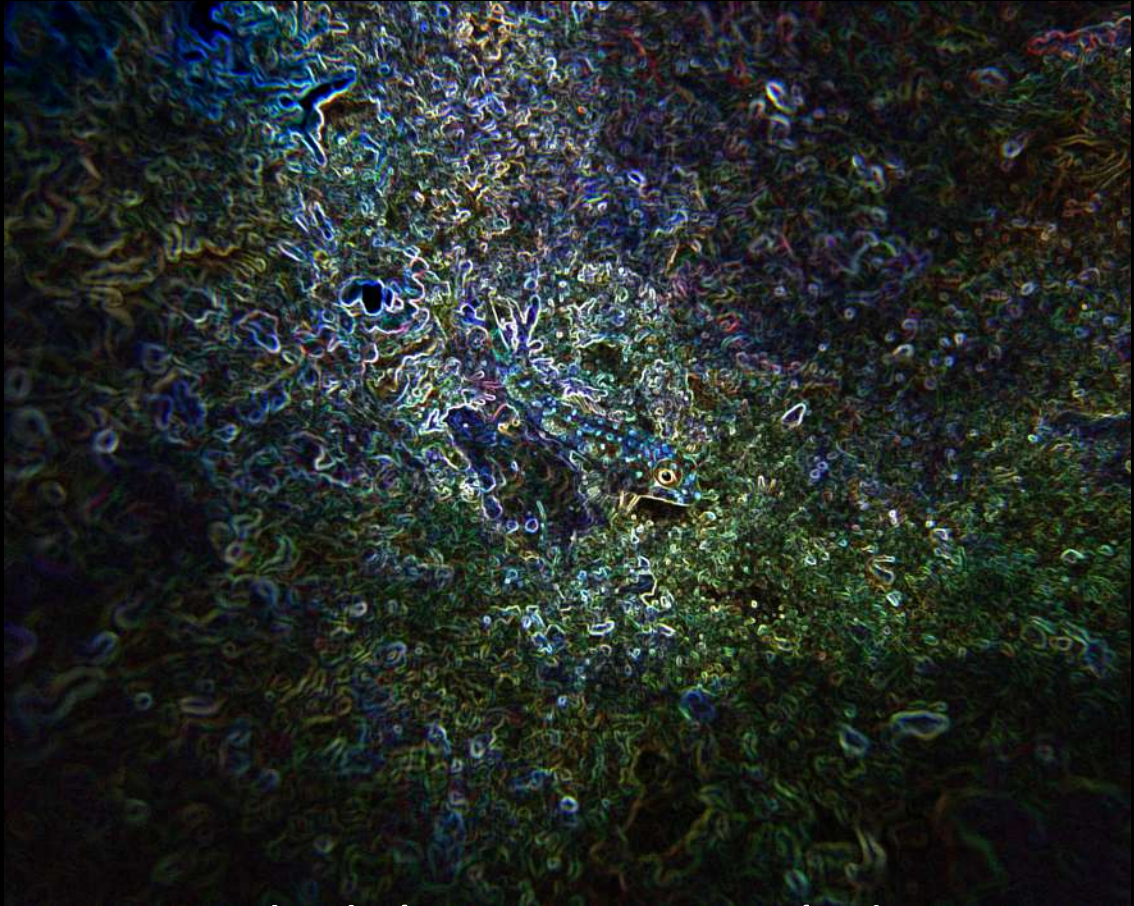




UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
Facultad de Biología
Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

Filogeografía de *Axoclinus storeyae* (Teleostei: Tripterygiidae) en el Pacífico Mexicano



Biol. Eloísa Torres Hernández

Director de tesis: Dr. Omar Domínguez Domínguez



Laboratorio de Biología Acuática
Biología Evolutiva y Conservación



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

Facultad de Biología

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas



**Filogeografía de *Axoclinus storeyae* (Teleostei: Tripterygiidae)
en el Pacífico Mexicano.**

TESIS

Para obtener el grado académico de

Maestra en Ciencias Biológicas

Ecología y Conservación

Que presenta:

Biol. Eloísa Torres Hernández

Director de tesis: Doctor en Ciencias Omar Domínguez Domínguez

Agosto 2014- Morelia, Michoacán

DEDICATORIA

*A mi familia por su apoyo incondicional.
A mis padres por compartir alegrías, tristezas, triunfos y por sus
palabras de aliento. Sin ustedes no estaría aquí, GRACIAS.
LOS AMO*

AGRADECIMIENTOS

Dr. Omar Domínguez Domínguez, mi director de tesis te agradezco infinitamente todo el apoyo que me has brindado durante la realización de este trabajo, por dejarme ser parte de este proyecto que sin duda ha marcado mi vida, por esos regaños, por esas discusiones, por esas risas, por todos estos años que me has guiado en mi formación académica, por ser un amigo.

Gracias patrón!!! Eres un gran ejemplo a seguir, toda mi admiración.

Al Dr. Phil Hastings (Scripps, EU) por donar parte del material biológico y al Dr. Ignacio Doadrio Villarejo (MNCN, España) por el apoyo para la obtención de las muestras en laboratorio. Gracias por abrirme las puertas de sus laboratorios.

Al los miembros del comité tutorial: Dr. Axayacatl Rocha Olivares, Dr. Juan Carlos Montero Castro, Dr. Antonio González Rodríguez y Dr. Gustavo Santoyo Pizano, por sus atinados y valiosos consejos para enriquecer este trabajo.

A la Facultad de Biología, a la UMSNH, al PIFI y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mi maestría y las estancias de investigación.

A mis amigos los Domínguez Boyz: Carmen del Rocío (Carmínalis), Adán Fernando, Edgar, Diushi Keri, Llanet y Sesángari, gracias por apoyarme incondicionalmente durante los momentos difíciles. Por estar a mi lado, por las risas, las travesuras, las discusiones, los enojos, etc. No podría pedir mejor equipo de trabajo. Sin ustedes no estaría aquí. Gracias totales.

Gracias a Rodo y Lore, por su paciencia y ayuda durante la realización de este trabajo.

A mis amigos del Laboratorio de Biología Acuática "LOS ACUATÍCOS", con los que he vivido grandes momentos en campo y en la vida... Gina, Mariana, Pao Torres, Adri, Chavo, Juan, Oscar, Leví.

El nuevo legado moleculero Pao Palmerín, Bere y Moí, gracias por su amistad y sus enseñanzas.

Gracias infinitas a mis padres Eloísa y José de Jesús, por no dejarme nunca, por alentarme a seguir luchando día a día. Mis hermanas Cristina y Araceli, por creer en mí.

A todas las personas que durante mi andar en estos años han contribuido a mi formación académica y personal... Gracias a todos por ser parte de mi historia.

ÍNDICE

RESUMEN	IV
SUMMARY	V
I. INTRODUCCIÓN	01
II. ANTECEDENTES	04
2.1 Sistema de corrientes del POT	04
2.2 Transporte larval	08
2.3 Ictiofauna críptica	09
2.3.1 Generalidades de <i>Axoclinus storeyae</i>	11
2.4 Estudios genéticos	12
III. HIPÓTESIS	16
IV. OBJETIVOS	16
4.1 Objetivo general	16
4.2 Objetivos particulares	16
V. MATERIALES Y MÉTODOS	17
5.1 Material Biológico	17
5.2 Revisión de los organismos	18
5.3 Extracción de ADN	20
5.4 Amplificación y secuenciación	20
5.5 Análisis de datos moleculares	21
Alineamiento	21
Red de haplotipos	21
Estructura genética	21
Índices de diversidad y demografía histórica	22
Tiempos de divergencia	23
VI. RESULTADOS	24
6.1 Material biológico	24
6.2 Análisis de datos moleculares	25
Red de haplotipos	25
Estructura genética	29
Índices de diversidad y demografía histórica	33
Tiempos de divergencia	36
VII. DISCUSIÓN	37
Historia evolutiva temprana: formación de dos grupos	37
Diferenciación dentro de la Provincia de Cortés	40
Diversidad genética	42
Conservación	43
VIII. CONCLUSIONES	45
IX. LITERATURA CITADA	47
X. ANEXOS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Regiones y Provincias biogeográficas del Pacífico Este (Modificado de Hastings, 2000 y Espinosa-Pérez y Hendrickx, 2006). A. región templada del Pacífico Nororiental, B. región del Pacífico Oriental Tropical y C. región templada del Pacífico Suroriental	1
Figura 2. Circulación de las corrientes del POT, con base en datos modernos. La leyenda de la derecha muestra los nombres de las corrientes. Por sus siglas en español: CC= Corriente de California, CNE= Corriente Norecuatorial, CCNE= Contracorriente Norecuatorial, WMC= Corriente del Oeste de México (CCM), CCR= Corriente de Costa Rica, CSE= Corriente Surecuatorial, CT= Corriente o giro de Tehuantepec. Varias marcas de interrogación indican las regiones en donde las interconexiones entre las corrientes siguen siendo desconocidas (Modificado de Kessler, 2006).	5
Figura 3. Pacífico Central Mexicano (PCM). Las flechas representan las principales corrientes en la región: CC, corrientes de California; CGC, corrientes del golfo de California; y CCM, corriente costera Mexicana. Las líneas sólidas son transectos etiquetados como Oeste, Boca, Norte, Cabo y Sur. Recuadro: posición del PCM. Tomado de Pantoja et al. (2012).	6
Figura 4. Circulación durante la formación de remolinos debido a las contracorrientes en la entrada al golfo de California. (a) Formación de remolinos anticiclónicos (A y B). (b) generación de un remolino ciclónico (caso menos común). CGC corriente del Golfo de California, CC Corriente de California y CCM corriente costera Mexicana (tomado de Pantoja et al. 2012).	7
Figura 5. Géneros de tripterígididos distribuidos en el Pacífico Oriental Tropical. Fotografías a, b y c, tomadas por el equipo de colecta CPUM. Fotografía d tomada por Gerald Allen (SFTEP-2008).	10
Figura 6. Pareja de <i>Axoclinus storeyae</i> , hembra (superior) y macho (inferior). Fotografía tomada por Ned DeLoach (SFTEP-2008).	11
Figura 7. Ubicación de los sitios de muestreo en la provincia de Cortés y Mexicana del Pacífico Oriental Tropical.	18
Figura 8. Trabajo de campo: a) búsqueda de los organismos mediante el buceo SCUBA, b) aplicación del aceite de clavo, c) uso de la succionadora en la recolecta, d) toma de fotografías en fresco (macho de <i>Axoclinus storeyae</i>). Obtención de tejidos en campo e) Golfo de California y f) etiquetados de los organismos.	19
Figura 9. Red de haplotipos obtenida con el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad 1 de <i>Axoclinus storeyae</i> . El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos que comparten el mismo haplotipo. Los círculos en blanco representan los pasos mutacionales.	26
Figura 10. Red de haplotipos para los tres haplogrupos pertenecientes a la provincia de Cortés obtenida con el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad 1 de <i>Axoclinus storeyae</i> . El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos que comparten el mismo haplotipo. Los círculos en blanco representan los pasos mutacionales.	27
Figura 11. Red de haplotipos obtenida para el gen nuclear Rodopsina de <i>Axoclinus storeyae</i> . El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos que comparten el mismo haplotipo. Los círculos en blanco representan los pasos mutacionales.	28
Figura 12. Regiones marinas prioritarias de México establecidas por la CONABIO. Tomado de Arriaga-Cabrera et al. (1998).	33
Figura 13. Representación gráfica del SAMOVA K=3, para los sitios de muestreo por	33

Regiones Marinas Prioritarias. Las líneas en rojo indican las barreras definidas.	
Figura 14. Reconstrucción filogenética por inferencia bayesiana de coalescencia y estimación de tiempos de divergencia de <i>Axoclinus storeyae</i> , con el gen mitocondrial COI. En morado Provincia Mexicana, en azul la Provincia de Cortés.	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Modelo evolutivo y parámetros estimados para COI y Rho por el criterio de información Akaike (AIC).	21
Tabla 2. Organismos secuenciados y ubicación geográfica de las localidades. N= número total de individuos colectados por sitio. n= individuos secuenciados para el gen mitocondrial COI y el gen nuclear Rho.	24
Tabla 3. Distancias genéticas p (%) (bajo la diagonal) y error estándar (arriba de la diagonal) de las secuencias de los cuatro haplogrupos identificados para el gen COI de <i>Axoclinus storeyae</i> .	29
Tabla 4. Valores de diferenciación genética Φ_{st} entre haplogrupos. *Valores significativos.	29
Tabla 5. Estructura genética a través del análisis de varianza molecular (AMOVA) entre provincias del POT para el gen mitocondrial COI. *Valores significativos ($P < 0.05$).	30
Tabla 6. Regiones Marinas Prioritarias utilizadas en las que se encuentran los sitios de muestreo de <i>Axoclinus storeyae</i> en el Pacífico Mexicano.	31
Tabla 7. Análisis de SAMOVA agrupando por Regiones Marinas Prioritarias con base en el gen mitocondrial COI. *Valores significativos ($P < 0.05$).	32
Tabla 8. Valores de diversidad genética con el COI para <i>Axoclinus storeyae</i> . N= número de individuos, Hn= número de haplotipos, H _d = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica, k = promedio de diferencias nucleotídicas por pares, S= números de sitios polimórficos. Pruebas de neutralidad; D _t =D de Tajima y F _s de Fu. *Valores significativos ($P < 0.05$).	34
Tabla 9. Valores de R2 (Ramos-Onsins y Rozas, 2002) y valores de significancia (P) para el gen mitocondrial COI.	34
Tabla 10. Diversidad genética del gen nuclear rodopsina para <i>Axoclinus storeyae</i> . N=número de individuos, Hn=número de haplotipos, H _d =diversidad haplotípica, π =diversidad nucleotídica, k =promedio de diferencias nucleotídicas por pares, S =número de sitios polimórficos.	35
Anexo 1. Distancias genéticas p (%) (bajo la diagonal) y error estándar (arriba de la diagonal) de las secuencias de <i>Axoclinus storeyae</i> para el gen mitocondrial COI.	60
Anexo 2. Distancias genéticas p (%) (bajo la diagonal) y error estándar (arriba de la diagonal) de las secuencias de <i>Axoclinus storeyae</i> para el gen nuclear Rho.	61

RESUMEN

El Pacífico Oriental Tropical (POT) se encuentra dividido geográficamente en tres provincias: de Cortés, Mexicana y Panámica. La primera comprende el Golfo de California, la segunda se delimita al norte por la brecha de Sinaloa y al sur por el istmo de Tehuantepec, y la tercera del Istmo de Tehuantepec al Golfo de Guayaquil, Ecuador. Dichos límites funcionan como barreras geográficas pues son grandes extensiones de fondos fangosos; debido a esto se cree que estas barreras pueden ser importantes en los procesos de conectividad en poblaciones de organismos asociadas a fondos rocosos. El pez marino *Axoclinus storeyae* pertenece a la familia Tripterygiidae se distribuye en arrecifes tropicales y templados del Indo-Pacífico. Son considerados como parte de la ictiofauna críptica, la cual ha sido poco estudiada debido a sus características como pequeño tamaño y su excelente capacidad para mimetizarse. *Axoclinus storeyae* es endémico del POT, distribuyéndose únicamente en México. A lo largo de su rango de distribución encontramos la Brecha de Sinaloa (370 km), que divide los arrecifes rocosos del norte y centro de México, dicha brecha es considerada una barrera para la dispersión de los organismos arrecifales, lo que podría estar influyendo de forma importante en la diferenciación genética entre las poblaciones de esta especie. El presente trabajo tiene como objetivo indagar en la historia evolutiva de la especie y si esta brecha tiene alguna influencia en dicha historia. Se obtuvieron 126 secuencias del gen citocromo oxidasa sub-unidad I (COI) y 24 del gen rodopsina (Rho). Rho sugiere que la población ancestral estaba distribuida en la provincia Mexicana. Las poblaciones de la Provincia de Cortés y la Mexicana presentan divergencias de $\bar{D}_p = 1.32\%$ ($S_D = 0.31\%$). La diferenciación genética entre provincias es alta ($\Phi_{st} = 0.452$, $p < 0.0001$). El AMOVA recupero 58.76% de la variación entre los cuatro haplogrupos. Por su parte el SAMOVA divide los organismos recolectados en los estados de Baja California Sur y Sonora (provincia de Cortés), marcando una barrera entre estas poblaciones y el resto (provincia Mexicana). Esta barrera se ubica en la zona conocida como brecha de Sinaloa. La red de haplotipos para COI mostró cuatro haplogrupos, tres pertenecientes a la provincia de Cortés y uno a la Mexicana. La presencia de haplotipos del estado de Sonora en ambas provincias, sugiere el flujo genético unidireccional, la corriente costera Mexicana puede estar favoreciendo esta dispersión en la temporada reproductiva. COI arrojó valores negativos y significativos en los análisis de neutralidad, valores bajos de R_2 , diversidad haplotípica alta y agrupamiento de los haplotipos en forma de “estrella”, en conjunto esto indica eventos de expansión poblacional relativamente reciente, asociados a eventos geológicos ocurridos en el pasado. La estimación de los tiempos de divergencia indica que la separación entre las poblaciones de las provincias de Cortés y Mexicana ocurrió hace 1.11 MA (rango de 0.55 a 2.03 MA). Los períodos interglaciares ocurridos durante el Pleistoceno, la intensa actividad geológica y climática en el Golfo de California, pudo haber aislado las poblaciones de la provincia de Cortés separándolas en tres haplogrupos. La estructura filogeográfica encontrada entre las provincias estaría determinada tanto por la brecha de Sinaloa, que dificulta el establecimiento de los organismos, así como por procesos oceanográficos (giros) presentes en el POT y las características intrínsecas de las especies.

Palabras clave: filogeografía, Tripterygiidae, Pacífico Oriental Tropical, COI, barrera biogeográfica, procesos oceanográficos.

SUMMARY

The Tropical Eastern Pacific (TEP) is geographically divided in three provinces: Cortez, Mexican and Panamic. The first one includes the Gulf of California, the second is delimited to the north by the Sinaloan Gap and to the south by the Isthmus of Tehuantepec, and third one from the Isthmus of Tehuantepec to the Gulf of Guayaquil, Ecuador. These limits serve as geographical barriers because they are large expanses of muddy bottoms; therefore it is believed that these barriers may be important to the processes of connectivity in populations of marine organisms associated to rocky bottoms. The marine fish *Axoclinus storeyae* belongs to the family Tripterygiidae. It is distributed in tropical and temperate reefs in the Indo-Pacific. The specie is considered part of the cryptic ichthyofauna, which has been poorly studied due to its characteristics of small size and its excellent ability of mimicry. *Axoclinus storeyae* is distributed only in Mexico and endemic to the TEP. Throughout its range the Sinaloan Gap (370 km) divides the rocky reefs of northern and central Mexico, and is considered as a barrier to the dispersal of reef organisms, whose genetic differentiation among the populations could be significantly influenced by this habitat gap. Hence, this study aims to investigate the evolutionary history of the species and whether this gap has influence on that history. We obtained 126 gene sequences of cytochrome oxidase subunit I (COI) and 24 of the rhodopsin gene (Rho). Rho suggests that the ancestral population was distributed in the Mexican province. The population of the Province of Cortez and the Mexican Province exhibit distances of $\bar{D}_p = 1.32\%$ (SD = 0.31%). The genetic differentiation among these regions is high ($\Phi_{st} = 0.452$, $p < 0.0001$). AMOVA analysis recovered 58.76% of the variation among the four haplogroups. SAMOVA divides the organisms collected in the states of Sonora and Baja California Sur (Province of Cortez), conforming a barrier between these populations and the rest (Mexican Province). This barrier coincides with the Sinaloan Gap. The haplotype network of COI showed four haplogroups, three belong to the province of Cortez and one to the Mexican province. The presence of haplotypes of the state of Sonora in both provinces, suggests unidirectional gene flow, where the Mexican coastal current may be contributing to this dispersion during the breeding season. COI threw significant negative values in the neutrality tests, low values of R2, high haplotype diversity and groups inside the haplotypes networks with "star" shape. These events indicate a relatively recent population expansion associated to geological events in the past. The estimated divergence times suggest that the separation between the populations of the provinces of Cortez and Mexican occurred 1.11 My (range 0.55 to 2.03 My). The Interglacial periods that occurred during the Pleistocene and the geological and climatic intense activity in the Gulf of California, may have isolated the populations of the province of Cortez, separating them into three haplogroups. The phylogeographic structure found among the provinces could have been determined by the Sinaloan Gap, that hampers the establishment of organisms, the oceanographic processes (gyres) present in the TEP and the intrinsic characteristics of the species.

Keywords: phylogeography, Tripterygiidae, Tropical Eastern Pacific, COI, biogeographic barrier, oceanographic processes.

I. INTRODUCCIÓN

El Pacífico Oriental Tropical (POT) cuenta con una ictiofauna de aproximadamente 1285 especies, siendo el 70.9% endémicas para esta región (Robertson y Allen, 2008). Existen zonas como el Golfo de California y las islas oceánicas que aportan el mayor porcentaje de estos endemismos. Los estudios enfocados al conocimiento de la ictiofauna marina en el POT han estado centrados principalmente en aquellas especies con valor económico (pesca y turismo) o especies arrecifales conspicuas, encontrándose numerosos estudios en el ámbito de la taxonomía, biología, distribución, comportamiento y conservación (Lara-Lara et al., 2008; Barjau et al., 2012; Del Moral et al., 2013).

El POT se encuentra dividido geográficamente en tres provincias: de Cortés, Mexicana y Panámica (Fig. 1). La primera comprende el Golfo de California, la segunda se delimita al norte por la brecha de Sinaloa y al sur por el istmo de Tehuantepec, y la tercera del Istmo de Tehuantepec al Golfo de Guayaquil, Ecuador (Robertson y Cramer, 2009). Dichos límites, fungen como barreras geográficas pues son grandes extensiones de fondos fangosos; debido a esto se cree que estas barreras pueden ser importantes en los procesos de conectividad en poblaciones de organismos asociadas a fondos rocosos (Springer, 1959). No sólo estas brechas son factores limitantes en el movimiento de organismos arrecifales, los patrones de corrientes y temperatura también pueden influir sobre la distribución de las especies marinas, sin embargo, no fue hasta el estudio de las poblaciones con marcadores moleculares que se comenzó a elucidar el posible efecto de estas barreras a nivel microevolutivo, es decir a encontrar diferencias entre las poblaciones de algunas especies (Hastings, 2000; Hastings y Springer, 2009 y Lin et al., 2009).

Una de las grandes interrogantes es entender y explicar los patrones de distribución de las especies y qué papel han jugado las barreras geográficas en dicha distribución, tanto en el pasado como en el presente. La filogeografía es la disciplina que estudia los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de los linajes genealógicos (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009), indagando en los eventos y procesos que influyen en la distribución espacio-temporal de los linajes génicos de las especies. Al estudiar los aspectos históricos de la actual distribución de los linajes, se puede llegar a establecer el impacto de los eventos históricos en la composición y estructura genética de las poblaciones actuales (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

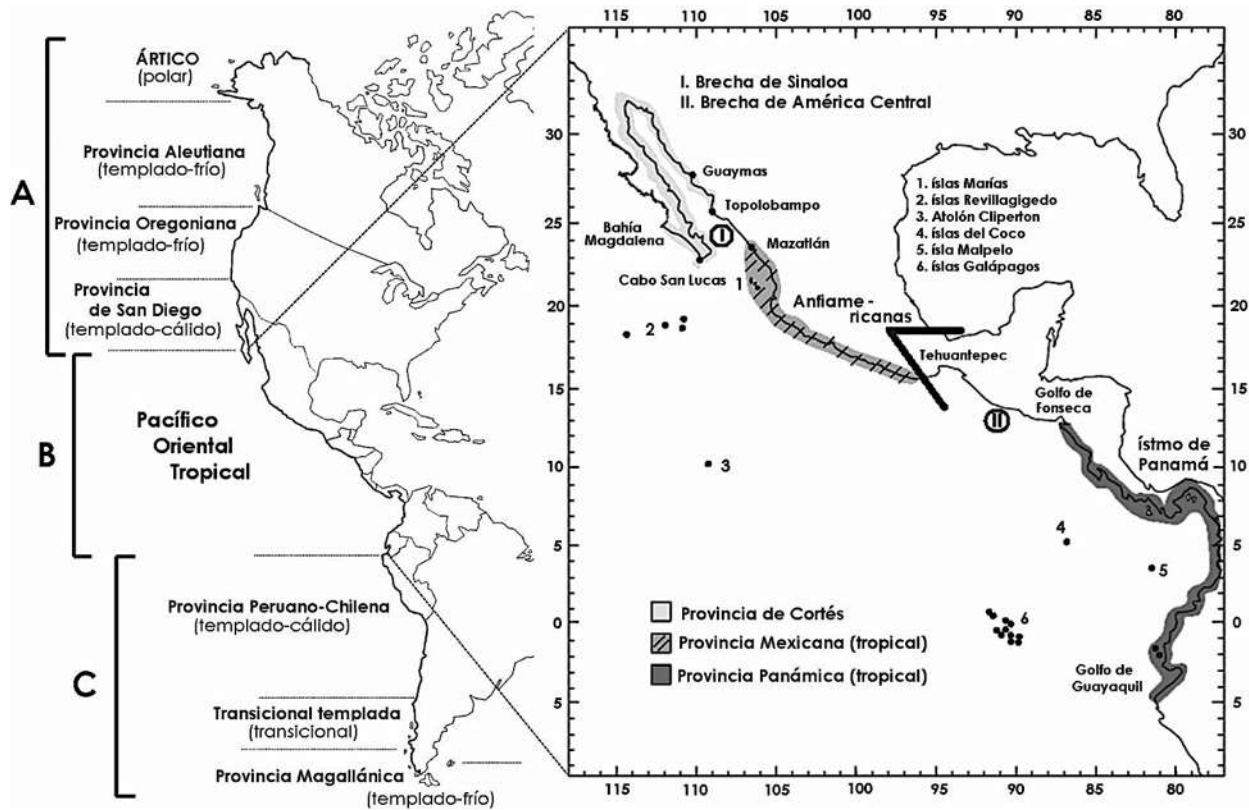


Figura 1. Regiones y Provincias biogeográficas del Pacífico Este (Modificado de Hastings, 2000 y Espinosa-Pérez y Hendrickx, 2006). A. región templada del Pacífico Nororiental, B. región del Pacífico Oriental Tropical y C. región templada del Pacífico Suroriental.

La investigación en este campo puede, en conjunto con otras disciplinas como la biogeografía y ecología, es capaz de identificar unidades previamente no reconocidas de la biodiversidad, así como determinar límites entre especies, áreas ricas en poblaciones únicas y unidades de gestión (Avice, 2000). Actualmente los estudios filogeográficos en especies animales se basan principalmente en secuencias de ADN mitocondrial. Esto debido a sus características evolutivas que incluyen, entre otras, una relativamente alta tasa de sustitución nucleotídica, una herencia clonal matrilineal y la ausencia de recombinación (Lanteri y Confalonieri, 2003). El ADN mitocondrial ha sido utilizado en estudios genéticos a niveles intra e inter-específicos, especialmente en especies con prioridades de manejo y conservación (Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003).

Los estudios con marcadores moleculares en peces del Pacífico son relativamente recientes, algunos de ellos tratan de explicar el grado de conexiones existentes entre el POT con el Pacífico central (Bowen et al., 2001; Colborn et al., 2001); la historia de conexiones entre poblaciones o

especies del POT y el Atlántico occidental, las cuales quedaron aisladas durante el surgimiento del Istmo de Panamá (Lovejoy y Collette, 2001; Lessios, 2008); así como también las relaciones entre poblaciones geográficamente separadas o el surgimiento de especies gemelas dentro del POT (Muss et al., 2001; Bernardi et al., 2003; Craig et al., 2006).

El desafío en estos estudios es entender los procesos que permiten el flujo o aislamiento génico entre las poblaciones, haciéndolas distintas u homogéneas. La dispersión en muchos organismos marinos se da por medio de la fase larval pelágica, a esta fase se le atribuye en gran parte el flujo genético entre las poblaciones (Rocha-Olivares y Vetter, 1998; Riginos y Víctor, 2001; Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003; Rocha et al., 2007). Sin embargo existen muchos factores y procesos complejos que intervienen en el transporte de larvas, podemos mencionar procesos físicos a pequeña y gran escala (corrientes, mareas, ondas superficiales, termoclinas, entre otros) (Pineda y Sponaugle, 2007) y aspectos biológicos propios de las especies como duración de la larva pelágica, capacidad de dispersión, la capacidad de establecimiento, entre otros; aspectos que en conjunto, crean escenarios que aún son poco conocidos. En contraste, existen algunos otros estudios donde no encuentran una relación entre la duración de la larva pelágica y el flujo de genes entre las poblaciones, señalando que existen otros factores relacionados como el comportamiento de las larvas y la disponibilidad de hábitat (Kohn y Clements, 2011).

Como se ha mencionado, los procesos que han llevado a la diferenciación genética en las poblaciones de especies marinas en el POT aún no han sido aclarados, estudios filogeográficos de especies clave podrían ayudar a esclarecer estos patrones.

II. ANTECEDENTES

2.1 SISTEMA DE CORRIENTES DEL POT

La circulación en el Pacífico Oriental Tropical está íntimamente relacionada con el viento y con el final de la Contracorriente Ecuatorial (CCE).

La corriente Costera de Costa Rica (CCCR) constituye un ramal de recirculación del POT que conecta a la CCE con la CNE. La corriente se inicia en la cuenca de Panamá, donde la vorticidad del sistema mantiene un afloramiento de la termoclina conocido como Domo de Costa Rica (CRD), continua hacia el norte a lo largo de las costas continentales de Centroamérica y México, donde se le conoce como la corriente costera Mexicana (CCM). Al norte, encontramos la corriente de California (CC) que corre hacia el sur a lo largo de la costa de Baja California y poco a poco se integra al oeste para alimentar a la Corriente Norecuatorial (CNE), superficialmente continua hacia el sureste a lo largo de la costa de México confluyendo con la CCM (Kessler, 2006). Frente a la boca del Golfo de California, se reconoce una zona de transición que separa la provincia subtropical de la ecuatorial en el Pacífico Norte. De allí se separa de la costa para configurar el inicio de la Corriente Norecuatorial (Badan, 1997) (Fig.2).

El Pacífico Central Mexicano (PCM) se encuentra entre tres de los sistemas oceánicos más estudiados del Pacífico Oriental: el sistema de la Corriente de California, el sistema del Pacífico Tropical del este y el golfo de California (Pantoja et al. 2012) (Fig. 3).

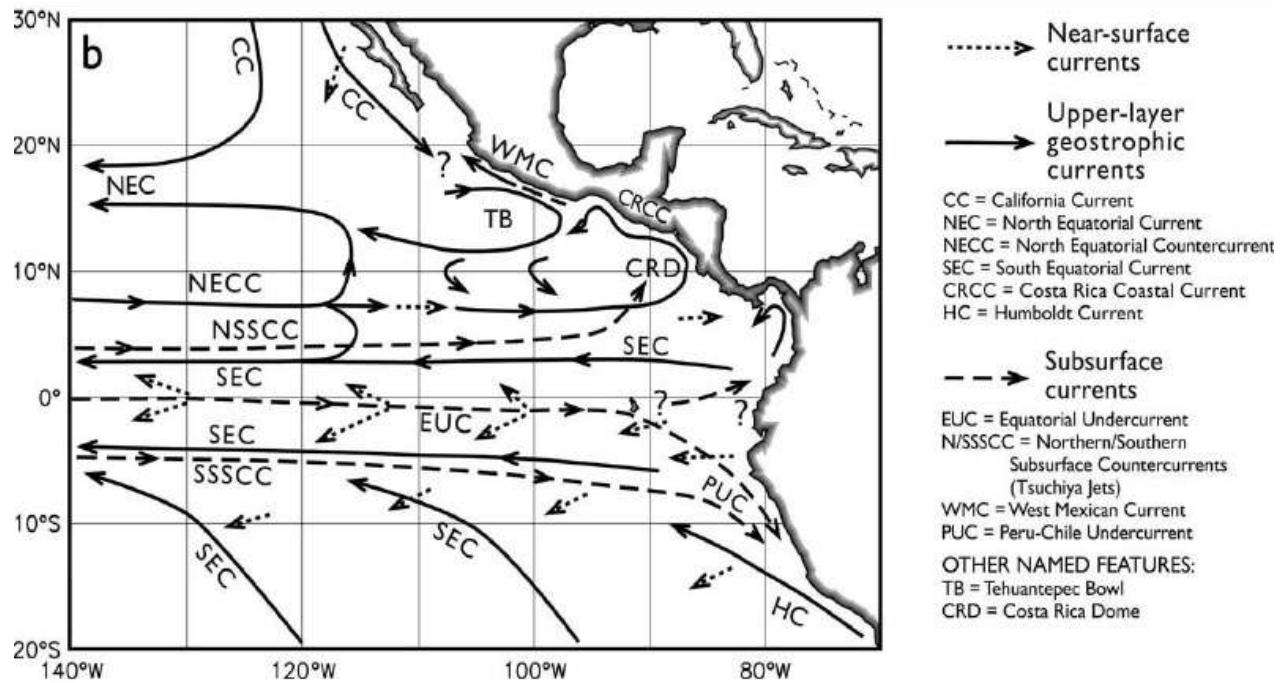


Figura 2. Circulación de las corrientes del POT, con base en datos modernos. La leyenda de la derecha muestra los nombres de las corrientes. Por sus siglas en español: CC= Corriente de California, CNE= Corriente Norecuatorial, CCNE= Contracorriente Norecuatorial, WMC= Corriente del Oeste de México (CCM), CCR= Corriente de Costa Rica, CSE= Corriente Surecuatorial, CT= Corriente o giro de Tehuantepec. Varias marcas de interrogación indican las regiones en donde las interconexiones entre las corrientes siguen siendo desconocidas (Modificado de Kessler, 2006).

El PCM es una zona de convergencia donde se unen aguas de origen subártico acarreadas por ramificaciones de la Corriente de California, aguas superficiales ecuatoriales traídas por la CCM y aguas con alta salinidad generadas en el Golfo de California. La confluencia superficial de estas masas de agua convierte al PCM en una región compleja, una zona de generación de remolinos y filamentos de mesoescala. Estas estructuras de mesoescala han sido evidenciadas mediante el uso de satélites y se han sugerido que funcionan como un mecanismo de transporte de agua de la Corriente de California hacia las costas mexicanas (Lavin et al. 2009; Pantoja et al., 2012).

La Corriente Costera Mexicana (CCM) abarca desde el Golfo de Tehuantepec hasta la entrada al Golfo de California, se intensifica por la influencia de ondas ecuatoriales y costeras de Kelvin y es más fuerte durante los años El Niño (Lavin et al. 2006, Zamudio et al. 2007). Se han identificado la formación de remolinos que se generan después de que la CCM se intensifica y la corriente del Golfo de California avanza hacia el sur (Fig. 3). La CC al oeste de la península y la CCM al sur de cabo Corrientes transporta aguas más frías y cálidas al PCM, cuando ambas corrientes se

encuentran en la parte media del PCM, generan un remolino ciclónico (Fig. 4b), mientras que cuando aparece la corriente del Golfo de California fluyendo hacia el sur y la CCM está más hacia el oeste, se genera un remolino anticiclónico (Fig. 4a).

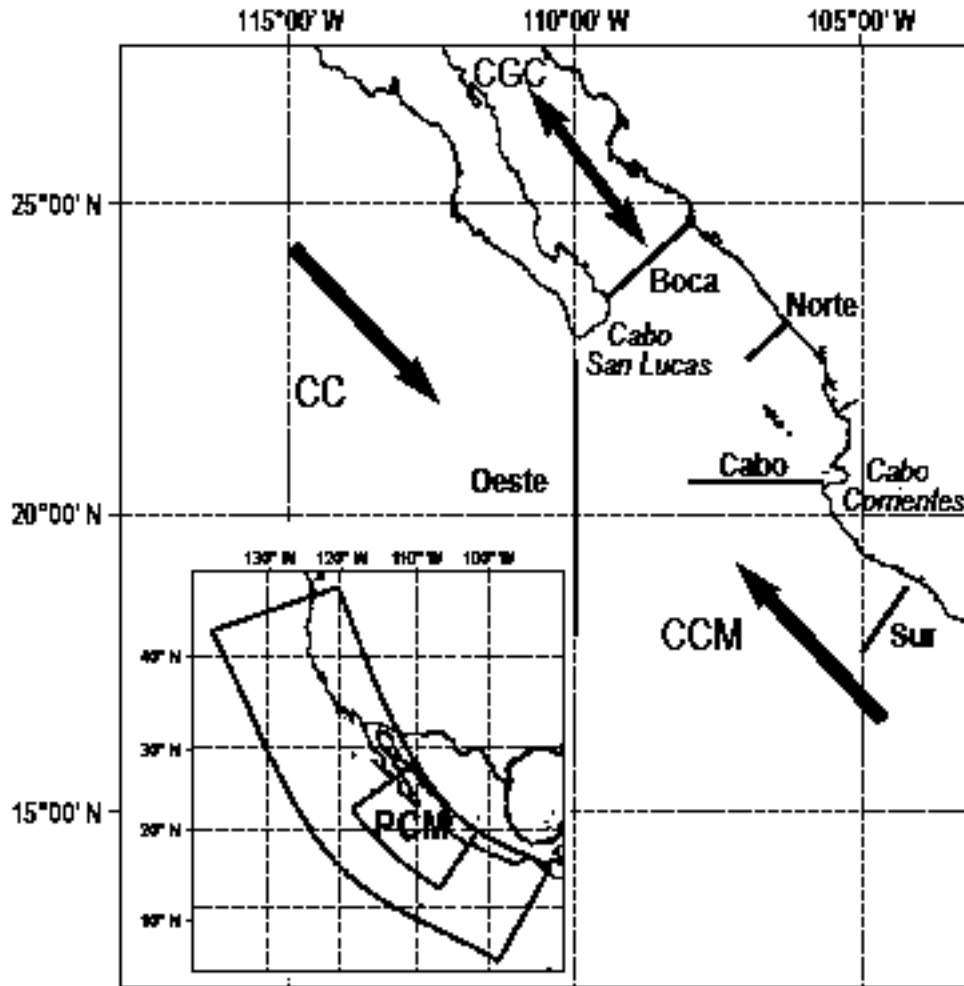


Figura 3. Pacífico Central Mexicano (PCM). Las flechas representan las principales corrientes en la región: CC, corrientes de California; CGC, corrientes del golfo de California; y CCM, corriente costera Mexicana. Las líneas sólidas son transectos etiquetados como Oeste, Boca, Norte, Cabo y Sur. Recuadro: posición del PCM. Tomado de Pantoja et al. (2012).

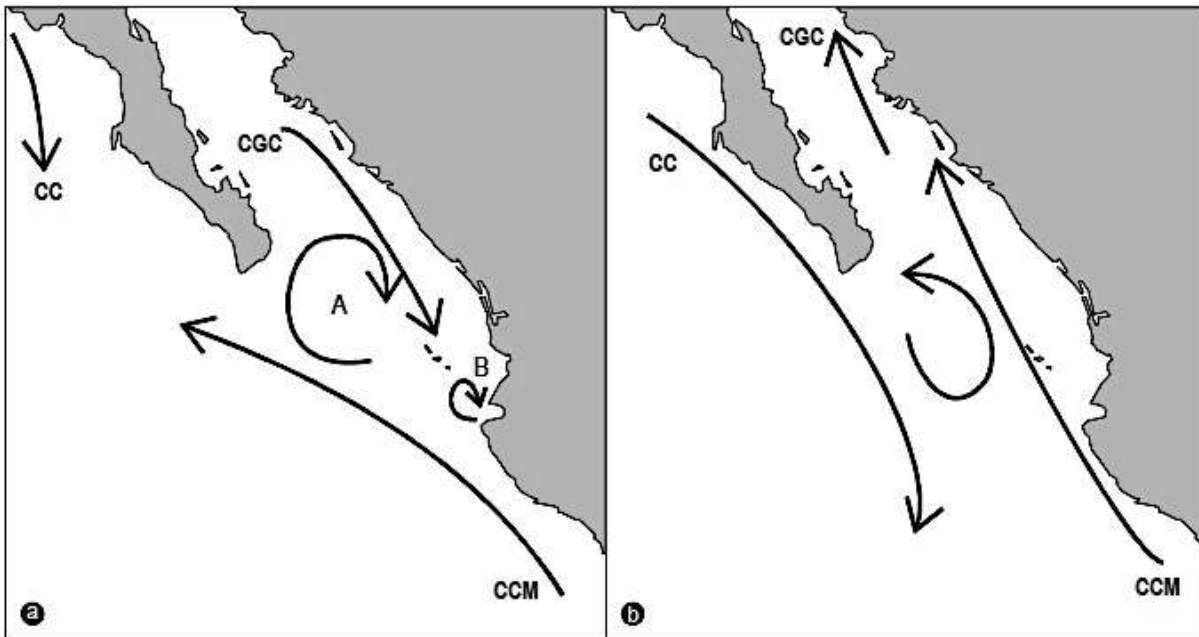


Figura 4. Circulación durante la formación de remolinos debido a las contracorrientes en la entrada al golfo de California. (a) Formación de remolinos anticiclónicos (A y B). (b) generación de un remolino ciclónico (caso menos común). CGC corriente del Golfo de California, CC Corriente de California y CCM corriente costera Mexicana (tomado de Pantoja et al. 2012).

La variabilidad de la circulación del PCM está dominada por la escala semianual y la mesoescala. La Corriente de California varía en su incursión de norte a sur, mientras que la CCM algunas veces penetra al Golfo de California y otras no lo hace; cuando entra al golfo, lo hace por el lado continental y se continúa junto con la corriente del Golfo de California, cuando no ingresa al golfo se extiende hacia Cabo San Lucas. Las corrientes del Golfo de California alternan los flujos de entrada y salida en el lado oriental y occidental de la boca. En este proceso se forman remolinos con distintas características. Unos se forman en la región central entre la corriente del Golfo de California que fluye hacia el sur y la CCM y se desplazan en la franja zonal (Pantoja et al. 2012).

2.2 TRANSPORTE LARVAL

La historia de vida de los organismos es de suma importancia para inferir los patrones de distribución de las especies, uno de estos aspectos es el tipo de huevo y tipo de larva, debido a que éstos influyen en la estructuración de las poblaciones marinas. Las larvas pelágicas son agentes de dispersión entre las poblaciones, pudiendo generar flujo genético entre distintas poblaciones de la misma especie, con la consiguiente conectividad genética entre éstas (Hedgecock, 1986). Existen una serie de procesos que acompañan al transporte larvario: como la temporada de desove, sincronización de desove, la edad, la capacidad de dispersión, el reclutamiento, la presencia de sitios adecuados para el establecimiento y la disponibilidad de refugios, entre otros. Sin embargo el comportamiento en los primeros días de vida se desconoce para la mayoría de las especies marinas (Brogan, 1994; Bowen et al., 2001; Saavedra-Sotelo et al., 2001).

El transporte larval es un componente importante para la dispersión marina, ya que se ha establecido que si una especie tiene una amplia dispersión, se debe a que el transporte larval es eficiente y significativo (Bowen et al., 2006; Pineda y Sponaugle, 2007). Sin embargo, las especies con dispersión restringida no necesariamente presentan un transporte larval poco efectivo (Pineda y Sponaugle, 2007). Existen varios estudios que han señalado que existen características de las larvas que pueden influir en las tasas de dispersión (Riginos y Victor, 2001). Se ha visto que el sistema sensorial de las larvas de peces se encuentra muy desarrollado en las últimas etapas de crecimiento, respondiendo a una gran variedad de estímulos como señales químicas, lo cual influye en su establecimiento y asentamiento.

Actualmente se cuestiona la idea de tratar a las larvas como “una partícula” que se mueve por la influencia de las corrientes marinas sin dirección propia (Pineda y Sponaugle, 2007). Sin embargo, es importante considerar la influencia de los procesos oceanográficos de mesoescala como las corrientes, las surgencias, los remolinos o giros oceánicos que puede afectar el transporte larval, promoviéndolo o suprimiéndolo. Debido a esto, los procesos oceanográficos particulares de los sitios de estudio, en nuestro caso el POT, deben de ser considerados e incluidos para evaluar su influencia en la estructuración de las poblaciones marinas.

2.3 ICTIOFAUNA CRÍPTICA

Los peces crípticos son un componente íctico en los arrecifes que ha sido poco estudiado. Algunos estudios para evaluar la diversidad de peces marinos excluyen este componente o subestiman el número y la densidad de especies crípticas en más del 91% (Willis, 2001; Ackerman y Bellwood, 2002). Este grupo está conformado por varias familias principalmente del suborden Blennioidei (Tripterygiidae, Dactyloscopidae, Blenniidae, Labrisomidae, Chaenopsidae, Gobiidae y Gobiesocidae) los cuales se caracterizan por ser de pequeño tamaño, alargados, difíciles de observar, coleccionar e identificar. Debido a estas características ha sido complicado su estudio e inclusive su captura; por lo que se ha recurrido al uso de sustancias químicas como la rotenona, quinaldina y el aceite de clavo (origen natural) para su recolección. El uso de estas sustancias ha sido controversial ya que se asegura que la rotenona y quinaldina afectan de manera directa a los corales y otros organismos que se encuentran en la zona donde es aplicado. Por otro lado, sin el uso de estas sustancias no se contaría con el conocimiento actual de estas especies (Willis, 2001).

La familia Tripterygiidae (tripterígid) es una familia de peces marinos incluida en el orden Perciformes, distribuida en zonas tropicales y templadas, abarcando los océanos Pacífico, Atlántico e Índico. Su nombre proviene de la palabra griega *tripteros*, que significa *con tres aletas*. La mayoría de las especies no superan los 6 cm de longitud, su aleta dorsal está dividida en 3 porciones: las primeras dos son espinosas y la tercera con un mínimo de 7 radios blandos. Las aletas ventrales tienen una sola espina y la aleta anal es larga con dos espinas. Las aletas pectorales son muy alargadas. No presentan cirros nucales. Son habitantes del fondo, fuertemente coloreados, sin embargo pasan desapercibidos por mimetizarse con el sustrato. Se alimentan de pequeños invertebrados. Los miembros de esta familia presentan hábitos bentónicos, tienen gran afinidad con el sitio y protegen los huevos, características que pueden hacer que las poblaciones sean vulnerables a los impactos en el hábitat. Los machos atraen a las hembras al sitio elegido para poner y cuidar los huevos, generalmente en la superficie de rocas inclinadas y cada nido está custodiado por el macho que con sus aletas aerea los huevos. La mayoría de los tripterígid son de vida corta, alcanzando una edad máxima aproximadamente de tres años (Pogonoski et al., 2002). Muchas especies presentan dimorfismo sexual, siendo las hembras de colores más apagados que los machos.

A nivel mundial, la familia Tripterygiidae contiene alrededor de 30 géneros y 167 especies (Froese y Pauly, 2013). En el POT hay 15 especies endémicas, las cuales se agrupan en cuatro géneros, uno de ellos endémico. La identificación de muchas especies de triple aleta es difícil, e incluso existe un número de formas sin describir (Robertson y Allen, 2008). En México se encuentran presentes 4 géneros (Fig. 5) *Axoclinus*, *Crocodilichthys* (monoespecífico y endémico del Golfo de California), *Enneanectes* y *Lepidonectes*. Han existido diversas controversias taxonómicas en la identificación y clasificación de este grupo, principalmente las controversias históricas recaen en los géneros *Axoclinus* y *Enneanectes*, lo que ha llevado a errores de identificación (Smith y Williams, 2002). Las controversias taxonómicas, aunadas a la falta de colectas de estos organismos, así como de registros confiables, han provocado una carencia de información para estos grupos, principalmente en las provincias Mexicana y Panámica.



a) *Axoclinus storeyae*



b) *Crocodilichthys gracilis*



c) *Enneanectes reticulatus*



d) *Lepidonectes corallicola*

Figura 5. Géneros de tripterígidios distribuidos en el Pacífico Oriental Tropical. Fotografías a, b y c, tomadas por el equipo de colecta CPUM. Fotografía d tomada por Gerald Allen (SFTEP-2008).

2.3.1 GENERALIDADES DE *Axoclinus storeyae*

Axoclinus storeyae es una especie distribuida en la parte sur de Baja California, en el Golfo de California y la parte central del pacífico Mexicano, cuenta con pocos registros oficiales, lo cual ha provocado que su identificación y/o registro sea dudosa (Torres-Hernández, 2011).

Características distintivas: Dorso de la cabeza espinoso. Tres barras en el cuerpo color rojo-café. Cuatro filas de manchas blancas a lo largo de la mitad superior del cuerpo entre las barras oscuras. Base de la aleta caudal con una barra roja. Machos en la época reproductiva con la mitad del cuerpo y la cabeza rojo brillante; la primera dorsal y la aleta caudal son negras (Fig. 6) (Robertson y Allen, 2008; Torres-Hernández, 2011).



Figura 6. Pareja de *Axoclinus storeyae*, hembra (superior) y macho (inferior). Fotografía tomada por Ned DeLoach (SFTEP-2008).

Diagnosis: Cabeza grande, sin dientes en los costados del paladar. Un cirro en cada narina, uno pequeño simple sobre cada ojo. Mitad superior del cuerpo color café o verde. Tres aletas dorsales con III + XII espinas y 9 a 10 radios, no ramificados. Aleta anal con II espinas y 16 a 17 radios. Aletas pélvicas separadas. Línea lateral descende gradualmente desde el borde superior del opérculo al eje mediolateral, con 22 a 25 escamas con tubos seguidos por 0-2 escamas con una pequeña muesca; anchura de las escamas sobre la línea lateral casi igual a su longitud. Escamas pequeñas, ninguna en la cabeza, torso, vientre, y base de las aletas pectorales; total de escamas en una serie longitudinal 33 a 36 (Robertson y Allen, 2008). Longitud patrón máxima: 4.3 cm.

Hábitat y comportamiento: Habita aguas someras en áreas rocosas con algas. Son carnívoros. Se mimetiza muy bien con el ambiente, son rápidos si se les molesta y son territoriales (Torres-Hernández, 2011).

Tipo de huevo y larva: Los huevos son bentónicos ligeramente aplanados, están unidos por filamentos adhesivos que surgen desde el polo basal, miden de 0.7-1.4 mm de diámetro y la coloración de la yema es de rojo a naranja con pequeños glóbulos de aceite. Los huevos son incubados por el macho. Las larvas nacen de 3-6 mm de largo, presentan ojos pigmentados, la boca abierta y un pequeño saco vitelino (Watson, 1996). Se desconoce la duración de la etapa larvaria pelágica, pero se ha reportado para otras especies cercanas: *Axoclinus nigricaudus* (18 días), en el Mediterráneo: *Tripterygion delaisi* (16-21 días) (Riginos y Victor, 2001; Carreras-Carbonell et al., 2007). Mientras que para especies distribuidas en zonas templadas Kohn y Clements (2011) establecieron la duración de la larva pelágica de 11 especies de tripterígidos del Golfo de Hauraki, Nueva Zelanda, oscilando entre 54.4 ± 1.7 a 86.4 ± 2.6 días.

2.4 ESTUDIOS GENÉTICOS

Uno de los genes mitocondriales más usados es el citocromo oxidasa sub-unidad I (COI). Los estudios realizados con este gen a nivel mundial se han venido conjuntando en el proyecto Código de Barras de la Vida (iBOL, por sus siglas en inglés), en el cual se encuentra información molecular de diversos grupos como artrópodos, cnidarios, equinodermos, moluscos, nematodos, plathelminths, peces (entre otros), con el fin de construir un inventario de la biodiversidad del planeta a partir de las secuencias de ADN de cada especie. La secuenciación del gen COI ha jugado un rol importante en la identificación de especies crípticas y en el incremento del número de especies, las cuales no habían sido consideradas por los sistemas taxonómicos tradicionales (Herbert et al., 2003a; Ward et al., 2005; Sáenz, 2009; Valdéz-Moreno et al., 2010). A pesar de la información que proporciona el gen mitocondrial, las investigaciones han incluido otros marcadores moleculares como los genes nucleares para corroborar los resultados obtenidos con distintas fuentes de información molecular (Ornelas-García et al., 2008; Keith et al., 2011). Esto es de suma importancia debido a que muchas veces se puede estar registrando la historia evolutiva

del gen y no de la especie. Por lo que, el uso de marcadores nucleares que complementen la información mitocondrial es altamente recomendable.

De los genes nucleares, el gen de la rodopsina (Rho) es uno de los más utilizados en la reconstrucción filogenética, debido a que es un gen de copia única, se ha clonado a partir de varias especies y se conoce bastante acerca de su función y evolución molecular (Chang y Campbell, 2000). En los peces teleósteos, el gen de la rodopsina no presenta intrones en la región de codificación (Fitzgibbon et al., 1995) y solo en raras ocasiones se ha detectado que existe en más de una copia, por ejemplo en animales poliploides como la carpa (*Cyprinus*) (Chang y Campbell, 2000). En la región 5' del gen, se localizan las secuencias del promotor que regulan su expresión específica en los bastones de la retina. Codifica una proteína de 348 aminoácidos, es un receptor acoplado a proteína G, altamente especializado para la captación de fotones en las células bastón de la retina de los vertebrados.

En la familia Tripterygiidae se han empleado para su estudio otros marcadores moleculares como los microsátélites para conocer la estructura poblacional de *Tripterygion delaisi*. Carreras-Carbonell et al. (2006), analizaron 10 microsátélites de poblaciones insulares del Mediterráneo español y dos grupos del Atlántico. Para esta especie se reconocen dos subespecies, ambas se encuentran separadas por un canal de 300 m de profundidad. Los autores establecieron que no hay poblaciones híbridas entre las subespecies de los sitios muestreados, por lo que deben de considerarse como unidades evolutivas diferentes. La costa entre las poblaciones es rocosa y continua, presentando algunas discontinuidades (>30 km) de arena o canales de aguas profundas, por lo que podrían estar actuando como barreras efectivas, evitando el intercambio de larvas y adultos de las poblaciones de *T. delaisi xanthosoma*. Las discontinuidades oceanográficas (corrientes o surgencias) podrían jugar un papel importante en la estructuración de dicha población, puesto que hay una separación entre el Atlántico y las aguas del Mediterráneo; sin embargo, en el estudio no se contaba con más poblaciones para probar dicha observación.

El análisis de las tasas de auto-reclutamiento en las poblaciones es esencial en la estimación de la conectividad entre éstas, teniendo consecuencias importantes en la conservación marina. Carreras-Carbonell et al. (2007) observaron un alto índice de auto-reclutamiento en *T. delaisi* en el Mediterráneo noroccidental. A pesar de la duración de la fase larval de 16 a 21 días, los reclutas se establecieron en su población natal.

Debido a la distribución tan amplia de la familia Tripterygiidae se puede contar con trabajos de un ambiente templado como el realizado por Kohn y Clements (2011), en el que analizan la duración de la larva pelágica y la conectividad de las poblaciones en el Golfo de Hauraki, Nueva Zelanda. Analizaron el incremento diario en los otolitos para conocer la edad en 11 especies de tripterígid. La variación de la duración de la larva pelágica fue alta, estos resultados se contrastaron con datos genéticos para ocho especies usando genes mitocondriales. Se observó poca relación entre la conectividad de las poblaciones y la duración de la larva pelágica, un ejemplo de esto fue *Forsterygion nigripenne*, que muestra un bajo flujo genético entre sus poblaciones, sin embargo, esta especie muestra una duración de la larva pelágica de 69.4 días, por lo que se concluye que la duración de la larva pelágica es un pobre predictor de la conectividad de las poblaciones en Nueva Zelanda.

Para el POT, se han realizado pocos estudios en peces marinos para conocer los efectos de barreras geográficas en la estructuración genética de los organismos. Al realizar un análisis sobre cómo los procesos evolutivos son influenciados por las características oceanográficas y geográficas sobre *Ophioblennius steindachneri* en esta región, se observó que no hay concordancia entre la estructura genética y las provincias biogeográficas (Muss et al., 2001). Otro estudio es el realizado por Craig et al. (2006), quienes estudiaron dos especies de la familia Serranidae: *Epinephelus labriformis* y *E. clippertonensis*, la primera se encuentra ampliamente distribuida a lo largo del POT (incluyendo las islas Revillagigedo, Coco y Galápagos); y la segunda restringida al atolón Clipperton y las rocas Alijos (Baja California, México). Estas especies presentan una etapa larval pelágica que puede durar 60 días. Los resultados que arroja el análisis del gen mitocondrial *Cytb*, muestran que para *E. labriformis* hay una continuidad del flujo genético a lo largo de las poblaciones continentales, por lo que, las barreras físicas propuestas (Brechas arenosas de Sinaloa y Centroamérica) no tienen efecto en la capacidad de dispersión de las poblaciones. Sugieren que el efecto de las corrientes ha contribuido a que en el atolón de Clipperton haya evolucionado la especie hermana *E. clippertonensis*, diferenciada tanto genéticamente como morfológicamente. Este fenómeno se repite para otras especies distribuidas en el POT, como lo muestran Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo (2003), analizando la estructura genética en poblaciones alopátricas de *Lutjanus peru* en el POT, donde demuestra la ausencia de diferenciación entre poblaciones

peninsulares y continentales, y sugiere que son producto de mecanismos pasivos de transporte larvario entre las poblaciones analizadas.

Particularmente, Riginos y Nachman (2001), realizaron un estudio donde demuestran que las diferencias genéticas entre las poblaciones de *Axoclinus nigricaudus* (Tripterygiidae) en el Golfo de California coinciden con cambios bruscos en las características ecológicas de los sitios (incluyendo temperatura y salinidad). En este estudio, la discontinuidad genética de las poblaciones no coincide con los patrones conocidos de la circulación oceanográfica o alguna barrera histórica conocida, por el contrario la distancia genética aumenta con relación a la distancia geográfica.

Pocos trabajos se han centrado en estudiar las estrategias de las larvas y su relación con la estructuración genética en el POT. Riginos y Victor (2001), analizaron las estrategias de dispersión de larvas dentro del suborden Blennioidei. Seleccionaron tres especies *Axoclinus nigricaudus*, *Malacoctenus hubbsi* y *Ophioblennius steindachneri*, distribuidas en el Golfo de California. Las estimaciones de la diferenciación genética fueron coherentes con las capacidades de dispersión previstas por los autores, siendo mayor la estructura genética para *A. nigricaudus* cuyas larvas tienen un periodo corto (18 días) y no se alejan mucho de la zonas arrecifales. Existen otros factores que influyen en estas relaciones como la historia temprana de vida, los movimientos larvales, el tamaño al eclosionar, etc. Estas características influyen en la capacidad de dispersión de individuos y por lo tanto, en la magnitud del intercambio genético entre poblaciones.

El presente estudio tiene como objetivo principal realizar un análisis filogeográfico de diferentes poblaciones de *Axoclinus storeyae* en todo su rango de distribución. Lo que podría ayudar a entender los eventos y procesos que han determinado la historia evolutiva de la especie. Cuando tomamos en cuenta la discontinuidad en su hábitat representado por la brecha de Sinaloa, la cual podría estar fungiendo como una barrera entre sus poblaciones.

III. HIPÓTESIS

- Las poblaciones de *Axoclinus storeyae* presentan diferencias genéticas debido a los efectos de los procesos oceanográficos presentes en el Pacífico Oriental Tropical y a la discontinuidad de hábitat rocoso que causa la Brecha de Sinaloa.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Determinar la historia evolutiva de *Axoclinus storeyae* en el pacífico Mexicano.

4.2 Objetivos particulares

- Describir los patrones filogeográficos de las poblaciones de *Axoclinus storeyae*.
- Estimar la demografía histórica de la especie.
- Determinar la influencia de la Brecha de Sinaloa en la estructura genética de las poblaciones de *Axoclinus storeyae* del Pacífico Mexicano.
- Asociar los patrones filogeográficos y demográficos con la información geológica, climática y oceanográfica.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material Biológico:

La obtención del material biológico que se utilizó en la presente investigación se obtuvo de dos formas:

- 1) Algunas de las muestras se obtuvieron del banco de tejidos ubicado en el área de Biología Evolutiva y Conservación en el laboratorio de Biología Acuática-UMSNH. Las muestras de tejido fueron tomadas de la aleta pectoral y/o de la aleta caudal del organismo depositándose en criotubos de 2 ml y conservadas con etanol absoluto grado analítico a -75° C. Se recibió la donación de tejidos de la colección de peces del Instituto Oceanográfico SCRIPPS (SIO), California; particularmente de las islas del Golfo de California.
- 2) Para el material faltante se realizaron salidas al campo para cubrir todo el rango de distribución de la especie en el Pacífico Mexicano (Fig. 7). Las colectas se realizaron con la ayuda del buceo SCUBA y aceite de clavo de origen natural (proporción 1:5 diluido en etanol) como anestésico. El anestésico se transporta en botellas de plástico con tapas que contengan una membrana, lo que facilita la salida del líquido a presión directamente sobre el organismo o esparciéndose en una zona elegida. Una vez anestesiados, algunos peces pueden quedar atrapados dentro de su escondite, por lo que estos fueron extraídos de su habitáculo con ayuda de una jeringa de succión de acrílico transparente de 30.8 cm de largo, 8 cm de diámetro y un cuello de 13.3 cm y 4 cm de diámetro (Torres-Hernández, 2011). Los peces anestasiados se colocaron en bolsas de tela con cierre. Una vez en la superficie se les tomaron fotografías en fresco y una muestra de tejido, para posteriormente seguir lo indicado en el párrafo anterior para la preservación del tejido (Fig. 8).

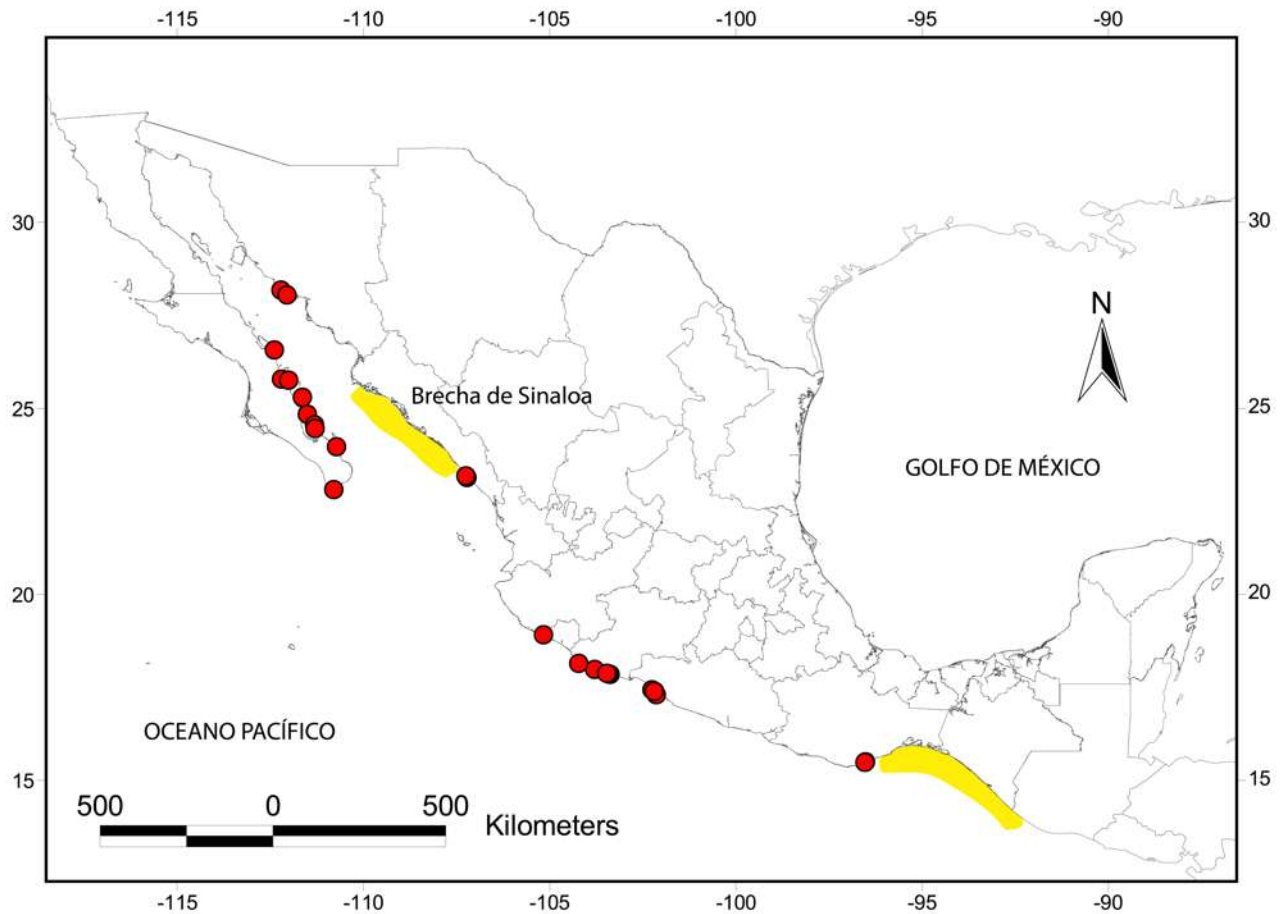


Figura 7. Ubicación de los sitios de muestreo en las provincias de Cortés y Mexicana del Pacífico Oriental Tropical.

5.2 Revisión de los organismos:

Los organismos colectados fueron revisados con la ayuda de un microscopio estereoscópico AmScope SZMT2. Se registraron los caracteres diagnósticos propios para la correcta identificación de *Axoclinus storeyae* siguiendo los criterios de Allen y Robertson (1991), Smith y Williams (2002) y el sistema de información en línea Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific (Robertson y Allen, 2008). Todos los organismos fueron etiquetados y depositados en la colección ictiológica del Laboratorio de Biología Acuática, UMSNH (CPUM, registro: PEC-227-07-09). También se revisaron algunos organismos de la colección de peces del Instituto de Oceanografía SCRIPPS (SIO), San Diego California.

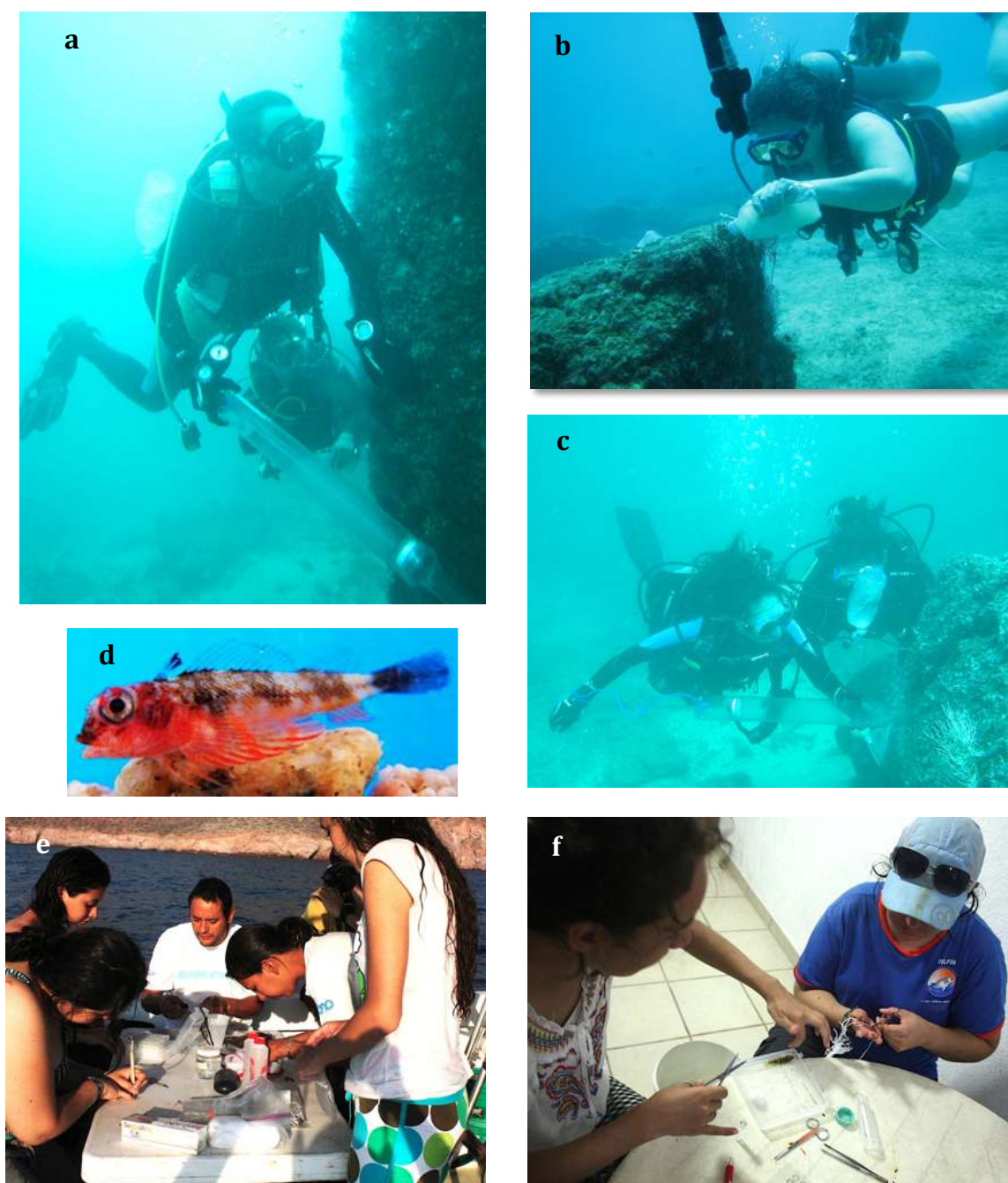


Figura 8. Trabajo de campo: a) búsqueda de los organismos mediante el buceo SCUBA, b) aplicación del aceite de clavo, c) uso de la succionadora en la recolecta, d) toma de fotografías en fresco (macho de *Axoclinus storeyae*). Obtención de tejidos en campo e) Golfo de California y f) etiquetados de los organismos.

5.3 Extracción de ADN:

Para eliminar el exceso de etanol se lavó el tejido con agua destilada, una vez limpio se trituró la muestra con un bisturí hasta alcanzar el menor tamaño de partícula posible; se continuó con la extracción orgánica que se llevó a cabo mediante el método convencional de extracción proteinasa K/ fenol/ cloroformo (Hillis et al., 1996).

5.4 Amplificación y secuenciación:

La amplificación del gen mitocondrial citocromo oxidasa sub-unidad I (COI) se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los primers utilizados fueron: FISH 1F (5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3') y FISH 1R (5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3') (Ward et al., 2005).

Las reacciones fueron realizadas en un volumen de 12.5 μ l., utilizando las siguientes concentraciones: 0.5 μ M de cada primer, 0.25 mM de cada dNTP, 1.5 mM de MgCl₂ y 1U de Taq ADN polimerasa (Invitrogen). La amplificación se realizó bajo las siguientes condiciones en un termociclador Eppendorf ([®]AG 22331- Mastercycler personal) a una temperatura de desnaturalización de 94°C por 2 minutos, 35 ciclos a una temperatura de 94 °C por 45 segundos (desnaturalización), 44 °C por 1 min (alineamiento), 72 °C por 1.30 minutos (extensión) y una extensión final a 72 °C por 5 minutos.

Adicionalmente se amplificó el gen nuclear Rodopsina (Rho) usando los primers: RH193 (CNTATGAATAYCCTCAGTACTACC) y RH1073r (CCRCAGCACARCGTGGTGATCATG) (Chen et al., 2003). Se siguió el protocolo de amplificación de acuerdo a Keith et al. (2011): una temperatura de desnaturalización de 94°C por 4 minutos, 30 ciclos a una temperatura de 94 °C por 30 segundos (desnaturalización), 50 °C por 30 segundos (alineamiento), 72 °C por 30 segundos (extensión) y una extensión final a 72 °C por 7 minutos. Las concentraciones para la PCR fueron las mismas mencionadas anteriormente.

Los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 1.5% teñidos bajo Sybr-Safe y visualizados con luz UV. Los fragmentos amplificados fueron enviados al servicio de secuenciación High Throughput Sequencing, Universidad de Washington (htSEQ).

5.5 Análisis de datos moleculares

Alineamiento:

Las secuencias de ambos genes fueron revisadas y alineadas de manera manual utilizando el software BioEdit v7.0.9 (Hall, 1999) y Mega v5.1 (Tamura et al., 2011), éstas fueron corroboradas analizando los cromatogramas para descartar errores en el proceso de secuenciación. En el gen de la rodopsina no se registró la presencia de indels. Para conocer el modelo de sustitución que más se ajusta a las secuencias se usó el programa jMODELTEST v3.7 (Posada, 2008). El criterio de información utilizado fue Akaike (AIC por sus siglas en inglés). El modelo obtenido para COI fue Transitional Model (Posada, 2003) + Proporción de Sitios Invariables + Gamma (TIM1+I+G). Mientras que para Rho fue el modelo Kimura 5 parámetros (Kimura, 1981) con frecuencias de bases desiguales + sitios invariables (TPM1uf+ I) (Tabla 1).

Tabla 1. Modelo evolutivo y parámetros estimados para COI y Rho por el criterio de información Akaike (AIC).

GEN	Modelo evolutivo	lnL	Frecuencia empírica de nucleótidos	Forma de la distribución gamma	Proporción de sitios invariables
COI	TIM1 + I + G	-2070.5704	A = 0.2155 C = 0.2871 G = 0.1782 T = 0.3192	0.9840	0.6600
Rho	TPM1uf + I	-1164.4092	A = 0.1750 C = 0.2961 G = 0.2617 T = 0.2672	-----	0.8950

Red de haplotipos:

Para el análisis filogeográfico se elaboró una red de haplotipos para cada gen usando el software NETWORK v4.6.1.2 (Bandelt et al. 1999), el cual utiliza el método de Median-Joining que implementa distancias genéticas a través de máxima parsimonia.

Estructura Genética:

Para ambos genes se obtuvieron las distancias genéticas pareadas no corregidas p (p -distance), con las cuales se obtienen la proporción de sitios que difieren entre dos secuencias mediante el programa MEGA. Esto con el objetivo de hacer comparaciones con otras

investigaciones. Se realizaron análisis a priori de acuerdo con la hipótesis planteada como el AMOVA. Posteriormente se realizó el análisis SAMOVA, para probar diferentes arreglos (k).

Para el gen mitocondrial COI, se obtuvo el estadístico Φ_{ST} (Wright, 1931), para evaluar la diferenciación genética global y entre poblaciones mediante el programa ARLEQUIN v3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). Además, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) con base en lo descrito por Excoffier et al. (1992) y probando diferentes arreglos de acuerdo a los resultados obtenidos de los análisis previos con 1000 permutaciones.

Se llevó a cabo el Análisis Espacial de Varianza Molecular (SAMOVA) (Dupanloup et al., 2002), el cual define grupos de poblaciones que se encuentran en zonas geográficamente homogéneas, maximizando la diferenciación entre estos grupos, lo que permite identificar barreras genéticas entre grupos. Este método se basa en un procedimiento de simulaciones anidadas que tiene como objetivo maximizar la proporción de la varianza genética total explicada por las diferencias entre grupos de poblaciones. Se genera un diagrama que incluye los puntos de muestreo y las barreras entre los grupos definidos por SAMOVA.

Índices de diversidad y demografía histórica:

Por medio del programa DnaSP v5.1 (Librado et al., 2009), para ambos genes se calcularon índices de variación genética como el número de haplotipos, diversidad nucleotídica (π ; Nei, 1987), diversidad haplotípica (Hd; Nei, 1987), número de sitios polimórficos (S) y el número promedio de diferencias nucleotídicas por pares (k; Tajima, 1983).

En el gen mitocondrial COI, con la finalidad de estimar si las secuencias se encuentran bajo el modelo neutral o se desvían del mismo, se calculó la D de Tajima (1989) y F de Fu (1997), estas pruebas están basadas en la distribución del polimorfismo en la secuencia de ADN. El estadístico D de Tajima, representa las diferencias entre los estimadores π y θ de diversidad nucleotídica. Si D resulta negativa significa que θ posee un valor mayor que π , lo que indica la presencia de mutaciones deletéreas. En cambio, si D resulta positiva quiere decir que π tiene un mayor valor que θ , indicando que algunos alelos se encuentran bajo selección positiva. Si D es igual a cero, significa que no existe diferencia alguna entre ambos estimadores y se encuentra bajo equilibrio neutral (Tajima 1989). Estas pruebas se realizaron por medio del programa Arlequin v.3.5.1.2 (Excoffer et al., 2010).

Con el propósito de saber si se han presentado cambios en el tamaño poblacional se estimó el estadístico R2 (Ramos-Onsis y Rozas, 2002) que cuantifica el ajuste de la distribución de las diferencias por pares, distinguiendo entre poblaciones de tamaño constante y en crecimiento. La estimación del estadístico R2 se fundamenta en que los números esperados de conjuntos de un solo elemento, después de un evento de crecimiento poblacional reciente, serían de $k/2$, en consecuencia, se espera valores más bajos de R2 en modelos de crecimiento poblacional (Sandoval-Huerta, 2014).

Tiempos de divergencia:

Los tiempos de divergencia entre las poblaciones se estimaron a través de métodos de coalescencia con el software Beast v.1.47 (Drummond y Rambaut, 2007) bajo el modelo de evolución nucleotídica estimado anteriormente y bajo el método de Bayesian Skyline Plot (BSP, Drummond et al. 2005). Para ello se utilizó un reloj molecular relajado el cual permite estimar tiempos de divergencia cuando existen variaciones en la tasa de mutación dentro del grupo de estudio o bien, a lo largo de la topología (Corona-Santiago., 2013). La calibración se llevó a cabo utilizando la tasa de mutación estimada en 1.81-2.04 % por millones de años (Keith et al., 2011) en el gen mitocondrial COI para un gobio. En dicho análisis se utilizaron 70,000,000 de generaciones, muestreando cada 1000 topologías. Se revisaron los valores posteriores de los “priors” con base en los tamaños efectivos de muestra (ESS, Effective Size Sample) ≥ 200 , se descartó el 10% de las topologías a través de Tracer v1.5 para la reconstrucción del árbol consenso. Se seleccionaron las topologías con valores de soporte mayores al 50% (posterior probability limit = 0.05) con límites de confianza iguales o mayores al 95% (HPD \geq 95%).

VI. RESULTADOS

6.1 Material biológico:

Se colectaron 232 individuos de *Axoclinus storeyae* en 32 localidades del POT (Tabla 2 y Fig. 7).

Tabla 2. Organismos secuenciados y ubicación geográfica de las localidades. N= número total de individuos colectados por sitio. n= individuos secuenciados para el gen mitocondrial COI y el gen nuclear Rho.

PROVINCIA	ESTADO	LOCALIDAD	Acrónimo	COORDENADAS		N	n COI	n Rho
				Latitud (N)-	Longitud (O)			
De Cortés	Sonora	Seri Muerto	SMSon	28°04'59"	111°16'32.3"	5	3	---
		Punta San Antonio (SIO)	PSASon	27°56'59.78"	111°7'30.28"	7	6	1
		San Carlos (SIO)	SCSon	27°56'16.98"	111°3'1.90"	3	3	---
	Baja California Sur	Isla Danzante (SIO)	IDBCS	25°45'33.15"	111°15'38.52"	4	2	1
		Islote Las Galeras (SIO)	ILGBCS	25°44'2.00"	111°4'16.87"	7	5	---
		Isla Santa Cruz (SIO)	ISCBCS	25°17'0.00"	110°43'1.00"	1	1	---
		Isla San Francisco (SIO)	ISFBCS	24°50'1.0"	110°35'1.31"	6	6	2
		Isla Espíritu Santo (SIO)	IESBCS	24°34'1.96"	110°24'24.83"	3	1	---
		Isla Ballena (SIO)	IBBCS	24°27'40.80"	110°23'6.39"	2	2	---
		Bahía de los Sueños	BEPBCS	23°59'25.93"	109°49'30.09"	24	22	5
		Punta Pescadero	PPPBCS	26°30'52.3"	111°26'35.2"	18	14	1
Cabo San Lucas (SIO)	CSLBCS	22°52'34.09"	109°54'7.42"	7	6	---		
SIO (09267-111358)	SIO	-----	-----	2	---	2		
Mexicana	Sinaloa	Isla Hermano Norte	IHNSin	23°11'16.1"	106°26'9.5"	22	3	2
		Isla Pájaros	IPSin	23°15'30.5"	106°28'26.4"	2	2	1
		Isla Venados	IVSin	23°13'54.5"	106°27'42.5"	2	---	1
	Colima	Punta Carrizales	PCCol	19°05'45.72"	104°26'20.56"	14	12	3
	Michoacán	Bajo Bufadero	BFMich	18°04'8.60"	102°45'16.50"	3	1	---
		Carrisalillo	CMich	18°03'21.3"	102°42'15.6"	2	2	---
		Rompeolas de Caleta	ROCMich	18°04'18.79"	102°45'5.27"	1	1	---
		Noroeste de Cuilala	NCMich	18°11'20.80"	103°6'10.90"	1	1	---
		Barco Hundido del Faro	BHFMich	18°05'18.70"	102°47'20.90"	2	2	---
	Guerrero	Caleta de Chon	CCGue	17°36'52.99"	101°33'21.76"	3	3	2
		Zacatoso	ZGue	17°39'14.33"	101°37'20.53"	4	3	---
		Las Gatas	LGGue	17°37'19.42"	101°33'6.99"	44	14	2
		Morros de Potosí	MPGue	17°32'2.8"	101°29'50.4"	2	2	---
	Oaxaca	Morro el Tejón	MTOax	15°46'48"	96°3'35"	8	1	---
		La Blanca	LBOax	15°46'18.58"	96°42.73"	9	3	---
Arrocito		AOax	15°45'31.80"	96°05'43.0"	11	2	---	
Isla La Montosa		IMOax	15°45'46.5"	96°05'7.0"	12	3	---	
Bahía Conejo (SIO)		BCOax	15°46'39.20"	96°3'54.70"	1	---	1	
Total						232	126	24

6.2 Análisis de datos moleculares

Redes de haplotipos:

Se obtuvieron un total de 126 secuencias (593 pb) del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad 1 (COI), en cuya red de haplotipos se observa la formación de cuatro haplogrupos (Fig. 9). Un haplogrupo está integrado por los organismos pertenecientes a la Provincia Mexicana, donde se incluyen todos los individuos recolectados en los estados de Sinaloa, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y siete individuos recolectados en el estado de Sonora. Los otros tres haplogrupos están representados por los organismos recolectados en la Provincia de Cortés, principalmente del estado de Baja California Sur (BCS) y cinco de Sonora. Los haplotipos de las localidades de Baja California Sur no se encontraron presentes en el haplogrupo de la Provincia Mexicana.

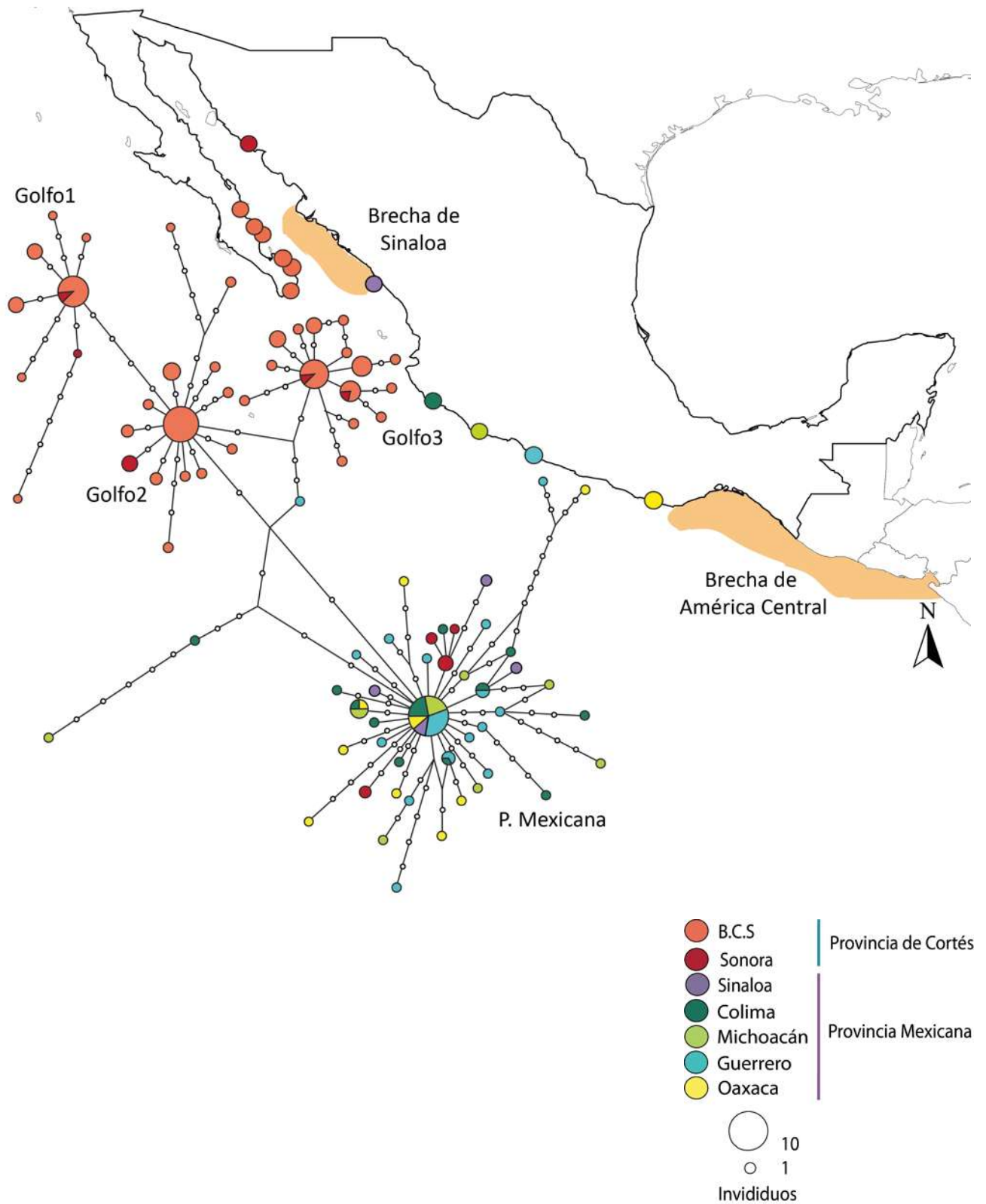


Figura 9. Red de haplotipos obtenida con el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad 1 de *Axoclinus storeyae*. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos que comparten el mismo haplotipo. Los círculos en blanco representan los pasos mutacionales.

En la red para los tres haplogrupos de la Provincia de Cortés (Golfo1, Golfo2, Golfo3), no se aprecia un agrupamiento en relación con la ubicación geográfica de los sitios de muestreo (Fig. 10).

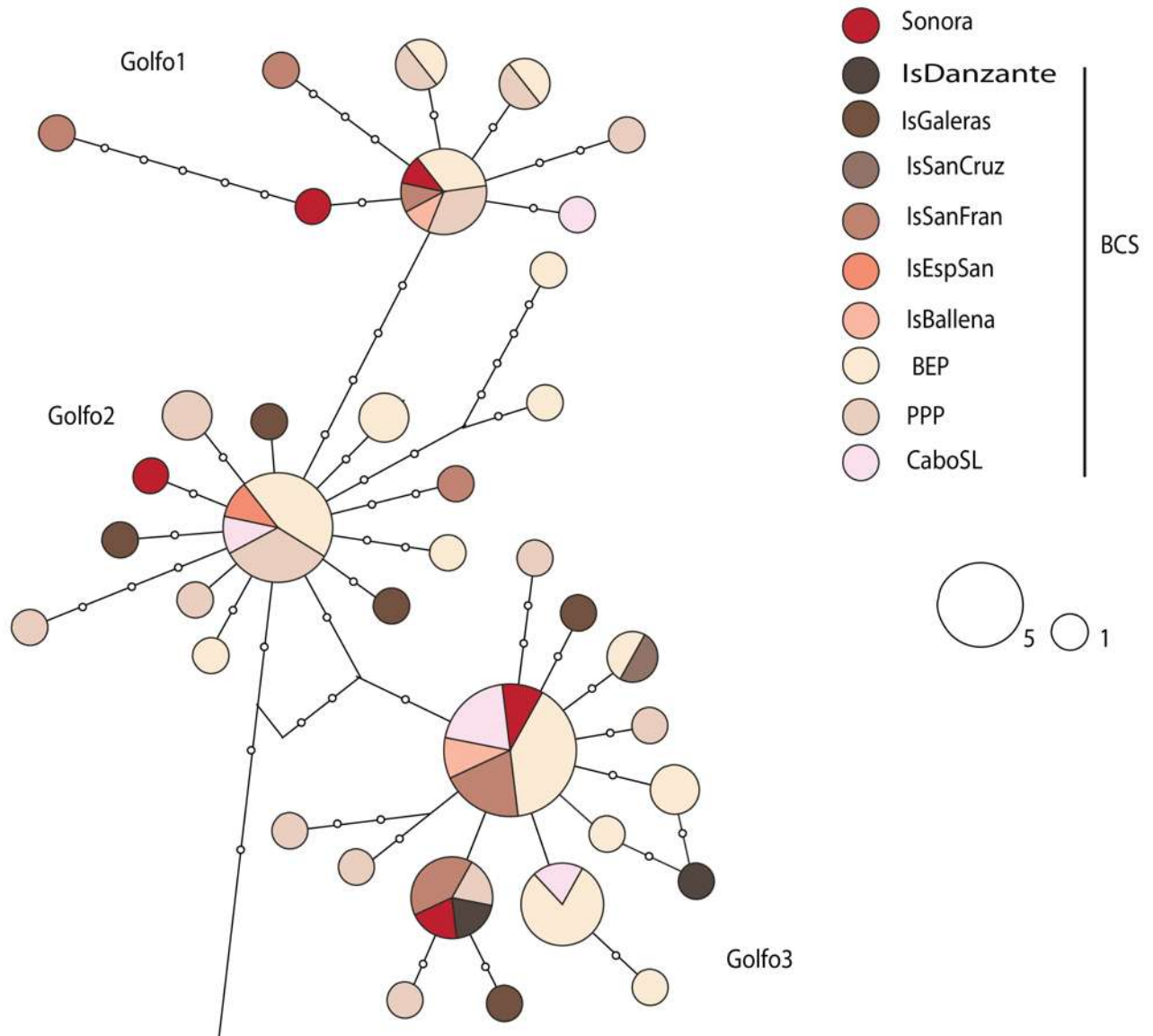


Figura 10. Red de haplotipos para los tres haplogrupos pertenecientes a la provincia de Cortés obtenida con el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad 1 de *Axoclinus storeyae*. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos que comparten el mismo haplotipo. Los círculos en blanco representan los pasos mutacionales.

Para el gen nuclear se obtuvieron 24 secuencias (715 pb) (Tabla 2). De los cuales 12 individuos pertenecen a la Provincia de Cortés y 12 a la Provincia Mexicana, resultando en 14 haplotipos. En la red de haplotipos (Fig. 11), a diferencia de los resultados obtenidos con COI, no se recuperan los grupos geográficamente estructurados, aunque se observa que la mayoría de los haplotipos periféricos pertenecen a la provincia de Cortés.

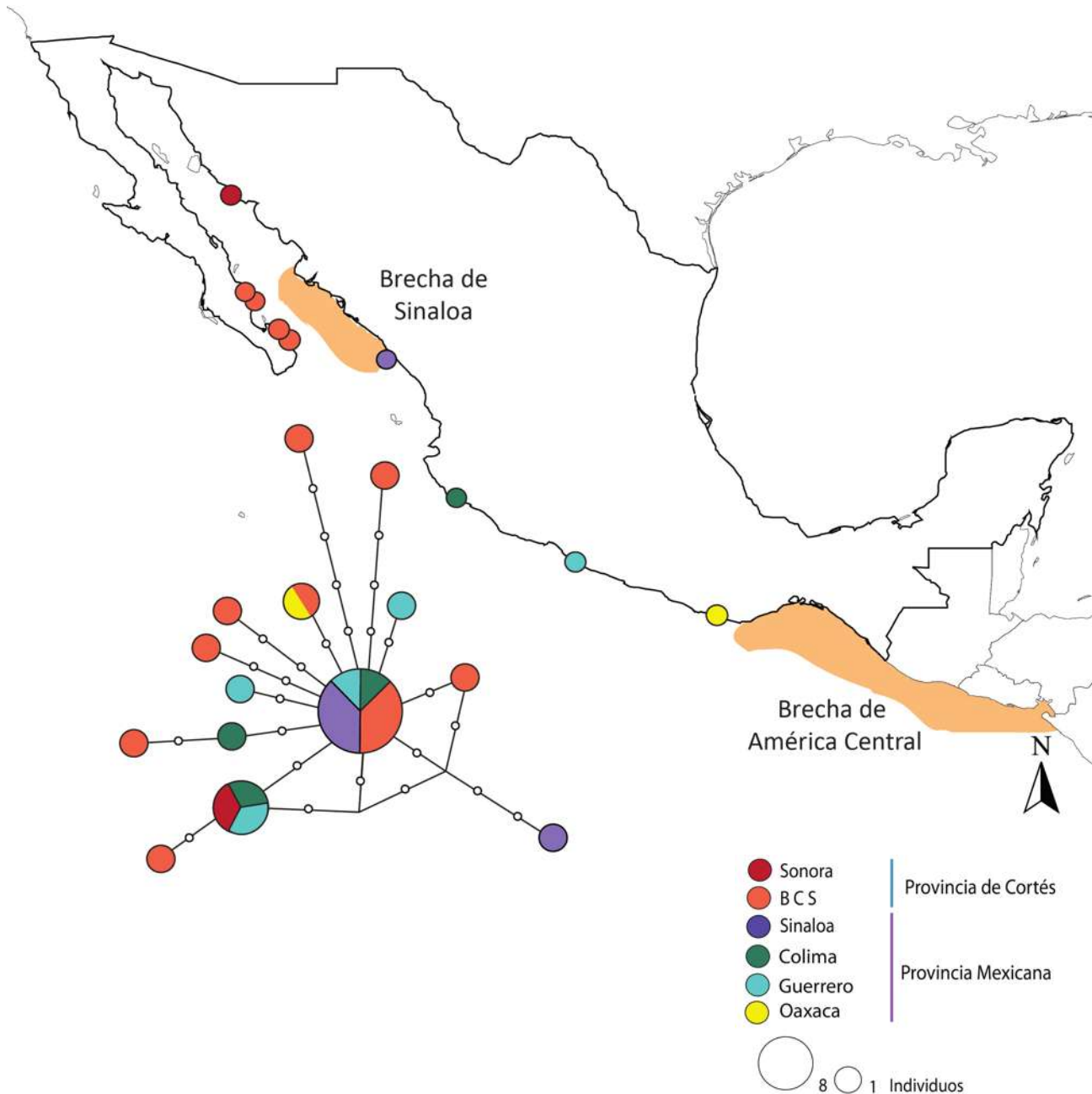


Figura 11. Red de haplotipos obtenida para el gen nuclear Rodopsina de *Axoclinus storeyae*. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos que comparten el mismo haplotipo. Los círculos en blanco representan los pasos mutacionales.

Estructura genética:

Para el gen mitocondrial (COI), las distancias genéticas entre las localidades se pueden ver a detalle en el Anexo 1, donde se observa que las distancias más bajas se presentaron entre los organismos pertenecientes a la provincia Mexicana: BFMich- IHNSin (0.2%), AOax- BFMich (0.2%), BFMich- PCCol (0.3%) y AOax-LGGue (0.4%). Las distancias más grandes se obtuvieron al comparar las localidades ubicadas en la Provincia de Cortés contra las de la Provincia Mexicana ROCMich- PPPBCS y IMOax- CSLBCS (1.7%), IMOax- IDBCS y MPGue- IDBCS (1.8%).

Al realizar la comparación entre los cuatro haplogrupos identificados anteriormente (Tabla 3), podemos observar que la distancia más baja se da entre los grupos de la Provincia de Cortés: Golfo 2 y Golfo 3 ($\bar{D}_p = 0.7\%$) y la distancia más alta es entre el Golfo 1 (Provincia de Cortés) y Provincia Mexicana ($\bar{D}_p = 1.6\%$). La distancia genética entre la Provincia de Cortés y la Mexicana fue $\bar{D}_p = 1.32\%$ ($S_D = 0.31\%$).

Tabla 3. Distancias genéticas p (%) (bajo la diagonal) y error estándar (arriba de la diagonal) de las secuencias de los cuatro haplogrupos identificados para el gen COI de *Axoclinus storeyae*.

	Golfo 1	Golfo2	Golfo 3	P. Mexicana
Golfo 1		0.273	0.300	0.394
Golfo2	0.949		0.212	0.288
Golfo 3	1.093	0.700		0.353
P. Mexicana	1.591	1.016	1.363	

Todos los valores del índice de diferenciación Φ_{st} (Tabla 4) fueron significativos, mientras que los más altos se presentaron al comparar Golfo 1 (Provincia de Cortés) y la Provincia Mexicana (0.577). Mientras que el más bajo lo presentaron los grupos Golfo 2 y Golfo 3, ambos pertenecientes a la Provincia de Cortés. Entre provincias el valor de $\Phi_{st} = 0.452$ ($p < 0.0001$).

Tabla 4. Valores de diferenciación genética Φ_{st} entre haplogrupos. *Valores significativos.

	Golfo1	Golfo2	Golfo3
Golfo2	0.49*	0	
Golfo3	0.481*	0.369*	0
P. Mexicana	0.577*	0.445*	0.544*

Con el análisis de AMOVA (Tabla 5) se realizaron dos arreglos, el primero consistió en cuatro grupos correspondientes a los cuatro haplogrupos identificados, este arreglo explica el 58.76% de la variación entre los grupos. El arreglo por provincias de Cortés y Mexicana, únicamente explica el 39.64 % de la variación entre las secuencias.

Tabla 5. Estructura genética a través del análisis de varianza molecular (AMOVA) entre provincias del POT para el gen mitocondrial COI. *Valores significativos ($P < 0.05$).

Grupos	Φ_{st}	Φ_{ct}	Φ_{sc}	% de variación entre grupos	% de variación entre poblaciones dentro de los grupos	% de variación entre poblaciones
Golfo 1/ Golfo 2/ Golfo 3/ Provincia Mexicana	0.608*	0.587*	0.049	58.76	2.04	39.20
Provincia de Cortes/ Provincia Mexicana	0.630*	0.396*	0.387*	39.64	23.42	36.95

Los sitios de muestreo fueron regionalizados tomando en cuenta las Regiones Marinas Prioritarias establecidas por la CONABIO (Fig. 12) (Arriaga-Cabrera et al., 1998). Estas regiones fueron propuestas considerando criterios ambientales (e.g., integridad ecológica, endemismo, riqueza, procesos oceánicos, etc.), económicos (e.g., especies de importancia comercial, zonas pesqueras y turísticas importantes, recursos estratégicos, etc.) y de amenazas (contaminación, modificación del entorno, efectos a distancia, especies introducidas, etc.). La mayoría de las localidades muestreadas en este estudio entran en estas regiones y otras se encuentran a escasos metros de los polígonos delimitados, en este caso se consideró el más cercano (Tabla 6).



Figura 12. Regiones marinas prioritarias de México establecidas por la CONABIO. Tomado de Arriaga-Cabrera et al. (1998).

Tabla 6. Regiones Marinas Prioritarias utilizadas en las que se encuentran los sitios de muestreo de *Axoclinus storeyae* en el Pacífico Mexicano.

No. de región	Nombre	Localidades de muestreo
16	Cajón del Diablo, Sonora	SMSon, PSASon, SCSon
9	Los Cabos	CSLBCS
10	Complejo Insular de Baja California Sur	IDCBCS, ILCBCS, ISCBCS, ISFBCS, IESBCS, IBBCS, BEPBCS, PPPBCS
20	Piactla-Urías	IHNSin, IPSin, IVSin
28	Cuyutlán-Chupadero	PCCol
29	Colola-Maruata	BFMich, CMich, ROCMich, NCMich, BHFMich
31	Tlacoyunque	CCGue, ZGue, LGGue, MPGue
41	Plataforma continental Golfo Tehuantepec	MTOax, LBOax, AOax, IMOax, BCOax

De los agrupamientos realizados por SAMOVA, k=3 presenta el valor más alto de Φ_{ct} = 0.39 > Φ_{st} =0.371. El mayor porcentaje de variación ente grupos (39.06%) (Tabla 6). De acuerdo con la representación gráfica (Fig. 12), las barreras separan las regiones pertenecientes a los estados de Sonora y Baja California Sur, del resto (Sinaloa, Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca).

Tabla 7. Análisis de SAMOVA agrupando por Regiones Marinas Prioritarias con base en el gen mitocondrial COI.
*Valores significativos (P < 0.05).

Grupos	Φ_{st}	Φ_{ct}	Φ_{sc}	% de variación entre grupos	% de variación entre poblaciones dentro de los grupos	% de variación entre poblaciones
K=2 Región 9, 10 / Región 16, 20, 28, 29, 31, 41	0.399*	0.381*	0.028*	38.15	1.77	60.08
K=3 Región 16/ Región 9, 10 / Región 20, 28, 29, 31, 41	0.371*	0.3905*	-0.030*	39.06	-1.87	62.81
K=4 Región 9, 10 / Región 16 / Región 20, 28, 31, 41 / Región 29	0.355*	0.377*	-0.036*	37.78	-2.25	64.48
K=5 Región 29/ Región 41/ Región 31, 28, 20 / Región 9, 10 / Región16	0.339*	0.368*	-0.045*	36.83	-2.90	66.07
K=6 Región 29 / Región 31 / Región 16 / Región 9, 10 / Región 20, 28 / Región 41	0.323*	0.366*	-0.068*	36.68	-4.34	67.66
K=7 Región 29 / Región 31 / Región 28 / Región 16 / Región 9, 10 / Región 20 / Región 41	0.320*	0.363	-0.066*	36.32	-4.24	67.92

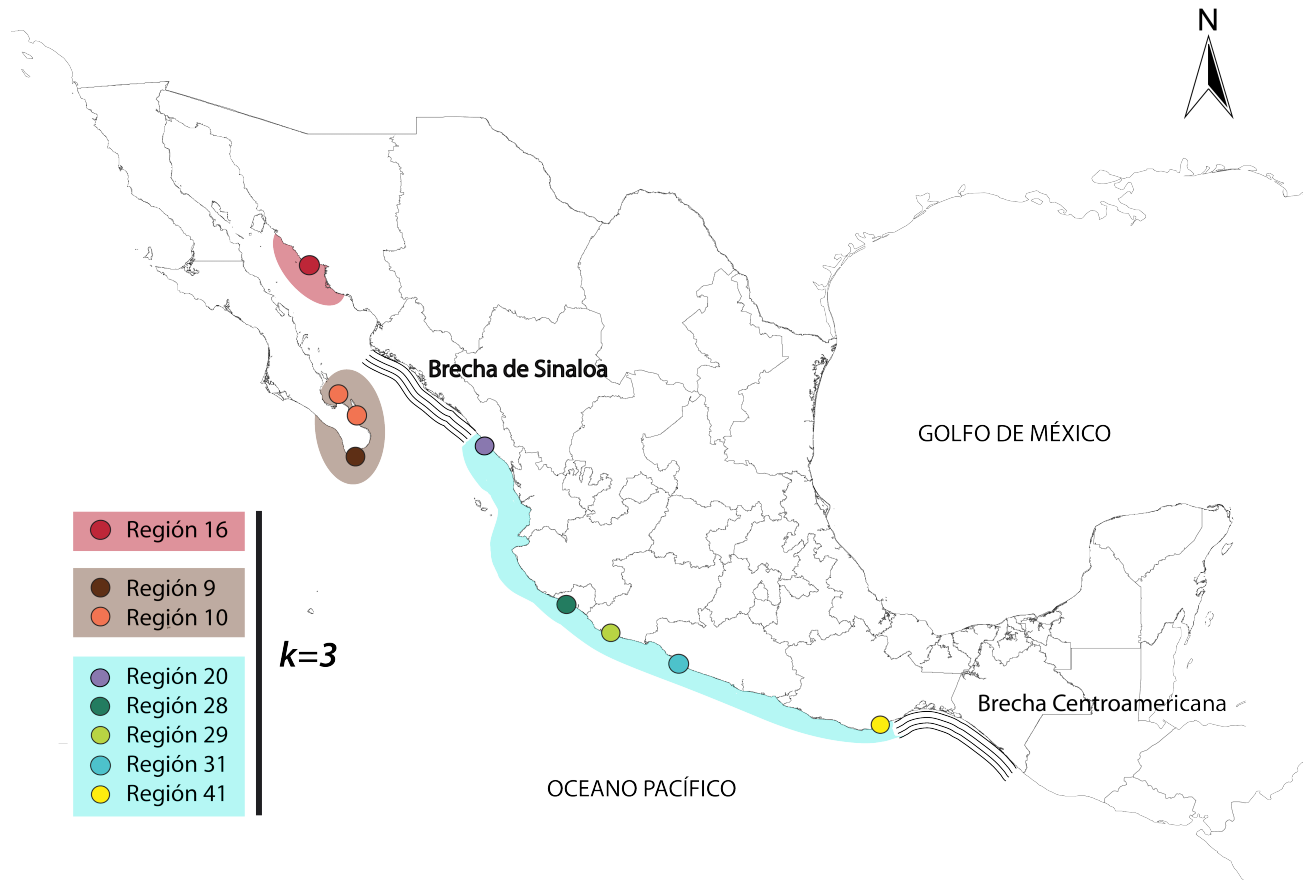


Figura 13. Representación gráfica del SAMOVA K=3, para los sitios de muestreo por Regiones Marinas Prioritarias. Las líneas en rojo indican las barreras definidas.

Para el gen de la rodopsina, las distancias genéticas obtenidas fueron bajas (Anexo 2), siendo las más altas aquellas que comparan las poblaciones muestreadas en Baja California Sur con respecto a Sinaloa (0.4%).

Índices de diversidad y demografía histórica

Se estimaron los índices de diversidad para los haplogrupos identificados, por provincia geográfica y para todos los individuos muestreados (Tabla 8). Para ambos marcadores la diversidad haplotípica global es alta (COI = 0.983, Rodopsina = 0.8841). Con el marcador mitocondrial (COI), la Provincia Mexicana presenta una diversidad haplotípica mayor ($H_d=0.973$), que la Provincia de Cortés ($H_d=0.961$). Al comparar los cuatro haplogrupos, el de la Provincia Mexicana es el más diverso ($H_d=0.973$), seguido por Golfo3 ($H_d=0.942$), Golfo2 ($H_d=0.928$) y Golfo1 ($H_d=0.858$). La

diversidad nucleotídica es baja para los cuatro haplogrupos; entre Provincias la Mexicana presenta una menor diversidad nucleotídica ($\pi=0.0069$) que la de Cortés ($\pi=0.0075$) (Tabla 8).

Las pruebas de neutralidad obtenidas con el gen mitocondrial COI por medio de los estadísticos D_t de Tajima y F_s de Fu, resultaron negativos y significativos para todos los haplogrupos, a excepción del haplogrupo Golfo1, siendo negativo y no significativo en ambos estadísticos (Tabla 8).

Tabla 8. Valores de diversidad genética con el COI para *Axoclinus storeyae*. N= número de individuos, Hn= número de haplotipos, H_d = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica, k = promedio de diferencias nucleotídicas por pares, S= números de sitios polimórficos. Pruebas de neutralidad; $D_t=D$ de Tajima y F_s de Fu. *Valores significativos ($P < 0.05$).

	Haplogrupo	N	Hn	$H_d \pm \sigma$	$\pi \pm \sigma$	k	S	D_t	F_s de Fu
Provincia de Cortés	Golfo1	16	9	0.858 \pm 0.077	0.0062 \pm 0.0015	3.667	18	-1.291	-1.837
	Golfo2	18	13	0.928 \pm 0.052	0.0037 \pm 0.0008	2.209	17	-2.297*	-8.637*
	Golfo3	31	20	0.942 \pm 0.028	0.0052 \pm 0.0009	3.071	27	-1.910*	-12.954*
	Total	65	36	0.961 \pm 0.011	0.0075 \pm 0.0005	4.418	46	-1.841*	-27.480*
Provincia Mexicana		61	44	0.973 \pm 0.012	0.0069 \pm 0.0008	4.055	69	-2.464*	-25.919*
Todas los individuos		126	79	0.983 \pm 0.004	0.0102 \pm 0.0005	5.942	95	-2.196*	-93.658*

El estadístico R2 mostró valores bajos y significativos en los haplogrupos de la Provincia de Cortés (Golfo 2 y 3) y en el haplogrupo de la Provincia Mexicana. Por el contrario, para el haplogrupo Golfo1 el valor de R2 fue no significativo (Tabla 9).

Tabla 9. Valores de R2 (Ramos-Onsins y Rozas, 2002) y valores de significancia (P) para el gen mitocondrial COI.

Haplogrupos	R2	P
Golfo1	0.1443	0.057
Golfo2	0.1479	0.000
Golfo3	0.1209	0.002
P. Mexicana	0.1041	0.000

Para el gen de la rodopsina se estimaron los índices de diversidad por la ubicación de los sitios de recolecta (estados) y por provincias biogeográficas (Tabla 10). La diversidad haplotípica es

mayor para la Provincia de Cortés ($H_d=0.955$) que para la Mexicana ($H_d= 0.833$). La diversidad nucleotídica es baja en general para ambas provincias.

Tabla 10. Diversidad genética del gen nuclear rodopsina para *Axoclinus storeyae*. N=número de individuos, Hn=número de haplotipos, H_d =diversidad haplotípica, π =diversidad nucleotídica, k =promedio de diferencias nucleotídicas por pares, S=número de sitios polimórficos.

	Estado	N	Hn	$H_d \pm \sigma$	$\pi \pm \sigma$	k	S
Provincia de Cortés	Sonora	1	1	---	---	---	---
	BCS	11	10	0.955 ± 0.057	0.0043 ± 0.057	3.136	18
	Total	12	9	0.945 ± 0.066	0.0045 ± 0.0010	3.273	18
Mexicana	Sinaloa	4	2	0.500 ± 0.265	0.0028 ± 0.0014	2	4
	Colima	3	3	1.0 ± 0.272	0.0018 ± 0.0013	1.33	2
	Guerrero	4	4	1.0 ± 0.177	0.0021 ± 0.0013	1.500	3
	Oaxaca	1	1	---	---	---	---
	Total	12	7	0.833 ± 0.100	0.0022 ± 0.0006	1.606	8
TODAS		24	14	0.884 ± 0.056	0.00327 ± 0.0006	2.337	21

Las prueba de neutralidad D_t de Tajima para todos los individuos con el gen rodopsina fue negativa y significativa ($D_t = -0.1145$, $P < 0.05$).

Tiempos de divergencia

Con base en el gen mitocondrial COI, el tiempo estimado de divergencia entre los haplogrupos de la Provincia de Cortés y la Mexicana presentó un rango de 0.55 a 2.03 MA (media 1.11). En el haplogrupo de la Provincia de Cortés, se estima que el haplogrupo Golfo 3 divergió de los haplogrupos Golfo 1 y 2 ente 0.35-1.03 MA (media 0.62) (Fig. 13).

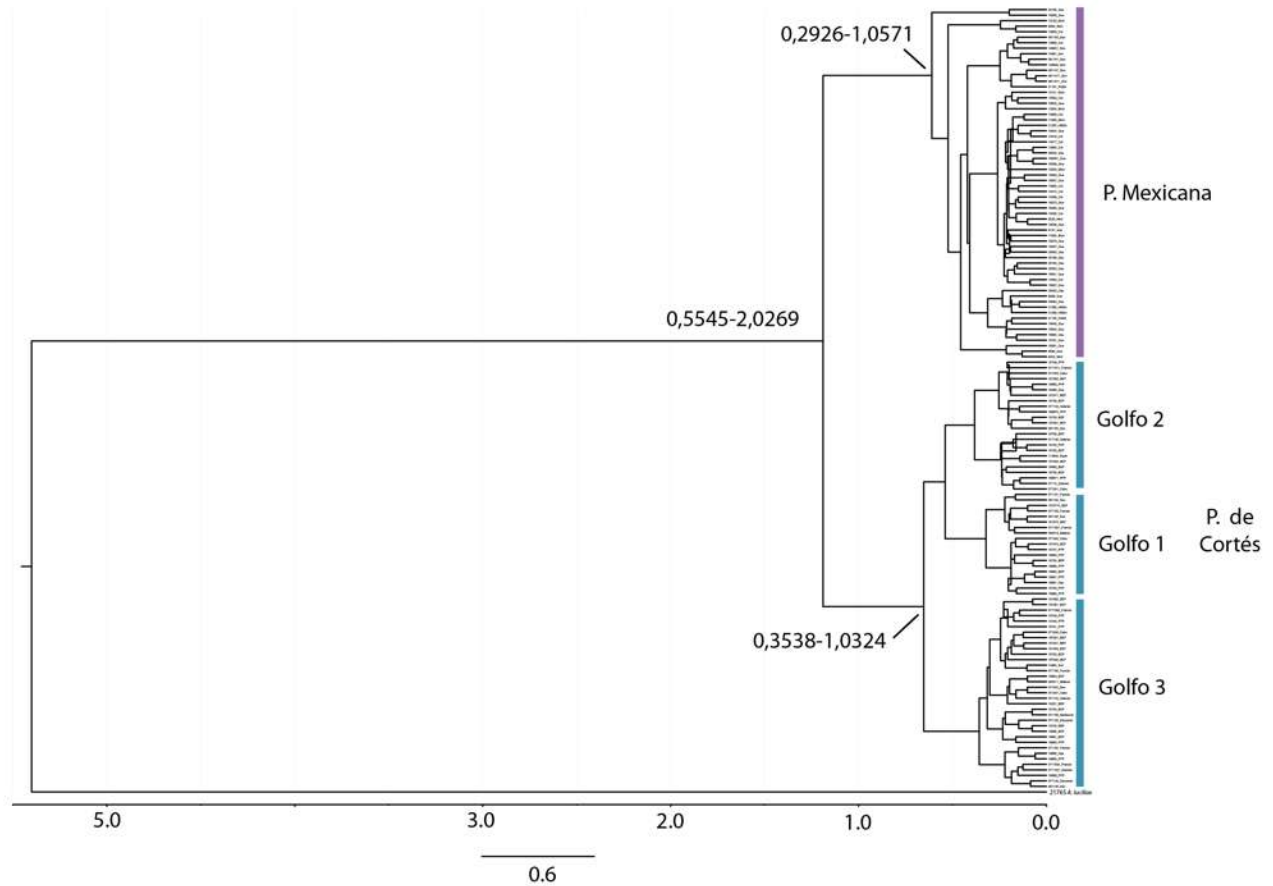


Figura 14. Reconstrucción filogenética por inferencia bayesiana de coalescencia y estimación de tiempos de divergencia de *Axoclinus storeyae*, con el gen mitocondrial COI. En morado Provincia Mexicana, en azul la Provincia de Cortés.

VII. DISCUSIÓN

Los diferentes análisis muestran una diferencia en cuatro grupos genéticos, uno distribuido en la provincia Mexicana y tres en la provincia de Cortés. Como primer paso se explicarán los procesos que pudieron influir en la formación del grupo de la provincia Mexicana con respecto al de los tres grupos distribuidos en la provincia de Cortés, posteriormente se explicarán los procesos que pudieron influir en la diferenciación dentro de la provincia de Cortés y por último se discutirán los índices de diversidad y sus implicaciones en la conservación de la especie.

Historia evolutiva temprana: formación de dos grupos.

La red de haplotipos para el gen mitocondrial COI recupera cuatro haplogrupos: tres distribuidos en la Provincia de Cortés (Golfo 1, 2, 3), donde se encuentran todos los organismos recolectados en Baja California Sur y cinco de Sonora; y el haplogrupo de la Provincia Mexicana, donde se ubican los organismos recolectados en los estados de Sinaloa, Colima, Guerrero, Oaxaca y siete de Sonora. La estructuración de estos cuatro grupos es respaldada por el 58.76% de la variación en el análisis de AMOVA. Por su parte, el SAMOVA, separa los organismos recolectados en los estados de Baja California Sur y Sonora (Provincia de Cortés), marcando una barrera (Fig. 12) entre estas poblaciones y el resto (Provincia Mexicana). Esta barrera se ubica en la zona conocida como Brecha de Sinaloa, la cual es una extensión de arena y lodo de aproximadamente de 350 kilómetros y que representa una barrera al movimiento de especies arrecifales debido a la discontinuidad de hábitat, lo que puede estar influyendo de manera importante en la restricción del flujo genético de *Axoclinus storeyae*, al menos de norte a sur y con ello en la diferenciación genética. De igual forma, mecanismos de retención de larvas por los giros oceanográficos de mesoescala, así como la duración de la larva pelágica, pueden estar influyendo en la estructuración de *A. storeyae* (para más detalle ver más adelante) (Zamudio et al., 2007; Pantoja et al., 2012). La influencia de esta barrera en la estructuración de especies arrecifales ha sido demostrada en el gobio *Elacatinus puncticulatus* (Sandoval-Huerta, 2014). Sin embargo, en otras especies arrecifales como *Ophioblennius stindachneri* (Muss et al., 2001), *Epinephelus labriformis* (Craig et al., 2006) o en especies pelágicas como *Scomberomorus sierra* (Domínguez-Rivera et al., 2011) distribuidas a lo largo del POT, esta brecha arenosa no parece representar una barrera al movimiento de

individuos, estas diferencias han sido relacionadas con las características intrínsecas de las especies, como la capacidad de dispersión y la estacionalidad de los ciclos reproductivos.

La presencia de haplotipos recolectados en la Provincia de Cortés que son compartidos con haplotipos distribuidos en la Provincia Mexicana habla de un flujo de genes unidireccional, que va de sur a norte, el cual, de acuerdo con los valores de Φ_{st} puede considerarse como moderado ($\Phi_{st}= 0.45, p=0.0$). La dispersión de organismos de la Provincia Mexicana a la Provincia de Cortés, puede ser favorecida por la Corriente Costera Mexicana (CCM). La Corriente Costera Mexicana (CCM) abarca desde el Golfo de Tehuantepec hasta la entrada al Golfo de California (Fig. 6b) donde se encuentra e interactúa con la Corriente de California que avanza hacia el sur pegada a la costa (Pantoja et al., 2012). La CCM pueden estar favoreciendo el desplazamiento de organismos provenientes de la Provincia Mexicana hacia la de Cortés, explicando la existencia de haplotipos compartidos entre Sonora y la Provincia Mexicana. Esta migración unidireccional Sur a Norte no se había reportado con anterioridad, por el contrario se ha registrado una migración unidireccional Norte a Sur en la especie de gobio *Elacatinus puncticulatus*, la cual es atribuida a la época de reproducción (otoño) y la influencia de los giros que podrían estar favoreciendo la migración Norte a Sur (Sandoval-Huerta, 2014), contrario a lo que ocurre con *Axoclinus* cuya época de reproducción se estima ocurre en el verano.

Es probable que esta falta de migrantes de norte a sur en *Axoclinus storeyae* se deban a procesos oceanográficos de mesoescala que se llevan a cabo en el Golfo de California. En el Golfo de California se presentan procesos como los giros ciclónicos y anticiclónicos (Aceves-Medina et al., 2004; Contreras-Catala et al., 2012; Pantoja et al., 2012), los cuales pueden tener influencia en los patrones de desplazamiento de las larvas pelágicas causando la retención o concentración de las mismas en ciertas áreas del giro, afectando el reclutamiento de las especies de peces (Contreras-Catala et al., 2012). Se ha registrado que especies de la familia Tripterygiidae distribuidas en el POT presentan un alto grado de retención de larvas (en varias etapas de crecimiento) cerca de los arrecifes del Golfo de California debido a estos giros (Brogan, 1994; Riginos y Victor, 2001). Para otras especies de tripterígidos se ha reportado que el período de reproducción es en verano (Petersen, 1989), época en que los giros se desplazan hacia el oeste, por lo que es muy probable que las larvas de *A. storeyae* queden atrapadas en estos giros, reteniéndolas cerca de los arrecifes del Golfo y evitando así su dispersión hacia el sur. A diferencia de lo que ocurre con *Elacatinus*

puncticulatus cuya reproducción esta reportada en el otoño (Sandoval-Huerta, 2014). La reproducción de *A. storeyae* puede llevarse a cabo durante el verano periodo en el que la CCM se fortalece y se dirige hacia el Golfo de California (Kessler, 2006) lo que podría favorecer la dispersión de las larvas hacia el norte.

De acuerdo a los datos del reloj molecular, la formación de ambos grupos (Provincia de Cortés y Provincia Mexicana) sucedió en el Plioceno tardío y Pleistoceno temprano (0.55 a 2.03 MA, media 1.11). Esta formación pudo tener dos escenarios, 1) la distribución continua de un ancestro común que se separó por procesos vicariantes debido a la aparición de una barrera al flujo entre poblaciones, y 2) la formación de uno de los grupos a partir de una dispersión de organismos de una provincia a otra. De acuerdo a nuestros datos, redes de haplotipos, posición de los haplotipos de ambas provincias en la red del gen nuclear, índices de diversidad, análisis de varianza molecular, reloj molecular, entre otros, se puede inferir que el origen de las poblaciones de *Axoclinus storeyae* se encuentra en la Provincia Mexicana, y que debido a un evento de dispersión se formaron las poblaciones dentro de la Provincia de Cortés, lo que con el tiempo y debido a procesos oceanográficos, se fueron diferenciando de las poblaciones que le dieron origen (Provincia Mexicana). Este evento pudo estar influido por cambios geológicos o climáticos, como los períodos interglaciares ocurridos durante el Pleistoceno, en los cuales el nivel del mar aumento, existiendo fluctuaciones de la temperatura (Fauvelot et al., 2003, Shen et al., 2011). Un factor adicional pudo haber sido la formación de las islas e islotes del sur del Golfo de California durante el Pleistoceno (ver detalles más adelante). Los periodos glaciares produjeron una caída en los niveles del mar, que en ocasiones alcanzó a llegar a los 100 metros debajo de su nivel actual, lo que provocó una disminución en la disponibilidad de hábitat (Fauvelot et al., 2003). Al restablecerse las condiciones del nivel del mar en los periodos interglaciares y con el proceso de formación de islas e islotes al sur del Golfo durante el Pleistoceno, se presentaron condiciones y el hábitat adecuado para la dispersión y establecimiento de los organismos que llegaban al golfo provenientes de la Provincia Mexicana. Las reducciones poblacionales en peces de arrecife y los procesos de expansión subsecuentes, han sido asociadas a perturbaciones de hábitat causadas por la disminución del nivel del océano y fluctuaciones de la temperatura durante el periodo Pleistoceno Medio (Fauvelot et al., 2003; Bowen et al., 2006; Eytan y Hellberg, 2010; Sandoval-Huerta, 2014). Estos eventos de expansión poblacional en *A. storeyae* son apoyados por los valores negativos y

significativos de la D de Tajima y F de Fu ($D_t = -2.196$, $P < 0.05$; $F = -93.65$, $P < 0.05$), la forma de estrella de la red de haplotipos y los valores bajos y significativos registrados por el estadístico R2 (Tabla 9).

Por lo que la estructura filogeográfica encontrada entre las provincias de Cortés y la Mexicana estaría determinada tanto por la Brecha de Sinaloa, que dificulta el establecimiento de los organismos, así como las corrientes marinas y giros oceanográficos presentes en el POT y las características intrínsecas de las especies.

Diferenciación dentro de la Provincia de Cortés:

Un rasgo interesante es la formación de tres grupos genéticamente divergentes dentro de la provincia de Cortés, los cuales no presentan una asociación geográfica a alguna regionalización biogeográfica establecida para el Golfo de California (Walker, 1960; Thomson et al., 2000), contrario a lo reportado para *Axoclinus nigricaudus* y para *Acanthemblemaria crockeri* (Riginos y Nachman, 2001; Linn et al., 2009) donde se encuentra una asociación geográfica de los haplotipos encontrados a regiones biogeográficas. Estos tres grupos, en algunos casos, presentan un mayor número de pasos mutacionales entre ellos que con el haplogrupo de la Provincia Mexicana. Se estimó que la separación del grupo Golfo3 respecto a Golfo1 y 2 se dio entre 0.336-1.03 MA (Pleistoceno temprano).

La separación de estos tres grupos es difícil de inferir o relacionar a eventos geológicos o climáticos. La historia geológica del Golfo de California es compleja, su forma actual se conformó durante el Plioceno, período en el cual presentaba una batimetría somera, especialmente en el sur (Carreño y Helenes, 2002), donde se ubican la mayoría de los sitios muestreados en la presente investigación. Durante el Plioceno tardío (3.6 MA) no se había alcanzado la conexión entre las aguas del proto-golfo y el actual Golfo de California, aún la boca del Golfo de California se encontraba cerca de la cuenca de San Nicolás, Sonora (Ledesma-Vázquez, 2002). Más tarde se da la apertura del Golfo de California presentándose una serie de fallas en el área. La combinación de varios eventos y fallas dan como resultado la formación del Canal de San José, donde se encuentran los islotes de Ballena y Gallina, y la Isla de San Francisco. Existen varias teorías acerca del surgimiento del bloque de Los Cabos (Carreño y Helenes, 2002), sufriendo importantes movimientos y cambios a principios del Pleistoceno (1.8 MA). Aún se desconoce el efecto del

origen y evolución de las islas e islotes del Golfo de California sobre la migración, evolución y extinción de los organismos distribuidos en esta zona. Más aun cuando eventos glaciares, con la subsecuente variación en el nivel del mar y la temperatura, fueron relativamente comunes durante el Pleistoceno. Por lo que, una vez establecidas las poblaciones de *Axoclinus storeyae* en el Golfo de California, esta intensa historia geológica y climática durante el Pleistoceno, pudo haber influido de manera importante en las poblaciones de la especie, aislándolas para conformar tres grupos genéticos. Estos eventos geológicos han sido reportados como claves en la divergencia entre poblaciones de peces arrecifales co-distribuidas en el Golfo de California, tal como lo reportan Bernardi et al. (2003), para 12 especies de peces marinos. Una vez que las condiciones se restablecieron los tres grupos sufrieron una expansión poblacional, lo cual es soportado por los valores negativos y significativos de D de Tajima y F de Fu (Tabla 8), la forma de estrella de la red de haplotipos y los valores bajos y significativos registrados por el estadístico R2 (Tabla 9). Se ha reportado con anterioridad que los organismos que habitaban arrecifes someros probablemente sufrieron episodios de alteración de su hábitat durante los periodos glaciares del Pleistoceno, desplazándose a zonas con condiciones más favorables. Al retirarse el hielo glacial, la expansión poblacional dio como resultado una gran abundancia de haplotipos de baja frecuencia (Craig et al., 2007; Klanten et al., 2007).

Además de los eventos geológicos y procesos oceanográficos, otros factores como las características intrínsecas de las especies, pueden estar influyendo de manera importante en la restricción del flujo genético y la estructuración de poblaciones dentro de la Provincia de Cortés. Para el caso de *Axoclinus storeyae* no se tienen datos precisos de su biología y comportamiento reproductivo, pero debido al marcado dimorfismo sexual que se observa en la especie, puede pensarse que, al igual que otros tripterígididos co-distribuidos con *A. storeyae* en la Provincia de Cortés, presenta una territorialidad marcada y un nivel de selección sexual intensa (Petersen, 1989), así como una duración corta de larva pelágica (PLD) (Riginos y Victor, 2001) y una alta tasa de retención de larvas cerca de los arrecifes del Golfo de California (Brogan, 1994), características que pueden estar influyendo en la restricción del flujo genético entre los tres grupos de la Provincia de Cortés, como lo demuestran los valores bajos a medios de $\Phi_{st} = 0.36-0.49$.

En conjunto, la historia geológica del Golfo de California y la historia de vida de *Axoclinus storeyae*, pudieron haber influido en la estructuración genética de los tres grupos dentro de la

provincia de Cortés. Patrones similares son explicados como responsables de la estructuración genética del pez unicornio *Naso vlamingii* en el océano Indo Pacífico en cuatro clados (Klanten et al., 2007), siendo evidencia de cuatro episodios de aislamiento entre localidades desde el Mioceno, seguido de cuatro períodos de expansión y mezcla debido a la dispersión.

Diversidad genética:

La diversidad haplotídica encontrada para *Axoclinus storeyae* con el marcador mitocondrial COI (ADNmt) fue alta mientras que la nucleotídica fue baja ($H_d=0.980$, $\pi= 0.0103$; respectivamente). Estos valores altos de diversidad haplotídica y baja diversidad nucleotídica en genes mitocondriales es la regla en estudios de diversidad genética en especies arrecifales (Riginos y Nachman, 2001; Carrenas-Carbonell et al., 2005; Eytan y Hellberg, 2010; Golani y Bernardi., 2012; Sandoval-Huerta, 2024). Sin embargo, la diversidad genética alta encontrada en el marcador nuclear Rodopsina ($H_d=0.884$, $\pi= 0.00327$) es inusual para especies arrecifales, la cual puede deberse a la presencia de haplotipos únicos. Los valores de diversidad en este gen por lo general son bajos para especies arrecifales (Golani y Bernardi, 2012); sin embargo, en especies de gobios y cíclidos (Sugawara et al., 2002; Larmuseau et al., 2009), se ha reportado una alta diversidad y un nivel alto de polimorfismos interespecíficos, asociado a que las características propias de la especie, como un marcado territorialismo y la selección sexual, podrían estar restringiendo el flujo genético entre poblaciones.

Comparando la diversidad genética entre la Provincia de Cortés y la Mexicana, ambas presentan valores altos en ambos genes, lo cual es algo poco común si se piensa que los marcadores mitocondriales presentan una alta tasa de mutación, incluso diez veces mayor que los genes nucleares (Brown et al., 1979), por lo que, por lo general, presentan mayor variabilidad genética en una muestra dada. Esta situación coincide con lo reportado por Sandoval-Huerta (2014) en *Elacatinus puncticulatus* (Gobiidae) para el gen mitocondrial; sin embargo, para el gen nuclear Rho, a diferencia del presente trabajo, este autor encuentra baja diversidad para ambas provincias. La alta diversidad en ambas provincias, para ambos genes podría ser el reflejo del tamaño efectivo poblacional ancestral (Klanten, 2007; Domínguez-López et al., 2010). Otros factores como el flujo genético dentro de las poblaciones del grupo de la Provincia Mexicana y entre los tres haplogrupos del Golfo de California, los cuales comparten haplotipos, así como los

procesos históricos pueden también influir en las estimaciones de la diversidad genética, similar a lo encontrado en el trabajo de Shen et al. (2011).

Conservación:

Actualmente la preocupación sobre la protección y conservación de especies no solo está enfocada a aquellas de interés comercial si no a los ecosistemas altamente diversos, como son los arrecifes. Las áreas marinas protegidas son el principal medio para proteger los arrecifes, sin embargo, decisiones como su ubicación y delimitación siempre son controversiales. En este sentido, la filogeografía aporta datos fundamentales para la identificación de dichas unidades, ya que, utilizando datos moleculares, se puede revelar linajes aislados y únicos (ej. especies crípticas) o historias propias de las poblaciones. Esta herramienta puede ayudar a plantear o proponer políticas de conservación en unidades por debajo del nivel de especie (Rocha et al., 2007; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009). El uso de esta información genética incorporada al establecimiento de reservas marinas incrementaría el grado de conexión entre los elementos que forman parte del sistema, haciéndolas más eficaces (Drew et al., 2012).

En México se han designado zonas de interés especial de conservación, como las regiones marinas prioritarias (CONABIO), que involucran de manera multidisciplinaria diversos aspectos para su asignación (Arriaga-Cabrera et al., 1998), con el fin conservar la biodiversidad y fomentar su investigación. A pesar de estos esfuerzos, el uso de información como los patrones de conectividad, fragmentación y diversidad genética de las especies, es aun limitada en la designación de dichas regiones. Con base en los resultados obtenidos para *Axoclinus storeyae*, se hace posible el reconocimiento de al menos dos unidades genéticamente discretas: la Provincia de Cortés y la Provincia Mexicana, aunque la separación entre ambas provincias podría ser reciente, las características propias de cada una como procesos oceanográficos, ecológicos y geológicos, las hacen escenarios particulares para el desarrollo de linajes evolutivamente independientes (Lin et al., 2009; Sandoval-Huerta, 2014), cada uno de los cuales debe ser conservado pues forma parte fundamental de la variación genética de la especie. De igual forma, los tres grupos genéticos dentro de la provincia de Cortés presentan una variación genética particular, diferenciándose y presentando una identidad genética cada grupo, sin embargo, al presentar haplotipos compartidos en todas las localidades dentro de los tres grupos, es difícil delimitar la zona más propicia para

conservar, sin embargo esta diferenciación deberá ser tomada en cuenta en los planes de conservación y manejo.

VIII. CONCLUSIONES

- Se sugiere que el origen de las poblaciones de *Axoclinus storeyae* se encuentran en la provincia Mexicana, debido a los resultados observados en las redes de haplotipos.
- El tiempo de divergencia entre las poblaciones de la Provincia de Cortés y la Provincia Mexicana se estimó en 0.554-2.026 MA, coincidiendo con los periodos glaciares e interglaciares, así como con la formación de Islas e Islotes al sur del Golfo de California a finales del Plioceno y Pleistoceno temprano.
- Los organismos recolectados en el estado de Baja California Sur forman tres filogrupos que son separados del resto en el análisis de SAMOVA, debido al porcentaje de haplotipos únicos y a su alta diversidad genética.
- Con base en la red de haplotipos se identificaron cuatro grupos: tres pertenecientes a la Provincia de Cortés y uno a la Provincia Mexicana, este último fue el más diverso.
- La intensa actividad geológica ocurrida durante el Pleistoceno en el Golfo de California, tuvo efectos fuertes en la conformación de los tres grupos identificados en la Provincia de Cortés.
- Los valores negativos y significativos de los análisis de neutralidad, los valores bajos de R2, la diversidad haplotípica alta y el agrupamiento de los haplotipos en forma de “estrella” nos indican eventos de expansión poblacional relativamente recientes.
- *Axoclinus storeyae* presenta una diversidad genética alta para ambos marcadores mitocondrial (COI) y nuclear (Rho).
- La discontinuidad de hábitat que provoca la brecha de Sinaloa, aunado a las corrientes marinas y giros está fungiendo como una barrera para el flujo genético entre los

organismos de la Provincia de Cortés y la Provincia Mexicana al menos unidireccionalmente.

- Se propone para futuras acciones de conservación establecer al menos dos unidades genéticamente discretas de las poblaciones de *Axoclinus storeyae* una para la Provincia de Cortés y otra para la Provincia Mexicana.

IX. LITERATURA CITADA

- Ackerman J.L. y D.R. Bellwood. 2002. Comparative efficiency of clove oil and rotenone for sampling reef fish assemblages. *Journal of Fish Biology* 60, 893-901.
- Aceves-Medina, G., S. P. A. Jiménez-Rosenberg, A. Hinojosa-Medina, R. Funes-Rodríguez, R. J. Saldierna-Martínez, y P. E. Smith. 2004. Fish larvae assemblages in the Gulf of California. *Journal of Fish Biology* 65, 832-847.
- Allen, G. R. y D. R. Robertson. 1991. Description of two new genera and four new species of Triplefins (Pices: Tripterygiidae) from the Tropical Eastern Pacific. *Revue Francaise d'Acuariologie* 18:79-82.
- Arriaga-Cabrera, L., E. Vázquez-Domínguez, J. González-Cano, R. Jiménez-Rosenberg, E. Muñoz-López, V. Aguilar-Sierra (coordinadores). 1998. *Regiones marinas prioritarias de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.
- Avice, J. C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge. 447 pp.
- Badan A., 1997. La Corriente Costera de Costa Rica en el Pacífico Mexicano. En: M. F. Lavín. Editor. *Contribuciones a la Oceanografía Física en México*. Monografía No. 3. Unión Geofísica Mexicana. 99- 112 p.
- 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.
- Barjau, E., Rodríguez-Romero, J., F. Galván, F. Guitiérrez y J. López. 2012. Estructura temporal y espacial de la comunidad de peces arrecifales de la Isla San José, Golfo de California, México. *Revista de Biología Tropical* 60(2):649-667.
- Bernardi, G., L. Findley, y A. Rocha-Olivares. 2003. Vicariance and dispersal across Baja California in disjunct marine fish populations. *Evolution*. 57 (7): 1599-1609.
- Bowen, B. W., A. L. Bass, L. A. Rocha, W. S. Grant y D. R. Robertson. 2001. Phylogeography of the trumpetfish (*Aulostomus spp.*): ring species complex in a global scale. *Evolution* 55: 1029-1039.
- Bowen, B. W., A. L. Bass y A. Muss. 2006. Phylogeography of two Atlantic squirrelfishes (Family Holocentridae): exploring links between pelagic larval duration and population connectivity. *Marine Biology* 149 (4):899-913.
- Brown, W.M., M. George Jr. y A. C. Wilson. 1979 Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences. U. S. A.* 76:1967-1971.

- Brogan, M. W. 1994. Distribution and retention of larval fishes near reefs in the Gulf of California. *Marine Ecology Progress Series* 115:1-13.
- Carreras-Carbonell, J., E. Macpherson y M. Pascual. 2005. Rapid radiation and cryptic speciation in Mediterranean triplefin blennies (Pisces: Tripterygiidae) combining multiple genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37:751-761.
- Carreras-Carbonell, J., E. Macpherson y M. Pascual. 2006. Population structure within and between subspecies of the Mediterranean tripletfin fish *Tripterygion delaisi* revealed by highly polymorphic microsatellite loci. *Molecular Ecology* 15, 3527-3539.
- Carreras-Carbonell, J., E. Macpherson y M. Pascual. 2007. High self-recruitment levels in a Mediterranean litoral fish population revealed by microsatellite markers. *Marine Biology* 151:719-727.
- Carreño, A. L. y J. Heles. 2002. Geology and Ages of the Islands. En: *A new Island Biogeography of the Sea of Cortés*. Case, T. J., Cody, M. L. y Ezcurra, E. (Editores). Oxford University Press. 669 pp.
- Chang, B. S. W. y Campbell, D. L. 2000. Bias in Phylogenetic reconstruction of vertebrate Rhodopsin sequences. *Molecular Biology and Evolution* 17(8):1220-1231.
- Chen, W. J., C. Bonillo y G. Leconte. 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.
- Colborn, J., R. E. Crabtree, J. B. Shakee, E. Pfeiler y B.W. Bowen. 2001. The evolutionary enigma of bonefishes (*Albula spp.*): cryptic species and ancient separations in a globally-distributed shorefish. *Evolution*, Vol. 55, pp.807-820.
- 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.
- Corona-Santiago, D. K. 2013. Filogeografía de tres especies de Goodeidos endémicos del Centro de México: *Allotoca catarinae*, *A. diazi* y *A. meeki* (Cyprinodontiformes: Goodeidae). Tesis de Maestría. Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 129 pp.
- Craig, M. T., P. A. Hastings, D. J. Pondella II, D. 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.

- Del Moral-Flores, L. F.; A. F. González-Acosta, H. Espinosa-Pérez, G. Ruiz-Campos y J. L. Castro-Aguirre. 2013. Lista anotada de la ictiofauna de las islas del golfo de California, con comentarios sobre sus afinidades zoogeográficas. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84:184-214.
- 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. Uribe-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.
- Domínguez-Rivera, P. A. 2011. Variabilidad genética de la región control mitocondrial del pez arrecifal (*Thalassoma lucasanum*) en el Pacífico Tropical Mexicano. Tesis de maestría. Ciencias en Ecología Marina, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CISECE). 66 pp.
- Drew J. A. y P. H. Barber. 2012. Comparative Phylogeography in Fijian Coral Reef Fishes: A Multi-Taxa Approach towards Marine Reserve Design. *PLoS ONE* 7(10): e47710.
- Drummond A. J., Rambaut A., Shapiro B. y Phybus O. G. 2005. Bayesian Coalescent Inference of past population dynamics for molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 22: 1185-1192.
- Drummond, A. J. y A. Rambaut. 2007. Beast: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7:214.
- Dupanloup, I., S. Schneider y L. Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11(12):2571-81.
- 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.
- 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.
- Excoffier, L., y H. E. L. Lischer. 2010. Arlequin ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10:564-567.
- Fauvelot, C., G. Bernardi y S. Planes. 2003. Reductions in the mitochondrial DNA diversity of coral reef fish provide evidence of population bottlenecks resulting from Holocene sea-level change. *Evolution* 57 (7): 1571-1583.

- Fitzgibbon, J., A. Hope, S. J. Slobodyanyuk, J. Bellingham, J. K. Bowmaker y D.M. Hunt. 1995. The rhodopsin-encoding gene of bony fish lacks introns. *Gene* 164(2):273-277.
- Froese R. y Pauly D. (eds) (2013). FishBase (version Feb 2013). <http://www.fishbase.org>
- Golani, D. y G. Bernardi. 2012. Differential invading potential among cryptic species of a Lesspsian bionvader, the blotchfin dragonet *Callionymus filamentosus*. *Marine Ecology Progress Series* 450:150-166.
- Hall, T. A. 1999. Bioedit: a User-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 98/98/NT. *Nucleic Acids Symposium* 41:95-98.
- Hastings, P. A. 2000. Biogeography of the Tropical Eastern Pacific: distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society*, Vol. 128, pp. 319-335.
- Hastings, P. A. y V. G. Springer. 2009. Systematics of the Blenniidae (Combtooth Blennies). In: Patzner, R. A., E. J. Gonçalves, P. A. Hastings y B. G. Kapoor (eds). *The Biology of Blennies*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire. Pp. 69-91.
- Hedgecock, D. 1986. Is gene flow pelagic larval dispersal important in the adaptation and Evolution of marine invertebrates? *Bulletin of Marine Science*, 39 (2):550-564.
- Hebert, P.D., A. Cywinska, S. L. Ball, J. R. deWaard. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 70:313-321.
- Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable. 1996. *Molecular Systematic*. 2a. ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 pp.
- Keith, P., Lord, C., Lorion, J., Watanabe, S., Tsukamoto, K., Couloux, A., y Dettai, A. 2011. Phylogeny and biogeography of Sicydiinae (Teleostei: Gobiidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Marine Biology* 158:311-326.
- Kessler, W. S. 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69:181-217.
- Kimura, M. 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proc. Natl. Sci. USA. Genetics* 78: 454-458.
- Kohn, Y. Y. y Clements, K.D. 2011. Pelagic larval duration and population connectivity in New Zealand triplefin fishes (Tripterygiidae). *Environ Biol. Fish* 91:275-286.
- Klanten O. S., Choat, J. H. y van Herwerden, L. 2007. Extreme genetic diversity and temporal rather than spatial partitioning in a widely distributed coral reef fish. *Marine Biology* 150:659-670.

- Lanteri, A. y Confalonieri, V. 2003. Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. En: Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía: 185-194 (J. J. Morrone y J. Llorente, Eds). CONABIO, México.
- Lara-Lara, J. R., Fuentes, V. A., Guzmán, C. B., Castañeda, V. D., Briones, E. E., Abad, M. C. G. y Castro, G. G. 2008. Los ecosistemas marinos. In Capital de México I. Conocimiento de la Biodiversidad, pp. 133-159. Ed. por J. Sarukhan. CONABIO, México
- Larmuseau, M. H. D., Huyse, T., Vancampenhout, K., Van Houdt, J. K. J. y Volckaert, F. A. M. 2009. High molecular diversity in the rhodopsin gene in closely related goby fishes: A role for visual pigments in adaptive speciation?. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55:689-698
- Lavín M. F., R. Castro, E. Beier, V. M. Godínez, A. Amador, P. Guest. 2009. SST, thermohaline structure, and circulation in the southern Gulf of California in June 2004 during the North American Monsoon Experiment. *J. Geophys. Res.* 114 (C02025), doi:10.1029/2008JC004896
- Ledesma-Vázquez, J. 2002. A gap in the Pliocene invasion of seawater to the Gulf of California. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas.* 9 (3):145-151.
- Lessios, H. A. 2008. The great American Schism: Divergence of Marine organism after the Rise of the Central American Isthmus. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics.* 39:63-91.
- Librado, P. y J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Lin, H. C., Sánchez-Ortiz C. 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.
- Lovejoy, N. R. y Collette, B. B. 2001. Phylogenetic relationships of new world needlefishes (Teleostei: Belontiidae) and the biogeography of transitions between marine and freshwater habitats. *Copeia*, Vol. 2001, pp.324-338.
- Muss, A., D. 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*, 55:561-572.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York, USA: Columbia University Press. 512 pp.
- Ornelas-García, C. P., Domínguez-Domínguez, O. y Droadrio, I. 2008. Evolutionary history of the fish genus *Astyanax* Baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) in Mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. *BMC Evolutionary Biology* 8:340.
- Pantoja, D. A; Marinone, S. G; Parés-Sierra, A y Gómez-Valdivia, F. 2012. Modelación numérica de

la hidrografía y circulación estacional y de mesoescala en el Pacífico Central Mexicano. *Ciencias Marinas* 38 (2):363-379.

Petersen, C. W. 1989. Females prefer mating males in the carmine triplefin, *Axoclinus carminalis*, a paternal brood-guarder. *Environmental Biology of Fishes* 26:213-221.

Pineda, J.; Hare, A. J. y Sponaugle, S. 2007. Larval transport and dispersal in the Coastal Ocean and consequences for population connectivity. *Oceanography*. 20:3, 22-39.

Posada D. 2003. Using Modeltest and Paup* to select a model of nucleotide substitution. En Baxevanis A. D., Davison D. B., Page R. D. M., Petsko G. A., Stein L. D. y Stormo G. D. (eds): *Current protocols in bioinformatics*. John Wiley y Sons, Inc. 6,5,1-6,5,14 pp.

Posada D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.

Ramos-Onsis, S. E. y J. Rozas. 2002. Statistical Properties of New Neutrality Test Against Population Growth. *Molecular Biology and Evolution* 19(12):2092-2100.

Riginos, C. y M. W. Nachman. 2001. Population subdivisión 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.

Riginos, C. y B. C. Victor. 2001. Larval spatial distributions and other early life-history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proc. Roy. Soc. Lond. (B)*, Vol. 268, pp.1-6.

Robertson, D. R. y G. R Allen. 2008. Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific online information system. Version 1.0. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panamá. www.neotropicalfishes.org/sftep, www.stri.org/sftep.

Robertson, D.R. y Cramer, K.L. 2009. Marine shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 380:1–16.

Rocha-Olivares, A. y Vetter, R. D. 1998. 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.

Rocha, L. A., Craig, M. T. y Bowen, B. W. 2007. Phylogeography and the conservation of coral reef fishes. *Coral Reefs* 26: 501-512.

Rocha-Olivares, A. y Sandoval-Castillo, J. R. 2003. Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*. *Ciencias Marinas*, 29 (2):197-209.

- Saavedra-Sotelo, N. C., L. E. Calderon-Aguilera, H. Reyes-Bonilla, R. A. López-Pérez, P. Medina-Rosas y A. Rocha-Olivares. 2011. Limited genetic connectivity of *Pavona gigantea* in the Mexican Pacific. *Coral Reefs* 30:677-686.
- Sáez, A. G. 2009. Genes y especies. *Ecosistemas* 18 (1):3-9. www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=590
- Sandoval-Huerta, E. R. 2014. Filogeografía de *Elacatinus puncticulatus* (Teleostei, Gobiidae) en el Pacífico Oriental Tropical. Tesis de Maestría. Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 83 pp.
- Shen, K. N., Jamandre, B. W., Hsu, C. C., Tzeng, W. N., y Durand, J. D. 2011. Plio-Pleistocene sea level and temperatura fluctuations in the northwestern Pacific promoted speciation in the globally-distributed flathead mullet *Mugil cephalus*. *BCM Evolutionary Biology* 11:83.
- Smith, D. G. y Williams, J. T. 2002. History and status of the genera *Enneanectes* and *Axoclinus* (Teleostei: Blennioidei: Tripterygiidae). *Zootaxa*, 105:1-10.
- Springer, V. G. 1959. Systematics and zoogeography of the clinid fishes of the subtribe Labrisomini Hubbs. *Institute of Marine Science. University of Texas* 5:417-492.
- Sugawara, T., Terai, Y. y Okada, N. 2002. Natural selection of the Rhodopsin gene during the Adaptive Radiation of East African Graet lakes Cochlid Fishes. *Molecular Biology and Evolution* 10(19):1807-1811.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary Relationship of DNA-Sequences in Finite Populations. *Genetics* 105:437-460.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585–595.
- Tamura, K., D. Peterson, G. Stecher, M. Nei y S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maxium Likelihood, Evolutionary Distance and Maxium Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731-2739.
- Torres-Hernández, E. 2011. Listado taxonómico de peces crípticos de la Costa Michoacana. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología, Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 65 pp.
- Thomson D. A, Findley L. y Kerstitch A. N. 2000. Reef Fishes of the Sea of Cortéz: The Rocky-Shore Fishes of the Gulf of California. The University of Arizona Press, Tucson, Arizona. 353 pp.
- Valdez-Moreno, M., Vásquez-Yeomans, L., Elías-Gutiérrez, M., Ivanova, N.V. y Hebert, P.D.N. 2010. Using DNA barcodes to connect adults and early life stages of marine fishes from the

Yucatan Peninsula, Mexico: potential in fisheries management. *Marine and Freshwater*, 61:665-671.

Walker, B. W. 1960. The distribution and affinities of the marine fish fauna of the Gulf of California. *Systematic Zoology*. 9(3):123-133.

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., y Hebert, P. D. N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 360, 1847–1857.

Watson, W. 1996. Descriptions: Blennioidei-Tripterygiidae. En Geoffrey-Moser, H. (ed). *The early stages of fishes in the California current region. The CALCOFI Atlas Series No. 33*. Allen Press, Inc., Lawrence, Kansas. (1148-1150) 1505 pp.

Willis, T. J. 2001. Visual census methods underestimate density and diversity of cryptic reef fishes. *Journal of Fish Biology* 59, 1408-1411.

Wright, S. 1931. Evolution in mendelian populations. *Genetics* 16:97-159.

Zamudio L., Hulburt H. E., Metzger E. J. y Tiburg C. E. 2007. Tropical wave-induced oceanic eddies at Cabo Corrientes and the María Islands, México. *J. Geophys. Res.* 112 (C05048).

X. ANEXOS

Anexo 1. Distancias genéticas p (%) (bajo la diagonal) y error estándar (arriba de la diagonal) de las secuencias de *Axoclinus storeyae* para el gen mitocondrial COI.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	SMSon		0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3
2	PSASon	0.8		0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3
3	SCSon	0.6	0.9		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3
4	IDBCS	0.9	1.2	1.1		0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4
5	ILGBCS	0.8	1.0	1.0	0.6		0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	
6	ISCBCS	0.9	1.2	1.0	0.4	0.6		0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	
7	ISFBCS	1.1	1.2	1.2	0.7	0.8	0.7		0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	
8	IESBCS	0.6	0.7	0.7	0.6	0.3	0.5	0.7		0.2	0.1	0.2	0.1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	
9	IBBCS	1.0	1.0	1.2	0.7	0.7	0.7	0.7	0.5		0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	
10	BEPBCS	0.9	1.1	1.1	0.7	0.7	0.7	0.9	0.5	0.7		0.2	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3	
11	PPPBCS	1.1	1.1	1.2	0.9	0.8	0.9	0.9	0.6	0.7	0.8		0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3	
12	CSLBCS	0.8	1.0	1.0	0.6	0.6	0.5	0.8	0.4	0.6	0.6	0.8		0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3	
13	IHNSin	0.6	0.9	0.7	1.2	1.0	1.2	1.3	0.7	1.2	1.1	1.3	1.1		0.2	0.1	0.1	0.2	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1	0.3	0.2	0.1	
14	IPSin	0.7	1.0	0.9	1.6	1.3	1.5	1.6	0.9	1.5	1.4	1.5	1.3	0.6		0.2	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.4	0.2	0.2	
15	PCCol	0.6	0.9	0.8	1.3	1.1	1.3	1.4	0.8	1.3	1.2	1.3	1.1	0.4	0.7		0.1	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1	0.3	0.1	0.1	
16	BFMich	0.4	0.7	0.6	1.1	0.9	1.0	1.2	0.5	1.0	1.0	1.1	0.9	0.2	0.4	0.3		0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	0.1	
17	CMich	0.7	0.9	0.8	1.4	1.1	1.1	1.5	0.8	1.3	1.2	1.4	1.1	0.4	0.7	0.5	0.3		0.4	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	
18	ROCMich	1.1	1.3	1.3	1.8	1.6	1.7	1.8	1.2	1.6	1.6	1.7	1.5	0.9	1.1	0.9	0.7	0.9		0.5	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3	0.5	0.4	0.4	
19	NCMich	0.9	1.2	1.0	1.5	1.2	1.6	1.6	1.0	1.6	1.5	1.6	1.4	0.6	0.9	0.7	0.5	0.8	1.2		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	
20	BHFMich	0.9	1.2	1.1	1.6	1.4	1.6	1.7	1.0	1.6	1.5	1.6	1.4	0.7	0.9	0.7	0.5	0.7	1.2	0.7		0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	
21	CCGue	1.1	1.3	1.2	1.7	1.4	1.6	1.8	1.1	1.6	1.5	1.7	1.5	0.8	1.1	0.9	0.7	0.9	1.2	1.2	1.2		0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	
22	ZGue	0.7	1.0	0.9	1.5	1.2	1.4	1.6	0.9	1.4	1.3	1.5	1.2	0.5	0.8	0.6	0.3	0.6	1.0	0.9	0.8	1.0		0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	
23	MPGue	1.2	1.4	1.4	1.8	1.5	1.6	1.8	1.2	1.6	1.6	1.7	1.6	1.0	1.3	1.1	0.9	0.9	1.4	1.1	1.2	1.6	1.2		0.3	0.4	0.3	0.3	
24	LGue	0.6	0.9	0.8	1.2	1.0	1.2	1.3	0.7	1.2	1.1	1.2	1.0	0.4	0.7	0.5	0.3	0.5	1.0	0.7	0.8	0.9	0.6	1.1		0.3	0.1	0.1	
25	MTOax	0.9	1.2	1.1	1.6	1.4	1.6	1.7	1.0	1.6	1.5	1.6	1.4	0.7	0.9	0.8	0.5	0.8	1.2	1.0	1.0	1.2	0.7	1.2	0.8		0.3	0.3	
26	LBOax	0.7	0.9	0.9	1.4	1.2	1.3	1.5	0.8	1.3	1.2	1.3	1.2	0.5	0.7	0.5	0.3	0.5	1.0	0.8	0.8	1.0	0.6	1.2	0.5	0.8		0.2	
27	AOax	0.6	0.9	0.7	1.3	1.0	1.2	1.4	0.7	1.2	1.2	1.3	1.1	0.3	0.6	0.4	0.2	0.4	0.9	0.7	0.7	0.9	0.5	1.0	0.4	0.7	0.5		
28	IMOax	1.3	1.5	1.4	1.8	1.6	1.7	2.0	1.3	1.8	1.8	1.9	1.7	1.1	1.3	1.1	0.9	1.1	1.6	1.3	1.3	1.6	1.3	1.4	1.1	1.4	1.2	1.1	

Anexo 2. Distancias genéticas p (%) (bajo la diagonal) y error estándar (arriba de la diagonal) de las secuencias de *Axoclinus storeyae* para el gen nuclear Rho.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	24048 PSASon		0.1	0.1	0.3	0.2	0.3	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.0	0.1	0.1	0.2	0.0	0.2	0.2
2	24045 ISFBCS	0.1		0.2	0.4	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2
3	24048 ISFBCS	0.1	0.3		0.3	0.2	0.3	0.0	0.2	0.1	0.2	0.0	0.1	0.0	0.3	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
4	24033 IDBCS	0.8	1.0	0.7		0.4	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
5	19894 BEPBCS	0.4	0.6	0.3	1.0		0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
6	15733 BEPBCS	0.6	0.7	0.4	1.1	0.7		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
7	15737 BEPBCS	0.1	0.3	0.0	0.7	0.3	0.4		0.2	0.1	0.2	0.0	0.1	0.0	0.3	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
8	19894 BEPBCS	0.4	0.6	0.3	1.0	0.6	0.7	0.3		0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
9	15726 BEPBCS	0.3	0.4	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.4		0.2	0.1	0.2	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
10	19887PPPBCS	0.4	0.6	0.3	1.0	0.6	0.7	0.3	0.6	0.4		0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
11	SIO09267 BCS	0.1	0.3	0.0	0.7	0.3	0.4	0.0	0.3	0.1	0.3		0.1	0.0	0.3	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
12	SIO11358 BCS	0.3	0.4	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.4	0.3	0.4	0.1		0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.0
13	21182 IPSin	0.1	0.3	0.0	0.7	0.3	0.4	0.0	0.3	0.1	0.3	0.0	0.1		0.3	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
14	21282 IHNSin	0.6	0.7	0.6	1.3	0.8	0.8	0.6	0.8	0.6	0.8	0.6	0.7	0.6		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
15	21168 IVSin	0.1	0.3	0.0	0.7	0.3	0.4	0.0	0.3	0.1	0.3	0.0	0.1	0.0	0.6		0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
16	21298 IHNSin	0.1	0.3	0.0	0.7	0.3	0.4	0.0	0.3	0.1	0.3	0.0	0.1	0.0	0.6	0.0		0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
17	13962 PCCol	0.3	0.4	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.1	0.3	0.4	0.1	0.3	0.1	0.7	0.1	0.1		0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
18	14008 PCCol	0.0	0.1	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.4	0.3	0.4	0.1	0.3	0.1	0.6	0.1	0.1	0.3		0.1	0.1	0.2	0.0	0.2	0.2
19	13865 PCCol	0.1	0.3	0.0	0.7	0.3	0.4	0.0	0.3	0.1	0.3	0.0	0.1	0.0	0.6	0.0	0.0	0.1	0.1		0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
20	19267 LGGue	0.1	0.3	0.0	0.7	0.3	0.4	0.0	0.3	0.1	0.3	0.0	0.1	0.0	0.6	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0		0.1	0.1	0.1	0.1
21	19542 LGGue	0.3	0.4	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.4	0.3	0.4	0.1	0.3	0.1	0.7	0.1	0.1	0.3	0.3	0.1	0.1		0.2	0.2	0.2
22	8096 CCGue	0.0	0.1	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.4	0.3	0.4	0.1	0.3	0.1	0.6	0.1	0.1	0.3	0.0	0.1	0.1	0.3		0.2	0.2
23	8098 CCGue	0.3	0.4	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.4	0.3	0.4	0.1	0.3	0.1	0.7	0.1	0.1	0.3	0.3	0.1	0.1	0.3	0.3		0.2
24	SIO01491 BCOax	0.3	0.4	0.1	0.8	0.4	0.6	0.1	0.4	0.3	0.4	0.1	0.0	0.1	0.7	0.1	0.1	0.3	0.3	0.1	0.1	0.3	0.3	0.3	