Centroamericana y los giros oceanográficos que se formaron una vez que se cerró el istmo en Tehuantepec y



Papagayo, los cuales son ocasionados por los Chorros de Viento Transístmicos que atraviesan las brechas montañosas de Tehuantepec y Nicaragua (Fiedler y Lavín, 2006; Willett *et al.*, 2006), pueden ser la causa en la restricción del flujo de migrantes entre ambos lados de la brecha, la primera fungiendo como una brecha determinada por la ausencia de un hábitat adecuado, y la segunda como un mecanismo de retención de larvas dentro de los giros, mecanismos que han sido reportados en varias especies de peces (Brogan, 1994; Riginos y Victor, 2001; Contreras-Catala *et al.*, 2012). Los tiempos de divergencia entre las subespecies encontrados en el presente trabajo son congruentes además con los patrones de diversificación observados en otros géneros y familias de peces marinos (Eytan *et al.*, 2012; Tavera *et al.*, 2012; Santini *et al.*, 2013; Sorenson *et al.*, 2013). Lo cual, sugiere que los cambios oceanográficos y climatológicos ocurridos como consecuencia del cierre del Istmo Centroamericano y los períodos glaciares durante el Plioceno y Pleistoceno, desencadenaron procesos de especiación en diversas especies de peces marinos a lo largo del POT.

Las poblaciones de *M. ebisui* separadas por la brecha Centroamericana presentan un aislamiento más reciente, fechado en aproximadamente 2.4 Ma, durante el Pleistoceno. Para esta especie, un evento que pudo haber influido en su estructuración poblacional es la NGH (Glaciación del Hemisferio Norte por sus siglas en inglés), durante el Plio-Pleistoceno, hace aproximadamente 2.6 Ma (Lyle *et al.*, 2000; Lawrence *et al.*, 2006). Es importante recordar que se ha reportado una asociación de *M. ebisui* a corales ramosos del género *Pocillopora* (Galván-Villa, 2008), y estos eventos de glaciación durante el Pleistoceno tuvieron un impacto importante en los corales de la región, ya que las oscilaciones en el nivel del mar alteraron dramáticamente la cubierta coralina, mientras que los eventos de calentamiento y enfriamiento resultaron en la extinción de muchas especies de corales (Cortés, 1986, 1997), incluso la mortalidad y desaparición de corales del género *Pocillopora* es atribuida a eventos de enfriamiento y a la presencia de afloramientos en la zona (Wilson, 1990; Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997), por lo que, este evento de glaciación, aunado a la formación de la brecha arenosa y los giros antes mencionados, que influyeron fuertemente en la conformación de las



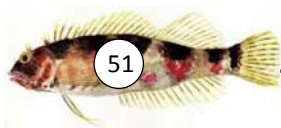
poblaciones de corales en la región (Glynn y Macintyre, 1977; Cortés, 1997, Glynn y Ault, 2000), pudieron en consecuencia tener una influencia importante en la estructuración genética de *M. ebisui*.

Es claro que se está muy lejos de tener una visión amplia de la historia evolutiva de la mayoría de las especies dentro del POT, sin embargo, si se continúa con este tipo de estudios y se descubren otros complejos de especies crípticas aún desconocidos, tal como sucedió con *Elacatinus puncticulatus* (Sandoval-Huerta, 2014), la delimitación de las provincias biogeográficas a lo largo del POT podrá ser más objetiva.

De acuerdo con el patrón de formación de linajes genéticamente divergentes y evolutivamente independientes a ambos lados de la brecha arenosa, al menos para tres especies de *Malacoctenus*, los resultados encontrados en la presente investigación, soportan la propuesta biogeográfica de Hastings (2000), en la que sugiere la existencia de cuatro provincias biogeográficas (Cortés, Mexicana, Panámica y Galápagos) en el POT. Su estudio fue basado en la distribución de peces crípticos de la familia Chaenopsidae. Los chaenopsidos y labrisómidos forman parte del suborden Blennioidei, peces marinos de talla pequeña fuertemente asociados al fondo, razón por la cual, se han convertido en modelos de estudio en torno a la evolución y biogeografía del POT (Hastings y Springer, 2009b). El hecho de que la brecha Centroamericana conforme el límite de la distribución de muchas especies de peces crípticos y divida, tanto genética como morfológicamente, a las poblaciones de varias especies de *Malacoctenus*, soportan la idea que las provincias Mexicana y Panámica deben ser reconocidas como tales.

#### *Eventos biogeográficos independientes*

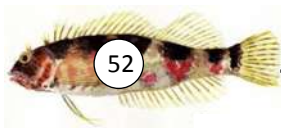
Además de los patrones biogeográficos antes mencionados, en el presente trabajo se reconocieron eventos biogeográficos independientes que no habían sido reconocidos hasta ahora. Uno de ellos es la presencia de un linaje evolutivo independiente en la especie *M. tetranemus* que ocurre en simpatria con su linaje hermano. Esto se aprecia de manera clara en los árboles filogenéticos, en donde se



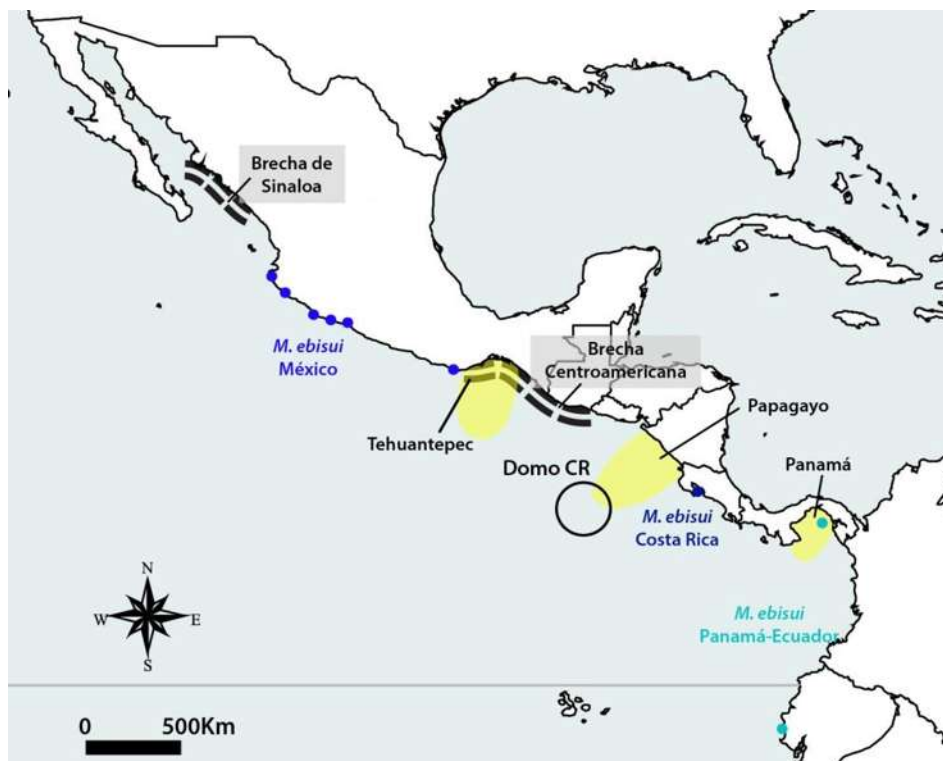
observa a la especie *M. tetranemus* como un grupo monofilético y a los linajes independientes como grupos hermanos con un alto valor de soporte. Cada grupo está separado por una distancia genética entre ellos de 3.9% para el *Cytb* y 1.3% para el concatenado y un valor de diferenciación genética alto y significativo  $F_{ST} = 0.7839$  (Figs. 8 y 11, Cuadro 8).

Por otro lado, en los análisis de *Cytb*, se encontró la formación de un tercer linaje entre las poblaciones de Costa Rica y Panamá-Ecuador de *M. ebisui* (Fig. 8 y 13). Estos linajes, Panamá-Ecuador y Costa Rica se encuentran separados por 21 pasos mutacionales en el *Cytb* y una distancia genética de 2.8%. Encontrándose una  $F_{ST}$  significativa y alta (0.77) (Cuadro 9).

A pesar de que, como se mencionó anteriormente, existe muy poca información en relación a la biología de estas especies, en las inmersiones realizadas para la captura de organismos a lo largo del POT, se observó que la reproducción de *M. ebisui* ocurre en invierno. En este sentido, los afloramientos estacionales que ocurren durante esta época en el Golfo de Panamá (Fiedler y Talley, 2006; O'Dea *et al.*, 2012), región donde la elevación de las montañas en América Central es baja (De Gracia *et al.*, 2012), conforman un sistema de surgencia, caracterizado por bajas temperaturas y altos niveles de nutrientes y producción primaria. Este sistema de surgencias y los giros anticiclónicos de las corrientes oceánicas que suceden al término de los afloramientos (Stumpf, 1974; Stumpf *et al.*, 1977), coinciden con la formación de linajes dentro de la especie, lo cual puede provocar una retención de larvas y una restricción del flujo entre las poblaciones, esto mediante la formación de una barrera al movimiento de organismos debido a las variaciones en la temperatura y salinidad (Fiedler y Talley, 2006), de igual forma pueden restringir la distribución de los corales del género *Pocillopora*, teniendo efecto en la disponibilidad de hábitat para *M. ebisui*, tal como se mencionó anteriormente. Por lo que, junto con otros factores, como el domo de Costa Rica (Fiedler y Talley, 2006), pueden estar causando barreras físicas para la dispersión de las larvas plantónicas entre las poblaciones (Fig. 15). En este sentido, algunos trabajos demuestran que la temporalidad de las larvas influye en los



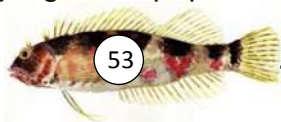
procesos de especiación (Wellenreuther y Clements, 2007), en donde además, las comunidades larvianas y su distribución están fuertemente influenciadas por la circulación de masas de agua en el POT y la dinámica de los procesos a gran escala y meso escala (León-Chávez *et al.*, 2010) en donde también se ha propuesto que existe una disparidad en la duración de la larva pelágica (DLP) dentro de la misma especie en diferentes zonas del POT ocasionada por una heterogeneidad de ambientes a lo largo de la región (Wellington y Victor, 1992), esto sugiere que la época de eclosión de las larvas, junto con los factores oceanográficos estacionales, influyen fuertemente en los procesos de especiación y estructuración genética de las poblaciones de peces marinos que habitan en la región.



**Fig. 15.** Principales factores oceanográficos que influyen en la fragmentación de *Malacoctenus ebisui*. Modificado de Hastings (2000), Fiedler y Talley (2006) y Robertson y Allen (2008).

### Consideraciones biogeográficas generales

Los factores físicos oceanográficos no son los únicos que intervienen en la modelación de la estructura genética de las poblaciones, ya que las características intrínsecas de los peces marinos juegan un papel crucial en la diversificación de los

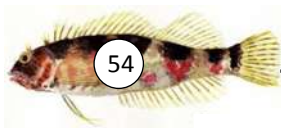




grupos, dado que la ecología, comportamiento e historia natural de las mismas participan de manera importante en la modelación de los patrones filogeográficos (Aulsebrook, 2000).

A pesar de que existe poca información en relación a la historia de vida de las especies del género *Malacoctenus*, se debe reconocer que las características intrínsecas de las especies, como la temporada de reproducción, las habilidades de dispersión de las larvas planctónicas (solamente se conoce la duración de la larva pelágica de *M. hubbsi* y *M. zonogaster*, 24 y 25 días respectivamente, Brogan, 1992, 1994; Bernardi *et al.*, 2014), la filopatría, el cuidado parental, la selección sexual, entre otros, pueden estar actuando en combinación con las barreras físicas oceanográficas de la región, de esta manera, si la reproducción de las especies ocurre durante los periodos del año en que los afloramientos promueven corrientes, cambios de temperatura y salinidad, factores que pueden actuar como barreras a la dispersión de organismos, esto podría influir en la estructura o flujo genético observado. El tiempo de reproducción ha sido reconocido como uno de los factores causales de especiación en especies crípticas (Wellenreuther y Clements, 2007). No obstante, si la especie se reproduce en una época del año en que no es afectada por estos factores y la distribución de las larvas se ve favorecida por la presencia de corrientes oceánicas como la corriente Panámica o costera de Costa Rica, no es difícil pensar en que exista una conectividad entre las poblaciones, como ha sido reportado en las especies *Elacatinus puncticulatus* y *Axoclinus storeyae* (Sandoval-Huerta, 2014; Torres-Hernández, 2014) en donde existe un flujo unidireccional de la larva planctónica, lo que es atribuido a la época de reproducción y el transporte de las corrientes oceánicas predominantes durante esta época. O bien si la especie puede tolerar una gama amplia de condiciones ambientales, las brechas arenosas pueden no estar influyendo en la capacidad de algunas especies de atravesar dichas áreas (como podría estar sucediendo en *M. tetranemus*).

Se ha observado que las especies del género *Malacoctenus* del POT tienen preferencia de hábitat, de tal manera que algunas especies se encuentran principalmente en arrecifes, otras en pozas de marea someras y una más en pozas



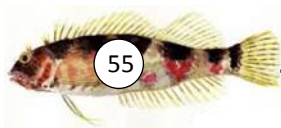
de marea profundas. En la presente investigación se encontraron dos clados principales: el clado I se encuentra conformado por especies que habitan en arrecifes rocosos, mientras que el clado II se encuentra integrado por especies que habitan pozas de marea someras y una especie que habita en arrecife (Fig. 11). Se ha demostrado para algunas especies de peces crípticos una diversificación por especificidad de hábitat (Taylor y Hellberg, 2005; Lin y Hastings, 2011; Eytan *et al.*, 2012). Hickey *et al.* (2009), sugieren que la estructura genética de las poblaciones de triplealetas (Tripterygiidae) en Nueva Zelanda está relacionada con el hábitat. Mientras que Taylor y Hellberg (2005), sugieren que la diversificación de los gobios (especies del género *Elacatinus*) fue causada por una adaptación ecológica a las condiciones ambientales, seguida por una diversificación basada en los colores y la morfología.

Además, las especies de *Malacoctenus* del POT también presentan cuidado parental (Petersen, 1988) y dimorfismo sexual. En algunas especies el dimorfismo sexual es muy marcado como es el caso de *M. ebisui*, mientras que en otras las diferencias son más sutiles (*M. zacaе*). Por lo que, aunado a una restricción al flujo genético, las diferencias en coloración y posiblemente en comportamiento podrían estar contribuyendo a la especiación de estos organismos, ya que las diferencias ecológicas y de comportamiento pueden facilitar simultáneamente un aislamiento reproductivo entre taxones hermanos (Taylor y Hellberg, 2005). Por esta razón, es muy factible que la especificidad de hábitat y ecología de las especies hayan jugado un papel crucial en la diversificación del género.

Por lo que, los resultados aquí presentados, deberán ser analizados a la luz de nuevos datos que se vayan generando en torno al conocimiento de la historia de vida y biología de las especies del género *Malacoctenus*.

### ***Crípticos entre crípticos, implicaciones taxonómicas***

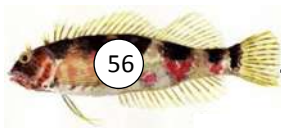
Se ha propuesto que la diversidad biológica en el POT está subestimada (Springer, 1959; Allen y Robertson, 1998; Miloslavich *et al.*, 2011). Una de las causas



puede ser la existencia de complejos de especies dentro de las especies crípticas, ya que estas especies presentan diferencias morfológicas muy sutiles, por lo que la diferenciación entre poblaciones podría ser aún desconocida. En este sentido, trabajos que utilizan marcadores moleculares de alta resolución han revelado complejos de especies que no habían sido distinguidos por medio de la taxonomía tradicional (Tornabene *et al.*, 2010; Baldwin *et al.*, 2011; Von der Heyden *et al.*, 2011).

En el presente trabajo se observaron distancias genéticas ( $\bar{D}_p$ ) para el gen *Cytb* de 7.8% entre las subespecies de *M. margaritae* y 9.6% entre las subespecies de *M. zonifer* (Fig. 8, Cuadro 6). Las cuatro subespecies aparecen como grupos monofiléticos en los árboles filogenéticos *Cytb*, *Rhod* y *Rag1* (Fig. 8, 9 y 10) al igual que en el árbol concatenado, donde presentan diferencias genéticas de 2.6 (*M. m. mexicanus* y *M. m. margaritae*) y 3.3% (*M. z. zonifer* y *M. z. sudensis*) (Fig. 11), lo cual sugiere que se trata de entidades independientes. Se obtuvieron además valores elevados y significativos de  $F_{ST}$  entre las poblaciones de las subespecies (*M. margaritae* - 0.9330, *M. zonifer* - 0.9656), lo que deja de manifiesto que cada subespecie representa un linaje evolutivo independiente (Cuadro 7).

Estos resultados concuerdan con la revisión de los caracteres merísticos realizada por Hastings y Springer (2009a), en el cual comparan la cantidad de poros simfisiales y patrones de coloración, poniendo además como caracteres distintivos entre las subespecies, el número de escamas de la línea lateral y escamas entre la línea lateral y el contorno dorsal para las subespecies de *M. margaritae*, y el número de branquiespinas y elementos anales para las subespecies de *M. zonifer* ( Cuadro 10, Fig. 16), concluyendo que estas subespecies cuentan con diferencias morfológicas suficientes para ser consideradas como especies *per se*. Los resultados obtenidos en esta investigación apoyan la propuesta de Hastings y Springer (2009a) de considerar a *M. mexicanus*, *M. margaritae*, *M. zonifer* y *M. sudensis* como especies válidas.

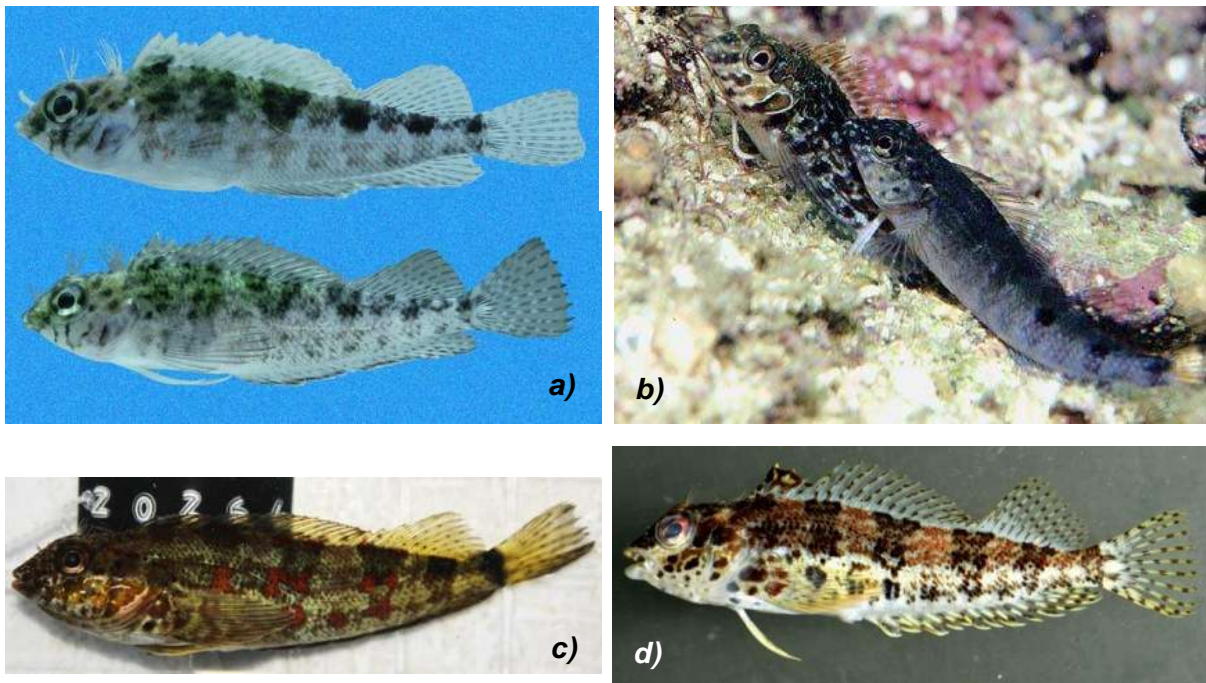


**Cuadro 10**

Caracteres morfológicos y merísticos utilizados por Springer (1959) y Hastings y Springer (2009a) en la comparación de las subespecies del género *Malaccoctenus*

	PS	E LL-CD	ELL	LRP	COL	BE	EA
<b><i>M. margaritae</i></b>	1-4	3-4					
<i>M. m. mexicanus</i>	1	4-5	<	--	marcas del cuerpo considerablemente más distintivas	--	--
<i>M. m. margaritae</i>	2-4	3	>	más corta		--	--
<b><i>M. zonifer</i></b>						9-12	19-22
<i>M. z. zonifer</i>	>				manchas en la parte ventral del opérculo y la aleta anal de los machos faltantes o levemente expresadas	10-11	21-22
<i>M. z. sudensis</i>	<				manchas presentan una coloración más oscura, además de dos manchas en la parte ventral del opérculo y la aleta anal de los machos	11-12 (10-13)	22 (20-23)
<b><i>M. tetranemus</i></b>							
<i>M. t. multipunctatus</i>	--	--	--	--	manchado profuso	--	--
<i>M. t. tetranemus</i>	--	--	--	--		--	--

Se presentan los valores modales en los organismos estudiados. PS, número de poros simfisiales; E LL-CD, número de escamas entre la línea lateral y el contorno dorsal; ELL, escamas de la línea lateral; LRP, largo del tercer radio de la aleta pélvica; COL, cambios en la coloración; BE, branquiespinas; EA, total de elementos anales



**Fig. 16. Subespecies de *M. margaritae* y *M. zonifer***

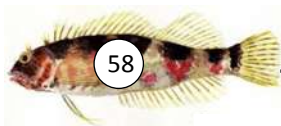
a) *M. m. mexicanus*. Foto: Ross Robertson.

b) *M. m. margaritae*. Foto: Gerard Allen.

c) *M. z. zonifer*. Pozas intermareales San Agustín, Oaxaca México. Foto: Eloísa Torres.

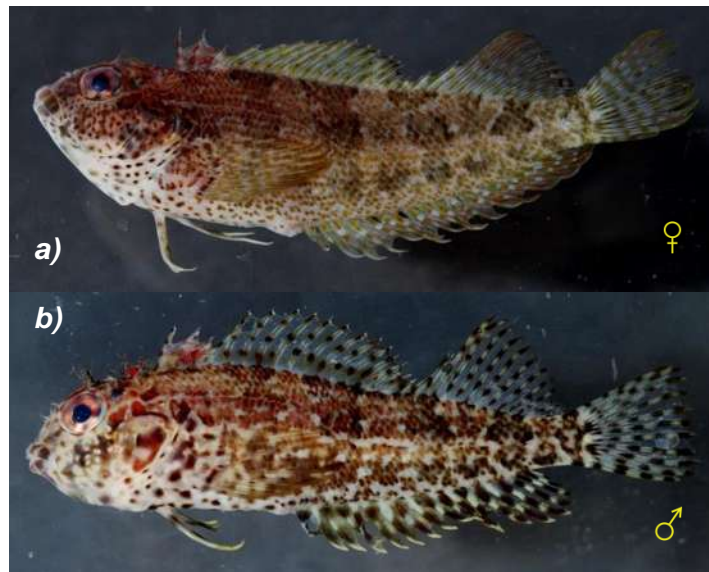
d) *M. z. sudensis*. Pozas Intermareales en la Isla Contadora, Archipiélago de las Perlas, Panamá. Foto: Ross Robertson.

Por otro lado, los caracteres utilizados por Springer (1959) para la distinción de las subespecies *M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus* se basan en patrones de coloración. Springer (1959), solamente examinó seis individuos de *M. t. tetranemus*, por lo que pudo haber revisado individuos del mismo sexo, ya que la especie muestra un sutil dimorfismo sexual (Fig. 17), en donde la diferencia principal es un mayor número de puntos en la parte ventral y a los costados del cuerpo, característica que fue utilizada para separar a las subespecies, por lo que este carácter no estaría reflejando los linajes filogenéticos ni patrones filogeográficos de la especie. Mientras que en la revisión de las subespecies del género hecha por Hastings y Springer (2009a), estas subespecies no fueron analizadas. En esta investigación, utilizando caracteres moleculares, no se encontró evidencia que soporte la existencia de las subespecies de *M. tetranemus*. La red de haplotipos obtenida con el *Cytb* (Fig. 12) muestra que existe un flujo genético entre las





poblaciones a lo largo del POT. El valor de  $F_{ST}$  entre las subespecies *M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus* fue muy bajo y significativo (0.0662) (Cuadro 7), lo cual sugiere que existe poca estructuración pero ésta al parecer no está relacionada con la geografía, por lo que la hipótesis de las subespecies de *M. tetranemus* es rechazada por los resultados aquí obtenidos.



**Fig. 17. *M. tetranemus***

a) Hembra. Bahía Salinas, Santa Elena, Ecuador continental. Foto: Carmen Pedraza.

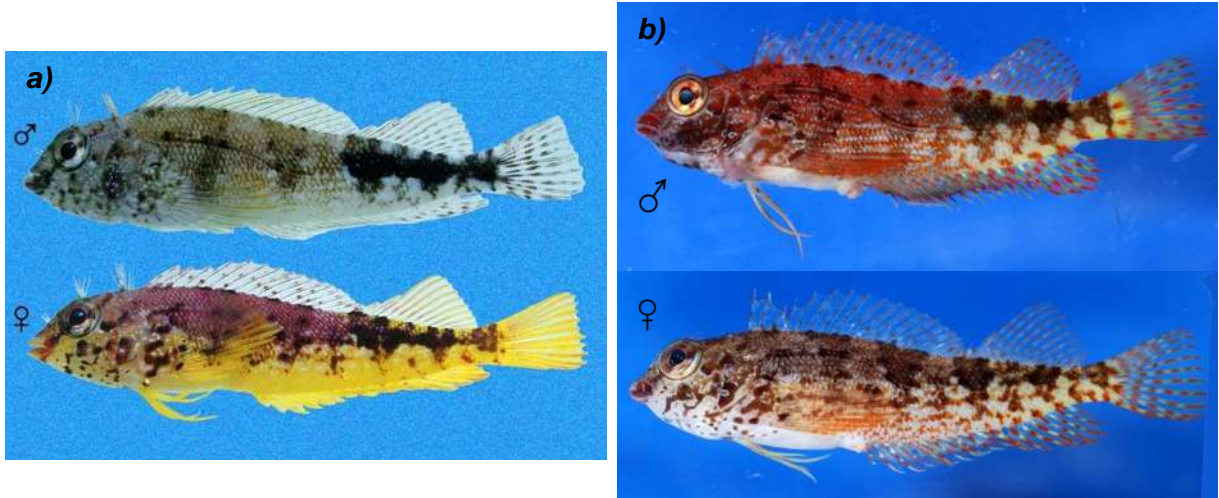
b) Macho. El Pelado, Santa Elena, Ecuador continental. Foto: Carmen Pedraza.

Sin embargo, dentro de las poblaciones de *M. tetranemus* se observó un grupo genético conformado por individuos provenientes de Ecuador continental, el cual presenta una diferencia genética de 3.9% con respecto al resto de las poblaciones (Cuadro 6). Este grupo aparece como monofilético en los árboles filogenéticos obtenidos con los tres genes y el análisis concatenado (Fig. 8, 9, 10 y 11). Además, se encuentra separado por más de 30 pasos mutacionales del grupo POT (Fig. 12).

De la misma forma, con el gen *Cytb* se encontró una estructuración en las poblaciones de *M. ebisui*. Se observaron diferencias entre 2.8-4.9% y valores altos  $F_{ST}$  0.7705-0.871 entre los grupos genéticos México, Panamá-Ecuador y Costa Rica (Fig. 8, Cuadro 9). Estos resultados muestran que las tres poblaciones conforman grupos genéticos bien diferenciados, es decir linajes evolutivos independientes.



Springer (1959), menciona que existen diferencias sutiles en la coloración de las hembras pertenecientes a las poblaciones al norte de la Brecha Centroamericana con respecto a las del sur de la brecha, lo cual concuerda con los resultados observados (Fig. 18). Sin embargo, no encontró diferencias sustanciales que le permitieran separar a ambas poblaciones, por lo que esta estructuración no había sido reportada anteriormente por ningún autor.



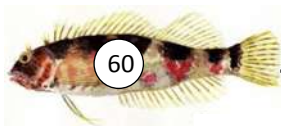
**Fig. 18. *M. ebisui***

a) Macho y hembra. Costa de México. Foto: Ross Robertson.

b) Macho y hembra. Ecuador continental. Fotos: Carmen Pedraza.

Los *Malacoctenus* son peces crípticos tanto en el sentido biológico como genético, ya que presentan una plasticidad fenotípica considerable dentro de las especies y caracteres morfológicos y merísticos que se traslapan entre especies hermanas.

Los resultados obtenidos sugieren que se trata de un complejo de especies crípticas. Se apoya la propuesta de Hastings y Springer (2009a) de considerar a *M. mexicanus*, *M. margaritae*, *M. zonifer* y *M. sudensis* como especies válidas. Además, en este trabajo se encontró un grupo monofilético con los tres marcadores utilizados de *M. tetranemus* conformado por individuos de Ecuador continental por lo que podría tratarse de una especie aún por describir. Por otro lado, una estructuración genética en las poblaciones de México, Costa Rica y Panamá-Ecuador de *M. ebisui* sugiere la existencia de dos nuevas especies. Tanto las subespecies como los



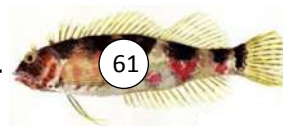
grupos genéticos encontrados, presentan distancias genéticas entre 2.6 y 9.6% (Cuadro 6, Fig. 8), valores que sobrepasan el mínimo propuesto entre especies hermanas de peces con el marcador mitocondrial *Cytb* (Awise 2000), por lo que se recomienda una revisión taxonómica de caracteres morfológicos y merísticos de estos grupos. Esto elevaría el número de especies del género *Malacoctenus* en el POT de nueve a 14, lo cual, soporta la idea que la diversidad en el POT es mucho mayor de la considerada actualmente.

### **Implicaciones de conservación**

La diversidad en los trópicos se encuentra entre las mayores del planeta, sin embargo, la destrucción rápida y constante de estos hábitats tropicales entre los que destacan los arrecifes de coral y los hábitats costeros (Briggs, 2005; Rocha *et al.*, 2007; Spalding *et al.*, 2007) enfatiza la necesidad de crear áreas de conservación (Briggs, 1996), además de estrategias para la protección de los procesos evolutivos responsables de esta elevada diversidad (Briggs, 2005).

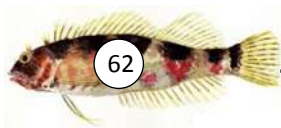
En este sentido, las reservas marinas pueden ayudar a aumentar y mejorar los esfuerzos para preservar la biodiversidad biológica (Palumbi, 2003), para lo cual, es fundamental llevar a cabo una evaluación precisa del estatus taxonómico de las especies, además de tomar en cuenta la historia evolutiva de los organismos en las decisiones de manejo (Hyrenbach *et al.*, 2000; Templeton, 2004).

En el presente estudio, se encontraron complejos de especies dentro del género *Malacoctenus* en el POT. Es importante resaltar que con este trabajo, los arrecifes rocosos de las costas de México se convierten en una región importante para la conservación de este grupo, ya que con esta nueva propuesta existirían varios grupos endémicos, *M. gigas* restringida a la provincia de Cortés, *M. mexicanus*, *M. zonifer* y *M. zacae* y el grupo genético divergente *M. ebisui*-México, a la provincia Mexicana, mientras que *M. hubbsi* se encuentra en ambas provincias. Por otro lado, la provincia Panámica albergaría cuatro especies endémicas: *M. margaritae*, *M. sudensis*, *M. costaricanus* y *M. ebisui*; además de dos grupos genéticos que podrían ser nuevas especies: *M. ebisui*-Costa Rica y *M. tetranemus*



grupo Ecuador continental. Mientras que la provincia de Galápagos cuenta con una especie endémica del género: *M. zonogaster*. Éstos resultados evidencian que especies ampliamente distribuidas en la región del POT pueden en realidad tener rangos menores.

La revelación de estos grupos genéticos encontrados soporta la existencia de las cuatro provincias biogeográficas dentro del POT, ya que cada una contiene grupos endémicos, en donde la endemidad es uno de los principales criterios al delimitar zonas biogeográficas (Briggs y Bowen, 2012). Cabe mencionar que no solamente se ha encontrado la existencia de complejos de especies que presentan patrones de estructuración a lo largo del POT en especies de peces crípticos, sino también en especies pelágicas como *Scomberomorus sierra* (Domínguez-López *et al.*, 2010) y conspicuas como *Albula esuncula* (Pfeiler *et al.*, 2002), *Hippocampus ingens* (Saarman *et al.*, 2010), además de invertebrados, tal es el caso del caracol marino *Nerita scabricosta* (Hurtado *et al.*, 2007), lo cual sugiere que se pueden encontrar patrones similares en especies cuya estructura genética no ha sido aún estudiada. No se puede esperar encontrar los mismos patrones de estructuración en todas las especies, sin embargo, esta información puede proveer información valiosa para el manejo y conservación de la biodiversidad de la región (Avice, 1992). Por lo cual se recomienda el estudio filogeográfico de más especies de peces con diferentes historias de vida, y otros grupos de organismos marinos. De esta manera, al comparar patrones filogeográficos para identificar patrones en la distribución de linajes genéticos, se podrá localizar áreas que contengan poblaciones genéticamente diferenciadas, para así proveer las pautas en las prioridades de conservación (Rocha *et al.*, 2007). El reconocer la existencia de las cuatro provincias es importante debido a la endemidad que contienen y a los patrones involucrados en su conformación, que han sido subestimados por el desconocimiento de complejos de especies dentro de las especies crípticas.



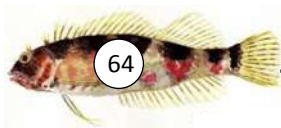
## 8.5 Referencias bibliográficas

- Allen, G.R. y R. Robertson. 1998. Peces del Pacífico Oriental Tropical. CONABIO-Agrupación Sierra Madre. México, 2ªed., 328pp.
- Avise, J.C. 1992. Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos* 63: 62-76.
- Avise, J.C. 2000. Phylogeography: The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge. 447pp.
- Baldwin, C.C., C.I. Castillo, L.A. Weigt y B.C. Victor. 2011. Seven new species within western Atlantic *Starksia atlantica*, *S. lepicoelia*, and *S. sluiteri* (Teleostei, Labrisomidae), with comments on congruence of DNA barcodes and species. *ZooKeys* 79: 21-72.
- Bandelt, H.J., P. Foster y A. Röhl. 1999. A Median-Joining Networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16(1): 37-48.
- Bernardi, G., M. Ramon, Y. Alva-Campbell, J.E. McCosker, G. Bucciarelli, L.E. Garske, B.C. Victor y N.L. Crane. 2014. Darwin's fishes: phylogeography of Galápagos Islands reef fishes. *Bulletin of Marine Science* 90(1): 000-000.
- Bowen, B.W. y W.S. Grant. 1997. Phylogeography of the Sardines (*Sardinops* spp): Assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. *Evolution* 51(5): 1601-1610.
- Briggs, J. C. 2005. Coral reefs: Conserving the evolutionary sources. *Biological Conservation* 126: 297-305.
- Briggs, J.C. 1996. Tropical Diversity and Conservation. *Conservation Biology* 10(3): 713-718.
- Briggs, J.C. y B.W. Bowen. 2012. A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *Journal of Biogeography* 39: 12-30.
- Brigs, J.C. 1974. Marine zoogeography. McGraw-Hill, New York.
- Brogan, M.W. 1992. Ecology of larval fishes around reefs in the Gulf of California, Mexico. PhD. dissertation, University of Arizona, Tucson, AZ.
- Brogan, M.W. 1994. Distribution and retention of larval fishes near reefs in the Gulf of California. *Marine Ecology Progress Series* 115: 1-13.
- Cannaciato, K.G. y A.C. Ravelo. 1997. Pliocene-Pleistocene Evolution of eastern tropical Pacific surface water circulation and thermocline depth. *Paleoceanography* 12(6): 805-820.
- Carriquiry, J.D. y H. Reyes-Bonilla. 1997. Estructura de la comunidad y distribución geográfica de los arrecifes coralinos de Nayarit. *Ciencias Marinas* 23: 227-248.
- Chen, W.J., C. Bonillo y G. Lecointre. 2003. Repeatability of clades as a criterion of reliability: a case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26: 262-288.
- Contreras-Catala, F., L. Sánchez-Velasco, M. E. Lavín y V. M. Godínez. 2012. Three-dimensional distribution of larval fish assemblages in an anticyclonic eddy in a semi-enclosed sea (Gulf of California). *Journal of Plankton Research* 34(6): 548-562.

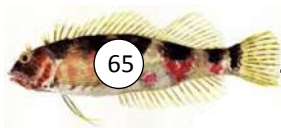




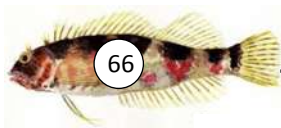
- Cortés, J.** 1986. Biogeografía de corales hermatípicos: el istmo centroamericano. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología UNAM* 13: 297-304.
- Cortés, J.** 1997. Biology and geology of eastern Pacific coral reefs. *Coral Reefs* 16: 39-46.
- Craig M.T.,** P.A. Hastings, D.J. Pondella, R. Robertson y J.A. Rosales-Casián. 2006. Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): Implications for the biogeography of the Tropical Eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *Journal of Biogeography* 33: 969-979.
- Darriba, D.,** G.L. Taboada, R. Doallo y D. Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8): 772.
- De Gracia, C.,** A. O’Dea, F. Rodríguez y L. D’Croz. Respuesta ambiental en el Pacífico frente a la subducción de la dorsal asísmica de Cocos (Panamá y Costa Rica). *Revista de Biología Tropical* 60(2): 893-908.
- Domínguez-López, M.,** M.U. Alcocer y P. Díaz-Jaimes. 2010. Phylogeography and historical demography of the Pacific Sierra mackerel (*Scomberomorus sierra*) in the Eastern Pacific. *BMC Genetics* 11:34.
- Dowling, T.E.,** A.C. Tibbetts, W.L. Minckley y G.R. Smith. 2002. Evolutionary relationships of the Plagopterins (Teleostei: Cyprinidae) from Cytochrome b sequences. *Copeia* 2002: 665-678.
- Drummond, A.J.,** M.A. Suchard, D. Xie y A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* 29: 1969-1973.
- Duncan, K.M.,** A.P. Martin, B.W. Bowen, H.G. De Couet. 2006. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Molecular Ecology* 15: 2239-2251.
- Excoffier, L.** y H.E.L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver3.2: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
- Eytan, R.I.** y M.E. Hellberg. 2010. Nuclear and mitochondrial sequence data reveal and conceal different demographic histories and population genetic processes in Caribbean reef fishes. *Evolution* 64(12): 3380-3397.
- Eytan, R.I.,** P.A. Hastings, B.R. Holland y M. Hellberg. 2012. Reconciling molecules and morphology. Molecular systematics and biogeography of Neotropical blennies (*Acanthemblemaria*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 159-173.
- Fiedler, P.C.** y L.D. Talley. 2006. Hydrography of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69: 143-180.
- Fiedler, P.C.** y M.F. Lavín. 2006. Introduction: A review of Eastern Tropical Pacific Oceanography. *Progress in Oceanography* 69(2-4): 94-100.
- Galván-Villa, C.M.** 2008. Peces crípticos asociados a corales ramosos del género *Pocillopora* en el arrecife de Playa Mora, bahía Tenacatita, México. *Ciencia y Mar* XI(34): 17-24.
- Gernhard, T.** 2008. The conditioned reconstructed process. *Journal of Theoretical Biology* 253:769-778.
- Glynn, P.W.** y Ault, S.J. 2000. A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs* 19: 1-23.



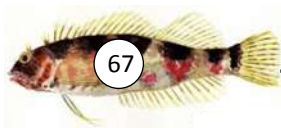
- Glynn, P.W.** y I.G. Macintyre. 1977. Growth rate and age of coral reefs on the Pacific coast of Panamá. *Proc. 3<sup>rd</sup> Int. Coral Reef Symp.* 2: 251-259.
- Greenfield, D.W.** y R.K. Johnson. 1981. The blennioid fishes of Belize and Honduras, Central America, with comments on their systematics, ecology, and distribution (Blenniidae, Chaenopsidae, Labrisomidae, Tripterygiidae). *Fieldiana Zoology* 8: 1-106.
- Hanlon, R.T.** y R.F. Hixon. 1986. Behavioral associations of coral reef fishes with the sea anemone *Condylactis gigantean* in the Dry Tortugas, Florida. *Bulletin of Marine Science* 39: 130-134.
- Hastings, P.A.** 2000. Biogeography of the Tropical Eastern Pacific: distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society* 128: 319-335.
- Hastings, P.A.** y V.G. Springer. 2009a. Recognizing diversity in blennioid fish nomenclature (Teleostei: Blennioidei). *Zootaxa* 2120: 3-14.
- Hastings, P.A.** y V.G. Springer. 2009b Systematics of the Blennioidei and the Included Families Dactyloscopidae, Chaenopsidae, Clinidae y Labrisomidae. Pp. 3-30, In: Patzner, R. A., E. J. Gonçalves, P. A. Hastings y B. G. Kapoor (Eds). *The Biology of Blennies*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.
- Hickey, A.J.R.,** S.D. Lavery, D.A. Hannan, C.S. Baker y K.D. Clements. 2009. New Zealand triplefin fishes (family Tripterygiidae): contrasting population structure and mtDNA diversity within a marine species flock. *Molecular Ecology* 18: 680-696.
- Hillis, D.M.,** C. Moritz y B.K. Mable. 1996. *Molecular Systematic*. 2a. ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 pp.
- Huelsenbeck, J.P.** y F.R. Ronquist. 2001. MrBayes : Bayesian estimation of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Hurtado, L.A.,** M. Frey, P. Gaube, E. Pfeiler y T.A. Markow. 2007. Geographical subdivision, demographic history and gene flow in two sympatric species of intertidal snails, *Nerita scabricosta* and *Nerita funiculata*, from the tropical Eastern Pacific. *Marine Biology* DOI 10.1007/s00227-007-0620-5.
- Hyrenbach, K.D.,** K.A. Forney y P.K. Dayton. 2000. Marine protected areas and ocean basin management. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 10: 437-458.
- Keith, P.,** C. Lord, J. Lorion, S. Watanabe, K. Tsukamoto, A. Couloux y A. Dettai. 2011. Phylogeny and biogeography of Sicydiinae (Teleostei: Gobiidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Marine Biology* 158: 311-326.
- Kotrschal, K.** y D.A. Thomson. 1986. Feeding patterns in eastern tropical Pacific blennioid fishes (Teleostei: Tripterygiidae, Labrisomidae, Chaenopsidae, Blenniidae). *Oecologia* 70: 367-378.
- Lawrence, K.T.,** Z. Liu y T.D. Herbert. 2006. Evolution of the Eastern Tropical Pacific Through Plio-Pleistocene Glaciation. *Science* 312: 79-83.
- León-Chávez, C.A.,** L. Sánchez-Velasco, E. Beier, M.E. Lavín, V.M. Godínez y J. Färber-Lorda. 2010. Larval fish assemblages and circulation in the Eastern Tropical Pacific in Autumn and Winter. *Journal of Plankton Research* 32(4): 397-410.
- Lessios, H.A.** 2008. The Great American Schism: Divergence of Marine Organisms After the Rise of the Central American Isthmus. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 63-91.



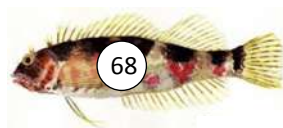
- Lin, H.C. y P. Hastings. 2011. Evolution of a Neotropical marine fish lineage (Subfamily Chaenopsinae, Suborder Blennioidei) based on phylogenetic analysis of combined molecular and morphological data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 60: 236-248.
- Lin, H.C. y P. Hastings. 2013. Phylogeny and biogeography of a shallow water fish clade (Teleostei: Blenniiformes). *BMC Evolutionary Biology* 13: 210.
- Lyle, M., I. Koizumi, M.L. Delaney y J.A. Barron. 2000. Sedimentary record of the California Current system, middle Miocene to Holocene: A synthesis of Leg 167 results. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results* 167: 134-376.
- McCartney, M.A., G. Keller y H.A. Lessios. 2000. Dispersal barriers in tropical oceans and speciation in Atlantic and eastern Pacific sea urchins of the genus *Echinometra*. *Molecular Ecology* 9: 1391-1400.
- Muss, A., R. Robertson, C.A. Stepien, P. Wirtz y B.W. Bowen. 2001. Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. *Evolution* 55(3): 561-572.
- O'Dea, A., N. Hoyos, F. Rodríguez, B. Degracia y C. De Gracia. 2012. History of upwelling in the Tropical Eastern Pacific and the paleogeography of the Isthmus of Panama. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology* 348-349: 59-66.
- Palumbi, S.R. 1996. What can molecular genetics contribute to marine biogeography? An urchin's tale. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 203: 75-92.
- Palumbi, S.R. 2003. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecological Applications* 13(1): 146-158.
- Petersen, C.W. 1988. Male mating success, sexual size dimorphism, and site fidelity in two species of *Malacoctenus* (Labrisomidae). *Environmental Biology of Fishes* 21(3): 173-183.
- Pfeiler, E.P., J. Colborn, M.R. Douglas y M.E. Douglas. 2002. Systematic status of bonefishes (*Albula* spp) from the eastern Pacific Ocean inferred from analyses of allozymes and mitochondrial DNA. *Environmental Biology of Fishes* 63: 151-159.
- Pondella, D.J.Jr., M.T. Craig y J.P.C. Franck. 2003. The phylogeny of *Paralabrax* (Perciformes: Serranidae) and allied taxa inferred from partial 16S and 12S mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 176-184.
- Quenouille, B., E. Bermingham y S. Planes. 2004. Molecular systematics of the damselfishes (Teleostei: Pomacentridae): Bayesian phylogenetic analyses of mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 66-88.
- Raymo, M.E. 1994. The Initiation of Northern Hemisphere Glaciation. *Annual Review Of Earth And Planetary Sciences* 22: 353-383.
- Riginos, C. y B. Victor. 2001. Larval spatial distributions and other early life-history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proceedings of the Royal Society of London* 268: 1931-1936.
- Riginos, C. y M.W. Nachman. 2001. Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Molecular Ecology* 10: 1439-1453.
- Robertson, D.R. y G.R. Allen. 2008. Shorefishes of the tropical eastern Pacific online information system. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa (disponible en: [www.stri.org/sftep](http://www.stri.org/sftep)).



- Robertson, D.R.** y K.L. Cramer. 2009. Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 380: 1-17.
- Rocha, L.A.,** M.T. Craig y B.W. Bowen. 2007. Phylogeography and the conservation of coral reef fishes. *Coral Reefs* 26: 501-512.
- Rocha-Olivares, A.** y R.D. Vetter. 1999. Effects of oceanographic circulation on the gene flow, genetic structure, and phylogeography of the rosethorn rockfish (*Sebastes helvomaculatus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 803-813.
- Saarman, N.P.,** K.D. Louie y H. Hamilton. 2010. Genetic differentiation across Eastern Pacific oceanographic barriers in the threatened seahorse *Hippocampus ingens*. *Conservation Genetics* DOI 10.1007/s10592-010-0092-x.
- Saiki R.K.,** D.H. Geldfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuch, G. Horn, K. Mullis y H. Erlich. 1988. Primer - directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- Sambrook, J.,** E.F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Sandoval-Huerta, E.R.** 2014. Filogeografía de *Elacatinus puncticulatus* (Teleostei, Gobiidae) en el Pacífico Oriental Tropical. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tesis de Maestría. 83pp.
- Santini, F.,** L. Sorenson, T. Marcroft, A. Dornburg y M.E. Alfaro. 2013. A multilocus molecular phylogeny of boxfishes (Aracanidae, Ostraciidae; Tetradontiformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66: 153-160.
- Silvestro, D.** y I. Michalak. 2012. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity and Evolution* 12(4): 335-337.
- Sorenson, L.,** F. Santini, G. Carnevale y M.E. Alfaro. 2013. A multi-locus timetree of surgeonfishes (Acanthuridae, Percomorpha), with revised family taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 68: 150-160.
- Spalding, M.D.,** H.E. Fox, G.R. Allen, N. Davidson, Z.A. Ferdaña, M. Finlayson, B.S. Halpern, M.A. Jorge, A. Lombana, S.A. Lourie, K.D. Martin, E. McManus, J. Molnar, Ch.A. Recchia y J. Robertson. 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57(7): 573-583.
- Springer, V.G.** 1959. Systematics and Zoogeography of the Clinid Fishes of the Subtribe Labrisomini Hubbs. Department of Zoology and Institute of Marine Science, University of Texas 5: 417-492.
- Stamatakis, A.** 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-base phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22(21): 2688-2690.
- Stepien, C.A.,** A.K. Dillon, M.J. Brooks, K.L. Chase y A.N. Hubers. 1997. The Evolution of Blennioid Fishes Based on an Analysis of Mitochondrial 12S rDNA. En: T.D. Kocher, C.A. Stepien (Eds.), Molecular systematics of fishes, 245-270. Academic Press, San Diego.
- Stumpf, H.G.** 1975. Satellite Detection of Upwelling in the Gulf of Tehuantepec, Mexico. *Journal of Physical Oceanography* 5: 383-388.
- Stumpf, H.G.** y R.V. Legeckis. 1977. Satellite Observations of Mesoscale Eddy Dynamics in the Eastern Tropical Pacific Ocean. *Journal of Oceanography* 7: 648-658.



- Tamura, K.**, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei y S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Tavera, J.J.**, A. Acero., E.F. Balart y G. Bernardi. 2012. Molecular phylogeny of grunts (Teleostei, Haemulidae), with an emphasis on the ecology, evolution, and speciation history of New World species. *BMC Evolutionary Biology* 12(57): <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/12/57>.
- Taylor, M.S.** y M.E. Hellberg. 2005. Marine radiations at small geographic scales: speciation in neotropical reef gobies (*Elacatinus*). *Evolution* 59(2): 374-385.
- Taylor, M.S.** y M.E. Helleberg. 2006. Comparative phylogeography in a genus of coral reef fishes: biogeographic and genetic concordance in the Caribbean. *Molecular Ecology* 15: 695-707.
- Templeton, A.R.** 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology* 13: 789-809.
- Tornabene, L.**, C. Baldwin, L.A. Weigt y F. Pezold. 2010. Exploring the diversity of western Atlantic Bathygobius (Teleostei: Gobiidae) with cytochrome c oxidase-I, with descriptions of two new species. *Aqua* 16(4): 141-170.
- Torres-Hernández, E.** 2014. Filogeografía de *Axoclinus storeyae* (Teleostei: Tripterygiidae) en el Pacífico Mexicano. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México.
- Von der Heyden, S.**, R.C.K. Bowie, K. Prochazka, P. Bloomer, N.L. Crane y G. Bernardi. 2011. Phylogeographic patterns and cryptic speciation across oceanographic barriers in South African intertidal fishes. *Journal of Evolutionary Biology* 24: 2505-2519.
- Walker, B.W.** 1960. The distribution and affinities of the marine fish fauna of the Gulf of California. *Syst. Zool.* 9: 123-133.
- Wellenreuther, M.** y K.D. Clements. 2007. Reproductive isolation in temperate reef fishes. *Marine Biology* 152: 619-630.
- Wellington, G.M.** y B.C. Victor. 1992. Regional differences in duration of the planktonic larval stage of reef fishes in the eastern Pacific Ocean. *Marine Biology* 113: 491-498.
- Willet, C.S.**, R.R. Leben y M. Lavín. 2006. Eddies and tropical instability waves in the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69: 218-238.
- Wilson, E.C.** 1990. Mass mortality of the reef coral *Pocillopora* on the south coast of Baja California Sur, Mexico. *Bulletin Southern California Academy of Sciences* 89: 39-41.





# CAPÍTULO 11

Filogeografía de *Malaccoctenus tetranemus*  
(LABRISOMIDAE) a lo largo del Pacífico  
Oriental Tropical



## **Filogeografía de *Malacoctenus tetranemus* (LABRISOMIDAE) a lo largo del Pacífico Oriental Tropical**

### **9.1 Introducción**

La región biogeográfica del Pacífico Oriental Tropical (POT) abarca la costa sur del Pacífico en la península de Baja California, desde Bahía Magdalena, incluyendo el Golfo de California, hacia el sur hasta la parte norte de Perú (Allen y Robertson, 1998). Dentro de la región, se incluyen cinco grupos de islas oceánicas: Isla del Coco, Isla Malpelo, Atolón de Clipperton, las Revillagigedo y Galápagos (Allen y Robertson, 1998; Hastings, 2000; Robertson y Allen, 2008). Presenta una plataforma continental estrecha, constituida por una costa de arrecifes rocosos, los cuales se ven interrumpidos por dos grandes extensiones de arena, lodo o manglares, llamadas Brechas de Sinaloa (desde Topolobampo hasta Mazatlán con cerca de 370km de longitud) y Brecha Centroamericana (desde el sur del Istmo de Tehuantepec hasta Acajutla en el Golfo de Fonseca con aproximadamente 750km de extensión) (Robertson y Allen, 2008). Se ha propuesto que las brechas arenosas junto con el océano pelágico conforman los límites entre las cuatro provincias biogeográficas de la región, de Cortés (Golfo de California), Mexicana (costa de México desde Mazatlán, Sinaloa hasta el Istmo de Tehuantepec), Panámica (desde el Golfo de Fonseca en Nicaragua hasta el Golfo de Guayaquil, Perú) y Galápagos (Allen y Robertson, 1998; Hastings, 2000).

Al no presentar afloramientos rocosos significativos, estas brechas conforman una barrera biogeográfica por ausencia de hábitat para los peces sedentarios que habitan fondos rocosos (Springer, 1959; Hastings, 2000). De esta manera, las brechas podrían estar actuando como barreras a la migración de individuos y al flujo genético entre sus poblaciones, conllevando a procesos de especiación y diversificación. Se han reportado diferencias morfológicas (Hubbs, 1953; Springer, 1959; Hastings y Springer, 2009) y genéticas (Riginos y Nachman, 2001; Sandoval-Huerta, 2014; Pedraza-Marrón, capítulo uno de esta misma obra) en especies de peces crípticos distribuidas a lo largo del POT, las cuales presentan una



estructuración que se corresponde a la separación de las poblaciones ocasionadas por dichas brechas. Debido a que es posible encontrar estos patrones de diferenciación poblacional en algunos invertebrados marinos (Bayer, 1953; Ekman, 1953; Rathbun, 1925 en Springer, 1959), Springer (1959) denominó a la brecha Centroamericana como Brecha Centroamericana Faunística del Pacífico.

En peces marinos, además de la disponibilidad de hábitat adecuado, algunos de los factores físicos que influyen en la estructuración de las poblaciones son la temperatura, corrientes marinas, salinidad y aislamiento por distancia (Riginos y Nachman, 2001; Sandoval-Castillo *et al.*, 2004), o pueden estar relacionadas con características intrínsecas de la especie, tales como una capacidad de dispersión limitada, fidelidad a las áreas de crianza, historias de vida tempranas como la duración de la larva pelágica, el tipo de huevo y lugar de desarrollo larval, cuidado parental, entre otras (Lin *et al.*, 2009). Por lo que las brechas arenosas, brechas de hábitat adecuado para especies que habitan arrecifes rocosos, no necesariamente implican una barrera a la migración de los individuos entre las poblaciones. Riginos y Victor (2001) proponen que la estructuración genética entre poblaciones de peces está estrechamente relacionada con la duración de la larva pelágica que viaja a la deriva en las corrientes oceánicas. En este contexto, se ha reportado que la estructuración genética entre las poblaciones es consecuencia de la distancia que existe entre ellas, la duración de la larva y la disponibilidad de un hábitat adecuado (Riginos y Nachman, 2001), en donde, la duración de la larva pelágica y las corrientes oceánicas, podrían estar actuando en el transporte de larvas planctónicas entre las poblaciones a lo largo del POT, ayudándolas a cruzar zonas de hábitat inadecuado. Así, algunas poblaciones no mostrarían diferencias sustanciales, como se ha reportado en varias especies de peces costeros que habitan en la región (Muss *et al.*, 2001; Domínguez-López *et al.*, 2010; Bernardi *et al.*, 2014).

Por otro lado, es posible que los trabajos basados en la taxonomía tradicional no muestren una estructuración poblacional en especies crípticas distribuidas a lo largo del POT, ello debido a que en estos organismos las diferencias morfológicas son muy sutiles, por lo que la estructuración entre poblaciones podría ser aún



desconocida. En este contexto, el uso de marcadores moleculares de alta resolución pueden ayudar a dilucidar los límites entre las especies, ya que han demostrado la existencia de complejos de especies que no habían sido distinguidos por medio de la taxonomía tradicional (Tornabene *et al.*, 2010; Baldwin *et al.*, 2011; Von der Heyden *et al.*, 2011; Pedraza-Marrón, capítulo uno de esta misma obra).

Estudios filogeográficos han mostrado estructuración genética dentro y entre especies, las cuales generalmente se corresponden con provincias biogeográficas basadas en estudios taxonómicos (Briggs y Bowen, 2012). Así, el uso de datos filogeográficos, en conjunto con información aportada por la taxonomía tradicional, puede arrojar información valiosa para la delimitación de las fronteras entre especies o poblaciones (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez 2009), descubrir patrones y procesos responsables de la distribución de las especies y ser utilizado para la conservación de especies en peligro y/o la explotación de stocks de especies con importancia económica.

El trambollo pintado, *Malacoctenus tetranemus* (Labrisomidae), es una especie carnívora que habita en fondos rocosos. Presenta huevo bentónico y larva pelágica. No se ha reportado la duración de la larva pelágica de esta especie, pero se conoce que las especies hermanas, *M. hubbsi* y *M. zonogaster*, tienen una duración de larva intermedia de 24-25 días (Brogan, 1992, 1994; Bernardi *et al.*, 2014). *Malacoctenus tetranemus* es una especie endémica ampliamente distribuida a lo largo del POT, desde Baja California y el Golfo de California hasta el norte de Perú, incluyendo el Archipiélago de las Islas Galápagos (Springer, 1959; Allen y Robertson, 1998; Robertson y Allen, 2008; Humann y Deloach, 2011). Springer (1959) reconoció a las poblaciones de Baja California, Golfo de California y costa de México como la subespecie *M. t. multipunctatus* (Springer, 1959) y a las poblaciones del resto del rango como *M. t. tetranemus* (Hildebrand, 1946), las cuales son alopátricas, separadas por la Brecha Centroamericana. Mientras que en el capítulo uno de esta misma obra se reconoció a una población altamente divergente de *M. tetranemus* en la costa continental de Ecuador, que habita en simpatria con un grupo genético que se distribuye a lo largo del POT.





El presente trabajo tiene como objetivo el conocer la historia evolutiva de *M. tetranemus* por medio de análisis filogeográficos para responder a las siguientes preguntas: **1)** ¿Las subespecies reconocidas con caracteres taxonómicos se corresponden con una diferencia genética?, **2)** ¿Las brechas arenosas y el océano pelágico tienen alguna influencia sobre la estructuración poblacional de la especie?



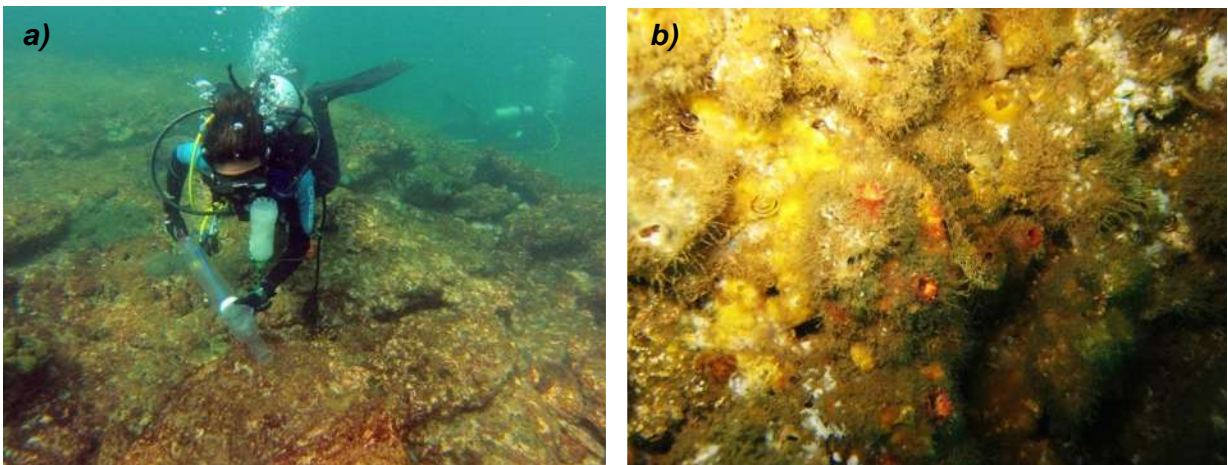


## 9.2 Materiales y Métodos

### Colecta de organismos

Se colectaron organismos de *M. tetranemus* a lo largo de las costas de México, El Salvador, Panamá, Costa Rica y Ecuador. Para ello, se utilizó equipo de Buceo Autónomo (SCUBA) y aceite de clavo como anestésico (diluido al 5% en etanol). Posteriormente, se capturó a los peces por medio de una jeringa de succión de acrílico (Fig. 19).

Una vez colectados los organismos, se procedió a la toma de porciones de tejido preservándolos en viales con etanol grado analítico al 70%, los cuales se almacenan a  $-75^{\circ}\text{C}$  en la colección de tejidos de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Los organismos colectados fueron fijados en formaldehído al 5% neutralizado con borato de sodio, lavados con agua y preservados en alcohol etílico al 70%. La identificación taxonómica se llevó a cabo con la clave de identificación de *Malacoctenus* del Pacífico (Springer, 1959). Finalmente, los organismos colectados fueron depositados en la Colección Ictiológica del Laboratorio de Biología Acuática de la UMSNH (Registro: PEC-227-07-09).



**Fig. 19.** Colecta de organismos de *M. tetranemus*.

a) Colecta por medio del uso de jeringa de succión y aceite de clavo. Foto: Eduardo Espinoza.

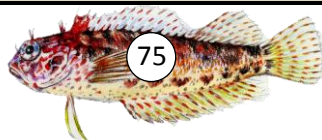
b) *Malacoctenus tetranemus*, Tangolunda, Oaxaca México. Foto: Salvador Romero.

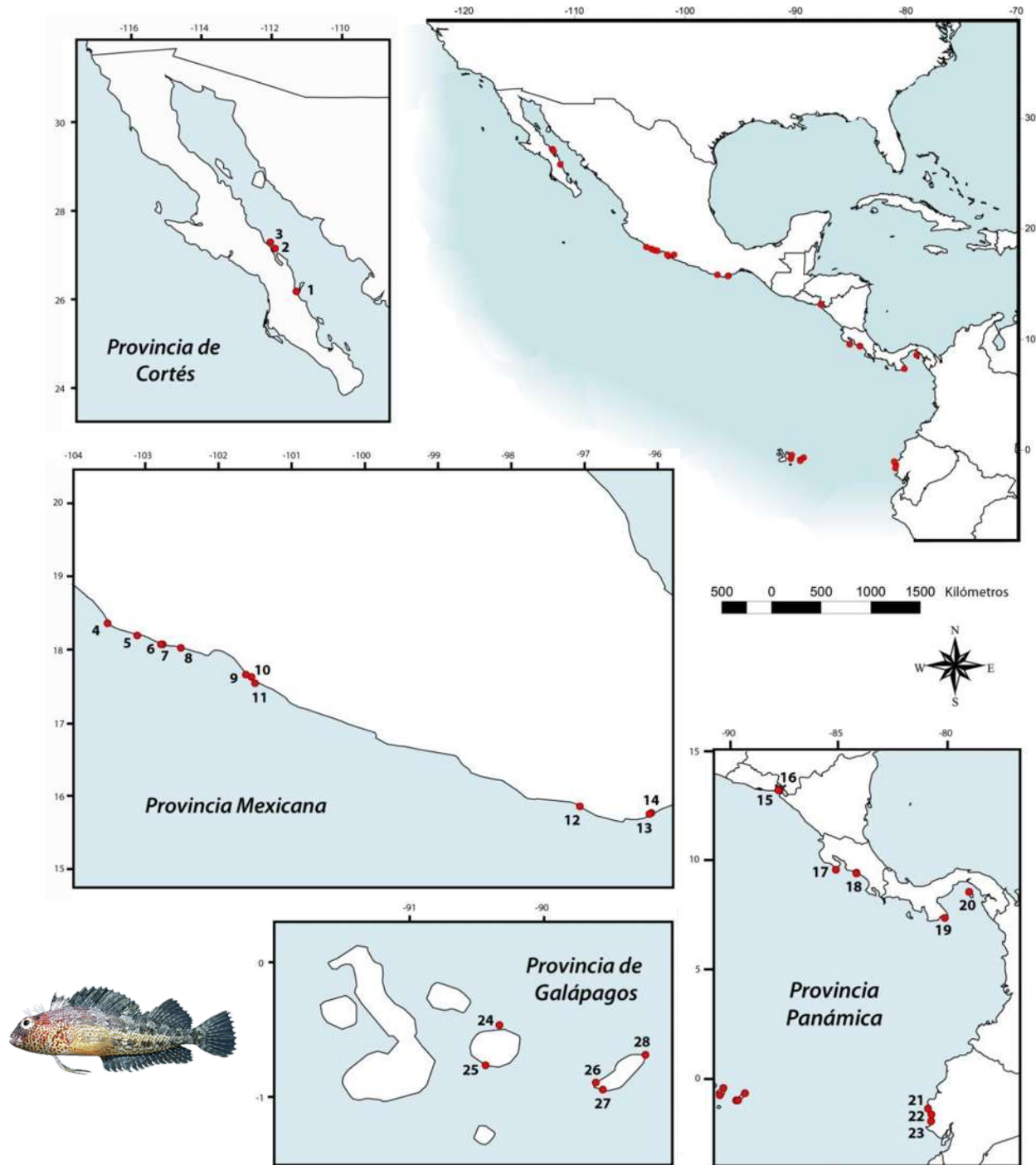
*Localidades de colecta*

Se colectaron 105 organismos pertenecientes a las 2 subespecies propuestas para *M. tetranemus* (*M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus*), en 35 localidades de las cuatro provincias biogeográficas reconocidas para el POT (Cuadro 11, Fig. 20).

**Cuadro 11.** Localidades de colecta de *M. tetranemus* a lo largo del Pacífico Oriental Tropical.

<i>Localidad</i>	<i>País</i>	<i>Provincia biogeográfica</i>	<i>Coordenadas geográficas</i>
Muelle de la API, BCS	México	Cortés	25°48'36.8"N 111°18'27.9"O
Isla San Marcos, BCS	México	Cortés	27°12'34.8"N 112°2'33.1"O
Santa Inés, BCS	México	Cortés	27°1'59.1"N 111°54'49.1"O
Las Gatas, Guerrero	México	Mexicana	17°37'19.4"N 101°33'6.9"O
Morros de Potosí, Guerrero	México	Mexicana	17°32'2.8"N 101°29'50.4"O
La Virgen, Guerrero	México	Mexicana	17°39'14.3"N 101°37'20.5"O
Zacatoso, Guerrero	México	Mexicana	17°39'14.3"N 101° ' "O
Bajo Frente al Faro, Michoacán	México	Mexicana	18°4'9.8"N 102°45'32.5"O
Barranca seca, Michoacán	México	Mexicana	18°11'28.4"N 103°6'50.6"O
Caparrosa, Michoacán	México	Mexicana	18°4'7.1"N 102°46'56.5"O
Bajos de la Manzanillera, Michoacán	México	Mexicana	18°21'18.6"N 103°30'51"O
Isla de la Manzanillera, Michoacán	México	Mexicana	18°21'14.2"N 103°31'5.9"O
La Raya, Michoacán	México	Mexicana	18°1'3"N 102°30'52.5"O
Arrocito, Oaxaca	México	Mexicana	15°1'3"N 102°30'52.5"O
La Blanca, Oaxaca	México	Mexicana	15°44'55.7"N 96°7'7.6"O
Puerto Escondido, Oaxaca	México	Mexicana	15°51'20"N 97°4'4.9"O
Tangolunda, Oaxaca	México	Mexicana	15°45'46.5"N 96°5'7"O
Morro El Tejón, Oaxaca	México	Mexicana	15°44'55.7"N 96°7'7.6"O
Piedra Bisan, Puntarenas	Costa Rica	Panamá	9°24'13.8"N 84°10'8.8"O
Isla Cabo Blanco, Puntarenas	Costa Rica	Panamá	9°32'38.6"N 85°6'49.9"O
Isla Larga, Puntarenas	Costa Rica	Panamá	9°22'52.8"N 84°9'56.7"O
Isla Orocuíta, Puntarenas	Costa Rica	Panamá	9°22'52.8"N 84°9'56.7"O
El Pelado, Santa Elena	Ecuador	Panamá	1°56'9.5"N 80°47'19.9"O
Isla Salango, Manabí	Ecuador	Panamá	1°37'13.6"N 80°49'35.5"O
Salinas, Santa Elena	Ecuador	Panamá	2°11'47.5"N 80°57'27.2"O
Pedrera La Estrella, La Unión	El Salvador	Panamá	13°10'4.2"N 87°43'25.6"O
La Unión	El Salvador	Panamá	13°10'4.2"N 87°43'25.6"O
Isla Pirigallo, La Unión	El Salvador	Panamá	13°10'30.4"N 87°41'11.7"O
Las Perlas	Panamá	Panamá	8°35'33.7"N 79°1'40.7"O
Los Frailes, Pedasí	Panamá	Panamá	7°20'51.6"N 80°8'11.5"O
Roca Ballena, San Cristóbal	Ecuador	Galápagos	0°56'48"N 89°34'52.1"O
Punta Pitt, San Cristóbal	Ecuador	Galápagos	0°42'44.9"N 89°14'52.8"O
Barco hundido de Karagua, Santa Cruz	Ecuador	Galápagos	0°53'40.2"N 89°37'2.1"O
Bahía La Fe, Santa Cruz	Ecuador	Galápagos	0°45'57.3"N 90°24'43.7"O
Roca Daphne, Santa Cruz	Ecuador	Galápagos	0°25'27.7"N 90°21'30.4"O





**Fig. 20.** Localidades de colecta de especies del género *Malacoctenus* a lo largo del POT. 1) Muelle de la API, 2) Santa Inés, 3) San Marcos, 4) Bajos de la Manzanillera, Isla de la Manzanillera, 5) Barranca seca, 6) Caparrosa, 7) Bajo Frente al Faro, 8) La Raya, 9) La Virgen, 10) Zacatoso, Las Gatas, 11) Morros de Potosí, 12) Puerto Escondido, 13) La Blanca, El Tejón, 14) Tangolunda, 15) La Estrella, La Unión, 16) Isla Pirigallo, 17) Isla Cabo Blanco, 18) Isla Larga, Orocuta, Piedra Bisan, 19) Los Frailes, 20) Las Perlas, 21) Salinas, 22) El Pelado, 23) Isla Salango, 24) Roca Daphne, 25) Bahía La Fe, 26) Barco hundido de Karagua, 27) Roca Ballena, 28) Punta Pitt. Imagen: *M. tetranemus*, tomada por Ross Robertson.

### Extracción de ADN, PCR y Secuenciación

Para la extracción del ADN se utilizó el método estándar proteinasa K/fenol/cloroformo de Hillis *et al.* (1996) modificado de Sambrook *et al.* (1989).

Posteriormente se amplificó el gen citocromo b (*Cytb*) por el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para cada muestra de ADN (Saiki *et al.*, 1988) con los primers LA (*forward*) 5' *gtgacttgaaaaaccaccggtg* 3' y HA (*reverse*) 5' *caacgatctccggtttacaagac* 3' (Dowling *et al.* 2002). La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: activación de la Taq a 94°C durante dos minutos, desnaturalización a 94°C durante 45 segundos, alineamiento a 43.3-48°C durante un minuto, elongación a 72°C durante un minuto y medio los cuales se repitieron 35 ciclos, elongación final a 72°C durante 5 minutos y refrigeración a 4°C.

Se amplificó también el gen nuclear de la rodopsina (*Rhod*) mediante los primers RH193 (*forward*) 5' *cntatgaataycctcagtactacc3'* y RH1073 (*reverse*) 5' *ccrcgcacarcgtggtgatcatg3'* (Chen *et al.*, 2003). La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: activación de la Taq a 94°C durante cuatro minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30 segundos, alineamiento a 49.9°C durante 45 segundos, elongación a 72°C durante 45 segundos, para terminar con la elongación final a 72°C durante 5 minutos y refrigeración a 10°C.

Los productos de PCR de los genes *Cytb* fueron enviados para su secuenciación a High Throughput Sequencing, Washington, EUA. Mientras que para los productos de PCR de *Rhod* se llevó a cabo la reacción de purificación utilizando columnas de Sephadex y fueron analizadas utilizando un secuenciador automático Applied Biosystem 377 en el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) Panamá.



### Alineamiento de secuencias y selección de modelo evolutivo

Las secuencias fueron alineadas de manera manual usando el programa MEGA v5.05 (Tamura *et al.* 2011), para descartar que la variabilidad se deba a artefactos del proceso de secuenciación, se corroboró la congruencia de las bases por medio de los cromatogramas. Para conocer el modelo evolutivo de sustitución que más se ajusta a las secuencias se utilizó el programa jMODELTEST v2.1.5 (Darriba *et al.*, 2012). Los modelos fueron elegidos utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC por sus siglas en inglés) como método de selección (Cuadro 12).

**Cuadro 12.** Modelos evolutivos de sustitución y parámetros estimados por el Criterio de Información de Akaike (AIC).

Gen	Modelo evolutivo	-lnL	Frecuencia de bases nucleotídicas empíricas	Proporción de sitios invariables
<i>Cytb</i>	TIM3+I	2853.1787	freqA = 0.2162 freqC = 0.3004 freqG = 0.1644 freqT = 0.3189	0.7600
<i>Rhod</i>	HKY	1125.0339	freqA = 0.1674 freqC = 0.3482 freqG = 0.2371 freqT = 0.2473	0.0

-lnL: logaritmo de la verosimilitud, Ti: transiciones, Tv: transversiones.

### Redes de haplotipos

Se realizó una red de haplotipos para los genes *Cytb* y *Rhod* con el programa NETWORK v4.5.1.6 (Bandelt *et al.* 1999) debido a que estas redes muestran una representación gráfica de la variación genética intraespecífica (Posada y Crandall, 2001).

### Estadística descriptiva

El gen nuclear *Rhod* no mostró una variación que permitiera realizar análisis a nivel poblacional como el *Cytb*, dado que presenta una tasa de mutación más lenta,





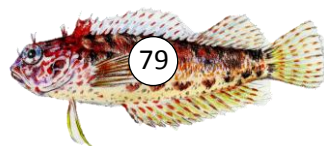
aún no presenta una cantidad de cambios que permitan observar la estructuración entre las poblaciones. Por lo cual, únicamente se utilizó este gen en los análisis de redes de haplotipos.

Para conocer la diversidad genética de las poblaciones se calcularon índices de variación genética como la diversidad haplotípica ( $H_d$ ), la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ; Nei, 1987), número de haplotipos, número de sitios polimórficos ( $S$ ) y el número promedio de diferencias nucleotídicas por pares ( $k$ ; Tajima, 1983) por medio del programa DnaSP v4.0. (Rozas *et al.* 2003) para los grupos de haplotipos obtenidos, el total de la población y el grupo de Ecuador continental.

Para evaluar la diferenciación genética entre poblaciones o grupos de poblaciones se estimaron los índices de fijación  $F_{ST}$  con ayuda del programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). El grupo divergente de Ecuador continental no fue incluido en éste análisis debido a la amplia divergencia genética que presenta respecto al grupo distribuido a lo largo del POT.

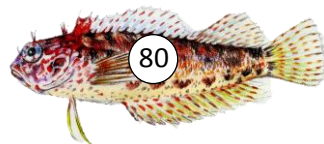
Con el objetivo de describir de qué manera está particionada la variación genética, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA), usando una matriz de distancias interhaplotípicas como distancias euclidianas, en el cual se probó el mejor agrupamiento que explica dicha variación, para ello se tomó en cuenta la regionalización de las provincias biogeográficas (Hastings, 2000), las poblaciones de las subespecies (Springer, 1959) y los haplogrupos obtenidos previamente (Excoffier *et al.* 1992). Este análisis se llevó a cabo por medio del programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).

Para probar si las poblaciones han experimentado crecimiento constante, se obtuvieron los valores de la  $D$  de Tajima, en donde se utilizan los sitios segregativos como información, y la  $F$  de Fu, la cual usa pruebas estadísticas que utilizan la distribución haplotípica. Estas pruebas de neutralidad fueron calculadas con el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).



### *Tasas de mutación y tiempos de divergencia*

Se estimaron los tiempos de divergencia entre los haplogrupos de *M. tetranemus* grupo POT, por medio del software BEAST v.1.7.2 (Drummond *et al.*, 2012), usando el modelo de sustitución nucleotídica estimado anteriormente para las secuencias del gen *Cytb*, por el método de coalescencia Bayesian Skyline (Drummond *et al.*, 2005). Se utilizó un reloj molecular relajado, calibrado con la tasa mutacional estimada para teleósteos para *Cytb* 0.0085-0.012 sustituciones/sitio/Ma (1.5-2.5% por Ma, Bowen y Grant, 1997). Se utilizaron 65,000,000 generaciones, muestreando cada 1,000 topologías. Se obtuvieron Tamaños Efectivos de Muestra (ESS) >250, descartando el 10% de las topologías para la construcción del árbol consenso, con un límite de probabilidad igual a 0.5 y límites de confianza mayores al 95% (HPD>95%).



### 9.3 Resultados

#### Secuencias obtenidas de marcadores mitocondriales y nucleares

Se obtuvo un total de 129 secuencias de los marcadores mitocondrial *Cytb* (1050pb, n=105) y nuclear *Rhod* (768pb, n=23) de organismos pertenecientes a las dos subespecies de *Malacoctenus tetranemus* (*M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus*) a lo largo de las cuatro provincias biogeográficas del POT y de las poblaciones de *M. tetranemus* del grupo de Ecuador continental (Cuadro 13).

**Cuadro 13.** Número de individuos colectados por localidad y secuencias obtenidas de cada provincia del POT.

		Núm. de Secuencias
<i>Malacoctenus tetranemus multipunctatus</i>		
<b>Cortés</b>	Muelle de la API (5), Santa Inés (6), Isla San Marcos (1)	<i>Cytb</i> 12 <i>Rhod</i> 1
<b>Mexicana</b>	Arrocito (2), Bajo frente al Faro (1), Barranca seca (1), La Blanca (2), Caparrosa (2), Puerto Escondido (2), Isla de la Manzanillera (2), Las Gatas (4), Bajos de la Manzanillera (3), Morros de Potosí (5), La Raya (7), Tangolunda (3), El Tejón (3), La Virgen (1), Zacatoso (8)	<i>Cytb</i> 47 <i>Rhod</i> 3
<i>Malacoctenus tetranemus tetranemus</i> (grupo POT)		
<b>Panámica</b>	Piedra Bisan (2), Isla Cabo Blanco (3), Isla Larga (2), Isla Orocuíta (3), El Pelado (4), Isla Salango (5), Salinas (1), Pedrera La Estrella (3), La Unión (1), Isla Pirigallo (5), Los Frailes (4), Las Perlas (3)	<i>Cytb</i> 32 <i>Rhod</i> 16
<b>Galápagos</b>	Roca Ballena (2), Roca Daphne (2), Bahía La Fe (1), Barco hundido de Karagua (5), Punta Pitt (2)	<i>Cytb</i> 12 <i>Rhod</i> 3
<i>Malacoctenus tetranemus</i> (grupo Ecuador continental)		
<b>Panámica</b>	El Pelado (2), Isla Salango (4)	<i>Cytb</i> 4 <i>Rhod</i> 6
<b>Total</b>	108 organismos	<i>Cytb</i> 105 <i>Rhod</i> 23



### Redes de haplotipos

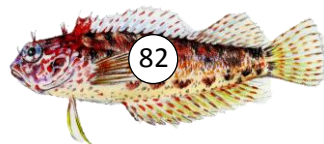
La red de haplotipos del gen *Cytb* no presenta una estructuración genética que coincida con las cuatro provincias biogeográficas del POT (Fig. 21). La diversidad nucleotídica fue elevada ( $H_d= 0.9925$ ), mientras que la diversidad nucleotídica fue baja ( $\pi= 0.0071$ ). Se observan cuatro haplogrupos bien diferenciados separados entre ocho y cuatro pasos mutacionales. Los haplogrupos I y IV se encuentran principalmente conformados por organismos pertenecientes a la provincia Mexicana, mientras que los haplogrupos II y III están representados en su mayor parte por individuos de la provincia Panámica (Fig. 21).

En el haplogrupo I, se observa que los haplotipos de la provincia Mexicana conforman el 21.1% tanto de haplotipos internos como periféricos, con un total de 42.2%, estos fueron los porcentajes más elevados seguidos por 15.8% haplotipos internos de cada una de las provincias Panámica y de Cortés, así como otro 15.8% de haplotipos periféricos de la provincia Panámica. La provincia de Galápagos no contó con haplotipos internos (Cuadro 14).

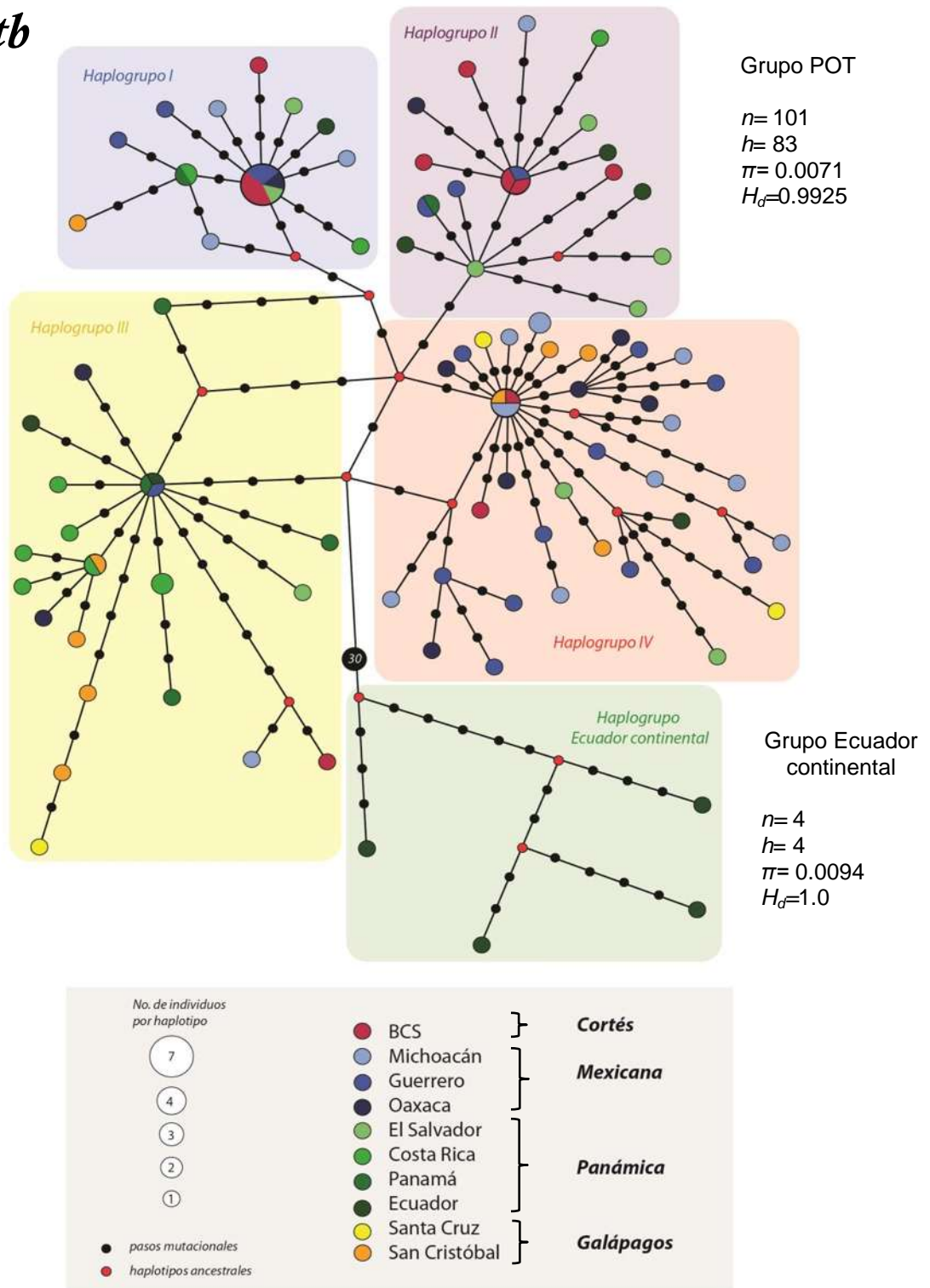
El haplogrupo II presentó 42.1% de haplotipos internos provenientes de individuos de la provincia Panámica, mientras que los haplotipos periféricos fueron principalmente representados por individuos de la provincia de Cortés (10.5%). Este grupo está conformado principalmente por haplotipos de la provincia Panámica ( $T = 47.2\%$ ) y no contiene haplotipos provenientes de la provincia de Galápagos.

El haplogrupo III fue configurado en su mayoría por la provincia Panámica, en donde 12.5% de los haplotipos fueron internos y 45.8% fueron periféricos ( $T = 58.3\%$ ). La provincia de Cortés no presenta haplotipos internos en este grupo.

Finalmente, en el haplogrupo IV los haplotipos internos y periféricos fueron representados en su mayor parte por la provincia Mexicana (10.3%, 61.5% respectivamente,  $T = 71.8\%$ ), mientras que no se encontraron haplotipos internos provenientes de la provincia Panámica.



*Cytb*



**Fig. 21.** Red de haplotipos obtenida con el gen mitocondrial *Cytb* de 101 individuos de *Malacoctenus tetranemus* grupo POT y cuatro del grupo de Ecuador continental.





**Cuadro 14.**

Porcentaje de haplotipos periféricos y centrales de cada provincia biogeográfica del POT por haplogrupos de *Malacoctenus tetranemus* grupo POT.

Provincia	Cortés			Mexicana			Panámica			Galápagos		
	I	P	T	I	P	T	I	P	T	I	P	T
Haplogrupo I	15.8	5.3	21.1	21.1	21.1	42.2	15.8	15.8	31.6	0	5.3	5.3
Haplogrupo II	10.5	15.8	26.3	5.3	21.1	26.4	5.3	42.1	47.4	0	0	0
Haplogrupo III	0	4.2	4.2	4.2	12.5	16.7	20.8	37.5	58.3	12.5	8.3	20.8
Haplogrupo IV	2.6	2.6	5.2	10.3	61.5	71.8	0	7.7	7.7	2.6	12.8	15.4

I, porcentaje de haplotipos internos; P, porcentaje de haplotipos periféricos; T, porcentaje total de haplotipos

Por otro lado, se observa además, un haplogrupo conformado por los cuatro individuos de Ecuador continental, el cual está separado por 38 pasos mutacionales de los haplotipos correspondientes a las poblaciones de *M. tetranemus* (grupo POT, dado que se encuentra integrado por individuos provenientes de las cuatro regiones biogeográficas). Los cuatro individuos de éste haplogrupo mostraron un haplotipo diferente cada uno por lo que la diversidad haplotípica fue igual a 1, la diversidad nucleotídica fue baja ( $\pi= 0.0094$ ). Los cuatro haplotipos se encuentran separados entre 7 y 17 cambios mutacionales cada uno, incluso más cambios mutacionales que los observados entre algunos haplogrupos de *M. tetranemus* grupo POT.

La red de haplotipos obtenida con el gen *Rhod* (Fig. 22), mostró concordancia con la red de haplotipos del gen *Cytb* en la división de las poblaciones de *M. tetranemus* grupo POT y grupo de Ecuador continental, en donde se observa que las poblaciones se encuentran separadas por un cambio mutacional.

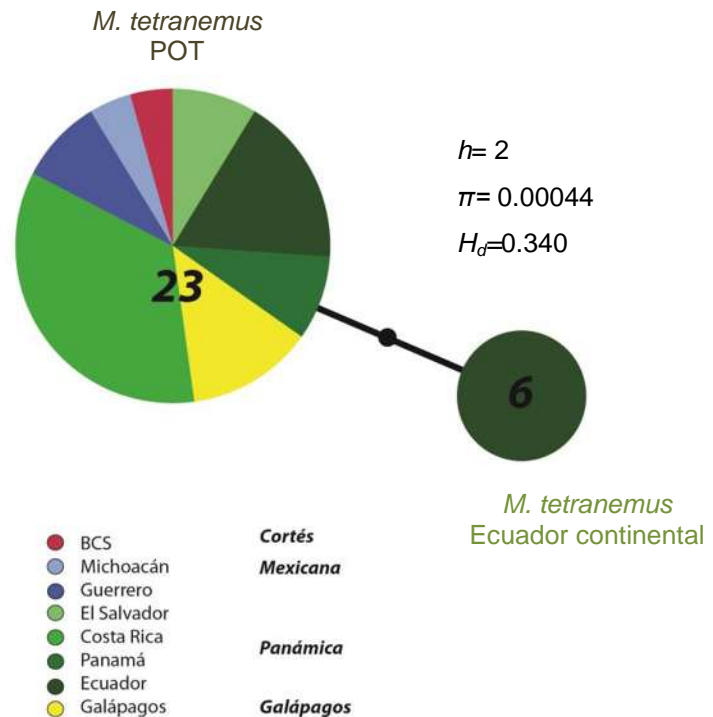
Este gen no mostró variación que permitiera observar una estructuración en las poblaciones del grupo POT. Se encontró que los 23 organismos muestreados de este grupo presentan el mismo haplotipo. Mientras que los 6 individuos del grupo Ecuador continental también están representados por un único haplotipo. Estos haplotipos se encuentran separados por un cambio mutacional. En total, se observaron una diversidad haplotípica y nucleotídica bajas ( $H_d=0.340$ ,  $\pi=0.0004$ ).



## *Rhod*

**Fig. 22.**

Red de haplotipos obtenida con el gen nuclear *Rhod* de 23 individuos de *Malacoctenus tetranemus* (grupo POT) y seis de *M. tetranemus* (Ecuador continental). El círculo negro representa un cambio nucleotídico.



### *Estadística descriptiva*

Los índices de diversidad genética para el gen *Cytb* de *M. tetranemus* grupo POT por haplogrupos (Cuadro 15) mostraron una diversidad haplotípica elevada en los cuatro haplogrupos ( $H_d$  total 0.993, 0.871-0.991). El haplogrupo IV fue el que mostró la  $H_d$  más elevada (0.991) ya que se encontraron 35 haplotipos en 39 individuos. El valor más bajo fue registrado para el haplogrupo II ( $H_d=0.871$ ) con 12 haplotipos en 19 organismos. Todos los haplogrupos mostraron una diversidad nucleotídica baja ( $\pi$  total 0.007, 0.002-0.005), el valor más bajo fue encontrado en el haplogrupo II ( $\pi=0.002$ ) mientras que el más alto en el haplogrupo IV ( $\pi=0.005$ ).



El haplogrupo IV presentó los valores más elevados del valor promedio de diferencias nucleotídicas por pares y número de sitios polimórficos ( $k=4.92$  y  $S=59$ ), mientras que los valores más bajos fueron registrados para el haplogrupo II ( $k=1.88$  y  $S=15$ ). El grupo *M. tetranemus* de Ecuador continental mostró una  $H_d$  igual a uno, una  $\pi$  baja (0.069), el valor más elevado de diferencias nucleotídicas por pares ( $k=9.83$ ) y 19 sitios polimórficos.

**Cuadro 15.**

Índices de diversidad genética del gen *Cytb* para *Malacoctenus tetranemus* grupo POT y grupo Ecuador continental.

Haplogrupo	N	Hn	$H_d \pm \sigma$	$\pi \pm \sigma$	k	S
<i>M. tetranemus</i> grupo POT	101	83	0.9925±0.004	0.0071±0.004	7.496	113
Haplogrupo I	19	16	0.9766±0.03	0.0033±0.001	3.44	26
Haplogrupo II	19	12	0.8713±0.07	0.0018±0.001	1.88	15
Haplogrupo III	24	20	0.9819±0.02	0.0041±0.002	4.31	33
Haplogrupo IV	39	35	0.9906±0.01	0.0047±0.002	4.92	59
<i>M. tetranemus</i> grupo Ecuador continental	4	4	1	0.0692±0.48	9.83	19

N, número de individuos; Hn, número de haplotipos;  $H_d$ , diversidad haplotípica;  $\pi$ , diversidad nucleotídica; k, promedio de diferencias nucleotídicas por pares; S, número de sitios polimórficos.

*Estructura poblacional*

Se muestran los valores de diferenciación genética entre los haplogrupos de *M. tetranemus* (grupo POT) (Cuadro 16). Se observaron valores significativos de  $F_{ST}$  mayores a 0.4, en donde los haplogrupos II y III mostraron el valor más elevado (0.669) y el valor más bajo (0.425) entre los haplogrupos I y IV.

**Cuadro 16**

Valores del índice de diferenciación  $F_{ST}$  entre los haplogrupos de *M. tetranemus* grupo POT.

	Haplogrupo I	Haplogrupo II	Haplogrupo III
Haplogrupo II	*0.6567	-	
Haplogrupo III	*0.6091	*0.6694	-
Haplogrupo IV	*0.4246	*0.5026	*0.5029

\*Valores de  $p < 0.05$



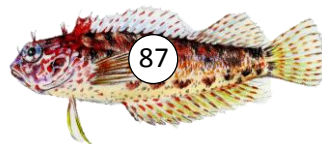
El primer agrupamiento para los análisis de AMOVA consideró todas las poblaciones de *M. tetranemus* grupo POT contra los individuos de la población de *M. tetranemus* del grupo de Ecuador continental, en dicha comparación se obtuvo el mayor porcentaje de variación entre grupos (80.38%) (Cuadro 17).

**Cuadro 17.**

Análisis de AMOVA entre poblaciones de *Malacoctenus tetranemus* con base en las secuencias del gen *Cytb*.

Grupos	F <sub>ST</sub>	F <sub>CT</sub>	F <sub>SC</sub>	Entre grupos	% de variación Entre poblaciones dentro de los grupos	Entre poblaciones
<i>M. tetranemus</i> (grupo POT) <b>vs</b> <i>M. tetranemus</i> (Ecuador cont.)	*0.8179	0.8038	*0.0718	<b>80.38</b>	1.41	18.21
<i>M. t. multipunctatus</i> (Cortés y Mexicana) <b>vs</b> <i>M. t. tetranemus</i> (Panámica y Galápagos)	*0.0864	*0.0607	0.0274	6.07	2.57	91.36
Cortés/ Mexicana/ Panámica/ Galápagos	*0.0771	*0.0708	0.0067	7.08	0.62	92.29
Cortés y Mexicana/ Panámica/ Galápagos	*0.0834	*0.0658	0.0188	6.58	1.76	91.66
Cortés/ Mexicana/ Centroamérica/ Sudamérica/ Galápagos	*0.0733	*0.0654	0.0085	6.54	0.79	92.67
Cortés y Mexicana/ Centroamérica/ Sudamérica/ Galápagos	*0.0785	*0.0580	0.0217	5.80	2.05	92.15
Cortés y Mexicana/ Centroamérica/ Sudamérica y Galápagos	*0.0794	*0.0574	0.0234	5.74	2.20	92.06
Cortés, Mexicana y Panámica/ Galápagos	*0.0822	0.0293	*0.0545	2.93	5.29	91.78
Grupos filogenéticos Haplogrupo I/ Haplogrupo II/ Haplogrupo III/ Haplogrupo IV	*0.5641	*0.5177	*0.0964	<b>51.76</b>	4.65	43.59

Los valores fueron significativos,  $p < 0.05$



La comparación entre las poblaciones de las dos subespecies reconocidas no mostró un porcentaje de variación elevado entre grupos (6.07%). De igual manera, los diferentes arreglos entre las cuatro provincias reconocidas en el POT (Hastings, 2000; Allen y Robertson, 2008) no mostraron una diferenciación importante con porcentajes de variación bajos (2.93-7.08%).

Mientras que el mayor porcentaje de diferenciación entre grupos en las poblaciones de *M. tetranemus* grupo POT ocurrió con un arreglo correspondiente a los clados filogenéticos (51.76%).

#### *Demografía histórica*

Los valores de la  $F$  de  $F_u$  obtenidos fueron negativos y significativos para todos los haplogrupos (-8.580 a -25.554) y para la población total (-24.833). De igual manera, los valores  $D$  de Tajima observados fueron negativos y significativos, tanto para la población total (-2.166) como para los haplogrupos (-1.9433 a -2.335) (Cuadro 18). El haplogrupo IV presentó los valores de neutralidad más bajos ( $F$  de  $F_u = -24.833$ ,  $D$  de Tajima = -2.335). Mientras que los valores más altos fueron encontrados en el haplogrupo II ( $F$  de  $F_u = -8.580$ ) y haplogrupo III ( $D$  de Tajima = -1.943). Mientras que los valores obtenidos para *M. tetranemus* grupo Ecuador continental no fueron significativos ( $F = -0.524$ ,  $D = 0.314$ ).

**Cuadro 18.** Pruebas de neutralidad de las secuencias de *Cytb* de *M. tetranemus*.

<i>M. tetranemus</i>	$F$ de $F_u$	$D$ de Tajima
Haplogrupo I	-12.3447 $p=0.000^*$	-2.1093 $p=0.007^*$
Haplogrupo II	-8.5798 $p=0.000^*$	-2.0983 $p=0.005^*$
Haplogrupo III	-15.1510 $p=0.000^*$	-1.9431 $p=0.008^*$
Haplogrupo IV	-25.5536 $p=0.000^*$	-2.3348 $p=0.002^*$
<b>Total grupo POT</b>	-24.8330 $p<0.000^*$	-2.1660 $p=0.001^*$
<b>Total grupo Ecuador cont.</b>	-0.5239 $p=0.463$	0.3144 $p=0.358$

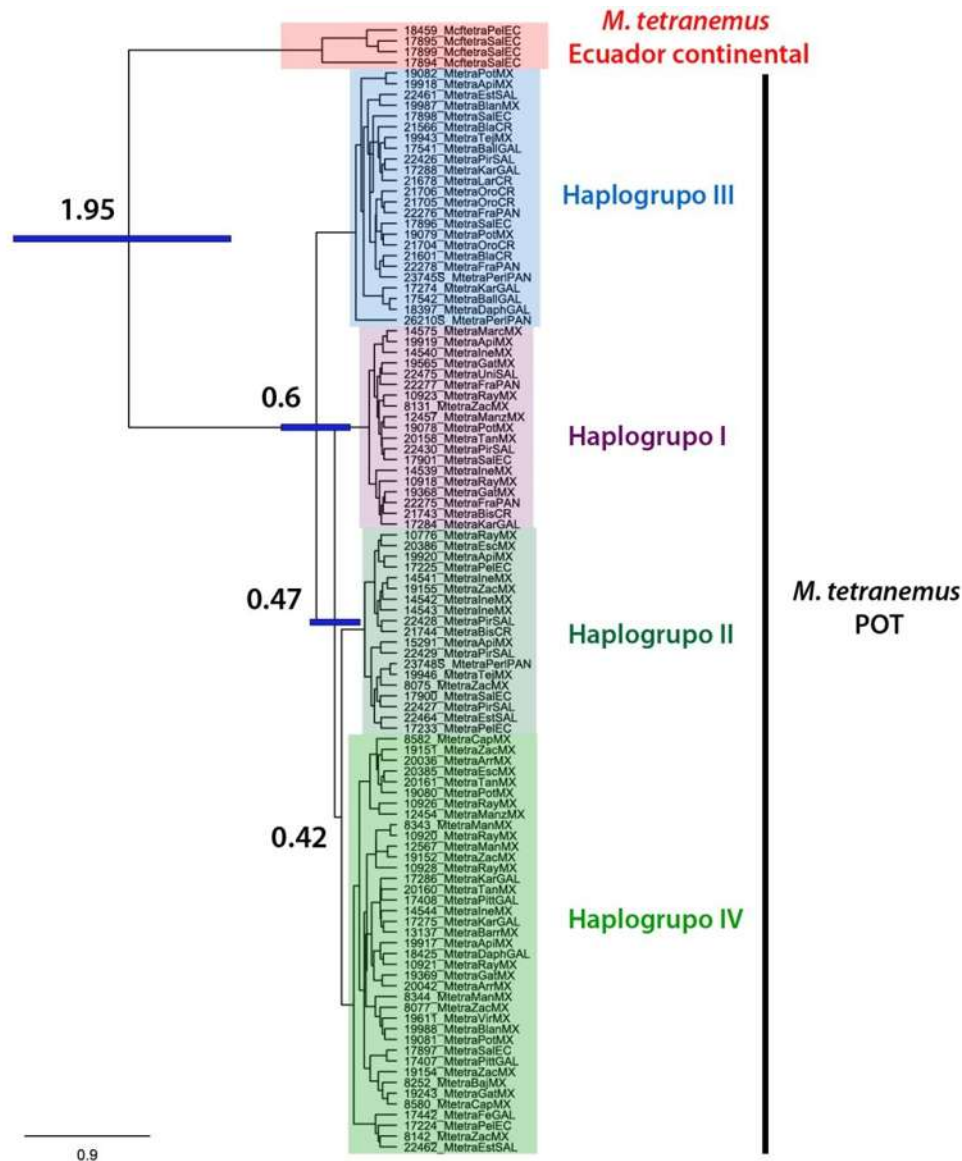
\*Valores de  $p < 0.05$



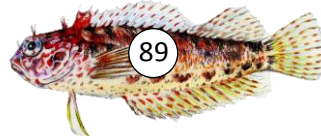


Tiempos de divergencia

Los tiempos de divergencia calculados entre los haplogrupos de *M. tetranemus* grupo POT fueron de 0.6 Ma del haplogrupo III con el resto y de 0.47-0.42 Ma entre los haplogrupos I, II y IV (Fig. 23).



**Fig. 23.** Reconstrucción filogenética por inferencia bayesiana y estimación de los tiempos de divergencia entre los haplogrupos de *M. tetranemus* grupo POT, por medio del gen *Cytb*. Se utilizó como grupo externo a *M. mexicanus*.



## 9.4 Discusión

Esta es la primera investigación en la cual no se presenta una diferenciación genética estructurada geográficamente para una especie críptica arrecifal a lo largo del POT. La red de haplotipos para el grupo POT con el gen *Cytb* mostró cuatro haplogrupos principales, los cuales, a excepción del haplogrupo I (el cual no presenta individuos de la provincia de Galápagos), están conformados por individuos provenientes de las cuatro provincias biogeográficas del POT (Fig. 21). Además, se obtuvo un grupo genéticamente diferenciado distribuido en las costas de Ecuador continental, el cual representa un linaje evolutivo independiente.

### **Biogeografía**

#### *Grupo Ecuador continental*

En el capítulo anterior se encontraron poblaciones de *M. tetranemus* provenientes de una pequeña porción de Ecuador continental, las cuales divergieron hace aproximadamente 1.6 Ma con respecto a *M. tetranemus* grupo POT (Fig. 14 y 23). Esto es coincidente a la divergencia reportada para la especiación de los erizos del género *Echinometra* (1.27-1.62 Ma), atribuida a un descenso en el nivel del mar durante el Pleistoceno ocasionado por la NGH (Glaciación del Hemisferio Norte, por sus siglas en inglés) (McCartney *et al.*, 2000), la cual produjo cambios rápidos en el nivel del mar, la temperatura de las corrientes oceánicas y en la salinidad (Lea *et al.*, 2002, Wilson, 2006, Maggs *et al.*, 2008), por lo que es probable que estos cambios en las condiciones del mar también hubieran afectado a las poblaciones de *M. tetranemus* provocando una reducción poblacional y aislando a las poblaciones de Ecuador continental. Posterior a esto, las poblaciones pudieron haber quedado separadas geográficamente por un tiempo suficiente que permitió la diferenciación genética, de manera que al estabilizarse las condiciones oceánicas y ocurrir una expansión poblacional de *M. tetranemus* grupo POT, estas se encontraran con las



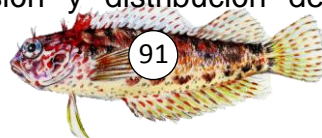
poblaciones relicto, pero cada una mantuvo su identidad genética y ahora se encuentran en simpatría.

### *Grupo POT*

Los cuatro haplogrupos encontrados dentro del grupo POT se separan por 4 a 8 pasos mutacionales (Fig. 21). Los valores de  $F_{ST}$  para la comparación de los cuatro haplogrupos fueron elevados y significativos  $F_{ST}$  0.4246-0.6694 (Cuadro 16). El AMOVA mostró valores muy bajos en el porcentaje de variación entre grupos al momento de probar una estructuración basada en la correspondencia de las provincias biogeográficas, en diferentes arreglos (2.93-7.08%). El arreglo que mejor explica la estructuración dentro del grupo POT fue el correspondiente a los cuatro haplogrupos obtenidos (51.76%) (Cuadro 17). Sin embargo, la mezcla de haplotipos muestra que existe conectividad entre las poblaciones a lo largo del POT, como sucede con algunas especies arrecifales (no crípticas) que se encuentran ampliamente distribuidas en el POT (Muss *et al.*, 2001; Craig *et al.*, 2006; Bernardi *et al.*, 2014).

Además, se observó que los cuatro haplogrupos presentan una forma de estrella en su estructura interna (Fig. 21), una  $H_d$  alta (0.982-0.871) y una  $\pi$  baja (0.002-0.008). Los valores obtenidos en las pruebas de neutralidad fueron negativos y significativos tanto para la  $D$  de Tajima  $D < 0$  (-2.335 - -1.943) como para la  $F$  de Fu (-24.833 - -8.580) (Cuadro 18). Estos resultados encontrados sugieren que la población sufrió un evento de reducción poblacional seguido por una expansión demográfica (Ramos-Onsins y Rozas, 2002).

Para estos haplogrupos se encontró un tiempo de divergencia entre 0.6 y 0.42 Ma (Fig. 23), durante el Pleistoceno Medio (0.126 - 0.780 Ma, Cohen *et al.*, 2012), en donde ocurrieron largos periodos glaciares-interglaciares durante los últimos 700,000 años (Hewitt, 1996). Estas condiciones fluctuantes pueden haber sido la causa de que esta especie sufriera una reducción poblacional histórica, provocando que los cuatro haplogrupos quedaran alopátricamente separados. Hewitt (1996), señala que la extensión y distribución de especies marinas dependió

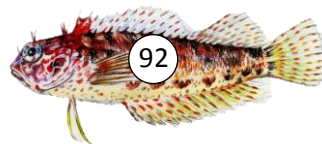


principalmente de la naturaleza de las aguas oceánicas. Por lo que pudo haber existido un evento vicariante y reducción poblacional de los cuatro haplogrupos encontrados asociada a los ciclos glaciares. Posteriormente, cuando las condiciones oceánicas se estabilizaron, estos grupos aislados lograron expandirse y colonizar nuevamente todas las regiones del POT, por lo que actualmente encontramos organismos de prácticamente todas las provincias dentro de los cuatro haplogrupos.

Cabe señalar que por medio de las redes de haplotipos es posible hacer inferencias sobre las relaciones evolutivas intraespecíficas, debido a que las conexiones entre los haplotipos representan eventos coalescentes, en donde los haplotipos ancestrales son internos y presentan múltiples conexiones, además de una mayor frecuencia (Clement *et al.*, 2000; Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009).

En este caso, el haplogrupo III, el primero en divergir hace aproximadamente 0.6 Ma (Fig. 23), está conformado en su mayor porcentaje por individuos provenientes de la provincia Panámica (12.5% haplotipos internos y 45.8% periféricos, 58.3% del total) e individuos de Galápagos (4.2% haplotipos internos y 16.7% periféricos, 20.9% del total) lo cual sugiere que este grupo pudo haber quedado aislado en la región Panámica. Mientras que los haplogrupos restantes divergieron entre 0.47 y 0.42 Ma, lo que, a juzgar por la proporción de haplotipos internos y periféricos en cada región, parece ser el resultado de un aislamiento de los grupos ancestrales en regiones diferentes, uno en la provincia de Cortés (haplogrupo II, 10.5% de sus haplotipos internos provienen de Cortés y 4.2% de Ecuador), y los otros dos en la provincia Mexicana (haplotipo I, con 21.1% de haplotipos internos y periféricos, en total 42.2% y haplotipo IV, 10.26% de haplotipos internos y 61.5% de haplotipos periféricos, con 71.76% del total) (Cuadro 14).

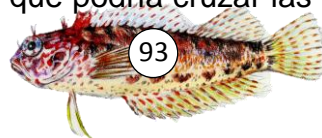
Posterior a estos eventos de reducción poblacional, las poblaciones conformadas por los haplogrupos aislados pudieron haber comenzado a expandirse por todo el POT, sin embargo, el tiempo que se encontraron separadas pudo haber sido suficiente como para provocar un aislamiento reproductivo, a pesar de que las poblaciones fueran capaces de encontrarse en simpatria, al igual que el evento



ocurrido en la separación del grupo Ecuador continental respecto al grupo POT. Sin embargo, para corroborar esta hipótesis es necesario hacer una comparación con otra fuente de información (e.g. microsatélites).

Esto indica que, a diferencia de lo presentado en el capítulo uno de esta misma obra, ni las brechas arenosas, ni las surgencias, ni los giros, funcionan como barreras al flujo de individuos entre poblaciones y regiones de este grupo a lo largo del POT. Lo cual sugiere que los patrones genéticos encontrados en las especies no solamente dependen de un hábitat adecuado para la especie, sino también de las características intrínsecas de la especie como lo son su capacidad de dispersión y estrategias reproductivas.

Poco se sabe en relación a la historia de vida o a la biología de *Malacoctenus tetranemus*, por lo que es difícil hacer una interpretación de los resultados obtenidos. Sin embargo, con las diferentes inmersiones realizadas durante la colecta de organismos para la presente investigación, podemos inferir que *M. tetranemus* es una especie con mayor tolerancia ambiental que el resto de los *Malacoctenus* que habitan en el POT, fue por mucho la especie con el mayor rango de distribución, ya que fue la única especie de *Malacoctenus* localizada en arrecifes del Golfo de Fonseca, El Salvador, límite norte de la Brecha de Centroamérica, en la cual los arrecifes son muy diferentes al resto de los sitios muestreados, pues son zonas pedregosas, poco profundas, con una gran cantidad de sedimentos de tipo limoso y con condiciones que se percibían desfavorables para especies del género. Además, es factible que esta especie se reproduzca durante todo el año, ya que se observaron machos en cortejo durante prácticamente todas las inmersiones, por lo que es factible que las larvas sean arrastradas por corrientes que las transporten, tales como la corriente Costera de Costa Rica, que fluye hacia el norte hasta la boca del Golfo de California, la Corriente de Panamá que fluye al suroeste hacia el Archipiélago de las Galápagos, la Contra Corriente Norecuatorial (CCNE) que va hacia el este del Pacífico, y las corrientes Norecuatorial (CNE) y Surecuatorial (CSE) que fluyen hacia el centro del Pacífico (Glynn y Ault, 2000; McCartney *et al.*, 2000; Robertson y Allen, 2008), por lo que podría cruzar las brechas de hábitat y el océano



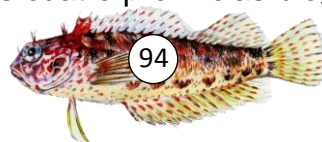


pelágico, y así mantener una migración de individuos a lo largo del POT (Fig. 24). Se ha documentado que otras especies de peces arrecifales pueden cruzar barreras oceánicas de más de 5000 km por medio del transporte de la larva pelágica (Lessios y Robertson, 2006).



**Fig. 24.** Provincias biogeográficas, brechas arenosas y principales corrientes, basado en Hastings (2000) y Cortés (1997). Los puntos rojos indican los sitios de colecta de *M. tetranemus* grupo POT y el círculo punteado indica los sitios de colecta en los que además se encuentra *M. tetranemus* grupo Ecuador continental. CNE, Corriente Norecuatorial; CCNE, Contracorriente Norecuatorial; CSE, Corriente Surecuatorial; CP, Corriente Peruana; CPAN, Corriente Panámica, CCR, Corriente Costera de Costa Rica.

Por otro lado, cabe mencionar que el POT presenta condiciones muy inestables con una circulación oceánica dinámica, eventos ENSO y afloramientos periódicos, los cuales pueden estar facilitando un flujo genético periódico entre las poblaciones pertenecientes a las cuatro provincias biogeográficas (Muss *et al.*, 2001;

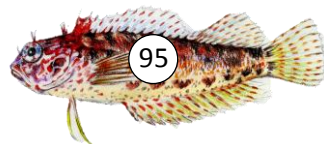


Wang y Fiedler, 2006). Las fluctuaciones en el medio oceanográfico debidas a estos eventos periódicos producen de igual manera cambios en los límites de la distribución de las especies (Robertson y Cramer, 2009). Algunas ocasiones las larvas transitan en grandes cantidades (McCartney *et al.*, 2000), tomando en cuenta que solamente se necesita una migración de uno a diez individuos por generación para mantener la divergencia de las frecuencias alélicas dentro de los haplogrupos (Mills y Allendorf, 1996) no es difícil pensar que *M. tetranemus* no presente una estructura que concuerde con la geografía de la región.

#### *Aislamiento reproductivo ante un contacto secundario*

De acuerdo a los resultados obtenidos es claro que las brechas arenosas como las conocemos actualmente no actúan como una barrera al movimiento de individuos a lo largo del POT. Sin embargo, la formación del grupo de Ecuador continental y los cuatro haplogrupos dentro del POT indican un aislamiento ancestral en alguna región del POT. Posteriormente cada haplogrupo se dispersó por todo el POT, los cuales no se mezclan ante un contacto secundario con el grupo Ecuador continental y posiblemente tampoco se mezclan entre ellos, por lo que otras fuerzas diferentes a los procesos oceanográficos, geológicos o climáticos pueden estar actuando en mantener dicha diferenciación.

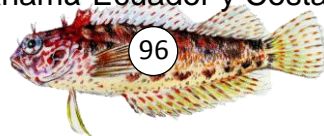
Se sabe muy poco sobre la historia de vida o a la biología de *M. tetranemus*, por lo que es difícil interpretar los resultados obtenidos tanto para los cuatro haplogrupos dentro del grupo POT como para el grupo de Ecuador continental, sin embargo, algunas observaciones de campo e información existente para otras especies de *Malacoctenus* y otras especies crípticas pueden dar algunos indicios. Los resultados obtenidos sugieren que *M. tetranemus* es capaz de desarrollar ciertos cambios al aislarse reproductivamente durante eventos que separan a las poblaciones alopátricamente por un período de tiempo suficiente, ya sea en los patrones de coloración o en comportamiento. Los individuos de *M. tetranemus* son un claro ejemplo de la plasticidad fenotípica intra especie que presentan los *Malacoctenus* (Fig. 25). Es muy probable que al momento del contacto secundario ya



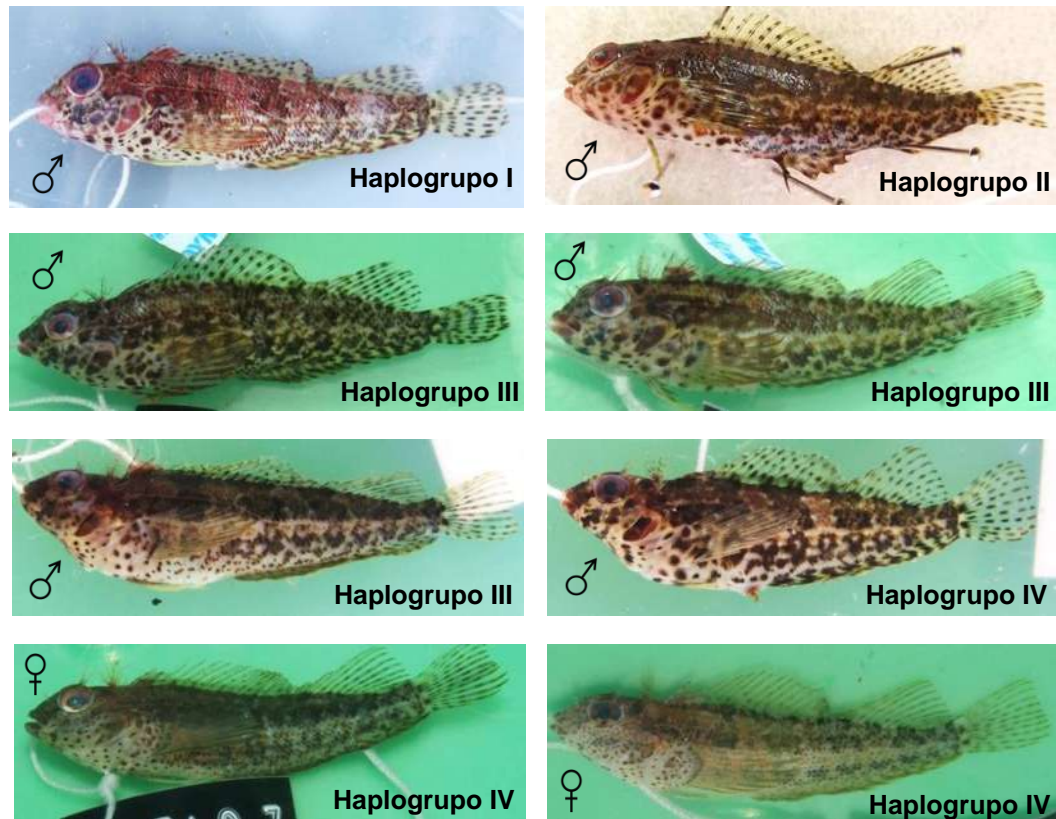
existieran diferencias sutiles en la coloración o el comportamiento reproductivo. El aislamiento reproductivo puede ocurrir cuando existe una diferencia en las preferencias de elección de pareja (Palumbi, 1998). Por lo que una selección sexual podría ser la causa de este aislamiento reproductivo a pesar de encontrarse en simpatria, actuando como mecanismo evolutivo.

Se ha reportado que los machos de algunas especies hermanas de *Malacoctenus* exhiben una coloración brillante y conspicua durante la época reproductiva (Hanlon y Hixon, 1986), además que las especies *M. ebisui*, *M. triangulatus*, *M. macropus*, *M. hubbsi* y *M. zonifer* presentan cortejo reproductivo (Wirtz, 1983; Hanlon y Hixon, 1986; Petersen, 1988). Por otra parte, estudios en la diversificación de especies de la familia Tripterygiidae en Nueva Zelanda, sugieren que la selección de pareja no está basada en diferencias en la coloración de los machos sino en el tamaño del organismo (Wellenreuther y Clements, 2007). De igual forma, el patrón de coloración ha sido implicado en la diversificación de especies (Taylor y Hellberg, 2005; Seehausen, 2006; Elmer *et al.*, 2009). Mientras que otros autores han propuesto que la diversificación en especies crípticas se ha dado por preferencias ecológicas (Riginos y Nachman, 2001; Rocha *et al.*, 2005; Eytan *et al.*, 2012).

Un caso similar a este estudio se reportó para la especie *Mugil cephalus* en el Pacífico Noroeste (Shen *et al.*, 2011), en donde se encontró un complejo de especies conformado por tres linajes que habitan en simpatria. No se encontró evidencia de flujo genético entre los distintos linajes pero sí dentro de cada uno, mostrando conectividad entre las poblaciones a lo largo de su distribución. Los autores atribuyen esta diversificación a las fluctuaciones en el nivel del mar y temperatura durante el Plio-Pleistoceno y a diferencias en el comportamiento reproductivo de los individuos, además de diferencias espaciales y temporales durante el desove de los individuos pertenecientes a los diferentes linajes. El tiempo de divergencia encontrado para dos de los linajes fue 1.7 Ma, el cual coincide con los tiempos de divergencia encontrados para *M. tetranemus* grupo POT y grupo Ecuador continental y *M. ebisui* grupo Panamá-Ecuador y Costa Rica (Capítulo I).



La importancia de esto radica en el potencial evolutivo de la especie, ya que es el primer reporte de este tipo de aislamiento seguido por una reconexión en donde las poblaciones conservan su estructura genética a pesar de ser capaces de romper las barreras geográficas.



**Fig. 24. *Malacoctenus tetranemus***

- a) Haplogrupo I, El Pelado, Santa Elena, Ecuador continental. Foto: Eloísa Torres.
- b) Haplogrupo II, Barco hundido de Karagua, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador. Foto: Eloísa Torres.
- c) Haplogrupo III, Roca Ballena, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos. Foto: Oscar Lasso.
- d) Haplogrupo III, Roca Ballena, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos. Foto: Oscar Lasso.
- e) Haplogrupo III, Barco hundido de Karagua, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador. Foto: Oscar Lasso.
- f) Haplogrupo IV, Barco hundido de Karagua, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador. Foto: Oscar Lasso.
- g) Haplogrupo IV, Punta Pitt, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador. Foto: Oscar Lasso.
- h) Haplogrupo IV, Punta Pitt, Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador. Foto: Oscar Lasso.

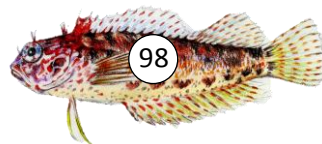
### **Sistemática y taxonomía**

Los resultados obtenidos de los análisis genéticos (redes de haplotipos, AMOVA,  $F_{ST}$ ,  $\bar{D}_p$ ) no mostraron datos que soporten la existencia de las subespecies *M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus* separadas por la brecha de Centroamérica como lo propone Springer (1959) (Cuadro 15).

Springer (1959) reporta que la diferencia entre las subespecies *M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus* consiste en la presencia de un denso patrón de puntos oscuros que presentan los organismos de *M. t. multipunctatus*.

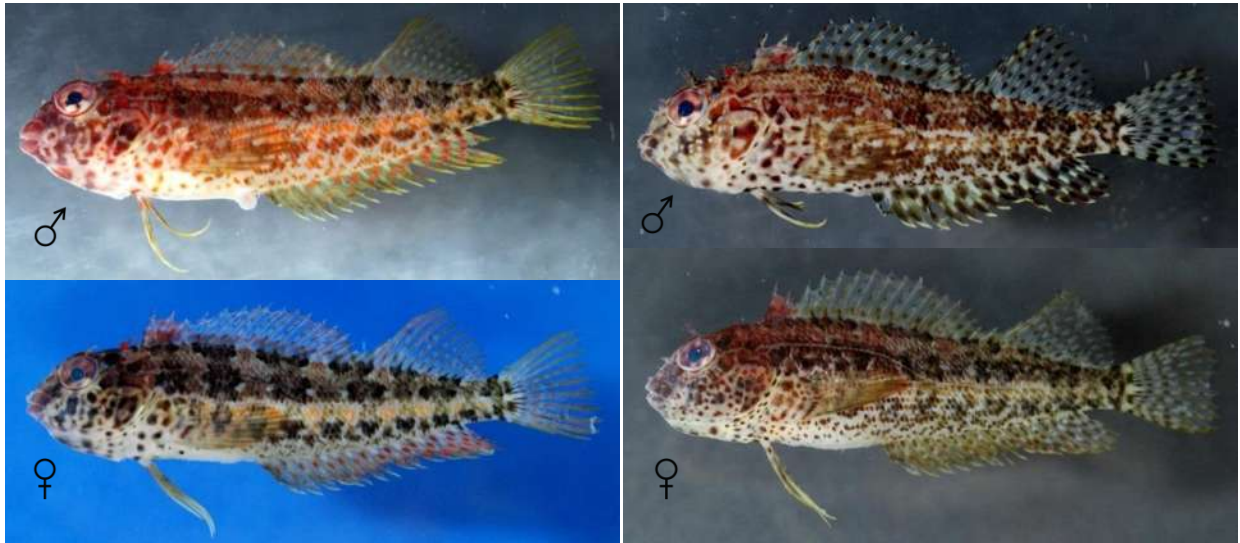
La falta de congruencia entre los datos genéticos y lo reportado por Springer puede tener dos explicaciones: 1) El carácter usado por Springer para separar las poblaciones al sur y al norte de la brecha de Centroamérica es homoplásico, por lo que no refleja la historia evolutiva de las poblaciones, no pudiendo utilizarse como un carácter que diagnostica a las dos subespecies, y 2) que esas diferencias existan entre haplogrupos y Springer pudiera haber analizado individuos de diferentes haplogrupos, uno a cada lado de la brecha. Cualquiera que sea la explicación, una conclusión a este respecto tendrá que esperar a una comparación taxonómica de los patrones genéticos aquí encontrados.

Por otro lado, las redes de haplotipos de los genes mitocondrial *Cytb* y nuclear *Rhod* mostraron que seis individuos de las localidades de Isla Salango y El Pelado, en Ecuador continental, son un grupo genéticamente distinto de *M. tetranemus* (Fig. 21 y 22). Además, este grupo presenta una diferencia genética de 3.9% (Capítulo I) respecto a *M. tetranemus*, valor que sobrepasa el 2% de divergencia mínima entre especies hermanas de peces propuesto por Avise (2000) para el *Cytb*. Este grupo no pertenece a ninguna de las otras especies de *Malacoctenus* reconocidos en el POT (Capítulo I) por lo que la evidencia molecular obtenida sugiere que se trata de una nueva especie. Sin embargo, para poder afirmar que se trata de una especie distinta es necesario incluir otra fuente de





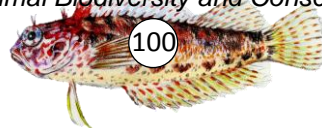
información, como datos morfológicos o merísticos. No obstante, es evidente que *M. tetranemus* grupo Ecuador continental y *M. tetranemus* grupo POT muestran diferencias sutiles en los patrones de coloración (Fig. 26).



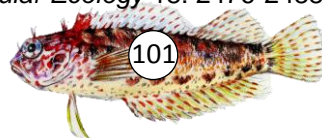
**Fig. 26.** a) *M. tetranemus* grupo Ecuador continental y b) *M. tetranemus* grupo POT. Fotos: Carmen Pedraza.

## 9.5 Referencias bibliográficas

- Allen, G.R.** y R. Robertson. 1998. Peces del Pacífico Oriental Tropical. CONABIO-Agrupación Sierra Madre. México, 2ªed., 328pp.
- Avise, J.C.** 2000. Phylogeography: The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge. 447pp.
- Baldwin, C.C.**, C.I. Castillo, L.A. Weigt y B.C. Victor. 2011. Seven new species within western Atlantic *Starksia atlantica*, *S. lepicoelia*, and *S. sluiteri* (Teleostei, Labrisomidae), with comments on congruence of DNA barcodes and species. *ZooKeys* 79: 21-72.
- Bandelt, H.J.**, P. Foster y A. Röhl. 1999. A Median-Joining Networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16(1): 37-48.
- Bernardi, G.**, M. Ramon, Y. Alva-Campbell, J.E. McCosker, G. Bucciarelli, L.E. Garske, B.C. Victor y N.L. Crane. 2014. Darwin's fishes: phylogeography of Galápagos Islands reef fishes. *Bulletin of Marine Science* 90(1): 000-000.
- Bowen, B.W.** y W.S. Grant. 1997. Phylogeography of the Sardines (*Sardinops* spp): Assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. *Evolution* 51(5): 1601-1610.
- Briggs, J.C.** y B.W. Bowen. 2012. A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *Journal of Biogeography* 39: 12-30.
- Brogan, M.W.** 1992. Ecology of larval fishes around reefs in the Gulf of California, Mexico. PhD dissertation. University of Arizona, Tucson, AZ.
- Brogan, M.W.** 1994. Distribution and retention of larval fishes near reefs in the Gulf of California. *Marine Ecology Progress Series* 115: 1-13.
- Chen, W.J.**, C. Bonillo y G. Lecointre. 2003. Repeatability of clades as a criterion of reliability: a case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26: 262-288.
- Clement, M.**, D. Posada y K.A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1660.
- Cohen, K.M.**, S. Finney, P.L. Gibbard y J.X. Fan. 2012. International chronostratigraphic chart. *Episodes* 36(3): 199-204.
- Cortés, J.** 1997. Biology and geology of eastern Pacific coral reefs. *Coral Reefs* 16: 39-46.
- Craig M.T.**, P.A. Hastings, D.J. Pondella, R. Robertson y J.A. Rosales-Casián. 2006. Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): Implications for the biogeography of the Tropical Eastern pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *Journal of Biogeography* 33: 969-979.
- Darriba, D.**, G.L. Taboada, R. Doallo y D. Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8): 772.
- Domínguez-Domínguez, O.** y E. Vázquez-Domínguez. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation* 32(1): 59-70.



- Domínguez-López, M.**, M.U. Alcocer y P. Díaz-Jaimes. 2010. Phylogeography and historical demography of the Pacific Sierra mackerel (*Scomberomorus sierra*) in the Eastern Pacific. *BMC Genetics* 11:34.
- Dowling, T.E.**, A.C. Tibbetts, W.L. Minckley y G.R. Smith. 2002. Evolutionary relationships of the Plagopterins (Teleostei: Cyprinidae) from Cytochrome b sequences. *Copeia* 2002: 665-678.
- Drummond, A.J.**, A. Rambaut, B. Shapiro y O.G. Pybus. 2005. Bayesian Coalescent Inference of Past Population Dynamics from Molecular Sequences. *Molecular Biology and Evolution* 22: 1185-1192.
- Elmer, K.R.**, T.K. Lehtonen y A. Meyer. 2009. Color assortative mating contributes to sympatric divergence of neotropical cichlid fish. *Evolution* 63-10: 2750-2757.
- Excoffier, L.** y H.E.L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver3.2: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
- Excoffier, L.**, P.E. Smouse y J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes –application to human mitochondrial- DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Eytan, R.I.**, P.A. Hastings, B.R. Holland y M. Hellberg. 2012. Reconciling molecules and morphology. Molecular systematics and biogeography of Neotropical blennies (*Acanthemblemaria*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 159-173.
- Glynn, P.W.** y Ault, S.J. 2000. A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs* 19, 1–23.
- Hanlon, R.T.** y R.F. Hixon. 1986. Behavioral associations of coral reef fishes with the sea anemone *Condylactis gigantea* in the Dry Tortugas, Florida. *Bulletin of Marine Science* 39: 130-134.
- Hastings, P.A.** 2000. Biogeography of the Tropical Eastern Pacific: distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society* 128: 319-335.
- Hastings, P.A.** y V.G., Springer. 2009. Recognizing diversity in blennioid fish nomenclature (Teleostei: Blennioidei). *Zootaxa* 2120: 3-14.
- Hewitt, G.M.** 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* 58: 247-276.
- Hillis, D.M.**, C. Moritz y B.K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. 2a. ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 pp.
- Humann, P.** y N. Deloach. 2011. Reef fish identification Galapagos. New World Publications. USA. 226 pp.
- Lea, D.W.**, P.A. Martin, D.K. Pak y H.J. Spero. 2002. Reconstructing a 350 ky history of sea level using planktonic Mg/Ca and oxygen isotope records from a Cocos Ridge core. *Q. Sci. Rev.* 21: 283-293.
- Lessios, H.A.** y D.R. Robertson. 2006. Crossing the impassable: genetic connections in 20 reef fishes across the eastern Pacific barrier. *Proceedings of the royal society* 273: 2201-2208.
- Lin, H.C.**, C. Sánchez-Ortiz y P.A. Hastings. 2009. Colour variation is incongruent with mitochondrial lineages: cryptic speciation and subsequent diversification in a Gulf of California reef fish (Teleostei: Blennioidei). *Molecular Ecology* 18: 2476-2488.



- Maggs, A.M.**, R. Castilho, D. Foltz, C. Henzler, m. Taimour-Jolly, J. Kelly, J. Olsen, K.E. Perez, W. Stam, R. Väinölä, F. Viard y J. Wares. 2008. Evaluating signatures of glacial refugia for North Atlantic benthic marine taxa. *Ecology* 89(11): 108-122.
- McCartney, M.A.**, G. Keller y H.A. Lessios. 2000. Dispersal barriers in tropical oceans and speciation in Atlantic and eastern Pacific sea urchins of the genus *Echinometra*. *Molecular Ecology* 9: 1391-1400.
- Mills, L.S.** y F.W. Allendorf. 1996. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conservation Biology* 6: 1509-1518.
- Muss, A.**, R. Robertson, C.A. Stepien, P. Wirtz y B.W. Bowen. 2001. Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. *Evolution* 55(3): 561-572.
- Palumbi, S.R.** 1998. Species formation and the evolution of gamete recognition loci. En: Endless forms: species and speciation (Eds. D.J. Howard y S.H. Berlocher), pp. 271-278. New York: Oxford University Press.
- Petersen, C.W.** 1988. Male mating success, sexual size dimorphism, and site fidelity in two species of *Malacoctenus* (Labrisomidae). *Environmental Biology of Fishes* 21(3): 173-183.
- Posada, D.** y K.A. Crandall. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution* 16(1): 37-45.
- Ramos-Onsins, S.E.** y J. Rozas. 2002. Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. *Molecular Biology and Evolution* 19(12): 2092-2100.
- Riginos, C.** y B. Victor. 2001. Larval spatial distributions and other early life-history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proceedings of the Royal Society of London* 268: 1931-1936.
- Riginos, C.** y M.W. Nachman. 2001. Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Molecular Ecology* 10: 1439-1453.
- Robertson, D.R.** y G.R. Allen. 2008. Shorefishes of the tropical eastern Pacific online information system. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa (disponible en: [www.stri.org/sftep](http://www.stri.org/sftep)).
- Robertson, D.R.** y K.L. Cramer. 2009. Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 380: 1-17.
- Rocha, L.A.**, D.R. Robertson, J. Roman y B.W. Bowen. 2005. Ecological speciation in tropical reef fishes. *Proceedings of the Royal Society* 272: 573-579.
- Rozas, J.**, J.C. Sánchez-Del Barrio, X. Messeguer y R. Rozas. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analysis by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-4496.
- Saiki R.K.**, D.H. Geldfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuch, G. Horn, K. Mullis y H. Erlich. 1988. Primer - directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- Sambrook, J.**, E.F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.



- Sandoval-Castillo, J.**, A. Rocha-Olivares, C. Villavicencio-Garayzar y E. Balart. 2004. Cryptic isolation of Gulf of California shovelnose guitarfish evidenced by mitochondrial DNA. *Marine Biology* 145: 983-988.
- Sandoval-Huerta, E.R.** 2014. Filogeografía de *Elacatinus puncticulatus* (Teleostei, Gobiidae) en el Pacífico Oriental Tropical. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 83pp.
- Seehausen, O.** 2006. African cichlid fish: a model system in adaptive radiation Research. *Proc. R. Soc. B.* 273: 1987-1998.
- Shen, K.N.**, B.W. Jamandre, C.C. Hsu, W.N. Tzeng y J.D. Durand. 2011. Plio-Pleistocene sea level and temperature fluctuations in the northwestern Pacific promoted speciation in the globally-distributed flathead mullet *Mugil cephalus*. *BMC Evolutionary Biology* 11:83.
- Springer, V.G.** 1959. Systematics and Zoogeography of the Clinid Fishes of the Subtribe Labrisomini Hubbs. Department of Zoology and Institute of Marine Science, University of Texas 5: 417-492.
- Taylor, M.S.** y M.E. Hellberg. 2005. Marine radiations at small geographic scales: speciation in neotropical reef gobies (*Elacatinus*). *Evolution* 59(2): 374-385.
- Tornabene, L.**, C. Baldwin, L.A. Weigt y F. Pezold. 2010. Exploring the diversity of western Atlantic Bathygobius (Teleostei: Gobiidae) with cytochrome *c* oxidase-I, with descriptions of two new species. *Aqua* 16(4): 141-170.
- Vázquez-Domínguez, E.**, S. Castañeda-Rico, T. Garrido-Garduño y T.A. Gutiérrez-García. 2009. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Revista Chilena de Historia Natural* 82: 277-297.
- Von der Heyden, S.**, R.C.K. Bowie, K. Prochazka, P. Bloomer, N.L. Crane y G. Bernardi. 2011. Phylogeographic patterns and cryptic speciation across oceanographic barriers in South African intertidal fishes. *Journal of Evolutionary Biology* 24: 2505-2519.
- Wang, C.** y P.C. Fiedler. 2006. ENSO variability and the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69: 239-266.
- Wellenreuther, M.** y K.D. Clements. 2007. Reproductive isolation in temperate reef fishes. *Marine Biology* 152: 619-630.
- Wilson, A.B.** 2006. Genetic signature of recent glaciation on populations of a near-shore marine fish species (*Syngnathus leptorhynchus*). *Molecular Ecology* 15: 1857-1871.
- Wirtz, P.** 1983. The reproductive behaviour of three blennioid fish endemic to the Galapagos Islands. *Noticias de Galápagos*, 37: 26-27.





## X. Discusiones generales e integración de resultados

Las especies de *Malacoctenus* que habitan en el POT presentaron diversos patrones de estructuración genética. En el presente estudio, se encontró que son diversos los factores que influyen en el flujo genético entre y dentro de las especies, entre los que se encuentran la historia evolutiva, factores oceanográficos, ecológicos e intrínsecos de las especies.

Primeramente se observó que las poblaciones de *M. margaritae*, *M. zonifer* y *M. ebisui* separadas por la brecha Centroamericana presentan diferencias genéticas elevadas. Springer (1959) reconoció subespecies que concuerdan con la separación ocasionada por la brecha para las dos primeras especies, y más tarde, por medio de la comparación de caracteres morfológicos se propuso que cuentan con las diferencias suficientes como para ser consideradas como especies (Hastings y Springer, 2009), lo cual coincide con los resultados encontrados, en donde aparecen como grupos monofiléticos independientes con los marcadores mitocondrial *Cytb*, y nucleares *Rhod* y *Rag1*. Mientras que para *M. ebisui* es la primera vez que se reconoce dicha estructuración, la cual fue evidenciada con el marcador mitocondrial *Cytb*, ya que los marcadores nucleares aún no muestran la variación genética existente entre dichas poblaciones. Por lo que, es necesario que se reconozca la existencia de la región biogeográfica Mexicana.

Los tiempos de divergencia de las subespecies de *M. margaritae* y *M. zonifer* fueron estimados en el Plioceno tardío y Pleistoceno temprano, época en la que las características del POT fueron alteradas por el cierre del Istmo Centroamericano (Lessios, 2008). En donde las poblaciones estuvieron separadas por el tiempo suficiente tomando un camino evolutivo distinto. Este aislamiento genético se encuentra actualmente ocasionado por la brecha Centroamericana de 750 km de hábitat inadecuado para éstas especies.

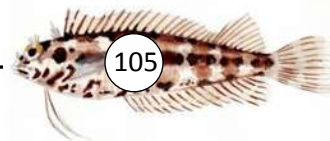
Por otro lado, se encontró que las poblaciones de *M. ebisui* al sur de la brecha Centroamericana también presentan una estructuración correspondiente con



la geografía. En donde se encontraron grupos genéticos entre Costa Rica y Panamá-Ecuador, dichas separaciones coinciden con los afloramientos estacionales del Golfo de Papagayo y Panamá, los cuales suceden durante el invierno (Glynn y Ault, 2000; Robertson y Allen, 2008), época durante la cual se reproduce la especie, seguidos de giros anticiclónicos, factores que podrían estar ocasionando una retención de larvas plantónicas y por consecuencia un aislamiento genético entre las poblaciones. Además, esta especie presenta una asociación a los corales del género *Pocillopora* (Galván-Villa, 2008), los cuales fueron afectados fuertemente por los períodos glaciares del Pleistoceno (Cortés, 1986 y 1996), por lo que estos eventos también pudieron haber influido en la configuración genética de la especie.

Por otro lado, se encontró que *M. tetranemus* no muestra ninguno de los patrones mencionados anteriormente. Se encontraron dos grupos genéticamente distintos, uno restringido a las costas de Ecuador continental y el otro distribuido por todo el POT. Los tiempos de divergencia estimados para los grupos genéticos de Ecuador continental y POT fue de 1.6 Ma, coincidiendo con la Glaciación del Hemisferio Norte (NGH), la cual trajo consigo cambios repentinos y abruptos de los niveles del mar, salinidad y temperaturas en los océanos (McCartney *et al.*, 2000), lo que pudo haber ocasionado una reducción poblacional en la que el grupo de Ecuador continental quedara aislado y más tarde, al estabilizarse las condiciones los organismos del grupo POT se dispersaron. Sin embargo, ambas poblaciones fueron capaces de desarrollar cambios que mantuvieron un aislamiento reproductivo entre dichas poblaciones en simpatría, como cambios en coloración o conducta.

Mientras que el grupo POT sufrió un segundo evento vicariante con un contacto secundario hace aproximadamente 0.6-0.42 Ma, el cual fue evidenciado por la presencia de cuatro haplogrupos. En donde los valores de  $D$  de Tajima y  $F$  de Fu indican que sufrieron una reducción poblacional, posiblemente también ocasionada por las fluctuaciones ambientales de los períodos glaciares-interglaciares del Pleistoceno Medio, en donde quedaron aisladas en diferentes zonas del POT. Posteriormente cada haplogrupo fue capaz de dispersarse por toda la región. Debido a que este grupo no mostró una estructuración correspondiente con la geografía, los

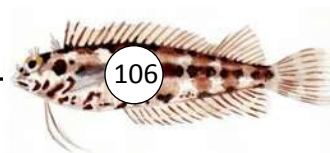


datos obtenidos no sustentan la existencia de las subespecies *M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus*, las cuales se encuentran separadas alopatricamente por la brecha Centroamericana. Se propone que esta especie es capaz de mantener un flujo genético entre las poblaciones de las cuatro provincias biogeográficas debido a que posiblemente se reproduce durante todo el año, por lo que los afloramientos estacionales durante el invierno y las barreras oceanográficas que ocasionan no la afectan, y la larva pelágica puede ser transportada por las corrientes oceánicas.

Los resultados indican que largos períodos de aislamiento geográfico entre las poblaciones de *M. tetranemus*, durante los cuales la especie es capaz de desarrollar diferencias intrínsecas, pueden ocasionar un aislamiento reproductivo a pesar de encontrarse en simpatria.

Tanto los grupos genéticos México y Costa Rica de *M. ebisui*, como *M. tetranemus* grupo Ecuador continental se encontraron como grupos genéticamente divergentes, con distancias entre 2.8 y 4.9%, por encima del valor mínimo reconocido para especies hermanas (Avice, 2000), por lo que se sugiere una revisión taxonómica de estos grupos genéticamente divergentes, debido a que posiblemente se trata de nuevas especies.

En este caso, los marcadores genéticos utilizados evidenciaron poblaciones genéticamente divergentes que no habían sido distinguidas por medio de la taxonomía tradicional. Por lo cual, se recomienda el análisis de más especies y otros grupos de organismos marinos, que ayuden a discernir los patrones de fragmentación de las poblaciones a lo largo del POT, especialmente en especies crípticas. Debido a que con estos resultados se evidencia que lo que se pensaba eran especies ampliamente distribuidas, en realidad son varias especies con rangos más restringidos, lo cual podría tener implicaciones importantes en el momento de plantear estrategias de conservación y manejo.



## XI. Conclusiones

- Las especies de *Malacoctenus* del POT presentan diferentes patrones de estructuración genética, que han sido consecuencia de la historia evolutiva, factores oceanográficos, ecológicos e intrínsecos de las especies.
- Se encontró que la brecha Centroamericana influye en la estructuración de las especies *M. margaritae*, *M. zonifer* para las cuales se han descrito subespecies y *M. ebisui*, estructuración que es reportada por primera vez, por lo que la provincia biogeográfica mexicana debe ser reconocida como tal.
- Las relaciones filogenéticas obtenidas con los genes *Cytb*, *Rho* y *Rag1* de los *Malacoctenus* del POT por método Bayesiano soportan la idea de elevar a nivel especie a las subespecies *M. m. mexicanus*, *M. m. margaritae*, *M. z. zonifer* y *M. z. sudensis*, las cuales además presentan divergencias genéticas y valores de  $F_{ST}$  elevados y significativos ( $D_p=7.8$  y  $9.6\%$ ,  $F_{ST}=0.9330$  y  $0.9656$  *Cytb* respectivamente).
- Se encontró un tiempo de divergencia de 5-6 Ma entre las subespecies de *M. margaritae* y *M. zonifer*, los cuales coinciden con cambios en las corrientes oceánicas que ocurrieron al cierre del Istmo Centroamericano, por lo que este evento pudo haber influenciado fuertemente esta diversificación.
- El gen *Cytb* mostró una estructuración genética entre las poblaciones de *M. ebisui* al sur de la brecha Centroamericana: Panamá-Ecuador y Costa Rica ( $D_p=2.8$  y  $4.9\%$ ,  $F_{ST}=0.7927$  y  $0.8712$ ), las cuales coinciden con una separación geográfica ocasionada por los afloramientos que ocurren en invierno, época en la que se reproduce la especie.
- *M. ebisui* presenta una asociación con los corales del género *Pocillopora*, los cuales sufrieron una fuerte reducción poblacional



durante los períodos glaciares del Pleistoceno, por lo que esta especie pudo haber sido afectada.

- Los análisis filogenético y filogeográficos de *M. tetranemus* con los marcadores genéticos *Cytb*, *Rhod* y *Rag1* muestran que existe un grupo hermano de *M. tetranemus*, genéticamente divergente ( $\bar{D}_p=3.9\%$  *Cytb*), en las costas de Ecuador continental. Posiblemente se trata de una población relicto que quedó aislada a causa de los cambios en el nivel del mar durante la Glaciación del Hemisferio Norte.
- Las poblaciones de *M. tetranemus* grupo POT sufrieron un aislamiento y reducción poblacional seguida por una expansión demográfica ocasionados posiblemente por las fluctuaciones ambientales durante el Pleistoceno Medio, que derivó en cuatro haplogrupos entre los cuales no existe flujo genético ( $F_{ST}=0.4246-0.6694$ ). Estos procesos demográficos son soportados por valores negativos significativos de la *D* de Tajima y *F* de Fu de cada haplogrupo.
- Las brechas arenosas de Sinaloa, Centroamericana, y el océano abierto no tienen influencia sobre la estructuración de los haplogrupos de *M. tetranemus* grupo POT a lo largo del Pacífico Oriental Tropical. Por lo que no se encontró evidencia que soporte la existencia de las subespecies *M. t. multipunctatus* y *M. t. tetranemus* ( $F_{ST}=0.0662$ ).
- El desarrollo de cambios en el comportamiento o la coloración de las poblaciones de *M. tetranemus*, cuando se encontraron aisladas geográficamente, pudo haber ocasionado un aislamiento reproductivo ante un contacto secundario, por lo que actualmente se pueden encontrar en simpatría, sin que exista un flujo genético entre los grupos genéticos mencionados.
- Los grupos genéticos *M. ebisui* México, *M. ebisui* Costa Rica y *M. tetranemus* grupo Ecuador continental, evidenciados por medio de marcadores moleculares, que no habían sido distinguidos por la taxonomía tradicional superan la distancia genética mínima reconocida para especies hermanas (Avise, 2000), por lo cual, a reserva de

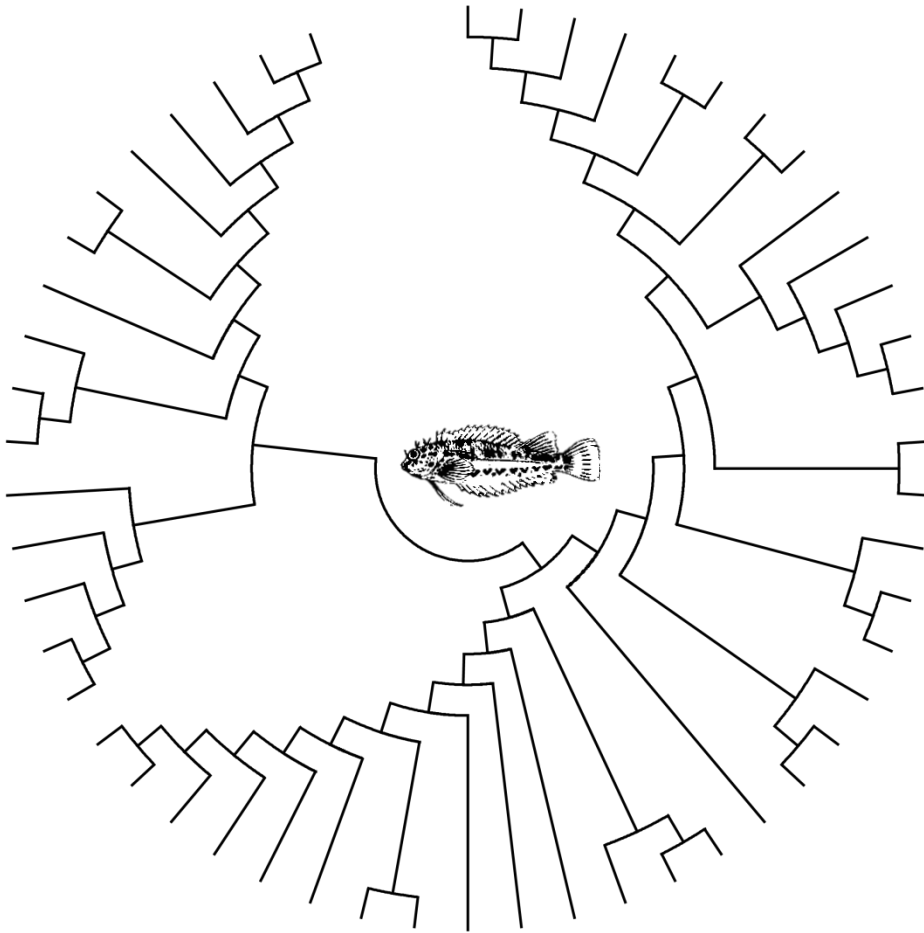




estudios morfológicos detallados, podría tratarse de especies aún no descritas.

- Debido a los patrones de estructuración genética encontrados en la mayoría de las especies, se apoya la regionalización biogeográfica propuesta por Hastings (2000) de la existencia de cuatro provincias biogeográficas: Cortés, Mexicana, Panámica y de Galápagos.





**H**istoria evolutiva del género  
*Malacoctenus* (LABRISOMIDAE)  
en el **P**acífico **O**riental **T**ropical