



Diversidad del género *Apogon* en los arrecifes de coral del cayo Carrie
Bow, Belice

T E S I S

Que para obtener el grado académico de
Maestría en Ciencias del Mar y Limnología
(Biología Marina)

P r e s e n t a

Angel Balam Jiménez Brito

Director de Tesis:

Dra. Elva G. Escobar Briones

Comité Tutorial:

Dr. Miguel Lavín Peregrina

Dra. Laura Sánchez Velasco

Dr. Abraham Kobelkowsky Díaz

Dr. Píndaro Díaz Jaimes

México, D. F. Diciembre 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Listado de Tablas.....	2
Listado de Figuras.....	3
Resúmen.....	5
Abstract.....	6
Introducción.....	7
Hipótesis.....	10
Objetivos.....	10
Metas.....	10
Área de Estudio.....	11
Belice.....	11
Evolución del Caribe.....	13
Metodología.....	17
Recolección de muestras.....	17
Identificación de los linajes genéticos del género <i>Apogon</i>	19
Análisis Filogeográfico.....	19
Resultados.....	23
NJ (Análisis de linajes genéticos).....	23
Análisis Taxonómico (Diagnosis).....	26
<i>Apogon aurolineatus</i>	26
<i>Apogon maculatus</i>	28
<i>Apogon pseudomaculatus</i>	30
<i>Apogon affinis</i>	32
<i>Apogon phenax</i>	32
<i>Apogon binotatus</i>	36
<i>Apogon pillionatus</i>	38
<i>Apogon planifrons</i>	40
<i>Apogon sp.</i>	42
<i>Apogon townsendi</i>	43
<i>Apogon lachneri</i>	46
<i>Apogon robinsi</i>	48
<i>Apogon mosavi</i>	49
<i>Apogon robbyi</i>	52
<i>Apogon quadrisquamatus</i>	54
Estructura genética y análisis filogeográfico.....	56
<i>Apogon maculatus</i>	59
<i>Apogon phenax</i>	60
<i>Apogon binotatus</i>	62
<i>Apogon townsendi</i>	64
<i>Apogon lachneri</i>	66
Discusión.....	67
Análisis Taxonómico.....	67
Análisis filogeográfico.....	71
Conclusiones.....	75
Referencias.....	76
ANEXO.....	86

Listado de Tablas

Tabla 1. Categorías para interpretar la diversidad de haplotipos y de nucleótidos.....	22
Tabla 2. Distancias entre linajes genéticos mediante el parámetro 2 de Kimura.....	26
Tabla 3. Porcentaje del tamaño del pedúnculo caudal de larvas del género <i>Apogon</i>	57
Tabla 4. Espinas branquiales del lóbulo inferior del primer arco branquial en juveniles del género <i>Apogon</i>	57
Tabla 5. Estructura genética de las poblaciones de las especies pertenecientes al género <i>Apogon</i>	58

Listado de Figuras

Fig. 1. Cayo Carrie Bow, Belice.	12
Fig. 2. Velocidad de separación de las placas de Norte y Sudamérica.	15
Fig. 3. Glaciaciones en los últimos 3.4 ma. y disminución en el nivel del mar.	18
Fig. 4. Neighbor-joining Tree.	25
Fig. 5. Adulto de <i>Apogon aurolineatus</i>	27
Fig. 6. Juvenil de <i>Apogon aurolineatus</i>	28
Fig. 7. Larva de <i>Apogon aurolineatus</i>	29
Fig. 8. Adulto de <i>Apogon maculatus</i>	29
Fig. 9. Juveniles de <i>Apogon maculatus</i>	31
Fig. 10. Juvenil de <i>Apogon pseudomaculatus</i>	32
Fig. 11. Juvenil de <i>Apogon pseudomaculatus</i>	32
Fig. 12. Adulto de <i>Apogon phenax</i>	34
Fig. 13. Juvenil de <i>Apogon phenax</i>	35
Fig. 14. Larvas de <i>Apogon phenax</i>	36
Fig. 15. Adulto de <i>Apogon binotatus</i>	37
Fig. 16. Juvenil de <i>Apogon binotatus</i>	38
Fig. 17. Larva de <i>Apogon binotatus</i>	39
Fig. 18. Adulto de <i>Apogon pillionatus</i>	40
Fig. 19. Juvenil de <i>Apogon pillionatus</i>	41
Fig. 20. Adulto de <i>Apogon planifrons</i>	42
Fig. 21. Larvas de <i>Apogon planifrons</i>	43
Fig. 22. Larvas de <i>Apogon sp.</i>	44
Fig. 23. Adulto de <i>Apogon townsendi</i>	45
Fig. 24. Juvenil de <i>Apogon townsendi</i>	46
Fig. 25. Larva de <i>Apogon townsendi</i>	47
Fig. 26. Adulto de <i>Apogon lachneri</i>	48
Fig. 27. Juvenil de <i>Apogon lachneri</i>	49
Fig. 28. Mandíbula de <i>Apogon robinsi</i>	50
Fig. 29. Adulto de <i>Apogon mosavi</i>	51
Fig. 30. Juveniles de <i>Apogon lachneri</i>	52
Fig. 31. Larva de <i>Apogon mosavi</i>	53
Fig. 32. Adulto de <i>Apogon robbyi</i>	54
Fig. 33. Juvenil de <i>Apogon robbyi</i>	55

Fig. 34. Adulto de <i>Apogon quadrisquamatus</i>	55
Fig. 35. Juvenil de <i>Apogon quadrisquamatus</i>	56
Fig. 36. Minimum Spannig Tree de <i>Apogon maculatus</i>	61
Fig. 37. Minimum Spannig Tree de <i>Apogon pbenax</i>	63
Fig. 38. Minimum Spannig Tree de <i>Apogon binotatus</i>	65
Fig. 39. Minimum Spannig Tree de <i>Apogon townsendi</i>	67
Fig. 40. Minimum Spannig Tree de <i>Apogon lachneri</i>	68

Resumen

La identificación de las larvas y juveniles de peces de arrecifes coralinos ha sido problemática mediante el uso de las herramientas como la taxonomía clásica, debido a que los caracteres usados para distinguir a los adultos se encuentran ausentes. Las larvas y juveniles complejo de especies de peces pertenecientes al género *Apogon* de los arrecifes de coral del Cayo Carrie Bow, Belice no son la excepción a este problema. El código de barras genético ha sido utilizado exhaustivamente para separar e identificar a especies que antes se consideraban una sola en grupos tan diversos como plantas, hongos, protozoarios, bacterias, aves, mamíferos, insectos, arácnidos, gasterópodos marinos, crustáceos y peces. Recientemente el código de barras genético ha sido especialmente útil para emparentar larvas y juveniles con los correspondientes peces adultos de las especies ya descritas. En el presente estudio, las secuencias de DNA mitocondrial del citocromo oxidasa 1 (CO1) fueron utilizadas para identificar larvas y juveniles del género *Apogon* procedentes del Cayo Carrie Bow, Belice, mediante el uso de Neighbor Joining Trees (NJ). Los linajes genéticos resultantes fueron identificados hasta nivel específico con base en los adultos presentes en esos linajes. Posteriormente se investigaron los caracteres morfológicos diagnósticos de larvas y juveniles al examinar los especímenes utilizados para la obtención de las secuencias de la región del CO1 del DNA mitocondrial, e imágenes a color de los mismos especímenes tomadas antes de su preservación. Los patrones de cromatóforos anaranjados y amarillos son la mejor manera y en ocasiones la única para poder diferenciar a las larvas de las especies del género *Apogon*. Los patrones de melanóforos y las características morfométricas fueron de limitado valor diagnóstico. Para el caso de los juveniles, los patrones de cromatóforos, el número de espinas en el lóbulo inferior del primer arco branquial y la incipiente pigmentación de los adultos son los caracteres diagnósticos de mayor utilidad para su identificación. Fueron identificadas larvas para *Apogon aurolineatus*, *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. townsendi*, *A. mosavi* y *A. planifrons*. Juveniles de las mismas especies (excepto *A. planifrons*) fueron identificados al igual que para *A. maculatus*, *A. pseudomaculatus*, *A. pillionatus*, *A. robbyi*, y *A. quadrisquamatus*. Las larvas y juveniles de las especies del género *Apogon* podemos separarlas los mismos grupos a los que pertenecen los adultos de acuerdo a sus patrones de pigmentación. El análisis de más genes y caracteres taxonómicos es necesario para determinar si estos grupos tienen un significado evolutivo dentro de la clasificación de las especies del género *Apogon*. Este estudio presenta una combinación de las técnicas de taxonomía clásica y molecular para la identificación de los estadios tempranos del desarrollo de peces arrecifales del Mar Caribe. Por otra parte, un análisis de la variabilidad genética de los diferentes haplotipos en algunas de las especies estudiadas, mostraron evidencia de presencia de estructura genética poblacional relacionada con la historia geomorfológica del área de estudio y sitúan a Belice como el centro de origen de la diversificación del género *Apogon* en el Caribe y a las Antillas Holandesas como centro de acumulación de diversidad. La diversificación de las especies del género *Apogon* está estrechamente relacionada con la disminución en el nivel del mar que ha aislado a las poblaciones de cada especie y el posterior incremento del mismo, que ha permitido la restauración del flujo genético entre las diferentes poblaciones. Con el gen de CO1, es posible

identificar eventos de divergencia y diversificación que comenzaron en el último millón de años hasta hace 15, 000 años.

Abstract

Identification of larvae and juveniles of Caribbean reef fishes has historically been difficult because the characters used to distinguish adults are usually absent. Larval and juvenile cardinalfishes of the genus *Apogon* are no exceptions to this problem. DNA Barcoding has been demonstrated to be useful in matching young stages and adults of marine fish species. In the present study neighbor-joining trees derived from mitochondrial cytochrome oxidase I sequences were used to identify early life stages of *Apogon* species from Carrie Bow Cay, Belize. Genetic lineages of *Apogon* that included larvae and/or juveniles were identified based on adults in those lineages. Diagnostic morphological characters of larvae and juveniles were then investigated by examining preserved vouchers from which the DNA was extracted and digital color photographs of those specimens taken before preservation. Orange and yellow chromatophore patterns are the easiest—and sometimes only—means of separating *Apogon* larvae. Patterns of melanophores and morphometric features were of limited diagnostic value. For juveniles, chromatophore patterns and the developing dark blotches characteristic of adults are the most useful diagnostic features. Larvae were identified for *A. aurolineatus*, *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. townsendi*, *A. mosavi*, and *A. planifrons*. Juveniles were identified for those species (except *A. planifrons*), as well as for *A. maculatus*, *A. pseudomaculatus*, *A. pillionatus*, *A. robbyi*, and *A. quadrisquamatus*. There appear to be four major groups of *Apogon* species based on patterns of coloration in early life stages. Further investigation is needed to determine if those groups are meaningful in the generic classification of *Apogon* species. This study represents a productive partnership of molecular and traditional techniques to identify early life-history stages of Caribbean reef fishes. *Apogon* species are genetically structured and this structure is related with the historical changes in each geographic region. Belize is the center of origin of apogonid diversity and Netherland Antilles is de accumulation center of diversity. The variation in sea level is the major factor that affects diversification of CO1 haplotypes. Drop in sea level allowed diversification events and rise in sea level is related with a restored gene flow between populations. We were able to identify historical events from million years ago to 15, 000 years that affected positively the diversification of the *Apogon* genus in the late Pleistocene to early Holocene.

Introducción

Los peces de arrecifes coralinos en los trópicos son una de las asociaciones de vertebrados con mayor diversidad sobre el planeta (Mabuchi *et al.* 2006).

La familia Apogonidae (Teleostei: Perciformes) es uno de los grupos más diversos dentro de estas asociaciones (Nelson, 2006). Se caracterizan por ser pequeños, lateralmente comprimidos, con bocas relativamente grandes y dos aletas dorsales completamente separadas (Böhlke y Chaplin, 1968; Gon, 2002; Nelson, 2006; Thacker y Roje, 2009). Alrededor de 273 especies han sido descritas para esta familia en todo el mundo (Nelson, 2006).

En el Mar Caribe han sido descrito tres géneros pertenecientes a la familia Apogonidae: *Astrapogon*, *Phaeoptyx* y *Apogon* (Baldwin *et al.* 2009), con un total de 27 especies y 17 especies del género *Apogon*.

Tanto el género *Apogon* como otros géneros pertenecientes a la familia Apogonidae son bien conocidos debido a su conducta reproductiva y el cuidado parental que proporcionan a los huevos y larvas, ya que los machos adultos incuban los huevos en su boca (ej. Ebina, 1932; Hale, 1947; Breder y Rosen 1966; Charney, 1976; Johnson 1984; Johnson y Gill 1994), sin embargo, la información actual es limitada para separar e identificar a nivel específico las larvas y juveniles de este género (Leis y Rennis, 2000).

Los caracteres diagnósticos que separan al género *Apogon* de otros géneros de la familia Apogonidae son: escamas ctenoides en lugar de escamas cicloides como en el género *Astrapogon*; dientes en el paladar (a excepción de *Apogon quadrisquamatus*); la primer aleta dorsal y las aletas pectorales están opuestas a la segunda aleta dorsal y a la aleta anal; 12 rayos en las aletas pectorales; el margen preopercular posterior se encuentra serrado y la membrana ventral del preopérculo no se extiende más allá del margen preopercular como sucede en el género *Phaeoptyx* (Böhlke y Chaplin, 1968; Gon, 2002; Richards, 2006).

Los estudios en el género *Apogon* se han enfocado principalmente hacia la descripción morfológica de las especies, en la filogenia del grupo basada en las características morfológicas así como mediante secuencias del Citocromo b (Mabuchi *et al.* 2006), y en las peculiaridades conductuales de las especies perteneciente a este género.

El mayor esfuerzo que concentra y provee información sobre los estadios tempranos del ciclo de vida de las especies del género *Apogon* en el sector oeste del Atlántico central fue presentado por Lara (2006), en el libro *Early Stages of Atlantic Fishes* (Richards, 2006 ed.). Este trabajo carece en particular de diagnosis detalladas y secciones de comparación para aquellas especies cuyas larvas y juveniles no han sido descritos en su totalidad (Baldwin *et al.* 2009).

Ilustraciones y descripciones de los juveniles de 10 especies del género *Apogon* se incluyen en esta compilación (Lara 2006:1368-1388), debido a que la información requerida para identificar las larvas y juveniles de

cada especie de este género es escasa. El principal problema radica en que los caracteres para distinguir los adultos normalmente están ausentes o son incipientes.

Baldwin *et al.* (2009) utilizó 650 pares de bases del gen de la proteína Citocromo Oxidasa 1 (CO1) para separar las especies de larvas y juveniles de los géneros *Astrapogon* y *Phaeoptyx*, y así describir los caracteres diagnósticos que permiten identificarlas taxonómicamente hasta el nivel de especie. Provee descripciones detalladas, secciones de comparación e ilustraciones de larvas y juveniles.

La identificación mediante taxonomía clásica de las larvas y juveniles del género *Apogon* presenta dos problemas principales: la escasa información que se ha publicado (Baldwin *et al.* 2009) y las características morfológicas que comparten todas las especies de este género en todos los estadios de su desarrollo, tales como: posición de la vesícula de gas, melanóforos en la cabeza y en la región abdominal, mismo número de rayos de las aletas, mismo número de miómeros, la posición y el número de espinas en la cabeza. Los patrones de pigmentación se vuelven entonces esenciales para la identificación de cada una de las especies de este género y de sus estadios de desarrollo.

Dentro del género, los patrones de pigmentación de larvas y juveniles son altamente variables con respecto a los adultos, lo cual en combinación con las características anteriores que comparten, hacen de las larvas y juveniles imposibles de identificar hasta nivel de especie mediante la taxonomía clásica.

El código de barras genético es especialmente efectivo para la identificación de especies con problemas taxonómicos (Packer *et al.* 2009). La base de este análisis molecular radica en usar 650 pares de bases del gen de la proteína CO1 (Hebert *et al.* 2003), diferenciando a los individuos de varias especies ya que la variación genética entre las especies es mayor a la variación genética entre los individuos de la misma especie (Hebert *et al.* 2003; Hajibabaei, 2007). Debido a que el objetivo principal de este análisis es estimar únicamente las diferencias entre individuos y especies, se usa el parámetro 2 de Kimura graficado en un Neighbor Joining Tree (NJ; Hebert *et al.* 2003).

El objetivo principal del código de barras genético es poseer una herramienta útil y confiable para reconocer la diversidad de un área en particular (Hebert *et al.* 2003).

Un sin número de proyectos alrededor del mundo han demostrado la efectividad de esta herramienta en diferentes grupos de animales como aves (Hebert *et al.* 2004), peces (Ward *et al.* 2005), gasterópodos marinos (Meyer y Paulay, 2005), arañas (Barret y Hebert, 2005), distintos grupos de Lepidópteros (Hebert *et al.* 2004; Janzen *et al.* 2005; Hajibabaei *et al.* 2006), así como plantas (Kress *et al.* 2005), macroalgas (Sanders, 2005), hongos (Summerbell *et al.* 2005), protistas (Scicluna *et al.* 2006) y bacterias (Sougin *et al.* 2006). Estos estudios demuestran que las especies poseen una única secuencia de CO1 y con esta herramienta es posible identificar especies crípticas en adición a su uso potencial en estudios filogenéticos (Victor *et al.* 2009, Packer *et al.* 2009). Sin embargo, a pesar de que podemos

diferenciar entre especies, al código de barras genético no representa un reemplazo para el análisis taxonómico tradicional (Hajibabaei, 2007).

El código de barras genético se ha utilizado principalmente para estimar la diversidad de un grupo (familia o género) o para ayudar a diferenciar entre especies crípticas (Hajibabaei, 2007; Packer *et al.* 2009). Baldwin *et al.* 2009 y Victor *et al.* 2009, son las primeras aproximaciones en las que esta herramienta es utilizada para agrupar larvas y juveniles dentro de las especies de peces ya descritas.

Pese a que esta herramienta ha sido utilizada extensivamente en taxonomía para la identificación de especies, se vuelve inservible sin la determinación de un conjunto de características taxonómicas que nos permitan diferenciar las especies y que respalden el análisis genético, ya que el código de barras genético no califica a un espécimen como una nueva especie, pero sí ayuda a identificar especímenes atípicos que se volverán sujetos de una revisión taxonómica más detallada (Hajibabaei, 2007).

En estudios filogenéticos, el código de barras genético puede ser utilizado como un punto de inicio al cual le serán añadidas las secuencias de más genes (Hajibabaei, 2007, Victor *et al.* 2009, Packer *et al.* 2009).

Asimismo, en el nivel de la genética de poblaciones, esta herramienta puede proveer una primera señal de la dinámica de una población desde el punto de vista filogeográfico, así como facilitar los estudios comparativos de las poblaciones de las diferentes especies (Hajibabaei, 2007).

Para poder entender la estructura y dinámica tanto en tiempo como en espacio de las especies pertenecientes al género *Apogon* y las comunidades de peces de arrecifes de coral, se vuelve indispensable entender las características de los estadios del ciclo de vida de cada una de las especies de este género usando todas las herramientas disponibles, como marcadores químicos, análisis ambientales y análisis moleculares (Longpecker y Langston, 2006).

Este estudio en particular, presenta un esfuerzo conjuntando las técnicas tradicionales de identificación y clasificación taxonómica basadas en el estudio de los morfotipos de cada especie y el uso de herramientas moleculares, como el código de barras genético, para el reconocimiento de la diversidad de cada localidad. Se utilizaron los resultados del análisis genético para dirigir el trabajo taxonómico.

Para preservar adecuadamente y proponer planes de manejo sustentable en la explotación de especies del mar Caribe, es imperativo profundizar el conocimiento de los procesos que han afectado y siguen afectando la diversificación de las especies actuales. La diversificación en todas las especies tiene un componente espacial y un componente temporal en todos los niveles taxonómicos (Zink, 2002). La filogeografía se enfoca principalmente al origen y las relaciones de los taxa al nivel más bajo de organización taxonómica: los individuos dentro y entre las poblaciones de la especie (Zink, 2002).

Los estudios filogeográficos son centrales para la conservación (Avice *et al.* 1987; Carolina y Carnaval, 2002). Esta área de la Ecología molecular trabaja con la distribución espacial de los linajes evolutivos y sus relaciones filogenéticas (Bermingham y Moritz, 1998). Los estudios filogeográficos documentan la diversidad genética dentro y entre las regiones geográficas, para evaluar las diferencias entre las poblaciones permitiendo además inferir las posibles respuestas evolutivas de las especies a los cambios históricos en su hábitat (Moritz y Faith, 1998).

El análisis de la filogeografía comparativa busca encontrar patrones de divergencia entre especies evolutivamente relacionadas y que se distribuyen en áreas similares (Bermingham y Avice, 1986; Zink, 1996; Zink, 2002). Al contrastar los linajes genéticos de diferentes especies se pueden corroborar eventos históricos comunes que afectan a las diferentes especies en una misma área (el. Patton *et al.* 1996; Schneider *et al.* 1998; Bates, 2000; Bates, 2002; Stuart-Fox *et al.* 2001; Schäuble y Moritz, 2001; Carolina y Carnaval, 2002).

Los gradientes de riqueza y diversidad de especies de una localidad y las zonas aledañas pueden explicarse mediante dos procesos. La hipótesis de un origen central, la cual fue introducida por Darwin (1859) como “centros de creación”, propone que la alta diversidad y riqueza de especies de una localidad se debe principalmente a una especiación *in situ* y se dispersa hacia la periferia.

Los centros de diversidad actúan como centros de radiación evolutiva y proveen especies hacia otras áreas que son menos efectivas en un sentido estrictamente evolutivo (Briggs, 1981; Briggs 1984; Briggs, 2005; Rocha *et al.* 2008). Este modelo ha sido ampliamente efectivo para el Archipiélago Indo-Malayo (Santini y Winterbottom, 2002; Mora *et al.* 2003).

La hipótesis de un centro de acumulación de diversidad propone que los centros de riqueza y diversidad de especies acumulan las especies que se originaron en algún otro lugar (Rocha *et al.* 2008).

Hipótesis

- Belice actúa como centro de diversidad de las especies del género *Apogon* en el Caribe mientras que Bahamas y las Antillas Holandesas actúan como centros de acumulación de diversidad.

Objetivos

1. Clasificar los principales estadios del ciclo de vida de las especies del género *Apogon* dentro de las especies ya descritas para este género.
2. Identificar los caracteres morfológicos diagnósticos para larvas y juveniles de cada especie.
3. Analizar la estructura genética de las especies del género *Apogon*.
4. Evaluar cuál es el posible centro de origen de la diversificación de las especies del género *Apogon*.
5. Determinar los factores evolutivos que han afectado la diversificación de las especies del género *Apogon*.
6. Evaluar los factores ambientales históricos que han diversificado a las especies del género *Apogon*.

Metas

- Identificar los adultos recolectados del género *Apogon* hasta el nivel de especie mediante caracteres morfométricos y morfométricos?
- Agrupar las secuencias del gen Citocromo Oxidasa 1, de las diferentes especies mediante el uso de Neighbor-Joining Tree (NJ).
- Con base en las secuencias del CO1 de cada especie, ubicar larvas y juveniles de acuerdo con los linajes genéticos proporcionados por el NJ.
- Proporcionar características diagnósticas de las larvas y juveniles de cada especie.
- Analizar el tiempo de divergencia del gen CO1 para buscar eventos comunes de diversificación entre las especies del género *Apogon*.
- Proveer un análisis gráfico de la distribución actual de haplotipos en las regiones de Belice, Bahamas y las Antillas Holandesas.

Área de Estudio

Belice

De acuerdo a Koltz (1980), la estación del instituto Smithsonian localizada en Carrie Bow (16°48'N y 88°05'W), es una de las tres estaciones CARICOMP establecidas en Belice (Fig. 1). El Cayo de Carrie Bow está localizado a 18 km de la provincia central del complejo de arrecifes de Belice. El complejo de arrecifes y manglares cercanos a Carrie Bow, es representativo de todo el complejo arrecifal; la provincia central presenta el mayor desarrollo arrecifal. El clima en la región es subtropical con una estación húmeda de Junio a Octubre.

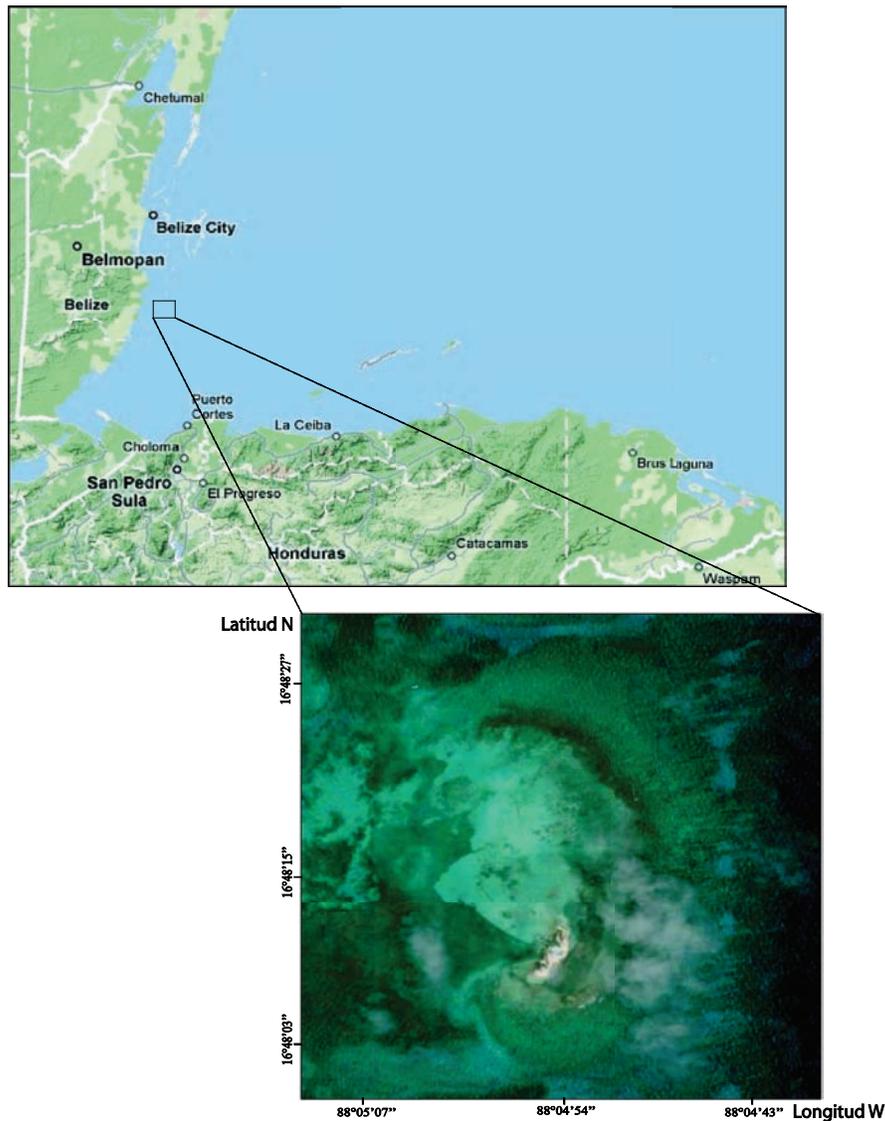


Fig. 1. Área de estudio. Cayo Carrie Bow, Belice 16°48'N y 88°05'W.

El complejo arrecifal de Belice es el más grande del Océano Atlántico (Gischler y Hudson, 2004). Todas las zonas arrecifales típicas se encuentran representadas en Belice al igual que la mayoría de las especies de corales del Caribe (Rützler y Macintyre, 1982). Tiene 220 km de largo y se extiende a lo largo de la costa de Belice, desde la frontera con México hasta el Golfo de Honduras (Gibson y Carter, 2003). Belice está localizado en el bloque continental de Yucatán que se encuentra separado del bloque de Nicaragua-Honduras por una fractura de este a oeste que forma la trinchera Caimán (Perkins, 1983).

Cinco cordilleras paralelas corren a lo largo de la costa de Belice y son una extensión de la plataforma del bloque continental de Yucatán; los arrecifes de Belice se encuentran sobre las tres cordilleras más cercanas a la costa (Burke, 1993). Entre la costa y la barrera arrecifal se encuentra una laguna de 30 a 40 km de ancho, su profundidad

varía de 2 a 6m en el norte hasta 50m o más en la zona sur (Gibson y Carter, 2003). La barrera arrecifal se encuentra delimitada a las tres crestas más cercanas a la costa de las cinco que se encuentran dentro del bloque de Yucatán.

Burke (1982) distingue tres provincias en el sistema arrecifal que presentan asociaciones comunitarias distintivas y características geomorfológicas particulares, al igual que una reflexión distintiva de la energía de las olas debido a la distribución de los atolones a lo largo de la barrera. La provincia norte tiene una extensión de 46 km de arrecifes someros y llega hasta la punta del arrecife de Gallows Point. Como resultado de la pobre calidad de agua y el oleaje de alta energía, esta provincia presenta arrecifes discontinuos llamados “ribbon reefs”, a excepción del arrecife del Cayo Ambergris.

La provincia central se extiende por 91 km desde el arrecife de Gallows Point hasta Gladden Spit. Este arrecife es el mejor desarrollado debido a su elevación, la buena calidad de agua y la mediana energía del oleaje. Sus arrecifes son largos, continuos y presentan la mayor cantidad de especies coralinas. Es la provincia mejor protegida de la acción del oleaje oceánico y particularmente el Cayo Tobacco y Columbus presentan los arrecifes coralinos mejor desarrollados. Esta provincia presenta dos líneas características de crestas y canales.

La provincia sur se extiende por 10 km desde Gladden Spit hasta los Cayos Sapodilla y se encuentra caracterizado por arrecifes discontinuos generalmente adyacentes a islas. Esta provincia es la menos desarrollada debido a elevaciones más profundas y mayor acción oceánica.

Los tres atolones se encuentran situados por fuera de la barrera arrecifal y se encuentran separados de la barrera por profundidades que van desde los 360 a los 1000m y a una distancia de 9 a 23km (Perkins, 1983). Los atolones permiten la entrada de aguas oceánicas por medio de canales que los atraviesan y por medio de la separación entre cada uno de ellos. Absorben la mayoría del impacto del oleaje oceánico y debido a su forma presentan lagunas entre el atolón y la barrera arrecifal que se encuentran protegidas por el mismo atolón. Mantienen un ambiente menos cambiante que en el resto del Caribe, por lo que le permite concentrar una gran riqueza de especies (Gibson y Carter, 2003).

Los tres atolones se encuentran sobre las cordilleras submarinas. Los movimientos tectónicos de finales del periodo Jurásico los formaron (Pindall *et al.* 2001) y las variaciones en el nivel del mar se encargaron de llenar toda la complejidad del relieve, por lo cual existe una gran variedad de hábitats y microhábitats protegidos, permitiendo una mayor diversidad con respecto al resto del Mar Caribe y una gran variedad de formas y tipos de arrecifes coralinos (Dahl *et al.* 1974).

Evolución del Caribe

Para reconocer los procesos históricos que han influenciado la distribución actual de la diversidad del género *Apogon* en el Caribe, es necesario profundizar en la evolución de las localidades en las que se encuentran y las consecuencias de su formación en estas especies.

La región del Caribe ha evolucionado en gran medida dentro de la separación creada por Norteamérica, Sudamérica y África desde el rompimiento de Pangea en el Jurásico (Pindell *et al.* 2001).

La región del Caribe y Golfo de México no es reconocible durante los periodos del Triásico, Jurásico y principios del Cretácico en las evidencias geológicas (Ladd, 1976; Pindell, 1988; Buffler y Sawyer, 1985; Pindell, 1985; Rowley y Pindell, 1989; Pindell, 1993). La evolución de esta región se desarrolla conjuntamente con la dispersión de las grandes masas de continente (Pindell, 1993).

Hace aproximadamente 200 ma. la península de Yucatán se encontraba en la parte norte de Florida. Norteamérica comenzó a migrar de Gondwana. La ruptura y deriva de tres zonas principales determinó la estructura actual del Caribe (La región Norte Central, la Sur y la región ecuatorial del Atlántico). Las zonas de fractura de la región Norte Central del Atlántico entre el Este de EUA y el Noroeste de África/Sudamérica, permite la separación de Norteamérica de Gondwana (Pindell, 1985; Pindell, 1993).

Es en este periodo, de finales del Triásico hasta el Cretácico inferior, donde Yucatán comienza a rotar de su posición original hacia la actual para formar el Golfo de México (~200-110 ma.; Pindell and Dewey, 1982; Pindell, 1985; Schouten y Klitgord, 1994; Marton y Buffler, 1994; Pindell *et al.* 2000). A principios del Cretácico (~130 ma.) comenzó el movimiento del Sur del Atlántico con la ruptura provocada por la generación de piso oceánico en las cordilleras África Central (Pindell y Dewey, 1982; Pindell *et al.* 1988). Los movimientos en la zona ecuatorial del Atlántico no fueron importantes hasta el Cretácico inferior (~110 ma.) con la separación y migración de Norteamérica al Noroeste y Sudamérica al Suroeste por la generación de suelo oceánico en las cordilleras de lo que ahora se conoce como el cinturón ecuatorial del Atlántico (Pindell, 1993).

En un periodo de 40 ma. (~90 a ~50-40 ma.), del Cretácico superior al Eoceno el movimiento de las placas disminuyó drásticamente (Fig. 2) provocando que la separación del Proto-Caribe se detuviera (Pindell *et al.* 1988). La rápida trasgresión de áreas cratónicas (zonas de masa continental que no han sufrido deformaciones o fragmentaciones por movimientos orogénicos) y la inmersión de las plataformas carbonatadas se debe principalmente a la pérdida de estrés como resultado de la muerte de la cordillera (Gonzalez de Juana *et al.* 1980, Speed *et al.* 1984, Pindell, 1993), ya que la historia de la abertura del Atlántico Norte Central y el Atlántico Sur fue co-polar, debida a una sola gran placa americana del Cretácico superior al Eoceno; solamente hubo cambios importantes en las zonas de fractura del Atlántico, como las que se extienden a lo largo de Bahamas (Pindell, 1993).

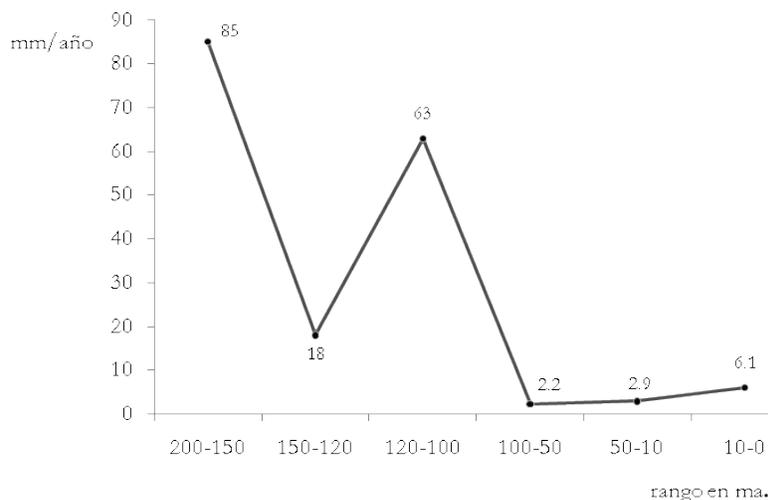


Fig. 2. Velocidad de separación de las placas de Norte y Sudamérica. Información tomada de Pindell, 1993.

La apertura entre las placas de Norte y Sudamérica permitió la incursión de la placa del Pacífico (Placa de Farallón) hacia el Proto-Caribe. Las extensiones Norte y Sur de la litósera de la placa de Farallón fue subducida por las cordilleras de Norte y Sudamérica respectivamente, produciendo la condición tectónica y volcánica de la litósfera del Caribe dentro del Mar del Proto-Caribe entre las Américas (Pindell, 1993). Los arcos de las grandes y pequeñas Antillas se formaron por esta actividad Volcánica.

Durante el cretácico superior, la placa del Caribe y el bloque de Chortis se encontraban al Oeste de las secciones de las plataformas Cretácicas de Yucatán, Bahamas y el Norte de Sudamérica. A principios del Cretácico (~140 ma.) hubo un levantamiento tectónico en el área este de Sudamérica, debido a un cambio en el centro de origen de suelo oceánico en el Atlántico Norte Central. El Este de las Bahamas se elevó por encima del nivel del mar y se formaron bancos carbonatados (Pindell, 1985). De principios a mitades del Cretácico (~140-90 ma.) un sistema de arcos de islas que iba desde el bloque de Chortis/México hasta el Sur de Ecuador permitió la posterior formación de las Grandes Antillas, los arcos de las cordilleras Ave del Caribe y los terrenos de Amaime-Chaucha de Colombia/Ecuador (Campa y Coney, 1983; Montgomery *et al.* 1992).

Posteriormente la zona de fractura del Atlántico ecuatorial que se encontraba a lo largo del margen de Guyana se movió al Norte (~80 ma.), fue durante este cambio que el Este de Bahamas terminó de elevarse (Pindall, 1993). La placa de Farallón cambió su dirección de movimiento hacia el Noreste provocando los cambios orogénicos que dieron lugar a la Sierra Madre Occidental (Engebretson, 1982). Las modificaciones en las direcciones de los movimientos de las placas y el cambio de las zonas de fractura, moldearon la mayor parte de la orogenia de Colombia, Ecuador y Venezuela al provocar levantamientos, así como permitió que el sistema de arco de islas que existía entre el bloque Chortis/México y el Ecuador cambiara de ser convexo al Oeste a ser convexo al Este, permitiendo la posterior formación de las Grandes Antillas, los arcos de las cordilleras Ave del Caribe y los

terrenos de Amaime-Chaucha de Colombia/Ecuador (Beets *et al.* 1984; Avé Lallemant y Sisson, 1993; Pindell y Erickson, 1993; Pindell, 1993).

A finales del Cretácico (~70 ma.), paró la subducción de la placa de Farallón, lo que culminó en detener toda la actividad volcánica que formaba los arcos de islas, se redujo considerablemente el estrés sobre la región del Proto-Caribe. Gran parte de las plataformas carbonatadas se sumergió en este periodo. Al sur de Yucatán, la colisión del continente con los arcos de islas y la obducción en dirección Norte del ofiolito de Santa Cruz permitió la inmersión de la plataforma carbonatada Coban (~70-65ma.), dando lugar a Chiapas (Wilson, 1974; Rosenfeld, 1993). Cuba sufrió procesos similares de inmersión y emersión de plataformas carbonatadas mientras se dirigía hacia las Bahamas debido a la subducción de la plataforma del Proto-Caribe continuaba en la sección Antillana del gran arco de islas.

Hace ~65ma. comenzaron los procesos de erosión y deformación por el acomodo del cuello de botella que formó el Proto-Caribe entre Yucatán y Colombia (Bowin, 1975; Pindell, 1993) en el área sureste de placa entrante del Pacífico al Atlántico. Al Suroeste se formó una zona de convergencia entre la placa de Farallón y la placa de América del Norte que dieron lugar a Costa Rica y Panamá. Al Noroeste del gran arco de islas que iba del bloque Chortis al Ecuador se forma la plataforma de Nicaragua, Jamaica.

Hispaniola junto con las plataformas carbonatadas de Cuba se mueven al Este, hacia Bahamas debido a los choques de la corteza del Proto-Caribe con el material entrante en el noroeste y la subducción de material en el Sureste (área del arco de islas que dará lugar a las Antillas; Pindell y Barrett, 1990; Dengo y Case, 1990).

A principios del Cenozoico (~65-60 ma.) la placa del Caribe se siguió moviendo al Noreste y continuó subduciendo la corteza del Proto-Caribe; se formó un sistemas de tres placas (la Cubana, la cordillera Caimán y Norteamérica). Durante el Paleoceno (~60ma.) comienza la gran colisión entre las grandes Antillas y Bahamas, mientras una gran cantidad de las plataformas de Cuba son subducidas por la plataforma de Yucatán lo que posteriormente llevará a la colisión de Cuba con las Bahamas. Fue la abertura de la cuenca de Yucatán y de Granada las que terminaron de acomodar al Proto-Caribe en el Caribe actual (Speed *et al.* 1984).

La colisión de las Antillas con Bahamas termina a mediados del Eoceno; La actividad volcánica se movió hacia el este dejando atrás la cordillera Aves para situarse en las Pequeñas Antillas (Pindell y Barrett, 1990). La placa del Caribe siguió moviéndose hacia el este en relación a Norteamérica, a lo largo de un nuevo sistema de interacción que se volvió la zona de unión del Norte de la placa del Caribe. La cuenca de Caimán separó a Yucatán de Jamaica y las cuencas de Yucatán, de Cuba y la cordillera de Caimán quedaron formando parte de la placa de Norteamérica (Pindell, 1993). Hasta la actualidad la placa de Norteamérica sigue moviéndose hacia el Este dejando al Caribe atrás. El continuo movimiento de la placa del Caribe hacia el este, la zona de unión al Norte y la constante actividad en las Pequeñas Antillas hasta el Mioceno, llevó a la formación y separación de la complejidad de la geomorfología actual del Caribe.

Durante el Mioceno inferior (~20ma.) la corriente Circumtropical atravesaba los remanentes del Proto-Caribe y la nueva placa del Caribe en dirección Este-Oeste, pasando por los canales formados por el arco de islas hacia el Pacífico mientras la corriente de Lazo temprana se formaba por la interacción de la corriente del Golfo por su interacción con Cuba, al desprenderse de la corriente Circumtropical (Haug *et al.* 2004). Del Mioceno a la actualidad, las deformaciones alrededor del Caribe son muy comunes debido a los factores señalados en el párrafo anterior. Entre el Mioceno superior y el Plioceno (~5 ma.) se cierra el canal de Habana-Matanzas obstruyendo la corriente Circumtropical para formar la corriente del Golfo que ahora se ve alimentada únicamente por la corriente temprana de Lazo; el levantamiento de los andes Colombianos impidió el intercambio de agua entre el Pacífico y el Caribe (Pindell, 1993; Haug *et al.* 2004). En este periodo, las pequeñas Antillas se encontraban casi en su totalidad en su posición actual (Pindell, 1993).

Hasta finales del Pleistoceno (~4-3 ma.) el Caribe adquirió su conformación actual (Pindell, 1993; Haug *et al.* 2004). Las variaciones en el nivel del mar durante el Pleistoceno fueron producto de los ciclos de glaciación ocurridos durante este periodo (Fig. 3) los cuáles se acompañaron de cambios climáticos y en la superficie del mar como variaciones en la concentración de CO₂ atmosférico o cambios en la temperatura y salinidad superficial (Pandolfi, 1999). El aumento en la salinidad es una respuesta característica de los periodos glaciales en el último millón de años (Sepulcre *et al.* 2010).

Debido a la posición de las masas continentales, durante este periodo se vio afectada la distribución de la temperatura superficial y el alcance de la glaciación sobre el clima al modificar la circulación termohalina y las corrientes oceánicas principales (Trenberth y Caron, 2001; Peeters *et al.* 2004). La disminución en el nivel del mar y el incremento en la temperatura y salinidad, se ha presentado en periodos de 100, 000 años durante las últimas cinco glaciaciones (Peeters *et al.* 2004; Fig. 3).

Belice, que es una extensión de la plataforma de Yucatán, adquirió su morfología característica que le permite tener una gran diversidad de hábitats y de especies debido a su proceso evolutivo que la situó primero como una zona de subducción y de alta actividad volcánica, después como una zona de colisión y posteriormente como una zona de unión mientras en todo el proceso sufría trasgresiones y regresiones del nivel del mar .

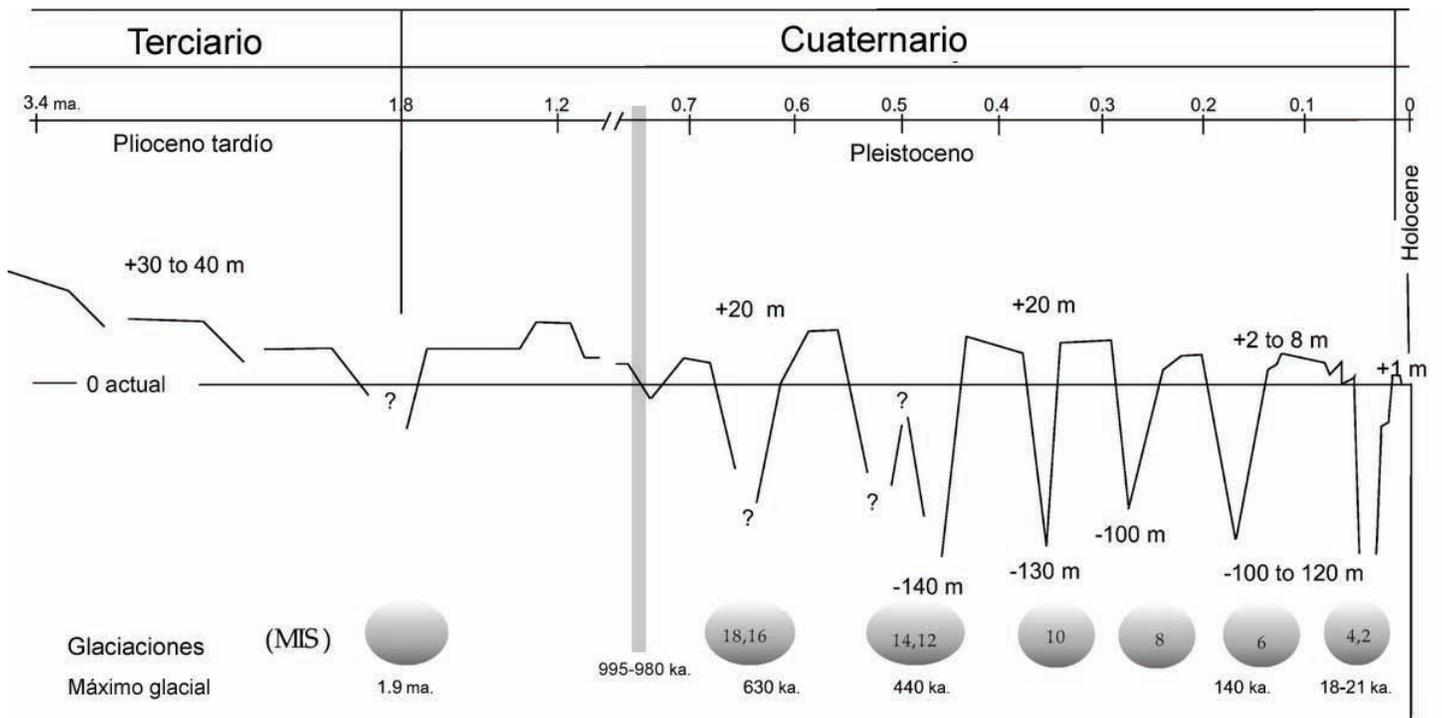


Fig. 3. Eventos de glaciación en los últimos 3.4 millones de años (ma.). La curva representa la secuencia y magnitud de los eventos eustáticos (Haq *et al.* 1987; Lambeck *et al.* 2002; Rohling *et al.* 1998). En la parte inferior se señalan con mayor claridad los eventos y la edad a la que ocurrieron (ka. = miles de años), así como el análisis isotópico que da señal específica de estos eventos (MIS). Figura modificada de Bremer *et al.* 2005, pp. 182.

Metodología

Recolección de muestras

Los juveniles y los peces adultos fueron recolectados en las inmediaciones de Carrie Bow Cay, Belice, Florida, Bahamas y Curazao mediante buceo. Para este estudio se utilizó rotenona o el anestésico sulfato de metil quinaldina, comúnmente llamada quinaldina sulfatada o solo quinaldina y una red de mano con mango para la recolección de los organismos. El muestreo se realizó en horas diurnas. Las larvas fueron recolectadas en el puerto de Carrie Bow Cay, Belice, mediante el uso de una red planctónica con ojo de malla de 505 μm , fijada a un recipiente rectangular de PVC, de 0.5 x 1m, la cual fue lanzada desde el muelle de Carrie Bow.

Documentación de ejemplares.- Los adultos fueron identificados hasta el nivel más bajo posible, fotografiados con una cámara digital Fujifilm Fine Pix 3, se les tomó una muestra de tejido para la extracción de DNA que se colocó en alcohol al 100% ó fueron almacenadas en buffer salino saturado (Seutin, *et al.* 1990), se etiquetó con la misma clave del espécimen y fue refrigerada a -20°C . El alcohol de la muestra se cambió cada tres horas durante el

primer día y posteriormente cada 24 horas hasta el término del muestreo. Las muestras de tejido corresponden una biopsia del músculo, ojo o una porción del cuerpo caudal (dependiendo del tamaño y del estadio de desarrollo).

Para tomar las fotografías y evitar el reflejo del organismo recién recolectado, cada espécimen se colocó en una tina de vidrio llena de agua y fue sujetado con otro cristal, de tal forma que el espécimen quedó atrapado entre el vidrio y la pared de la tina.

Los juveniles recolectados se separaron en base a su parecido, tomando como base los patrones de coloración; se fotografiaron de la misma manera y con el mismo equipo que los adultos. Posteriormente se les tomó una muestra de tejido para la extracción de DNA, con la cual se siguió el mismo procedimiento que para las muestras de tejido de los adultos.

Las larvas recibieron el mismo tratamiento que los juveniles después de ser recolectados mediante la red planctónica. Las fotografías fueron tomadas para registrar los patrones de coloración. Cuando las fotografías no se pudieron tomar al momento de recolectar las larvas y juveniles, los melanóforos se preservaron fijándolos primero en formol al 5% y después transfiriéndolos a etanol con hydroxytolueno butilado [BHT- butylated hydroxytoluene] (Smith, 1995; Baldwin y Smith, 2003). El acervo fotográfico digital a color de cada espécimen se encuentra almacenado en el Instituto Smithsonian.

Extracción y Secuenciación de DNA.

En laboratorio, el DNA genómico fue extraído a partir de 20 mg picados de tejido preservado vía extracción automatizada con fenol-cloroformo del Autogenprep965 (Autogen, Holliston, MA), y usando el protocolo del tejido de la cola de rata con un volumen de elución final de 50 μ l. La amplificación de la región CO1 del DNA mitocondrial, fue obtenida por PCR, en reacciones de 10 μ l usando taq polimerasa (0.1 μ l de Bioline (BioLine USA, Boston, MA) y los primers indicados los cuales fueron:

FISH-BCL (5'-TCAACYAATCAYAAAGATATYGGCAC) y

FISH-BCH (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) (Baldwin *et al.* 2009).

El programa para la amplificación por PCR consistió de un ciclo de 5 min a 95°C; 35 ciclos de 30 s a 95°C, 30 s a 52°C y 45 s a 72°C; un ciclo de 5 min a 72°C y después se mantuvo a 10°C. Los productos del PCR fueron purificados con Exosap-IT (USB, Cleveland, OH) usando 2 μ l de enzima 0.2x e incubados por 30min a 37°C. La reacción fue desactivada por 20min a 80°C.

Las reacciones de secuenciación se realizaron usando 1 μ l de PCR purificado en 10 μ l de reacción con 0.5 μ l de primer, 1.75 μ l con buffer BigDye y 0.5 μ l BigDye (ABI, Foster City, CA). Posteriormente en un thermal cycler

se programaron 30 ciclos de 30 s a 95°C, 30 s a 50°C, 4min a 60°C y se mantuvo a 10°C. Las secuencias fueron purificadas usando placas de Millipore Sephadex (MAHVN-4550; Millipore, Billerica, MA) de acuerdo a las indicaciones de fábrica y se almacenaron secas hasta el análisis.

Las reacciones de secuenciación fueron analizadas con un secuenciador automático de DNA ABI 3730XL y los archivos traza de las secuencias fueron exportados hacia el Sequencher 4.7 (GeneCodes, Ann Arbor, MI). Usando el programa Sequencher, los finales de las secuencias fueron removidos. Después de remover los finales de las secuencias, las secuencias restantes fueron ajustadas para cada espécimen, las cuales fueron examinadas a ojo para encontrar los codones de stop.

Identificación de los linajes genéticos del género *Apogon*

Debido a que el objetivo principal de este análisis es estimar únicamente las diferencias entre individuos y especies, se usa el parámetro 2 de Kimura graficado en un Neighbor Joining Tree (NJ; Hebert *et al.* 2003).

Una vez obtenidas las secuencias, estas se alinearon mediante el software Bioedit, y la reconstrucción de la filogenia del CO1, fue realizada mediante el método de distancia “Neighbor-Joining Tree” [NJ], (Saitou & Nei 1987) usando Paup*4.1 (Swofford 2002) y MEGA 4.0 y mediante el modelo evolutivo de dos parámetros de Kimura (Kimura 1980). Después de la obtención de los NJ, los especímenes fueron agrupados de acuerdo al linaje genético correspondiente seguida de la identificación de los adultos de acuerdo a la definición de cada linaje, hasta el nivel de especie mediante el uso de las claves de Böhlke y Chaplin (1968), y Gon (2002).

Una vez corroborada la identificación de los adultos, se le asignó el nombre de la especie correspondiente a cada linaje genético. Los especímenes de larvas y juveniles, a la par con sus fotografías correspondientes tomadas en campo, fueron utilizados para identificar los caracteres diagnósticos de cada especie, basándonos primariamente en los patrones de coloración. Las secuencias de CO1 de los especímenes analizados genéticamente se han anexado al acervo del GenBank.

Análisis Filogeográfico

La diversidad de nucleótidos (π) se obtuvo también mediante Arlequin 3.1. Este índice es utilizado para determinar si la población tiene una historia reciente (pocas substituciones entre los haplotipos) o si su historia se remonta a eventos mutacionales más antiguos (un mayor número de substituciones entre los diferentes haplotipos).

Este índice se calcula como la probabilidad de que dos sitios de nucleótidos escogidos al azar sean homólogos. Es equivalente a la diversidad de genes al nivel de nucleótidos para las secuencias de DNA (Tajima, 1983; Nei, 1987; Excoffier *et al.* 2006).

El rango de los valores de la diversidad de nucleótidos va de 0 a > 0.1 (más del 10%) donde $\pi = 0$ indica que no existe o existe muy poca divergencia entre haplotipos y valores $>>0.01$ (más del 1%) sugiere una divergencia antigua entre los haplotipos o un segundo contacto entre linajes diferenciados alopatricamente (Grant y Bowen, 1998).

$$\pi_n = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j<i}^k p_i p_j d_{ij}}{\mathcal{L}}$$

Ec.1

Donde:

π = diversidad de nucleótidos

n = número de copias del gen dentro de la muestra

p_i = la frecuencia de sustituciones de la secuencia i

p_j = la frecuencia de sustituciones de la secuencia j

d_{ij} = promedio de sustituciones de las secuencias i y j

\mathcal{L} = número de locus

La desviación estándar se calculó mediante la fórmula (Tajima, 1983; Nei, 1987; Excoffier et al. 2006):

$$\text{d. s. } (\pi_n) = \sqrt{V(\pi_n)}$$

Ec. 2

Donde:

π_n = diversidad de nucleótidos.

$$V(\pi_n) = \frac{n+1}{3(n-1)\mathcal{L}} \pi_n + \frac{2(n^2+n+3)}{9n(n-1)} \pi_n^2$$

Ec. 3

Donde:

n = número de copias del gen dentro de la muestra

\mathcal{L} = número de locus

La diversidad de haplotipos (h) o diversidad del gen se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$h = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2\right)$$

Ec. 4

Donde:

h = diversidad de haplotipos o diversidad del gen

n = número de copias del gen dentro de la muestra

k = número de haplotipos

p_i = la frecuencia del haplotipo i dentro de la población

La desviación estándar de la diversidad de haplotipos se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$d. s. (h) = \sqrt{V(h)}$$

Ec. 5

Donde:

h = diversidad de haplotipos o genes

$$V(h) = \frac{2}{n(n-1)} \left\{ 2(n-2) \left[\sum_{i=1}^k p_i^3 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right] + \sum_{i=1}^k p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right\}$$

Ec. 6

Donde:

n = número de copias del gen dentro de la muestra

k = número de haplotipos

p_i = la frecuencia del haplotipo i dentro de la población

Este índice presenta información acerca del número de haplotipos diferentes con respecto al total, mientras menor es el valor de diversidad del gen hay un mayor número de haplotipos compartidos entre localidades, , mientras que a menor número de haplotipos compartidos, mayor es el índice de diversidad del gen (Awise, 2004). La relación entre la diversidad de nucleótidos y la diversidad del gen entre dos localidades se interpretó en base a la tabla de Bowen y Grant (1998):

Tabla 1. Las cuatro categorías para interpretar la diversidad de haplotipos o genes y la diversidad de nucleótidos de peces marinos (Grant y Bowen 1998). π = diversidad de nucleótidos; h = diversidad de haplotipos o genes.

π/h	Pequeño (h<0.5)	Grande(h>0.5)
Pequeño ($\pi < 0.5\%$)	Evento reciente de cuello de botella en la población, ya sea en todos o en algunos linajes mitocondriales	Evento de cuello de botella en la población, seguido por un rápido crecimiento y acumulación de mutaciones
Grande ($\pi > 0.5\%$)	Divergencia entre poblaciones subdivididas geográficamente	Población grande y estable, con una larga historia evolutiva o un segundo contacto reciente entre diferentes linajes genéticos

Un Minimum Spanning Tree (MST) o Red de Distancias Mínimas (RDM) se construyó en Arlequin ver 3.1 (Excoffier *et al.* 2005), donde la distancia se calcula a partir del número de diferencias entre haplotipos, es decir, el número de sustituciones que separa a cada uno de los haplotipos (Excoffier *et al.* 2005). De esta manera es posible inferir las conexiones genéticas entre las diferentes poblaciones (Taylor y Hellberg, 2006) y evaluar la cantidad de haplotipos que son compartidos por todas las localidades, con base en las frecuencias y el número de diferencias entre las secuencias de cada haplotipo. Cada MST fue editado para identificar la región geográfica a la que cada haplotipo pertenece. Este método permite determinar la red haplotípica donde la longitud total de cada una de las ramas que conectan cada haplotipo es minimizada en términos de sustituciones nucleotídicas. Para discriminar entre ramas con el mismo tamaño, asumimos que los haplotipos de mayor frecuencia son los más viejos y que es más probable que las mutaciones recientes se encuentren dentro de la misma población que su ancestro (Excoffier *et al.* 1992; Neigel y Avise, 1993; Humphrey *et al.* 2010).

El índice de divergencia poblacional (Φ_{ST}) análogo a las F de Wright (1958), fue medido para determinar si existe evidencia de flujo genético entre las diferentes poblaciones (Schneider *et al.* 2000); básicamente es la varianza de la distancia promedio entre haplotipos, como función del número de diferencias (Excoffier *et al.* 2006). Los cálculos se realizaron con Arlequin 3.1, donde también se calculó la prueba significativa de los valores p de estos índices. La prueba significativa de la F se calculó con 10,100 permutaciones.

F_{ST} = es la probabilidad de que dos alelos/haplotipos muestreados al azar, correspondan a diferentes poblaciones (Φ_{ST}).

Comparar Φ_{ST} entre las diferentes poblaciones de distintas localidades, puede revelar si existe una subdivisión de la población, donde ocurre esta subdivisión muy probablemente ha sido causa de la presencia de una barrera geográfica o un canal que pueda traducirse en la presencia de estructura genética en la población (Bohonak, 2002; D'Amato y Carvalho, 2005; Taylor y Hellberg, 2006).

Los análisis de coalescencia son específicamente métodos basados en la máxima probabilidad de ocurrencia de una genealogía en relación a todas las posibles, de un gen en particular a partir de la diversidad molecular actual y hasta que se alcanza al ancestro común (Avise, 2004). Provee información acerca de la edad de la población y de su historia demográfica (si es estable, si se está expandiendo, si se encuentra en declive).

El análisis coalescente se calculó al obtener el índice tau (τ) en Arlequin 3.1. Para estimar la edad de las poblaciones, o el tiempo transcurrido desde una expansión poblacional de acuerdo al modelo de Rogers y Harpending (1992), se calculó τ , así como Θ_0 , que es el índice del tamaño de la población antes de expandirse y Θ_1 , que es el índice del tamaño de la población después de expandirse. El resultado es expresado en % por ma. (Millón de años). Para calcularlo es necesario la tasa mutacional del gen, por lo que el tiempo del evento mutacional a la actualidad se calculó mediante la fórmula (Rogers y Harpending, 1992); la tasa mutacional utilizada fue del 1%:

$$T = \tau/2\mu$$

Ec. 7

Dónde:

T = tiempo generacional de divergencia.

τ = unidad del tiempo mutacional

2μ = tasa mutacional

El análisis de neutralidad de Tajima, se utilizó para estimar la desviación del equilibrio en la población, entre la mutación como fuente de variación y la deriva génica, con base en el modelo de sitios infinitos sin recombinación (Tajima, 1989). Compara los dos estimadores del parámetro mutacional theta (θ) en relación con los sitios segregantes (θ_S) y las diferencias de nucleótidos (θ_π) entre los haplotipos. El estadístico D , se define entonces como:

$$D = \frac{\theta_\pi - \theta_S}{\sqrt{\text{Var}(\theta_\pi - \theta_S)}}$$

Ec. 8

Donde:

$\theta_\pi = \pi$ = diversidad de nucleótidos

$$\theta_S = \frac{S}{\sum_{i=1}^{n-1} (1/i)}$$

Ec. 9

Donde:

S = el número de sitios en segregación en la muestra.

n = número de haplotipos en la muestra

Para probar el estadístico D , se generan muestras aleatorias bajo la hipótesis de neutralidad selectiva y equilibrio poblacional, usando una simulación coalescente del algoritmo adaptado de Hudson (1990). El valor de significativo de p del índice de Tajima (D) es obtenida cuando la proporción de la F calculada es menor o igual a la F observada. Valores significativos de D , se pueden deber a factores como expansión de la población, efecto de cuello de botella, tasas heterogéneas de mutación; particularmente este análisis es poderoso cuando la hipótesis de desviación con respecto al equilibrio poblacional es debido a un efecto de cuello de botella o un barrido selectivo (Tajima, 1993; Simonsen *et al.* 1995; Aris-Brosou y Excoffier, 1996; Tajima 1996, Excoffier *et al.* 2006).

Resultados

NJ (Análisis de linajes genéticos)

En nuestro material se encuentran representados 15 linajes genéticos (Fig. 4). Catorce de los 15 linajes genéticos fueron identificados hasta nivel de especie mediante la identificación de los adultos. Los linajes correspondientes a *Apogon aurolineatus*, *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. planifrons*, *Apogon sp.*, *A. townsendi* y *A. mosavi*, se encuentran representados por larvas y los linajes correspondientes a *A. aurolineatus*, *A. maculatus*, *A. pseudomaculatus*, *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. pillionatus*, *A. townsendi*, *A. lachneri*, *A. mosavi*, *A. robbyi* y *A. quadrisquamatus* se encuentran representados por estadios juveniles. Las larvas y juveniles se identificaron hasta nivel de especie basándonos en los grupos del NJ al que pertenecen. No se recolectaron larvas o juveniles para *A. affinis* y *A. robinsi* (Fig. 4), sin embargo sus secuencias fueron incluidas en el análisis filogenético para verificar que el linaje correspondiente a *Apogon sp.* no pertenece a ninguna de estas dos especies. *Apogon evermanni*, *A. leptocaulus* y *A. gouldi* también han sido reportadas en el Mar Caribe; *Apogon sp.* podría pertenecer a alguna de estas especies, sin embargo, más muestreos son necesarios para verificarlo.

Es claro que las secuencias del CO1, diferencian a los individuos de las diferentes especies, debido a una divergencia genética mayor entre especies ($d = 0.04$ entre *A. mosavi* y *A. robbyi* a 0.25 entre *A. aurolineatus* y *A. quadrisquamatus*) con respecto a la existente entre individuos de la misma especie ($d \ll 0.01$; Tabla 2). El promedio de las distancias entre los diferentes linajes genéticos se muestran en la Tabla 2.

El listado total de organismos identificados hasta nivel de especie para cada uno de los linajes genéticos se encuentra en el Anexo.

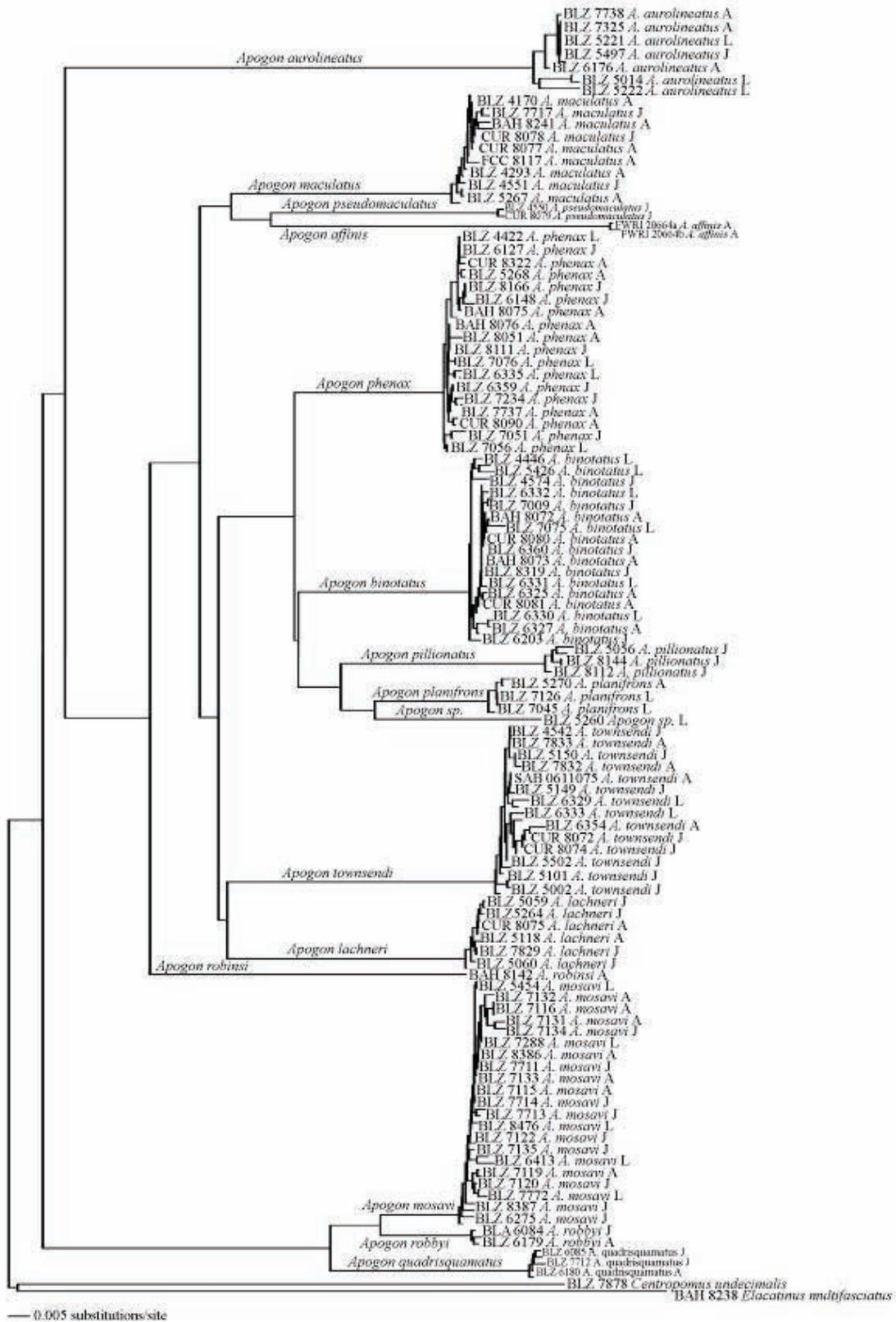


Fig. 4. Neighbor-Joining Tree derivado de las secuencias de citocromo oxidasa 1 del género *Apogon*. Se muestran 15 linajes genéticamente distintos de este género. El 1° corresponde a *Apogon anrolineatus*, el 2° a *A. maculatus*, el 3° a *A. pseudomaculatus*, el 4° a *A. affinis*, el 5° a *A. phenax*, el 6° a *A. binotatus*, el 7° a *A. pillionatus*, el 8° a *A. planifrons*, el 9° a *Apogon sp.*, el 10° a *A. townsendi*, el 11° a *A. lachneri*, el 12° a *A. robinsi*, el 13° a *A. mosavi*, el 14° a *A. robbyi* y el 15° a *A. quadrisquamatus*.

Tabla 2. Matriz de los valores promedio de las distancias calculadas mediante el parámetro 2 de Kimura (Kimura, 1980), para las especies pertenecientes al género *Apogon*. Si el valor de la distancia es uno quiere decir que no hay diferencias entre las secuencias de una especie y otra. Si el valor es cero no hay similitud entre las secuencias de ambas especies.

Especies	<i>A. aurolineatus</i>	<i>A. maculatus</i>	<i>A. phenax</i>	<i>A. binotatus</i>	<i>A. townsendi</i>	<i>A. pseudomaculatus</i>	<i>A. pillionatus</i>	<i>A. lachneri</i>	<i>A. planifrons</i>	<i>A. mosavi</i>	<i>A. robbyi</i>	<i>A. quadrisquamatus</i>	<i>Apogon sp.</i>
<i>A. aurolineatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. maculatus</i>	0.1927	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. phenax</i>	0.1876	0.121	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. binotatus</i>	0.201	0.133	0.0865	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. townsendi</i>	0.2318	0.141	0.1265	0.13	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. pseudomaculatus</i>	0.1782	0.079	0.0878	0.108	0.0962	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. pillionatus</i>	0.218	0.134	0.1111	0.12	0.1449	0.1079	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. lachneri</i>	0.2239	0.156	0.1073	0.113	0.125	0.099	0.1343	x	x	x	x	x	x
<i>A. planifrons</i>	0.2138	0.174	0.1077	0.096	0.1722	0.1249	0.1089	0.1512	x	x	x	x	x
<i>A. mosavi</i>	0.2217	0.194	0.2172	0.221	0.2117	0.1467	0.2388	0.2025	0.2343	x	x	x	x
<i>A. robbyi</i>	0.2196	0.194	0.2014	0.224	0.2006	0.1458	0.2149	0.2092	0.2225	0.043	x	x	x
<i>A. quadrisquamatus</i>	0.2446	0.211	0.2172	0.24	0.2172	0.148	0.2266	0.1955	0.2349	0.091	0.076	x	x
<i>Apogon sp.</i>	0.2254	0.133	0.0986	0.122	0.1394	0.0893	0.102	0.1413	0.0782	0.231	0.22	0.2252	x
<i>A. robbinsi</i>	0.2099	0.17	0.1511	0.166	0.1777	0.1431	0.167	0.1436	0.1846	0.186	0.18	0.1999	0.169

Análisis Taxonómico (Diagnosis)

Apogon aurolineatus

Identificación. — La base genética para la identificación de larvas y juveniles de este linaje genético fue provista por ocho especímenes adultos de *A. aurolineatus* (un adulto se muestra en la Fig. 5). Los caracteres diagnósticos que separan a los adultos de esta especie de otras especies del mismo género son: ocho rayos separados en la aleta anal; 10-11 espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial; menos de 21 escamas circumpedunculares; la falta de marcas de pigmentación en la parte posterior del cuerpo y de una a cuatro líneas oscuras que radían a partir del ojo (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).



Fig. 5. Adulto de *Apogon aurolineatus*, 30 mm SL, DNA # BLZ6176.

Juveniles (Fig. 6). — En el árbol reconstruido de las secuencias, se incluye un solo juvenil como parte de este linaje genético, un espécimen de 12 mm SL. La parte posterior del cuerpo es transparente y en la cabeza presenta una coloración rosa salmón pálido en especímenes recién recolectados. La región abdominal y la zona opercular son de color plateado. En especímenes preservados no hay caracteres distintivos excepto por una algunos melanóforos en la parte superior de la cabeza.

Comparaciones. — El juvenil de *A. aurolineatus* tiene un mayor parecido con los juveniles de *A. quadrisquamatus* ya que ambos carecen de marcas distintivas en la parte posterior del cuerpo. *Apogon quadrisquamatus* difiere de *A. aurolineatus* en la coloración del cuerpo y las aletas (coloración rosa salmón pálido en la parte anterior del cuerpo, la falta de coloración en la parte posterior y la falta de pigmentación en ambas aletas en *A. aurolineatus* vs. cuerpo anaranjado y una coloración amarilla tanto en la primer aleta dorsal como en la aleta caudal en *A. quadrisquamatus*), así como en la concentración de cromatóforos anaranjados que forman una mancha al centro de la base del pedúnculo caudal en *A. quadrisquamatus* (vs. la ausencia de dicha mancha en *A. aurolineatus*).

Los especímenes preservados son muy similares, las diferencias radican únicamente en la concentración de melanóforos en la parte superior de la cabeza (de cinco a seis en *A. aurolineatus* vs. alrededor de 30 en *A. quadrisquamatus*) y en la proporción del tamaño del ojo con respecto al cuerpo en especímenes del mismo tamaño (13% de SL en *A. aurolineatus* vs. 15% en *A. quadrisquamatus*).

Los especímenes preservados de *A. aurolineatus* son muy parecidos también a los especímenes preservados de *A. mosavi* y *A. robbyi*; se diferencian por la falta de melanóforos en forma de mancha en la parte central de la base del pedúnculo caudal en *A. aurolineatus*, característica que comparten tanto *A. mosavi* como *A. robbyi*.

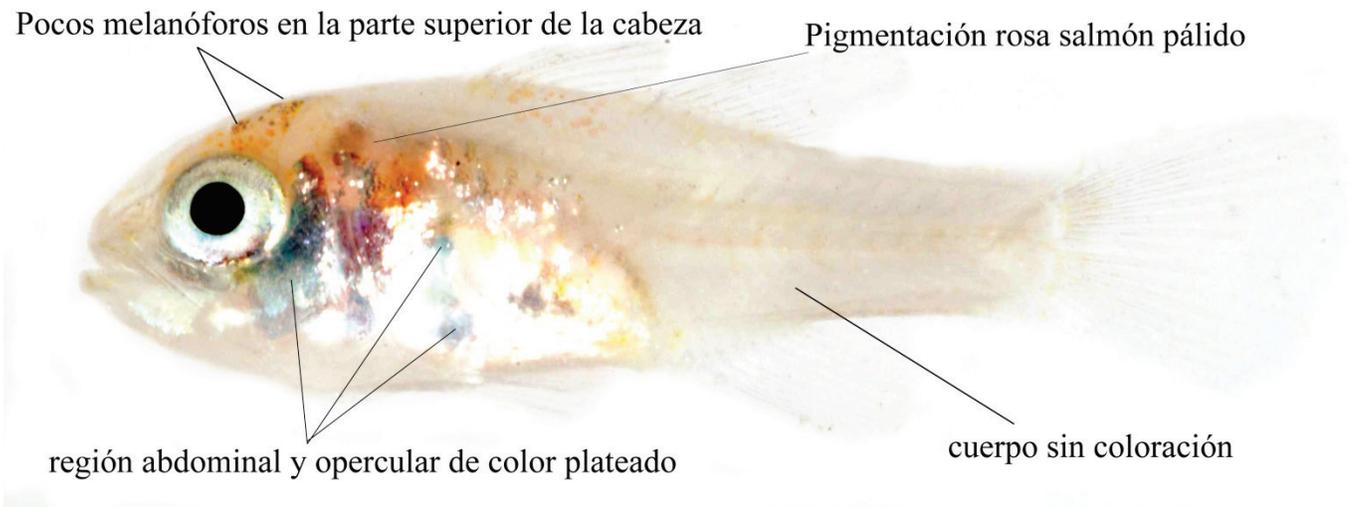


Fig. 6. Juvenil de *Apogon aurolineatus*, 12 mm SL, DNA # BLZ5947.

Larvae (Fig. 7). — Todas las larvas pertenecientes a este linaje genético miden 8 mm SL. Presentan una coloración anaranjado brillante y las aletas pélvica, anal y la segunda dorsal tienen una coloración anaranjada. La base de la primera aleta dorsal tiene una pigmentación anaranjada y el resto es de color amarillo. Las aletas pectorales y la aleta caudal no presentan pigmentación. Por debajo de la porción anterior del ojo y por arriba de la punta de la nariz, presentan una coloración anaranjado pálido casi blanco. La parte superior de la cabeza presenta una pigmentación amarilla. En todos los especímenes hay una pequeña concentración de melanóforos en la parte superior de la cabeza y de manera subcutánea tanto en las mandíbulas como en la región abdominal. El resto del cuerpo no presenta marcas oscuras distintivas. El tamaño del pedúnculo caudal varía del 27-29% de la longitud total (SL).

Comparaciones. — Las larvas recién recolectadas de *A. aurolineatus* se distinguen fácilmente de otras especies por la coloración anaranjado brillante en todo el cuerpo y la coloración amarilla de la primera aleta dorsal. Los especímenes preservados usualmente se distinguen por la presencia de pocos melanóforos en la parte superior de la cabeza o la ausencia de los mismos (0-6 en *A. aurolineatus* vs. más de 20 en otras especies del género *Apogon*), por un cuerpo más pequeño, ya que son las larvas de menor talla encontradas en este estudio y un pedúnculo caudal corto (27-29% de la longitud total vs. 31-40% en el resto de las especies).

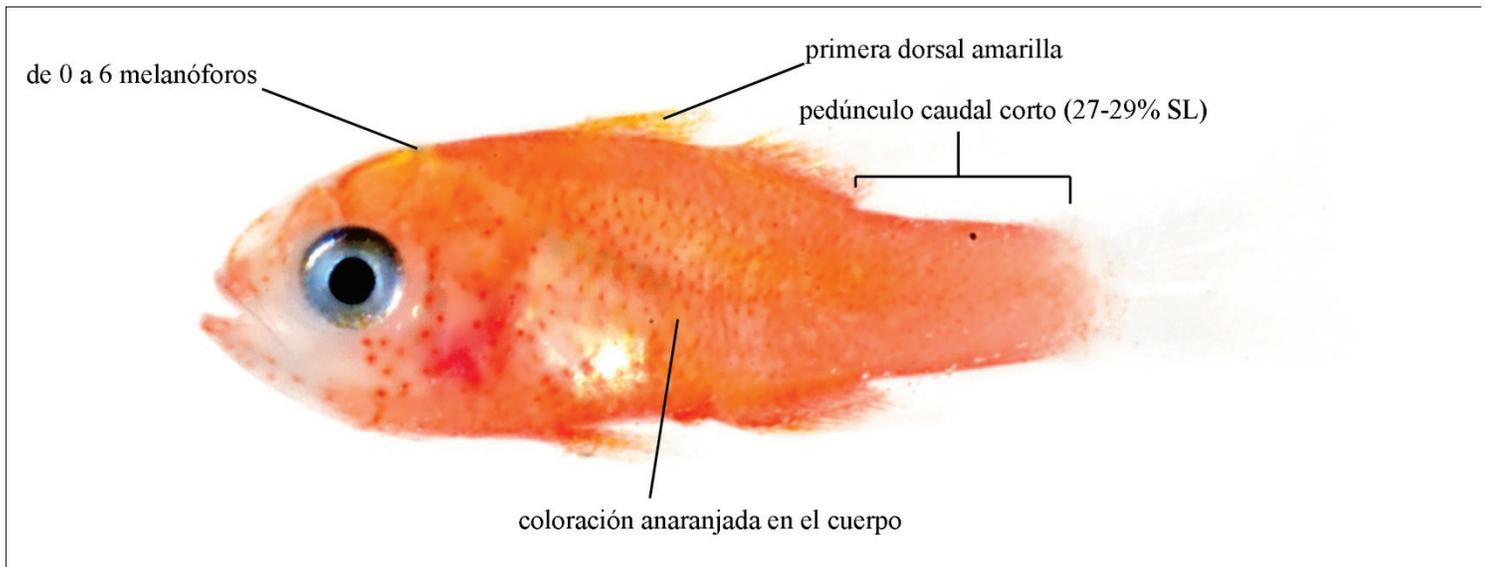


Fig. 7. Larva de *Apogon aurolineatus*, 8 mm SL, DNA # BLZ5221.

Apogon maculatus.

Identificación. — La base genética para este linaje genético fue provista por 17 especímenes adultos de *A. maculatus* (uno se muestra en la Fig. 8). La combinación de caracteres que distingue a los adultos de esta especie respecto del resto son: ocho rayos separados en la aleta anal; el mismo tamaño de escamas en la línea lateral y en el resto del cuerpo; un punto del tamaño de la pupila de pigmentación oscura por debajo de la parte posterior de la base de la segunda aleta anal; 17-20 escamas circumpedunculares y una mancha de melanóforos en el pedúnculo caudal con forma semicircular que se extiende por debajo de la línea lateral (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

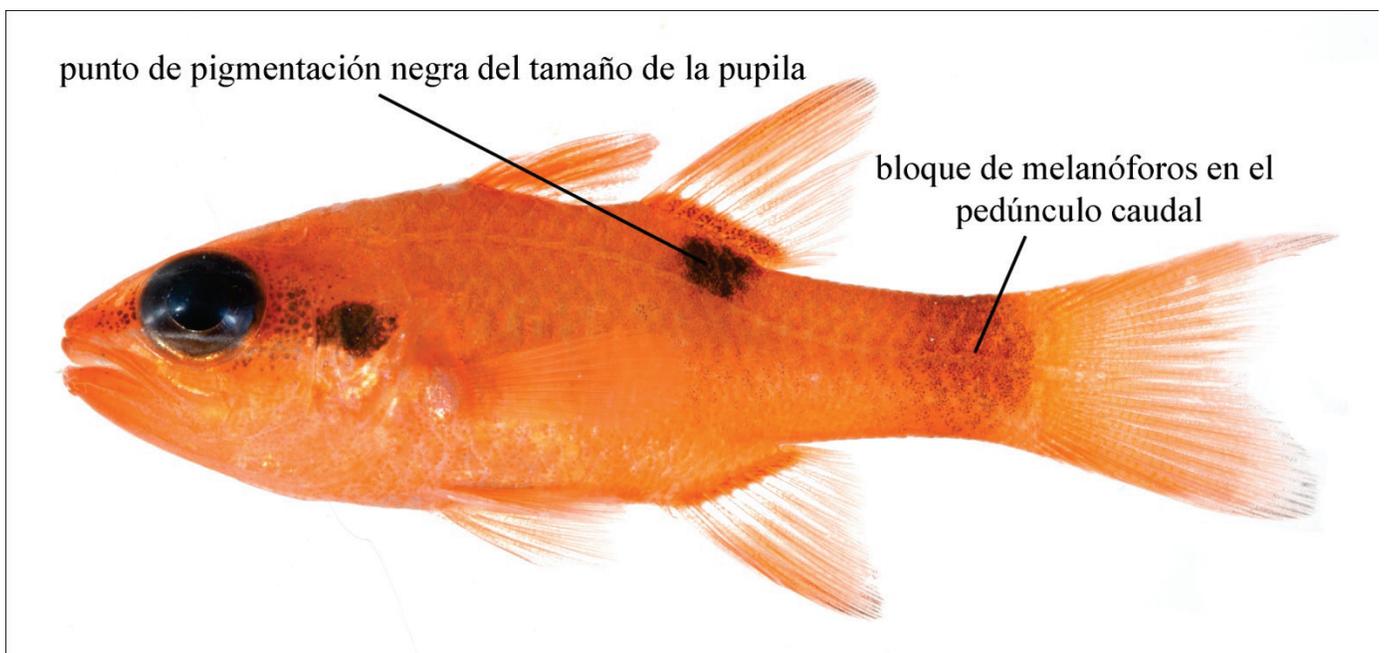


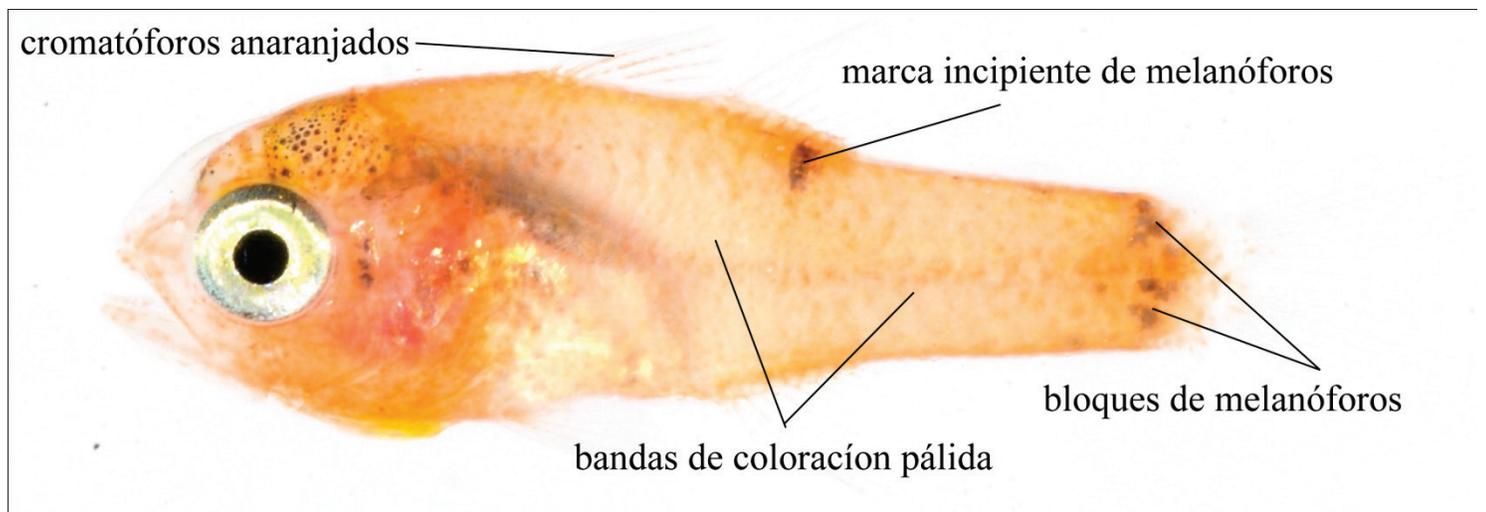
Fig. 8. Adulto de *Apogon maculatus*, 38 mm SL, DNA # BLZ4170.

Juveniles (Fig. 9). — Dos juveniles, uno de 12 mm SL y otro de 22 mm SL, fueron genéticamente identificados dentro del linaje de esta especie. El espécimen de 12 mm SL presenta una coloración anaranjada con áreas pálidas o blancas en la porción anterior al ojo, en forma de banda a la mitad del cuerpo y en forma de banda en la porción anterior del pedúnculo caudal. Las aletas no presentan pigmentación, excepto por algunos cromatóforos anaranjados dispersos en la primera aleta dorsal. Presenta un grupo de melanóforos en la parte superior de la cabeza y atrás del ojo sobre la mejilla. El punto de pigmentación oscura característico de los adultos en la parte posterior de la base de la segunda aleta dorsal es incipiente y presenta una gran cantidad de melanóforos a la porción anterior a la base de la aleta caudal.

El espécimen de 22 mm SL presenta casi en su totalidad el patrón de pigmentación del adulto con la diferencia de que la mancha oscura del pedúnculo caudal no se encuentra completamente desarrollada.

Comparaciones. — Los juveniles pertenecientes a *A. maculatus* son muy parecidos a *A. pseudomaculatus* ya que ambas especies presentan un punto o mancha por debajo de la porción posterior de la base de la segunda aleta dorsal, en contraste con la falta de marcas distintivas o la presencia de una barra oscura en juveniles de otras especies de este género. *Apogon maculatus* puede ser diferenciado de *A. pseudomaculatus* con base en la posición de esta mancha o punto (sobre la porción posterior de la base de la segunda aleta dorsal y extendiéndose ventralmente hasta antes de la línea lateral en *A. maculatus*, y únicamente por debajo sin tocar la base de la porción posterior de la segunda aleta dorsal en el caso de *A. pseudomaculatus*) y por la forma de la mancha en el pedúnculo caudal la cual se extiende ventralmente por debajo de la línea lateral en *A. maculatus* y está en su mayoría concentrada por arriba de la línea lateral en *A. pseudomaculatus*.

a)



b)

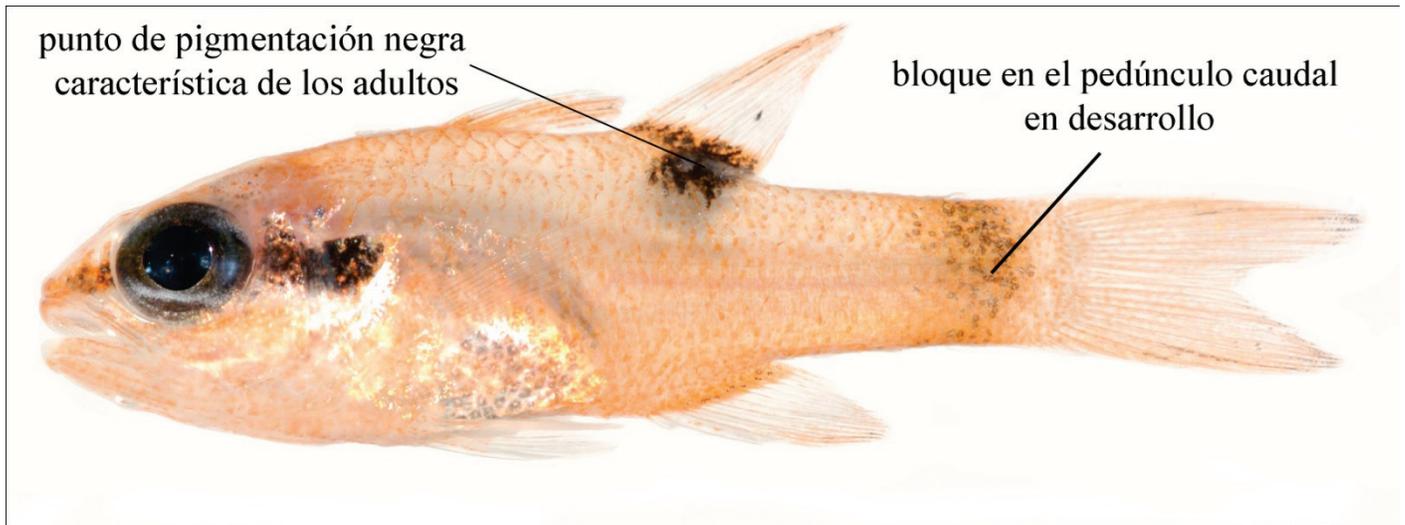


Fig. 9. Juveniles de *Apogon maculatus*. a) 12 mm SL, DNA # BLZ7717. b) 22 mm SL, DNA # BLZ4551.

Apogon pseudomaculatus.

Identificación. — Un solo espécimen adulto recolectado en Florida (FWRI 206460) proporcionó la base genética para la identificación de un juvenil recolectado en Belice otro recolectado en Curazao. El espécimen de 23 mm SL recolectado en Belice presenta ya el patrón de coloración de los adultos y se muestra en la Fig. 10. La combinación de caracteres que permiten identificar a los adultos hasta el nivel de especie es: ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y del resto del cuerpo del mismo tamaño; un punto de pigmentación negra del tamaño de la pupila por debajo de la porción posterior de la segunda aleta dorsal; 14-16 escamas circumpedunculares y un punto de pigmentación negra del tamaño de la pupila en la región posterior del pedúnculo caudal por arriba de la línea lateral (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

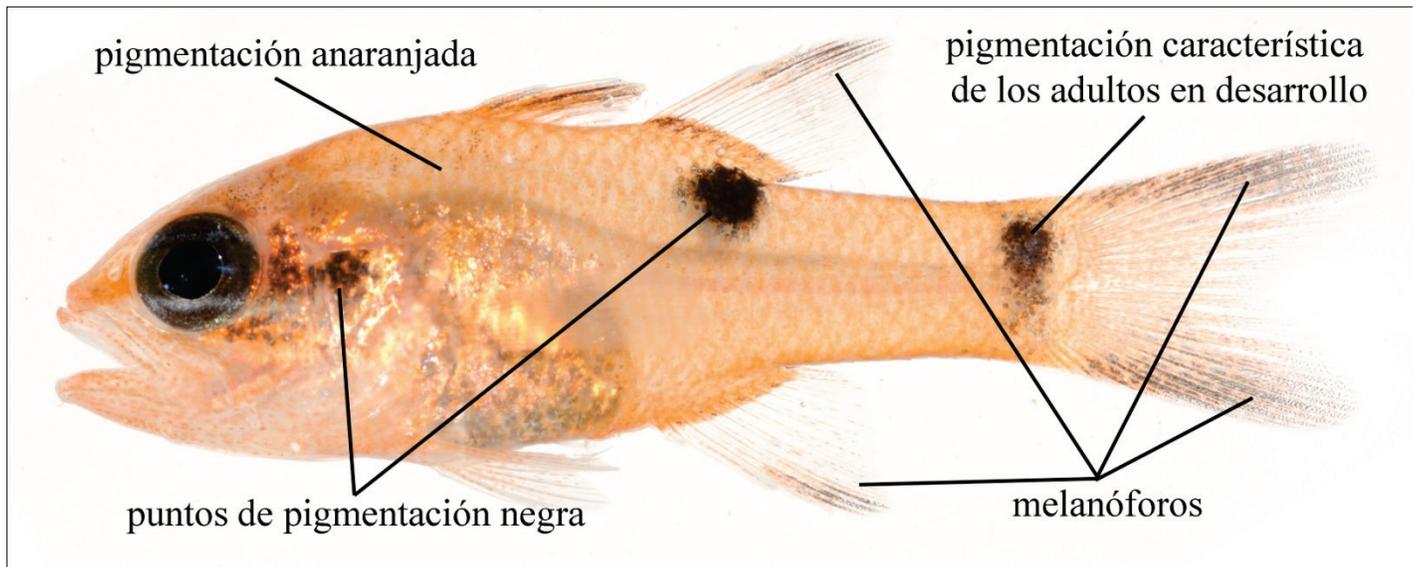


Fig. 10. Juvenil de *Apogon pseudomaculatus*, 23 mm SL, DNA # BLZ4550.

Juveniles (Fig. 11). — El cuerpo presenta una coloración de anaranjado pálido a anaranjado brillante. Las aletas presentan la misma coloración del cuerpo. En los rayos anteriores de la primera aleta dorsal, la segunda aleta dorsal y la aleta anal presentan melanóforos al igual que en la porción anterior de la base de la segunda aleta dorsal. Los rayos externos de la aleta caudal se encuentran densamente poblados por melanóforos. Presentan un punto oscuro detrás del ojo sobre el opérculo y dos líneas blancas en el ojo, una por arriba y una por debajo de la pupila. El cuerpo presenta dos puntos negros del tamaño de la pupila, uno en el tronco por debajo de la porción anterior de la segunda aleta dorsal y uno en el pedúnculo caudal. Este último se encuentra concentrado en su mayoría por arriba de la línea lateral y se desvanece conforme se extiende ventralmente.

Comparaciones. — Las características morfológicas que separan a *A. pseudomaculatus* de *A. maculatus* y de otras especies del género *Apogon* ya se describieron anteriormente (ver “Comparaciones” en la sección de *A. maculatus*).

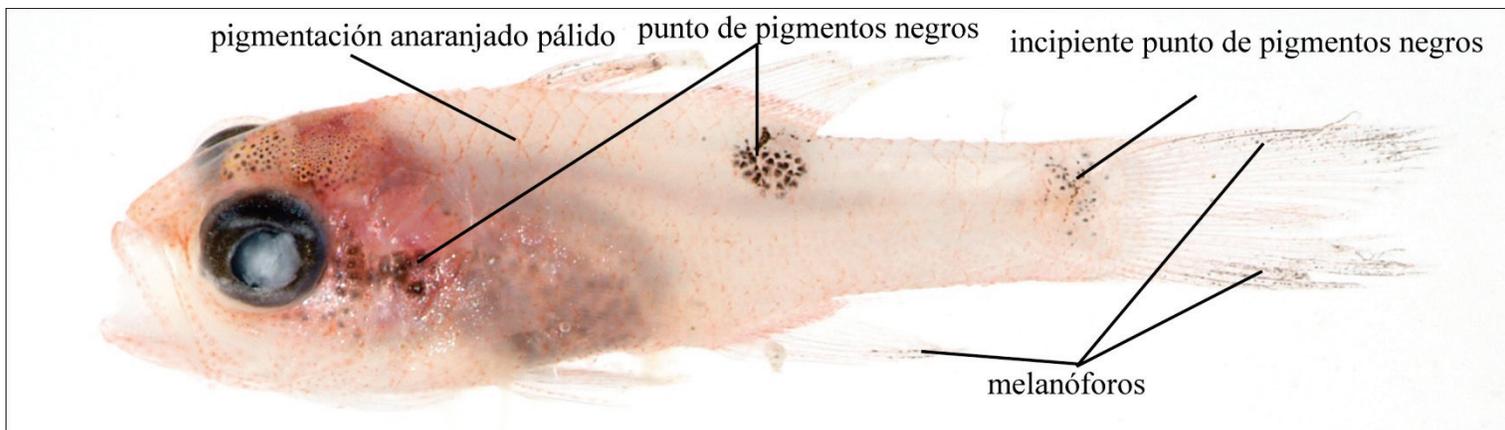


Fig. 11. Juvenil de *Apogon pseudomaculatus*, 19 mm SL, DNA # CUR8079.

Apogon affinis

Identificación. — Dos especímenes adultos proporcionaron la base genética para la identificación de este linaje genético. La combinación de caracteres que separa a *A. affinis* de otras especies del mismo género es: nueve rayos en la aleta anal y ambas mandíbulas con una sola serie de pequeños dientes cónicos esparcidos con varios dientes caniniformes alargados (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

Comparaciones. — *Apogon affinis* asemeja en su mayoría a *A. aurolineatus* en la ausencia de patrones de pigmentación y puede ser diferenciado de esta y el resto de las especies de este género por la presencia de nueve rayos en la aleta anal y la presencia de dientes caniniformes.

Apogon phenax

Identificación. — Veintitrés especímenes adultos de *A. phenax* proporcionaron la base genética para la identificación de las larvas y juveniles (un adulto se muestra en la Fig. 12). Los adultos pertenecientes a esta especie se diferencian de otras especies del género *Apogon* por la combinación de caracteres de: ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y del resto del cuerpo del mismo tamaño; el cuerpo con dos marcas distintivas (una barra oscura con forma de cono invertido cuya base en la porción dorsal del cuerpo se encuentra por debajo de la porción posterior de la segunda aleta dorsal y se extiende lateralmente sobrepasando el margen posterior de la segunda aleta dorsal; y una barra oscura en la porción posterior del pedúnculo caudal—la distancia entre las dos barras es mayor que el grosor de la barra posterior); 11-14 espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial.

Los adultos de *A. phenax*, al igual que *A. robinsi*, *A. pillionatus*, *A. binotatus* y *A. townsendi* presenta dos barras oscuras en la porción posterior del cuerpo. Puede ser diferenciado de *A. robinsi* debido a la falta de dientes en la superficie lateral de la premaxila superior; se diferencia de *A. pillionatus* ya que la barra en la porción posterior del pedúnculo caudal es más estrecha en *A. phenax*, de tal forma que la distancia entre ambas barras del cuerpo es mayor al grosor de la barra posterior. En *A. pillionatus*, esta distancia es mucho menor al grosor de la barra posterior. Se diferencia de *A. binotatus* teniendo una barra más gruesa en el pedúnculo caudal, y se diferencia de *A. townsendi* en que la barra anterior tiene la forma de cono invertido y la barra posterior no presenta márgenes negros verticales (vs. una barra anterior delgada y márgenes negros verticales en la barra del pedúnculo caudal en *A. townsendi*) — (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

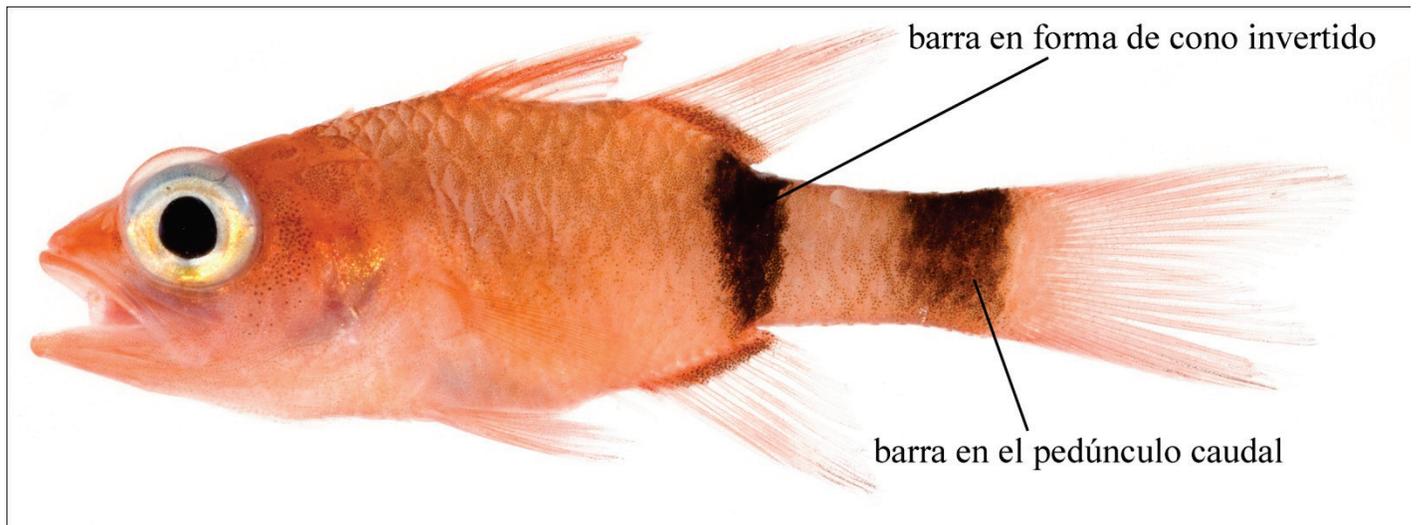


Fig. 12. Adulto de *Apogon phenax*, 32 mm SL, DNA # BLZ5268.

Juveniles (Fig. 13). — En el árbol de la Fig. 4 se incluyen cinco juveniles pertenecientes a este linaje genético cuya talla varía de 16 a 22 mm SL. El cuerpo es de color anaranjado pálido. La primera aleta dorsal es de color anaranjado brillante y las aletas pélvicas, segunda dorsal, anal y caudal presentan una coloración anaranjado pálido. La aleta caudal presenta melanóforos en los rayos externos al igual que las porciones distales de las aletas anal y segunda dorsal. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza y en la región abdominal. Las dos barras características de los adultos están presentes en todos los juveniles. La barra anterior se aproxima a la forma de cono invertido y se extiende ventralmente hasta un punto por debajo de la mitad del cuerpo y por arriba de la base de la aleta anal. La barra anterior, es confluyente con una línea de melanóforos que se extienden a lo largo de la base de la segunda aleta dorsal y apenas separada de una línea de melanóforos similar en la base de la aleta anal. La barra posterior se extiende desde el margen dorsal al margen ventral del cuerpo. Al igual que en los adultos, la distancia entre las dos barras no excede el grosor de la barra posterior.

Comparaciones. — Los mismos caracteres que separan a los adultos, separan a los juveniles de esta especie.

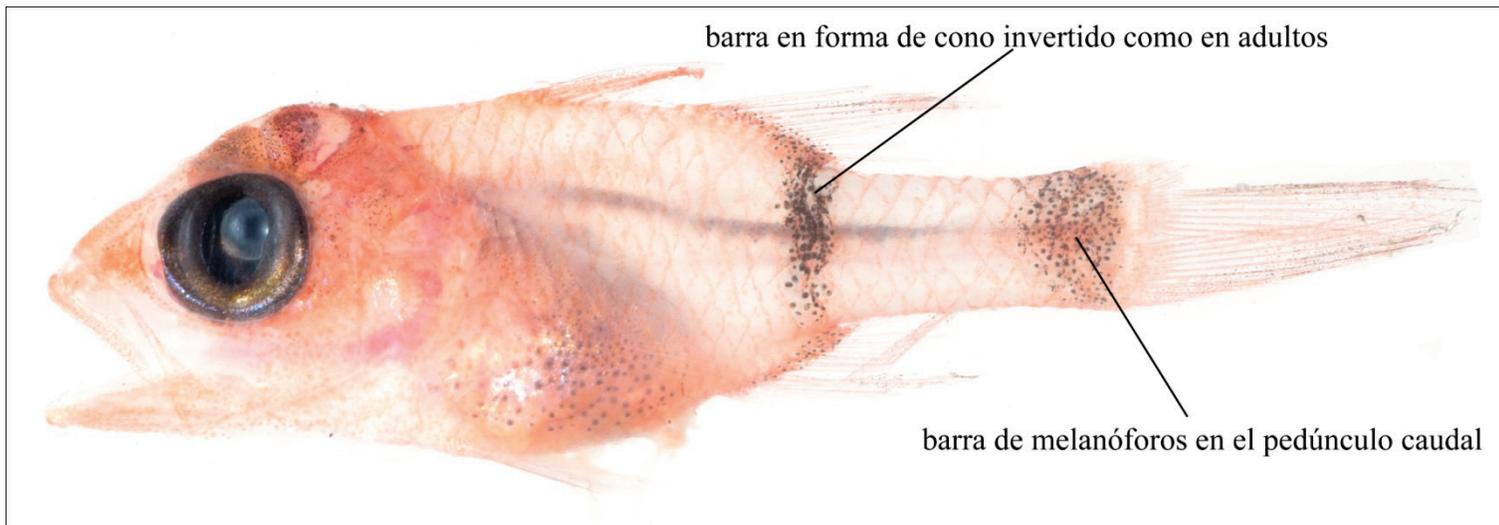
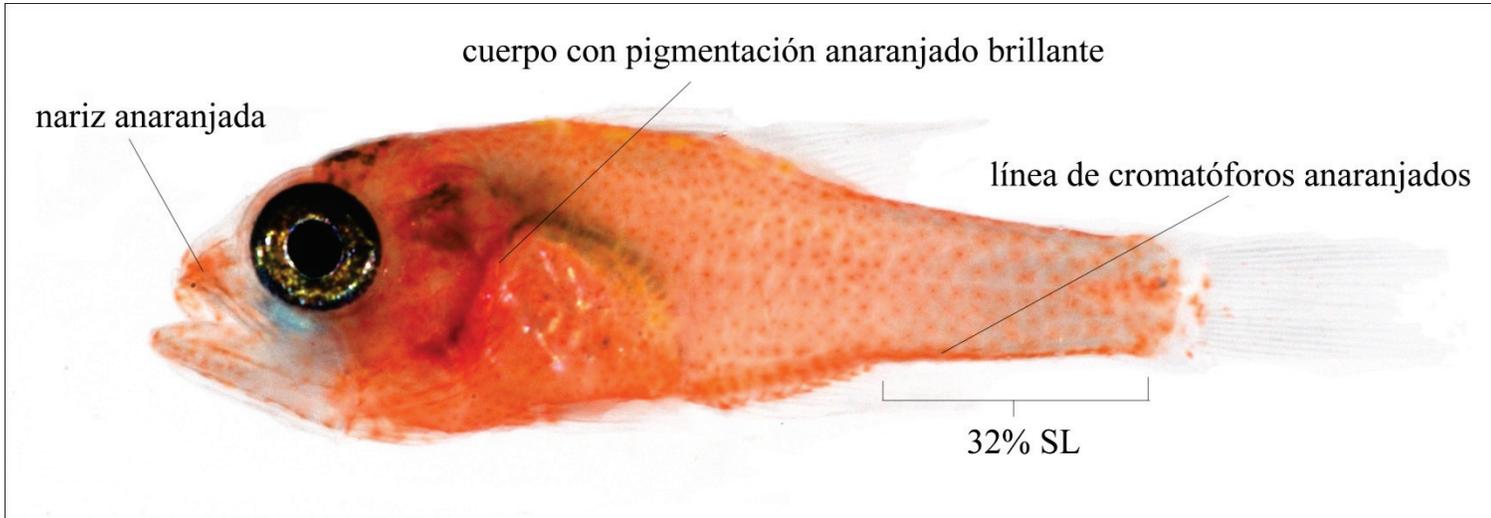


Fig. 13. Juvenil de *Apogon phenax*, 16 mm SL, DNA # BLZ8166.

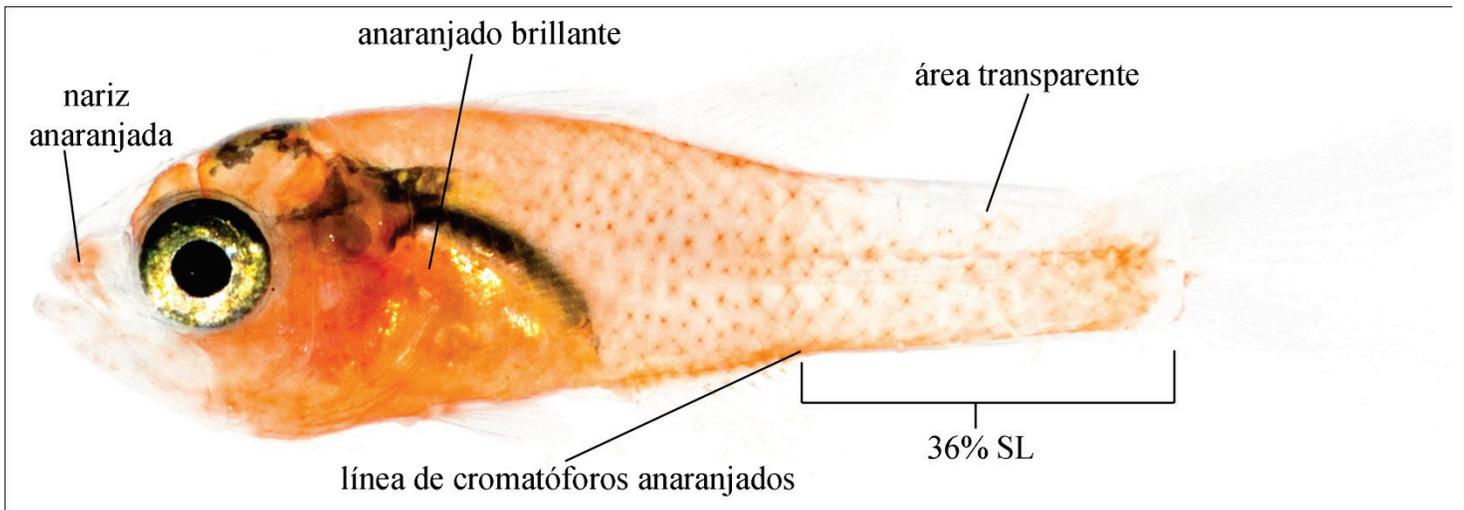
Larvae (Fig. 14). — Las larvas de *A. phenax* analizadas en este estudio, presentan una talla que varía de los 9.5 a los 11 mm SL. En los especímenes más pequeños, el color del cuerpo es anaranjado brillante y las aletas no presentan pigmentación. La porción anterior de la cabeza es transparente, pero presentan un distintivo punto de color anaranjado que cubre la nariz. Presentan cromatóforos de color anaranjado dispersos a lo largo de ambas mandíbulas. El espécimen de 10 mm SL, presenta áreas pálidas casi blancas en la porción dorsal del pedúnculo caudal. En la base de los rayos centrales y ventrales de la aleta caudal se distinguen algunos cromatóforos anaranjados. En la parte superior de la cabeza, en la región temporal y en la región abdominal presentan melanóforos. En el único espécimen de 11 mm SL, el cuerpo presenta una coloración más pálida con respecto al resto de las larvas y las barras oscuras características de los adultos comienzan a formarse en la parte posterior del cuerpo. En la región ventral del cuerpo a partir de la aleta pélvica hasta la base de la aleta caudal, presenta una línea de cromatóforos anaranjados. La longitud del pedúnculo caudal varía de 32% SL en el espécimen de 9.5 mm hasta 36% SL en el espécimen de 10 mm SL.

Comparaciones. — Las larvas de *A. phenax* tienen se parece a la larva de *A. aurolineatus* en la coloración anaranjado brillante del cuerpo, sin embargo se pueden diferenciar ya que *A. phenax* no presenta la coloración característica de las aletas de *A. aurolineatus*. Adicionalmente las larvas de *A. phenax*, presentan una mayor cantidad de melanóforos en la parte superior de la cabeza y un pedúnculo caudal más grande (32-36% de SL en *A. phenax* vs. 27-29% de SL en *A. aurolineatus*). *Apogon binotatus* y *A. townsendi* son las larvas más parecidas a *A. phenax*; las diferencias radican en la coloración más brillante del cuerpo en *A. phenax*, y en la presencia del punto de pigmentación que cubre la nariz (en *A. binotatus* y *A. townsendi*, la nariz no presenta pigmentación). No se lograron identificar caracteres morfológicos que permitan separar las larvas de *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. townsendi*, *A. planifrons*, y *A. mosavi* en los especímenes preservados, salvo el tamaño del pedúnculo caudal son respecto a *A. aurolineatus*.

a)



b)



c)

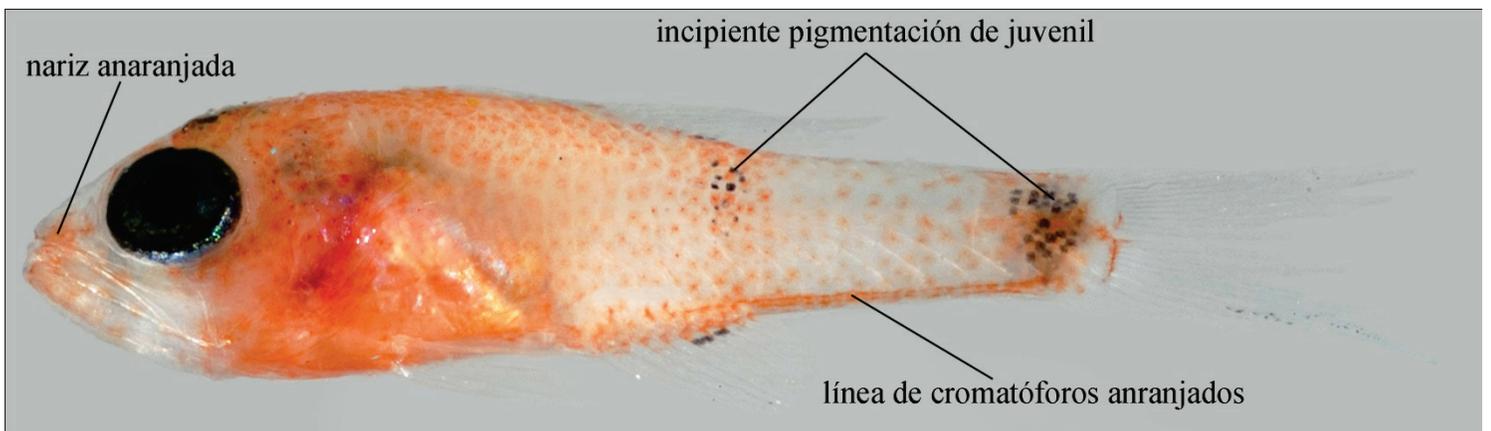


Fig. 14. Larvas de *Apogon phenax*: a) 9.5 mm SL, DNA # BLZ 6335. b) 10 mm SL, DNA # BLZ 6361. c) 11 mm SL, DNA # BLZ6359.

Apogon binotatus

Identificación. — Diecisiete especímenes adultos de *A. binotatus*, proporcionaron la base genética para la identificación de las larvas y juveniles (un adulto se muestra en la Fig. 15). La combinación de caracteres que distingue a *A. binotatus* de otras especies del género *Apogon* es: ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y el resto del cuerpo del mismo tamaño; el cuerpo con dos marcas oscuras distintivas en su porción posterior (una barra por debajo de la base de la segunda aleta dorsal y otra barra en la parte posterior del pedúnculo caudal), ambas barras son estrechas aproximadamente del mismo tamaño (Böhlke & Chaplin 1968; Gon, 2002).

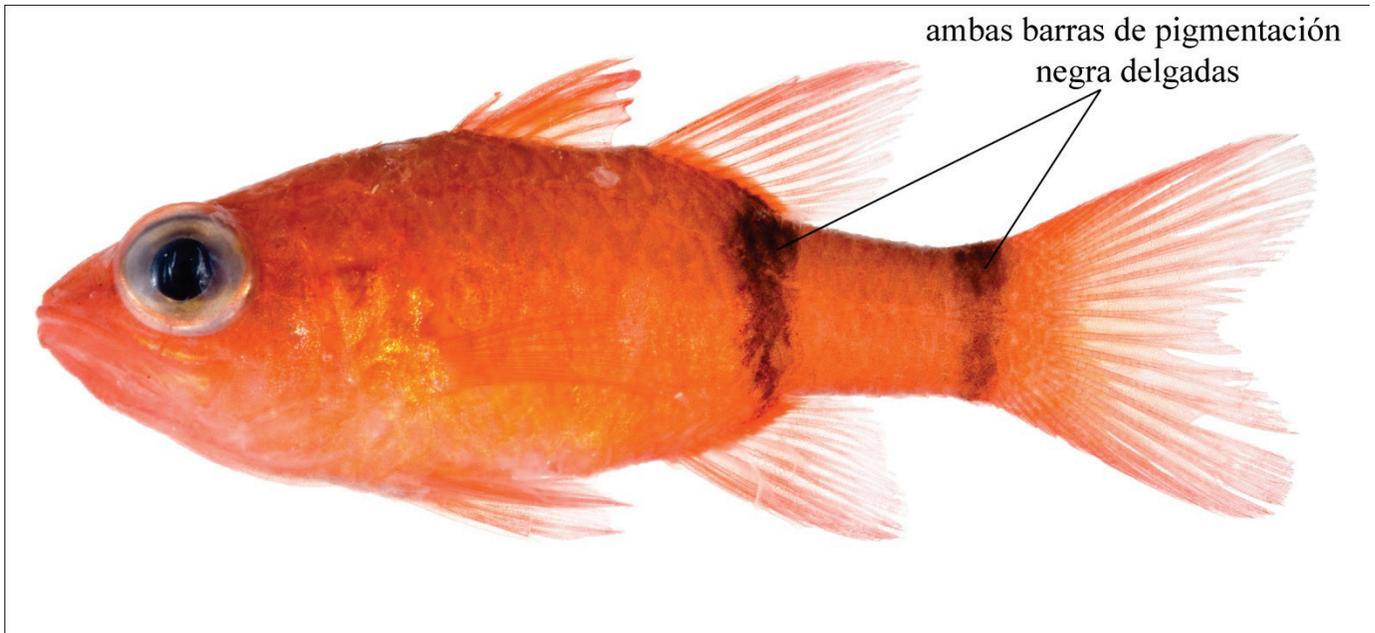


Fig. 15. Adulto de *Apogon binotatus*, 46 mm SL, DNA # BLZ6325.

Juveniles (Fig. 16). — Los juveniles identificados genéticamente para este linaje genético tienen una talla que varía de los 13.5 a los 18 mm SL. El cuerpo es pálido casi transparente. La parte superior de la cabeza y la región abdominal presentan una coloración rosada. Las aletas en su mayoría no presentan pigmentación, salvo por melanóforos en las puntas de los rayos anteriores de la segunda aleta dorsal y los rayos externos de la aleta caudal. Presentan numerosos melanóforos en la parte superior de la cabeza y en la región abdominal. Presentan dos barras oscuras en el cuerpo en la misma posición que en los adultos. Una barra estrecha por debajo de la base posterior de la segunda aleta dorsal y una barra un poco más gruesa en el pedúnculo caudal.

Comparaciones. — A pesar de que los adultos de *A. binotatus* pueden ser diferenciados fácilmente de otras especies por la presencia de dos barras estrechas en la parte posterior del cuerpo, en los juveniles la barra del pedúnculo caudal es más gruesa que la barra anterior. En comparación con las barras que presentan *A. townsendi* y *A. pillionatus* en el pedúnculo caudal, en *A. binotatus* la barra sigue siendo más estrecha, sin embargo, es similar en

grosor a la barra en el pedúnculo caudal de *A. phenax*. Los juveniles de *A. binotatus* se diferencian de los juveniles de *A. phenax* debido a la forma de la barra anterior, la cual es una barra estrecha en *A. binotatus* y la barra de *A. phenax* asemeja a un cono invertido. Al igual que los adultos, los juveniles de *A. binotatus* se diferencian de los juveniles de *A. aurolineatus*, *A. maculatus*, *A. pseudomaculatus*, *A. mosavi*, *A. robbyi* y *A. quadrisquamatus* en la presencia de dos barras como marcas distintivas.

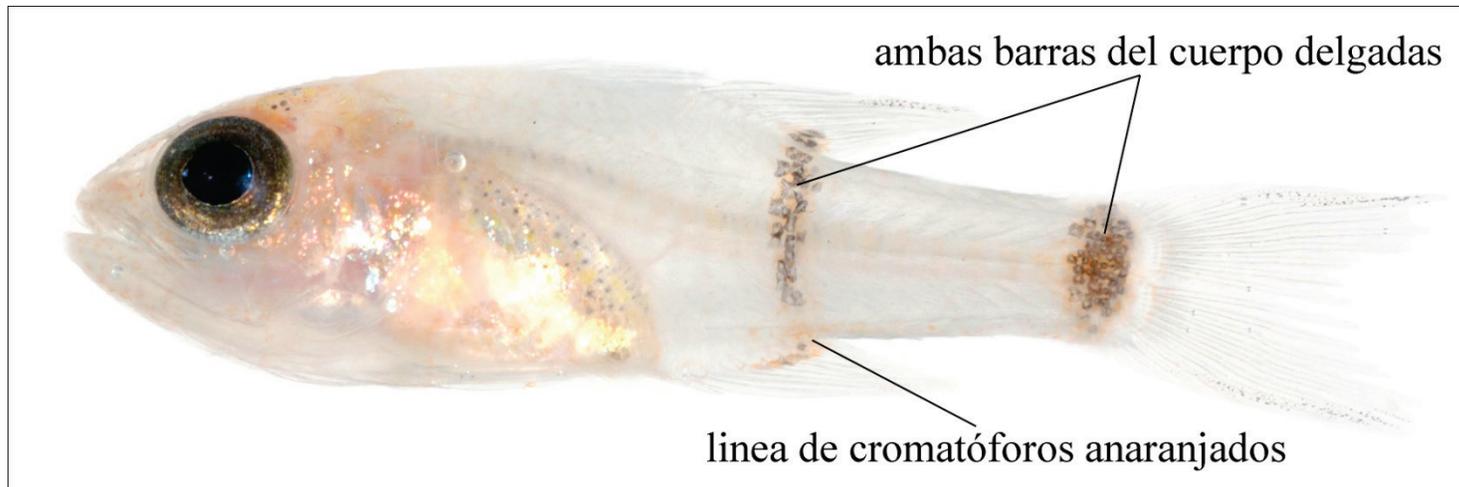


Fig. 16. Juvenil de *Apogon binotatus*, 13.5 mm SL, DNA # BLZ6360.

Larvae (Fig. 17). — Las larvas de *A. binotatus* varían en talla de 8.5 a 10.5 mm SL. El cuerpo es de color anaranjado pálido y presenta áreas más pálidas posteriores al ojo, cerca de la mitad del tronco del cuerpo y en pedúnculo caudal. Entre las áreas pálidas del tronco presenta una barra de cromatóforos anaranjados y tienen una mancha de cromatóforos anaranjados al centro de la parte posterior del pedúnculo caudal. Las aletas no presentan pigmentación, excepto por algunos cromatóforos anaranjados a lo largo de la base posterior de la aleta anal y algunos más en la región central de la base de la aleta caudal. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza, en la región temporal y en la región abdominal. En la región ventral del cuerpo a partir de la aleta pélvica hasta la base de la aleta caudal, presenta una línea de cromatóforos anaranjados. La longitud del pedúnculo caudal varía de 35 a 37% SL.

Comparaciones. — *Apogon binotatus* puede ser diferenciado de *A. aurolineatus* y *A. phenax* por los caracteres enlistados en las secciones de “Comparaciones” de ambas especies. *Apogon binotatus* puede ser diferenciado de *A. planifrons* debido a la pigmentación anaranjada del cuerpo (vs. pigmentación amarilla en *A. planifrons*) y un pedúnculo caudal más corto (35-37% SL en *A. binotatus* vs. 35-40% de SL en *A. planifrons*); de *A. townsendi* se diferencia en presentar una mayor pigmentación anaranjada en el cuerpo; de *A. mosavi* se diferencia ya que carece del patrón distintivo de pigmentación de las aletas y un pedúnculo caudal más grande (35-37% en *A. binotatus* vs. 31-34% de SL en *A. mosavi*). En especímenes preservados no se encontraron caracteres morfológicos que permitan separar a las larvas de esta especie de las larvas de otras especies del mismo género.

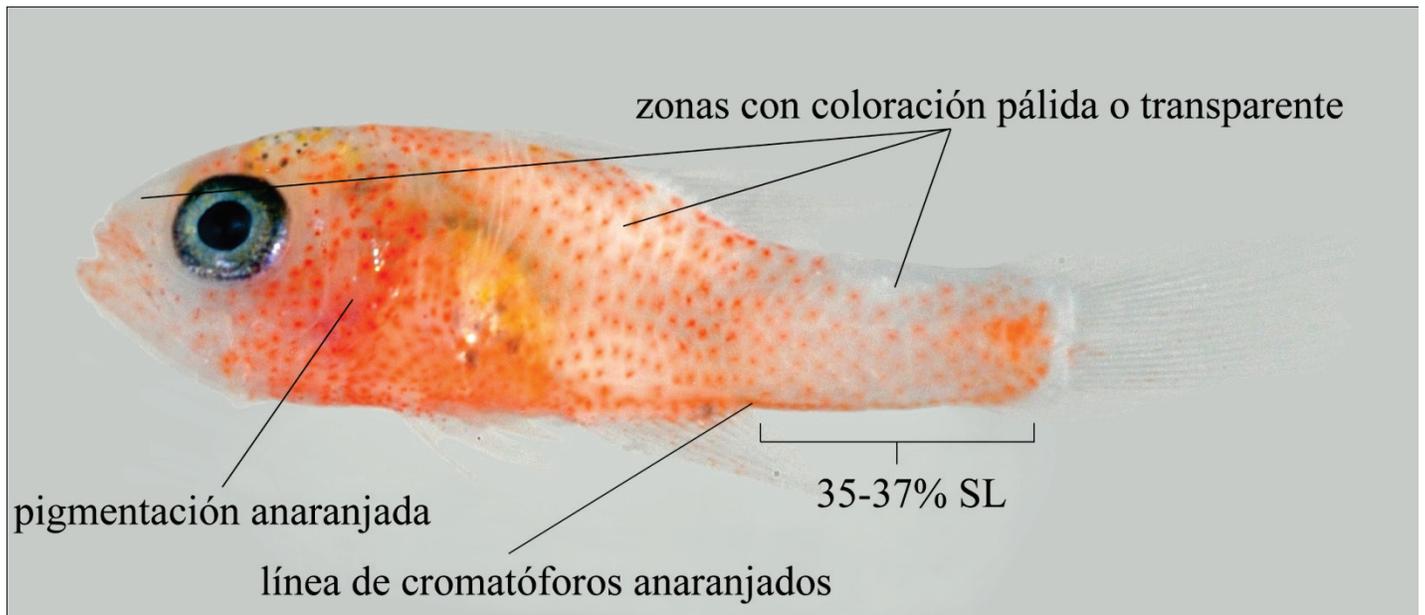


Fig. 17. Larva de *Apogon binotatus*, 9 mm SL, DNA # BLZ6331.

Apogon pillionatus

Identificación. — Los adultos de *A. pillionatus* (Fig. 18) pueden ser distinguidos de otras especies del género *Apogon* por la combinación de caracteres tales como ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y el resto del cuerpo del mismo tamaño; dos marcas oscuras distintivas en el cuerpo, una barra justamente por detrás del margen posterior de la base de la segunda aleta dorsal y una barra muy amplia en el pedúnculo caudal. La distancia entre las dos barras es considerablemente menor que la amplitud de la barra posterior (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002). No fueron recolectados especímenes adultos para este linaje genético y los juveniles carecen de la barra tan amplia en la parte posterior del pedúnculo caudal característico de los adultos.

Apogon planifrons, *A. phenax*, *A. robinsi*, *A. townsendi* y *A. pillionatus* son parte de un grupo propuesto por Böhlke y Randall (1968) llamado complejo planifrons, basado únicamente en la presencia de las dos marcas oscuras en forma de barras características de estas especies. Una barra en el área de la segunda aleta dorsal y otra más en el área posterior del pedúnculo caudal.

En *A. townsendi* y *A. planifrons* la barra anterior se encuentra por debajo de la parte posterior de la base de la segunda aleta dorsal, sin exceder el margen posterior del mismo. *Apogon phenax* presenta una barra anterior en forma de cono invertido, cuya base empieza antes del margen posterior de la base de la segunda aleta dorsal y termina posterior a dicho margen.

Solo dos especies presentan esta barra anterior localizada por detrás del margen posterior de la base de la segunda aleta dorsal; *A. robinsi* y *A. pillionatus*. *Apogon robinsi* es fácilmente reconocido por la presencia de dientes en la extensión lateral del premaxilar superior (ver “*Identificación*” en la descripción de *A. robinsi*), de tal forma que una

parte de la dentadura reside fuera de los límites de la boca (Böhlke y Randall, 1968; Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002). La presencia de un solo adulto con esta característica en este estudio, nos permite discriminar a este especie y considerar a los juveniles del linaje genético que llamamos *A. pillionatus* como una especie diferente.

La identificación de los juveniles fue hecha considerando la base genética de este estudio, la posición de la barra anterior del cuerpo y la falta de dientes en la porción exterior del premaxilar superior.

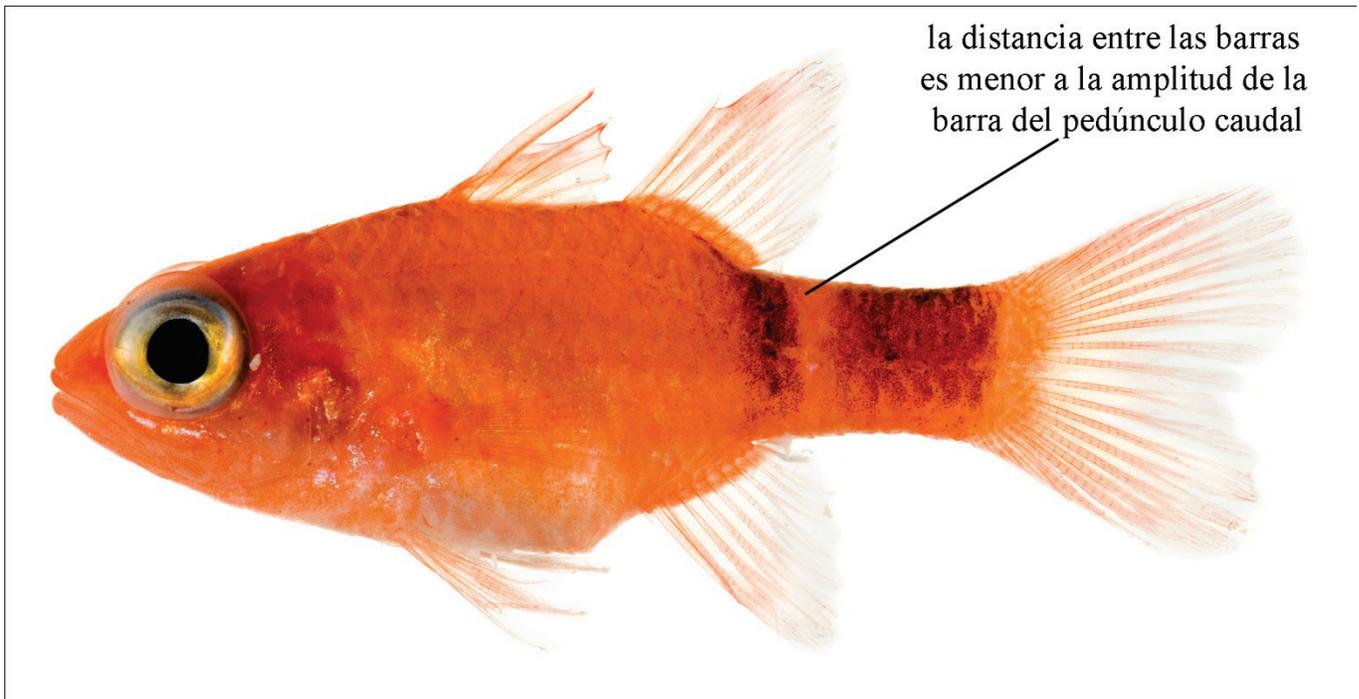


Fig. 18. Adulto de *Apogon pillionatus*, 36 mm SL, SABA 06-021.

Juveniles (Fig. 19). — Cinco juveniles cuya talla varía entre los 15 y los 17 mm SL fueron identificados como parte de este linaje genético. El cuerpo es de color anaranjado pálido con una coloración más oscura en la cabeza, en la región abdominal y en los rayos anteriores de la primera aleta dorsal. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza, atrás del ojo sobre la mejilla, en la región temporal y en la región abdominal, al igual que en la porción posterior de las bases de la segunda aleta dorsal, de la aleta anal y en las puntas de los rayos centrales de la primera aleta dorsal y la aleta anal. Presentan una gran cantidad de melanóforos en los rayos externos de la aleta caudal. La barra anterior del cuerpo se encuentra por detrás del margen posterior de la base de la segunda aleta dorsal y no se extiende hasta la región ventral del cuerpo. La barra en el pedúnculo caudal es más amplia en comparación con los juveniles de otras especies pero, el espacio entre ambas barras es del mismo tamaño o más amplio que la amplitud de la barra posterior.

Comparaciones. — *Apogon pillionatus* se parece a *A. phenax*, *A. townsendi*, *A. binotatus* y *A. planifrons* debido a la presencia de dos barras en la parte posterior del cuerpo. Los caracteres usados para distinguir a *A. pillionatus* de estas especies están discutidos en la sección de “Identificación”.

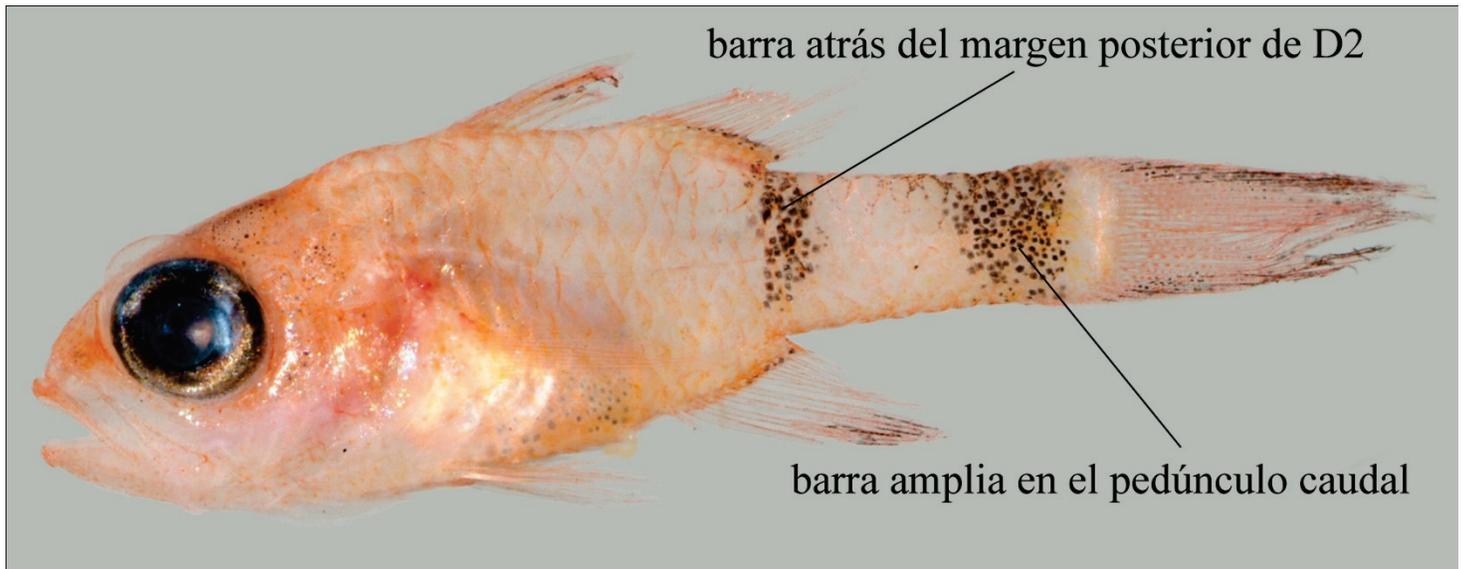


Fig. 19. Juvenil de *Apogon pillionatus*, 16 mm SL, DNA # BLZ8112.

Apogon planifrons.

Identificación. — Un solo espécimen adulto de *A. planifrons* proporcionó la base genética para la identificación de la larva (Fig. 20). La combinación de caracteres que distingue a esta especie del resto de las especies del género *Apogon* es: ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y del resto del cuerpo del mismo tamaño; dos marcas oscuras distintivas, una barra anterior enteramente por debajo de la parte posterior de la segunda aleta dorsal y una barra o mancha aproximadamente circular en la parte posterior del pedúnculo caudal; de 15 a 16 escamas circumpedunculares; 14 ó 16, usualmente 15 espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial (Böhlke & Chaplin 1968; Gon, 2002). *Apogon planifrons* es muy similar a *A. townsendi* debido a la posición de barra anterior del cuerpo. Pueden ser distinguidas por el número de espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial (16-18, usualmente 17 para *A. townsendi*), por el número de escamas circumpedunculares (12 en *A. townsendi*) y por la ausencia de márgenes verticales en la barra del pedúnculo caudal (Böhlke & Chaplin 1968; Gon, 2002).

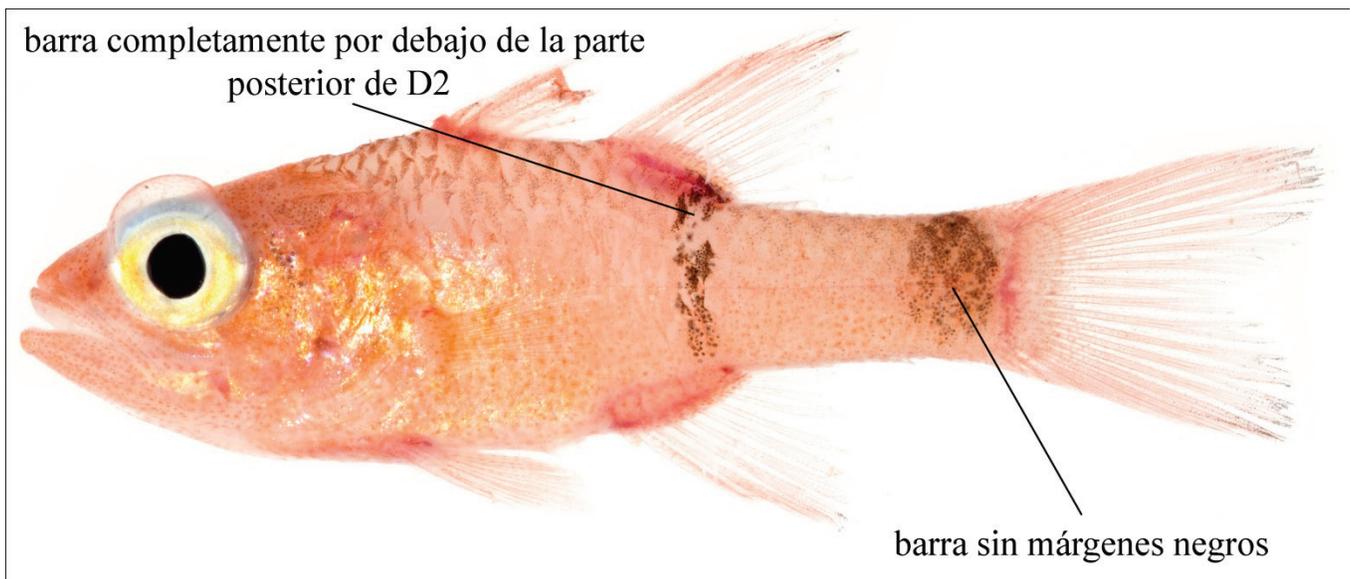
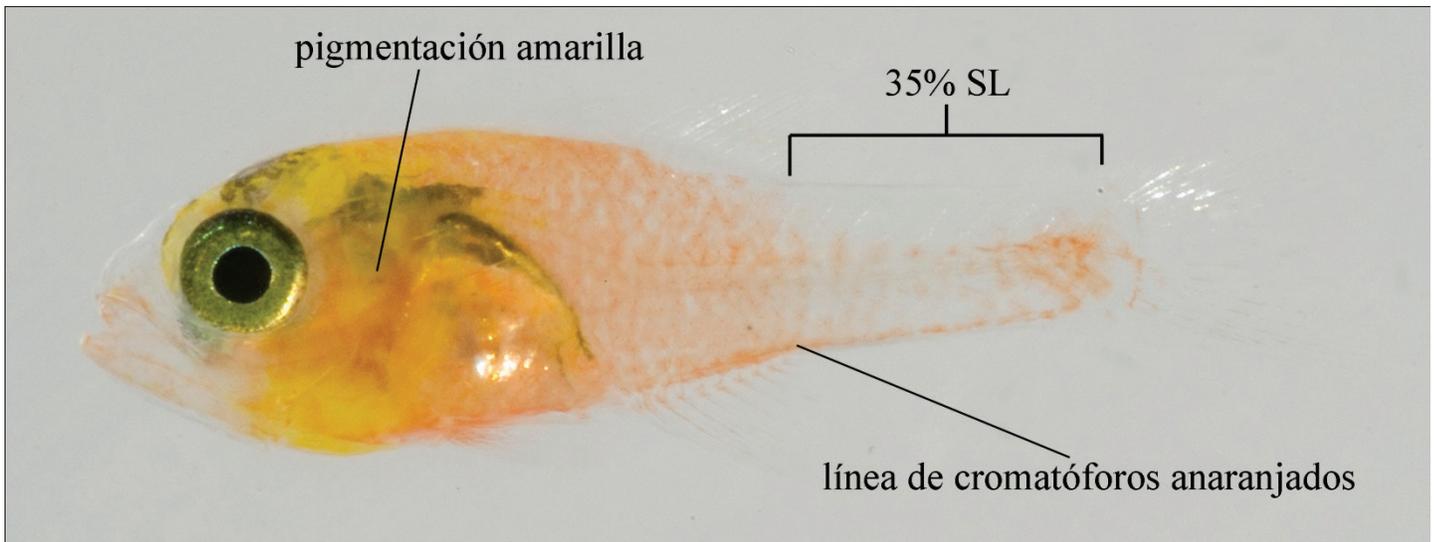


Fig. 20. Adulto de *Apogon planifrons*, 37 mm SL, DNA # BLZ5270.

Larvae (Fig. 21). — Las larvas analizadas en este estudio varían en talla de 9 (Fig. 21a) a 10 mm SL (Fig. 21b). La parte anterior de la cabeza es transparente con una pigmentación anaranjado pálido en la nariz y en las mandíbulas. La región que abarca la porción central y posterior de la cabeza es en su mayoría amarilla. Posteriormente, el cuerpo es en su mayoría anaranjado en las larvas de 9 y 9.5 mm SL, con algunas áreas pálidas en el pedúnculo caudal. En la larva de 10 mm SL, la mayor parte de la porción posterior del cuerpo es pálida, con una barra de pigmentación anaranjada por debajo de porción posterior de la base de la segunda aleta dorsal y presenta una mancha de pigmentación anaranjada en la región posterior del pedúnculo caudal. Las aletas dorsales no presentan pigmentación. En la base de las aletas pélvica y anal hay cromatóforos anaranjados al igual que en la porción proximal del lóbulo inferior de la aleta caudal. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza, atrás del ojo en la región temporal y en las superficies lateral y dorsal de la región abdominal. En la región ventral del cuerpo a partir de la aleta pélvica hasta la base de la aleta caudal, presenta una línea de cromatóforos anaranjados. La longitud del pedúnculo caudal varía del 35 al 40% SL.

Comparaciones. — La larva de *A. planifrons*, se distingue fácilmente de otras larvas pertenecientes a este género por la presencia de una pigmentación amarilla en la cabeza y la región abdominal, y por tener un pedúnculo caudal más grande (35-40% de SL en *A. planifrons* vs. 27-35% en el resto de las larvas de las especies de este estudio). No se identificaron caracteres morfológicos que ayuden a separar a las larvas en especímenes preservados.

a)



b)

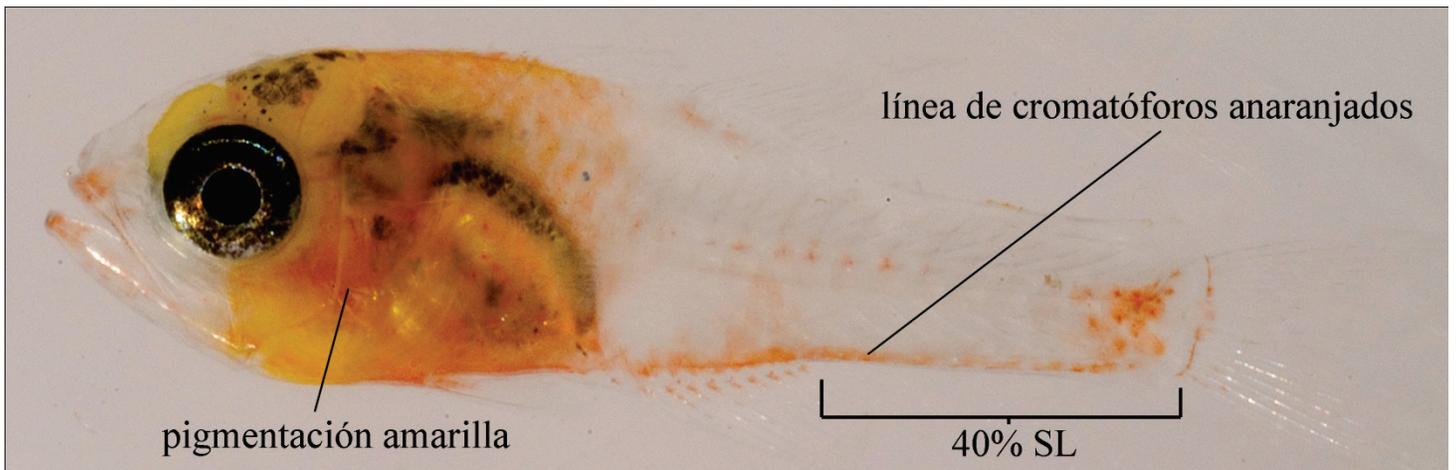


Fig. 21. Larvas de *Apogon planifrons*. a) 9.5 mm SL, DNA # BLZ7126. b) 10 mm SL, DNA # BLZ5389.

Apogon sp.

Identificación. — Ningún adulto fue recolectado que proporcionara la base genética para este linaje genético, por lo que la larva recolectada puede pertenecer a *A. evermanni*, *A. leptocaulus*, *A. gouldi* o incluso ser una nueva especie. Resulta necesario contar con más especímenes para poder emparentar esta larva con las especies descritas de éste género en el sistema de arrecifes de coral del Mar Caribe. Al igual que en *A. pillionatus*, *A. affinis* y *A. robinsi*, nos permiten discriminar genéticamente a esta larva como cualquiera de las dos especies.

Larvae (Fig. 22). — *Apogon sp.* es una larva de 10 mm SL. El cuerpo es de color anaranjado brillante con áreas pálidas casi transparentes. Las aletas no presentan pigmentación, excepto por la porción proximal de los rayos de la aleta anal que presentan una coloración anaranjado pálido. La región anterior de la cabeza es transparente con una

pigmentación anaranjado pálido en la nariz y las mandíbulas. Presenta melanóforos en la parte superior de la cabeza, atrás del ojo, en la región temporal en las porciones lateral y dorsal de la región abdominal. Posteriormente, el cuerpo es un su mayoría transparente con una barra amplia de pigmento anaranjado pálido por debajo de la base de la segunda aleta dorsal y un punto de pigmento anaranjado brillante en el pedúnculo caudal. En la región ventral del cuerpo a partir de la aleta pélvica hasta la base de la aleta caudal, presenta una línea de cromatóforos anaranjados.

Comparaciones. — Debido a la concentración de pigmentación en su mayoría en la cabeza y en la región abdominal, *Apogon sp.* es muy parecida a las larvas de *A. planiformis* y *A. townsendi*. *Apogon sp.* se diferencia de *A. planiformis* en la ausencia de pigmentación amarilla en estas áreas y de *A. townsendi* en tener una mayor cantidad de pigmentación en el cuerpo. Se puede diferenciar de *A. aurolineatus* por la presencia de áreas transparentes en la parte posterior del cuerpo y por tener un pedúnculo caudal más grande (35% de SL en *Apogon sp.* vs. 27-29% de SL en *A. aurolineatus*). Se distingue de *A. phenax* en la falta del prominente punto de pigmentación anaranjada en la nariz; de *A. binotatus* se diferencia en tener una pigmentación anaranjado brillante (vs. una pigmentación anaranjada-rojiza en *A. binotatus*) y de *A. mosavi* en la falta del patrón distintivo de pigmentación en las aletas de *A. mosavi*, y en tener un pedúnculo caudal más grande (35% de SL en *Apogon sp.* vs. 31-34% de SL en *A. mosavi*). No se identificaron caracteres morfológicos que permitan diferenciar a esta especie del resto en especímenes preservados.



Fig. 22. Larva de *Apogon sp.* 10 mm SL, DNA # BLZ5260.

Apogon townsendi

Identificación. — Nueve especímenes adultos proporcionaron la base genética para la identificación de larvas y juveniles (un adulto se muestra en la Fig. 23). Los adultos de esta especie pueden ser distinguidos de otras especies de este género por la siguiente combinación de caracteres: ocho rayos separados en la aleta anal; la línea lateral y el resto del cuerpo con escamas del mismo tamaño; dos marcas oscuras distintivas en el cuerpo, una barra anterior estrecha y por debajo de la porción posterior de la base de la segunda aleta anal, y una barra posterior en el pedúnculo caudal con dos márgenes verticales; 12 escamas circumpedunculares y 17 espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

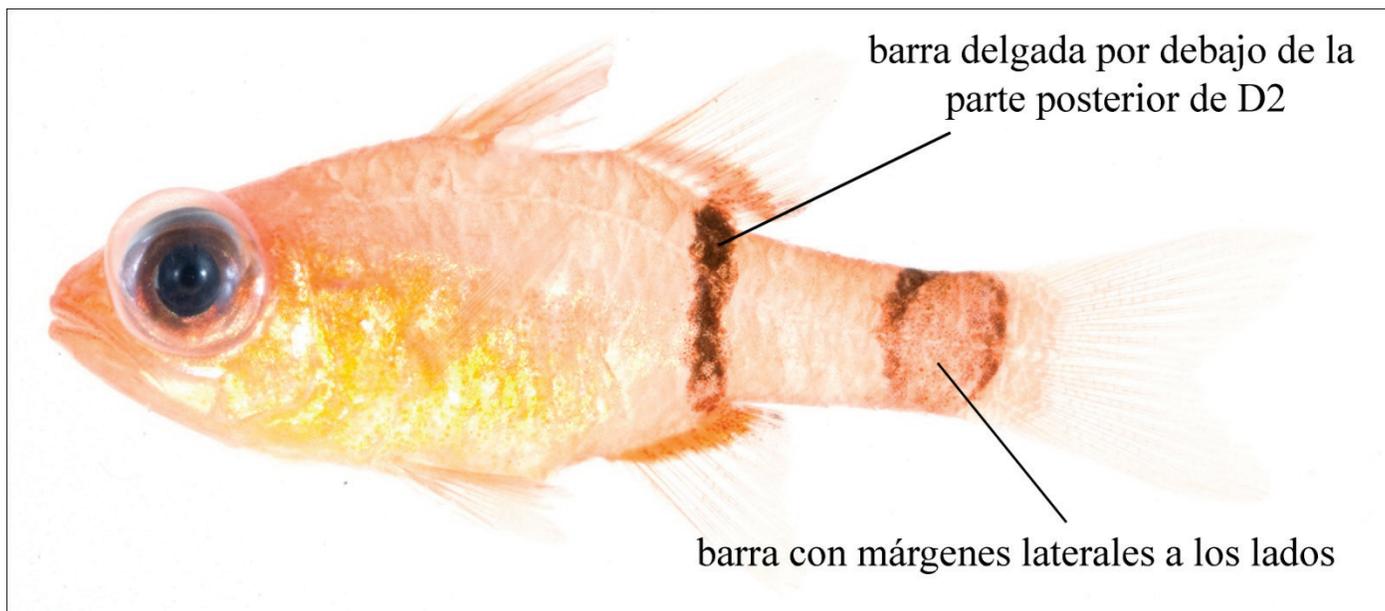


Fig. 23. Adulto de *Apogon townsendi*, 34 mm SL, DNA # BLZ 7833.

Juveniles (Fig. 24). — Trece juveniles cuya talla varía entre los 13 y los 21 mm SL son incluidos en este linaje genético. El cuerpo presenta una pigmentación anaranjada pálido con una pigmentación anaranjada más intensa y con algunas partes amarillas en la cabeza y región abdominal. Cromatóforos anaranjados se encuentran mezclados con melanóforos en la barra de pigmentación que se encuentra debajo de la segunda aleta dorsal—en la misma posición que en los adultos— y en la barra o mancha de pigmentación del pedúnculo caudal. La primera aleta dorsal presenta algunos cromatóforos anaranjados en la base de los rayos anteriores. La segunda aleta dorsal no presenta pigmentación. Las aletas pélvica y anal presentan cromatóforos anaranjados en sus bases. En la base de la aleta caudal hay dos líneas verticales de pigmentación anaranjada, una en el lóbulo superior y una en el lóbulo inferior. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza e internamente sobre la región abdominal. Ambas barras típicas de los adultos están presentes, sin embargo, la barra posterior carece de los márgenes verticales característicos de los adultos. En la región ventral del cuerpo a partir de la aleta pélvica hasta la base de la aleta caudal, presenta una línea de cromatóforos anaranjados.

Comparaciones. — La ausencia de los márgenes laterales en los juveniles de esta especie, puede resultar en su confusión con los juveniles de *A. pillionatus*, *A. phenax* y presumiblemente *A. robinsi* y *A. planiformis* (no fueron recolectados juveniles para estas dos últimas especies en este estudio). Los juveniles de *A. townsendi* pueden ser diferenciados de los juveniles de *A. pillionatus* y *A. phenax* por la presencia de pigmentación amarilla mezclada con pigmentación anaranjada en la cabeza y región abdominal. También puede ser separada de estas especies y presumiblemente *A. robinsi* por la posición de la barra anterior, además de la dentición fuera de los límites de la boca como en *A. robinsi*.

Al parecer los juveniles de *A. planifrons* pueden presentar pigmentación amarilla en la cabeza y en la región abdominal al igual que *A. townsendi*, lo que puede dificultar la distinción de los juveniles de ambas especies. En los adultos, la barra anterior de ambas especies presenta la misma posición y en la ausencia de los márgenes verticales en la barra posterior, la mejor manera de poder diferenciar los juveniles de ambas especies, puede ser el número de espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial: 16-18 comúnmente 17 para *A. townsendi* y 14-16 comúnmente 15 para *A. planifrons*.

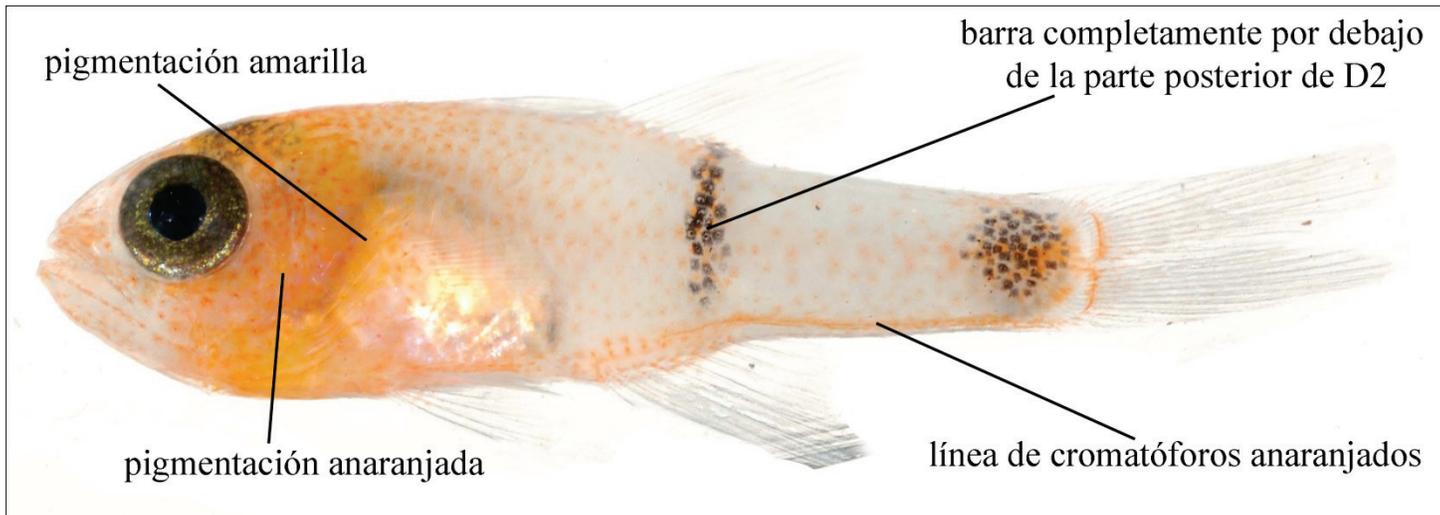


Fig. 24. Juvenil de *Apogon townsendi*, 14 mm SL, DNA # BLZ5502.

Larvae (Fig. 25). — Las tres larvas analizadas en este estudio pertenecientes a *A. townsendi* tienen una talla que varía de los 11 a los 12 mm SL. En los dos especímenes de 11 mm SL, el cuerpo es en su mayoría pálido, casi blanco. La parte anterior de la cabeza es transparente pero la nariz y las mandíbulas presentan una pigmentación anaranjado pálido. El resto de la cabeza es de color anaranjado más oscuro y parece haber pigmentación amarilla mezclada con la pigmentación anaranjada en esta región del cuerpo. Posterior a la cabeza, en el cuerpo presentan una barra de pigmentación anaranjada por debajo de la porción posterior de la base de la segunda aleta dorsal y una mancha de pigmentación anaranjada en la base del pedúnculo caudal. En la región ventral del cuerpo a partir de la aleta pélvica hasta la base de la aleta caudal, presenta una línea de cromatóforos anaranjados. Las aletas dorsales no presentan pigmentación. En la base de las aletas pélvica y anal hay cromatóforos anaranjados. En la base de los rayos de la aleta caudal se presentan dos líneas de pigmentación anaranjada, una en el lóbulo superior y una en el lóbulo inferior. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza e internamente en la región abdominal.

La larva de 12 mm SL, es en su mayoría muy parecida a las larvas de 11 mm SL en los patrones de pigmentación anaranjada, pero difiere en que las barras con pigmentación negra características de juveniles se están empezando a desarrollar.

Comparaciones. — Las larvas de *A. townsendi* son muy similares a las larvas de *A. Planifrons*, *A. binotatus* y *A. phenax* en los patrones de cromatóforos en el cuerpo. *Apogon townsendi* es fácilmente distinguible de *A. planifrons* en la presencia de pigmentación primariamente anaranjada en la cabeza y la región abdominal vs. pigmentación amarilla en las mismas zonas para *A. planifrons*. De *A. binotatus* las larvas de *A. townsendi* difieren en la presencia de las dos líneas verticales de pigmentos anaranjados en la base de los rayos de la aleta caudal (vs. algunos cromatóforos dispersos en el lóbulo inferior de la aleta caudal en *A. binotatus*); de *A. phenax* difiere en la ausencia de la mancha de pigmentación anaranjada en la nariz y las dos líneas de pigmentos en la aleta caudal.

No se identificaron caracteres morfológicos que nos permitan separar especímenes preservados de *A. townsendi* de otras especies de este género.

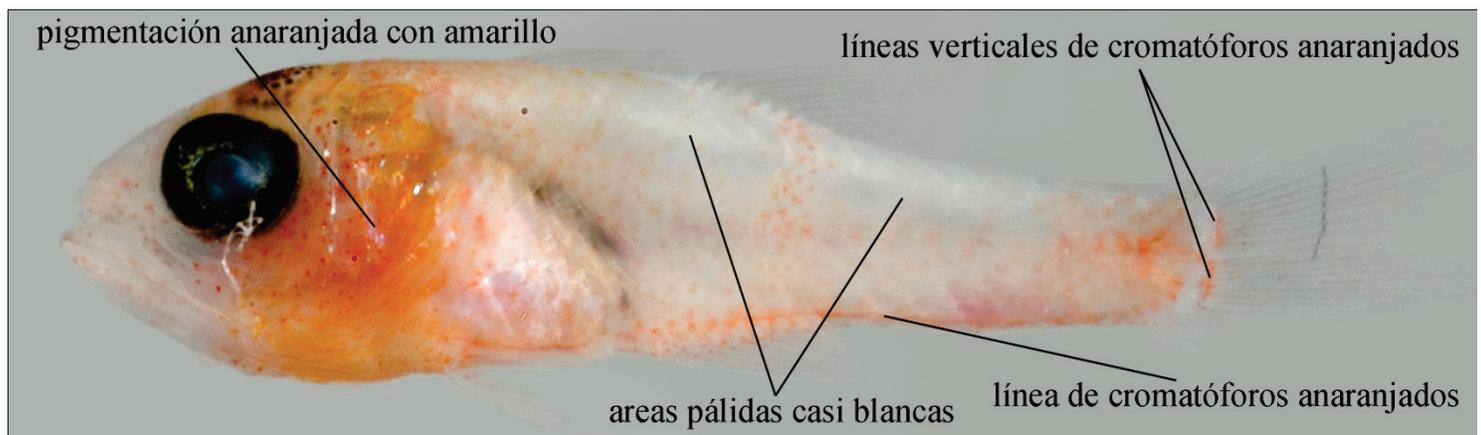


Fig. 25. Larva de *Apogon townsendi*, 11 mm SL, DNA # BLZ6329.

Apogon lachneri

Identificación. — Cuatro especímenes adultos proporcionaron la base genética para la identificación de los juveniles recolectados como parte de este estudio (Fig. 26). La combinación de caracteres que permite diferenciar a *A. lachneri* de otras especies de este género es: ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y del resto del cuerpo del mismo tamaño; una mancha de pigmentación negra atrás del margen posterior de la segunda aleta dorsal seguida por una mancha del mismo tamaño de pigmentación blanca (ésta última puede ser que se presenta en organismos ya preservados); una gran área de pigmentación negra en los primeros rayos de la primera aleta dorsal y en porción distal de los rayos anteriores de la segunda aleta dorsal y la aleta anal (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

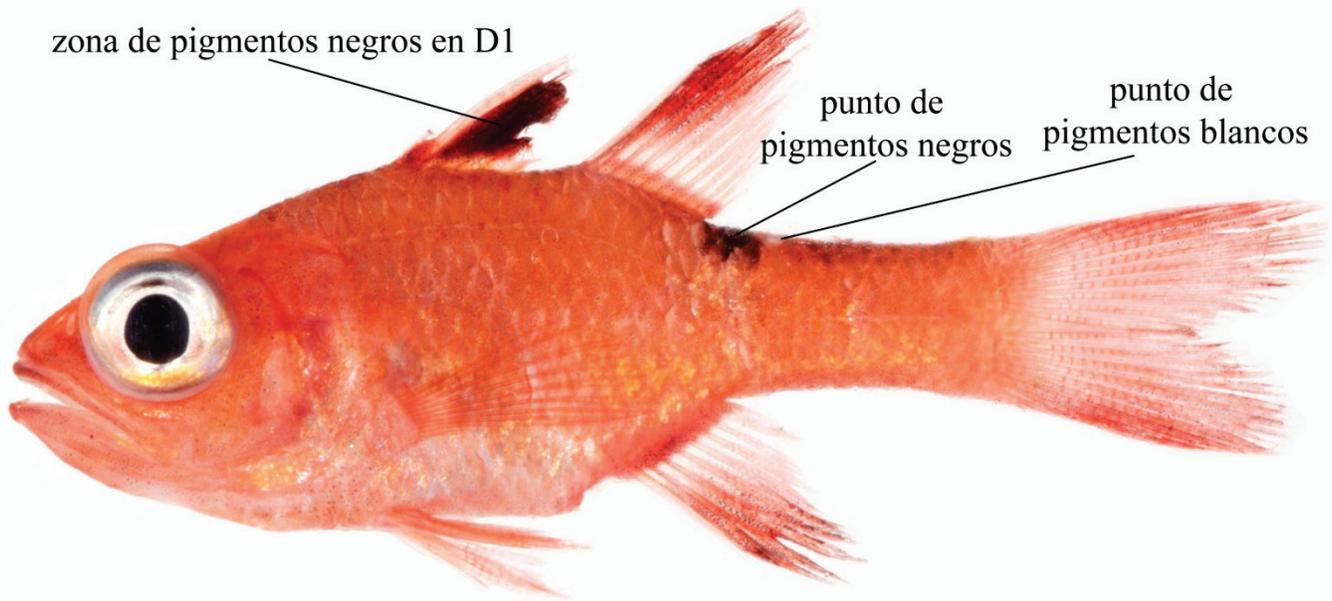


Fig. 26. Adulto de *Apogon lachneri*, 36 mm SL, DNA # BLZ5118.

Juveniles (Fig. 27). — El cuerpo es en su mayoría de color anaranjado pálido, al igual que las aletas. La primera aleta dorsal, la segunda aleta dorsal y la aleta anal, presentan el mismo patrón de pigmentación que los adultos. Los rayos de la aleta caudal se encuentran densamente poblados de melanóforos, concentrándose principalmente en los rayos externos de la aleta. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza y en ambas mandíbulas. Los especímenes de 18 a 21 mm SL, presentan melanóforos atrás del ojo sobre la mejilla y sobre la región abdominal, los cuáles se desvanecen en juveniles más grandes. A partir de la cabeza y hasta la base de la aleta caudal, presentan una gran concentración de melanóforos en la región dorsal del cuerpo. En la región ventral, estos van desde la aleta anal hasta la base de la aleta caudal. En ambos casos, la concentración de melanóforos disminuye conforme se acercan a la parte media del cuerpo. Presentan una mancha de pigmentación negra de la misma forma y en la misma posición que en los adultos, atrás de la base de la segunda aleta dorsal.

Comparaciones. — Los juveniles de *A. lachneri* son más parecidos a *A. maculatus* y *A. pseudomaculatus* debido a la presencia de una mancha aproximadamente circular en la región de la segunda aleta dorsal y se diferencian de ambas especies y del resto de las especies de éste género debido a que la mancha se encuentra por detrás del margen posterior de la segunda aleta dorsal.

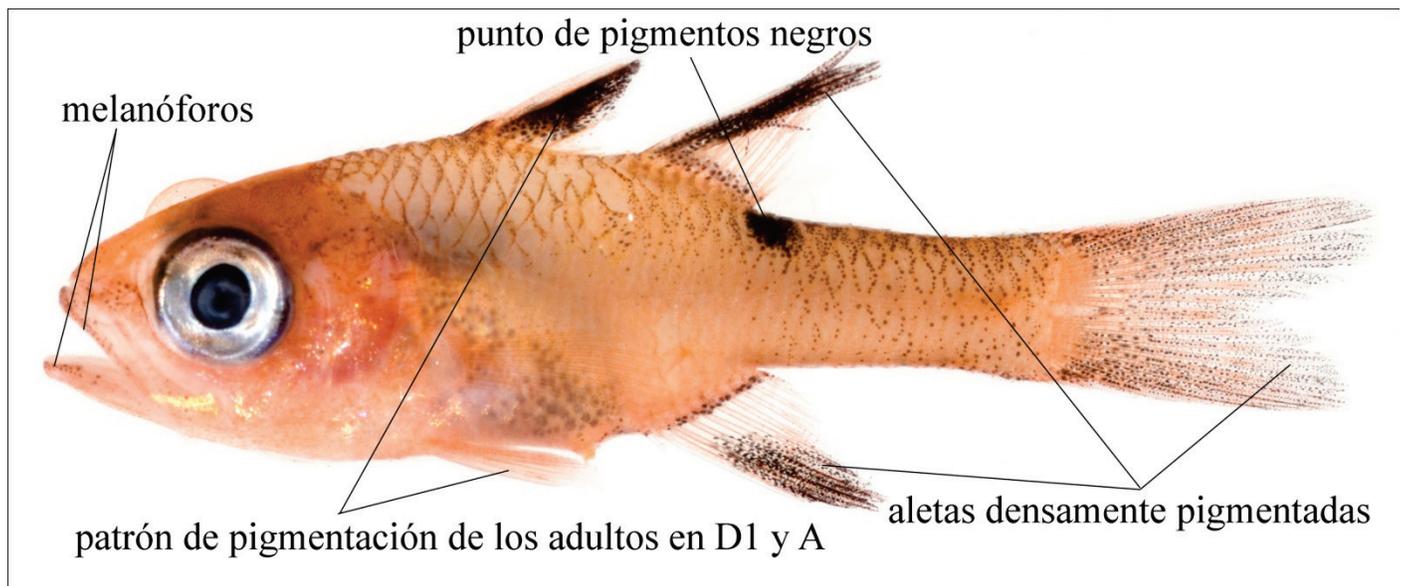
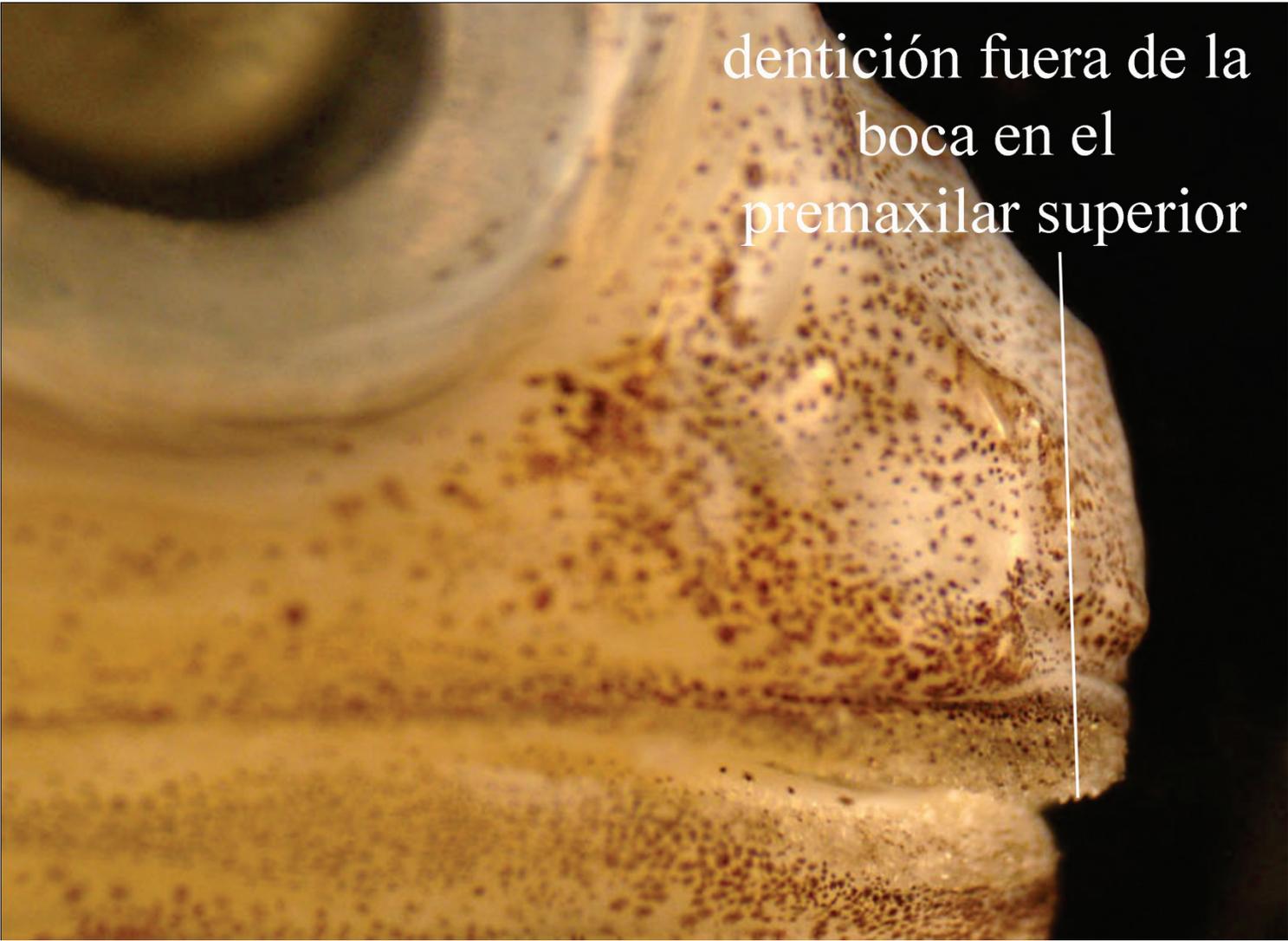


Fig. 27. Juvenil de *Apogon lachneri*, 21 mm SL, DNA # BLZ5265.

Apogon robinsi

Identificación. — Un espécimen adulto de *A. robinsi* proporcionó la base genética para la identificación de este linaje genético (el espécimen se muestra en la Fig. 28). Los adultos de esta especie se pueden distinguir de otras especies del mismo género por la combinación de caracteres consistente en ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y del resto del cuerpo del mismo tamaño; el cuerpo con dos marcas oscuras distintivas, una barra por detrás del margen posterior de la base de la segunda aleta dorsal y una barra en la porción posterior del pedúnculo caudal (la distancia entre las dos barras es mayor a la amplitud de la barra posterior) y dientes fuera de los límites de la boca, se encuentran lateralmente en el premaxilar superior (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

Comparaciones. — *Apogon robinsi* es similar a *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. townsendi*, *A. pillionatus* y *A. planifrons* en la presencia de una barra en el área de la segunda aleta dorsal y una barra en la parte posterior del pedúnculo caudal. El carácter que diferencia a *A. robinsi* del resto de las especies del mismo género es la porción de dientes en el premaxilar superior que se extiende por fuera de los límites de la boca.



dentición fuera de la
boca en el
premaxilar superior

Fig. 28. Dientes en la parte exterior de la mandíbula del adulto de *Apogon robinsi*, 63mm SL, DNA # BAH8142.

Apogon mosavi

Identificación. — Diecinueve especímenes adultos proporcionaron la base genética para la identificación de las larvas y juveniles (Fig. 29). Los adultos de esta especie pueden ser diferenciados de otras especies por la combinación de caracteres de: ocho rayos separados en la aleta anal; las escamas de la línea lateral y del resto del cuerpo del mismo tamaño; la ausencia de marcas distintivas en el área de la segunda aleta dorsal; una barra rectangular u oval de pigmentación negra en el pedúnculo caudal que casi alcanza los márgenes dorsal y ventral del cuerpo; 15, raramente 14 ó 16 espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial (Dale, 1977, Gon 2002). Veinte especímenes de *A. mosavi* cuyas tallas varían entre los 14 y los 17 mm SL, fueron recolectados por medio de la red planctónica y el resto de los juveniles fueron recolectados cerca del sustrato y el coral. Sin embargo, hasta que los melanóforos no aparecen en la base del pedúnculo caudal, no existe una clara diferencia entre los patrones de pigmentación de larvas y juveniles.



Fig. 29. Adulto de *Apogon mosavi*, 38mm SL, DNA # BLZ7131.

Juveniles (Fig. 30). — Trece especímenes cuya talla varía entre los 14 y 20 mm SL son incluidos como parte de este linaje genético. En los individuos de 14 a 17 mm SL el cuerpo presenta una pigmentación anaranjado pálido con áreas más pálidas en la porción anterior de la cabeza, en la nariz y en las mandíbulas, por debajo de la porción anterior de la segunda aleta dorsal y en el pedúnculo caudal. La primera aleta dorsal y la aleta pélvica presentan una gran mancha anaranjada que cubre toda la aleta, excepto en su base. La segunda aleta dorsal y la aleta anal, presentan tres manchas de pigmentación anaranjada, una en la porción anterior de la aleta justo por arriba de la base de la aleta, el segundo en la porción distal de los rayos anteriores y el tercero cubriendo la porción posterior de la base de la aleta. La aleta caudal presenta seis manchas de pigmentación anaranjada; dos en los rayos exteriores de cada lóbulo y uno en la base de los rayos centrales o internos de cada lóbulo.

Hay simetría en la posición de las manchas de pigmentación de las aletas, de tal forma que parece que el patrón de pigmentación de las aletas pélvica, anal y el lóbulo inferior de la aleta caudal son el espejo de las aletas dorsales y el lóbulo superior de la aleta caudal.

En la parte superior de la cabeza e internamente en la región abdominal presentan melanóforos. En la región ventral del cuerpo a partir de la aleta anal hasta la base de la aleta caudal, presenta una línea de cromatóforos.

En los especímenes de 18 a 20 mm SL, el cuerpo es de color anaranjado pálido y han perdido los patrones de pigmentación simétricos en las aletas. Presentan una gran mancha de pigmentación en la base del pedúnculo caudal compuesta de cromatóforos anaranjados y melanóforos.

Comparaciones. — Los juveniles de 14 a 17 mm SL de *A. mosavi*, se asemejan a los juveniles de *A. quadrisquamatus* en la presencia de un patrón de pigmentación simétrico y de espejo en las aletas. Pueden ser separados debido a que la pigmentación en *A. mosavi* es completamente anaranjada (vs. anaranjado y amarillo en *A.*

quadrisquamatus); y difieren en el número de espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial (usualmente 15 en *A. mosavi*, 12 en *A. quadrisquamatus*).

Una vez que aparecen melanóforos en la parte posterior del pedúnculo caudal, los especímenes preservados de *A. mosavi* pueden ser diferenciados de otras especies pertenecientes a este género.

a)



b)

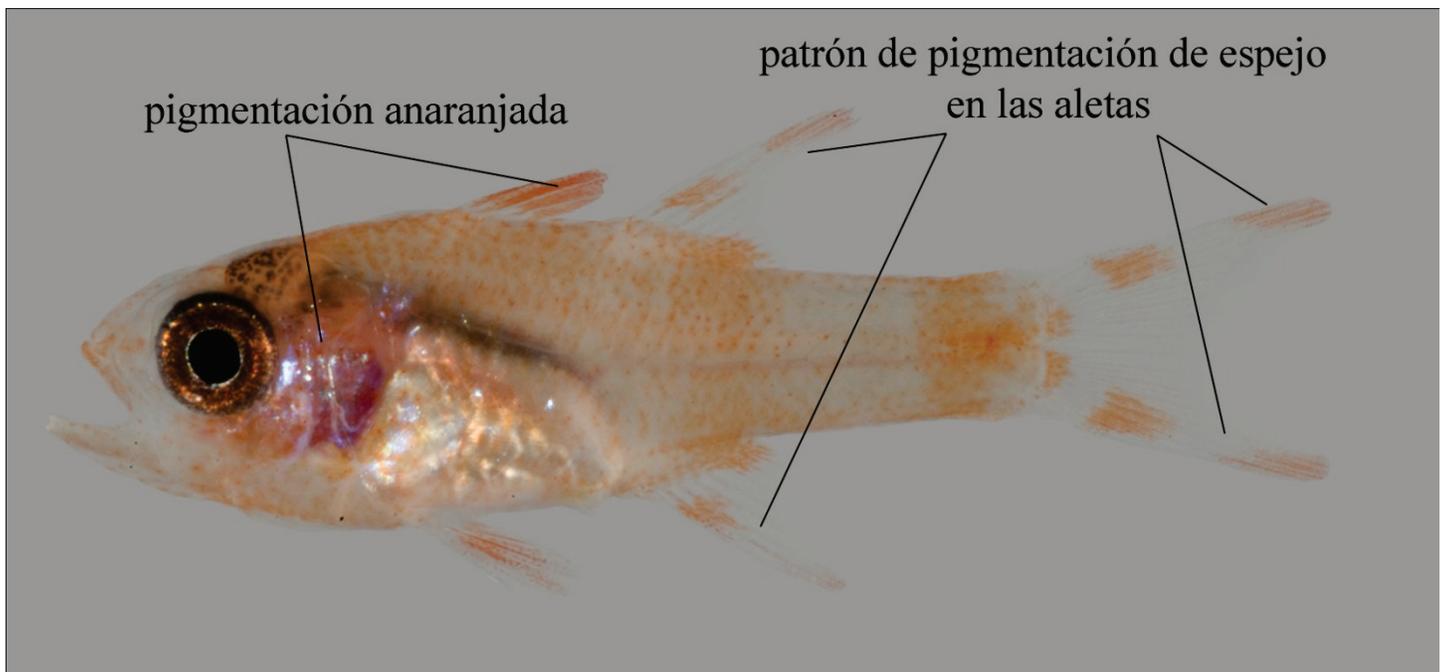


Fig. 30. Juveniles de *Apogon mosavi*. a) 20 mm SL, DNA # BLZ6275, b) 15.5 mm SL, DNA # BLZ7713.

Larvae (Fig. 31). — Los patrones de cromatóforos y melanóforos de las larvas son los mismos que los descritos en la sección anterior para los juveniles de 14 a 17 mm SL.

Comparaciones. — Como adultos, *A. mosavi* es muy similar a *A. quadrisquamatus*. Las larvas de ésta última especie no se conocen aún, sin embargo, los juveniles de ambas especies presentan el mismo patrón de pigmentación, lo que puede sugerir que sea el mismo caso para las larvas. Este patrón es suficiente para separar a las larvas de *A. mosavi* de otras especies de éste género. Excepto por la longitud del pedúnculo caudal que ayuda a separar esta especie de *A. mosavi* de *A. aurolineatus* (31-34% SL en *A. mosavi* vs. 27-29% SL en *A. aurolineatus*), no existen caracteres morfológicos que nos permitan diferenciar a las larvas de *A. mosavi* de otras especies en especímenes preservados.

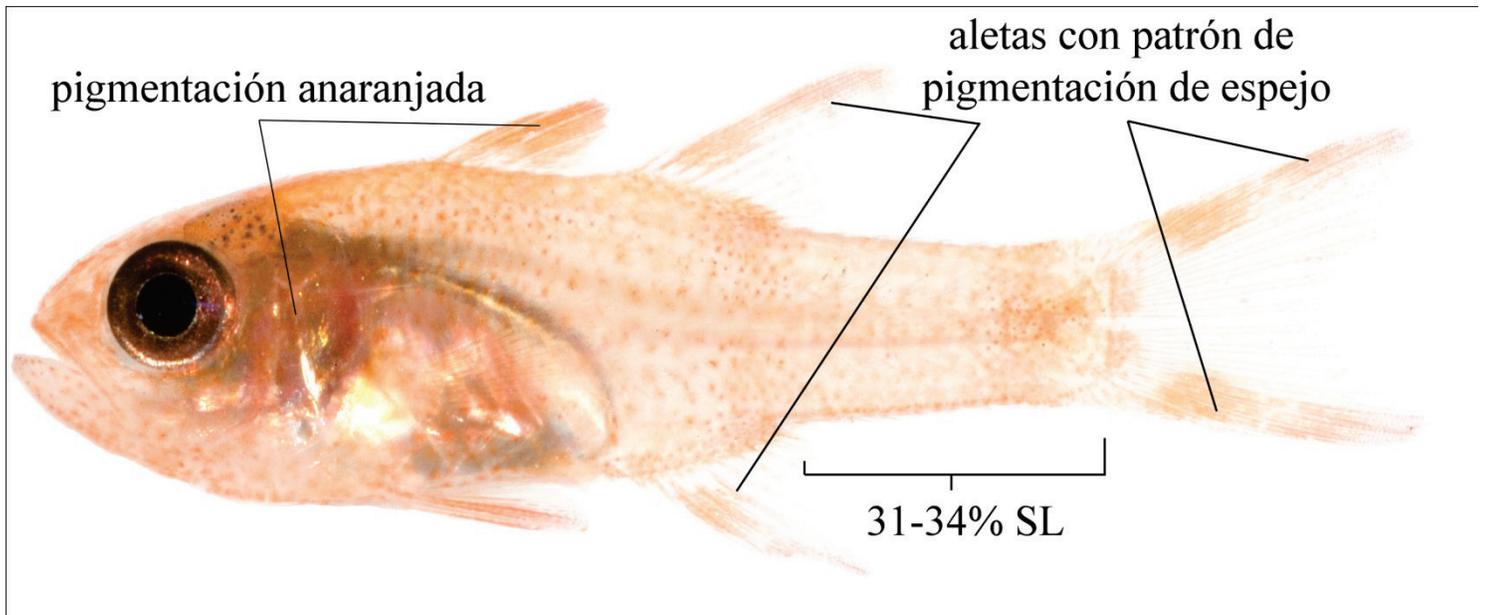


Fig. 31. Larva de *Apogon mosavi*, 15 mm SL, DNA # BLZ5454.

Apogon robbyi

Identificación. — Dos especímenes adultos proporcionaron la base genética para la identificación de los juveniles (un adulto se muestra en la Fig. 32), basados en la presencia de siete líneas de pigmentación oscura que recorren horizontalmente el cuerpo como carácter morfológico característico (Gilbert y Tyler 1997; Gon, 2002).



Fig. 32. Adulto de *Apogon robbyi*, 27mm SL, DNA # BLZ6179.

Juvenil (Fig. 33). — El único juvenil recolectado para esta especie es de 17 mm SL. Este espécimen muestra las líneas horizontales distintivas de los adultos con la diferencia de que las líneas presentan una pigmentación anaranjada en vez de una pigmentación negra como en los adultos. Las espinas de la primera y la segunda aleta dorsal, al igual que los rayos anteriores de la primera y segunda aleta dorsal, la aleta pélvica, la aleta anal y los rayos externos de la aleta caudal, presentan una pigmentación amarilla. Presenta numerosos melanóforos en la parte superior de la cabeza y presenta un punto de cromatóforos anaranjados en la parte central posterior del pedúnculo caudal que además contiene algunos melanóforos dispersos.

Comparaciones. — *Apogon robbyi* puede ser separado de los demás juveniles pertenecientes a este género por la presencia de las líneas horizontales que recorren el cuerpo horizontalmente.

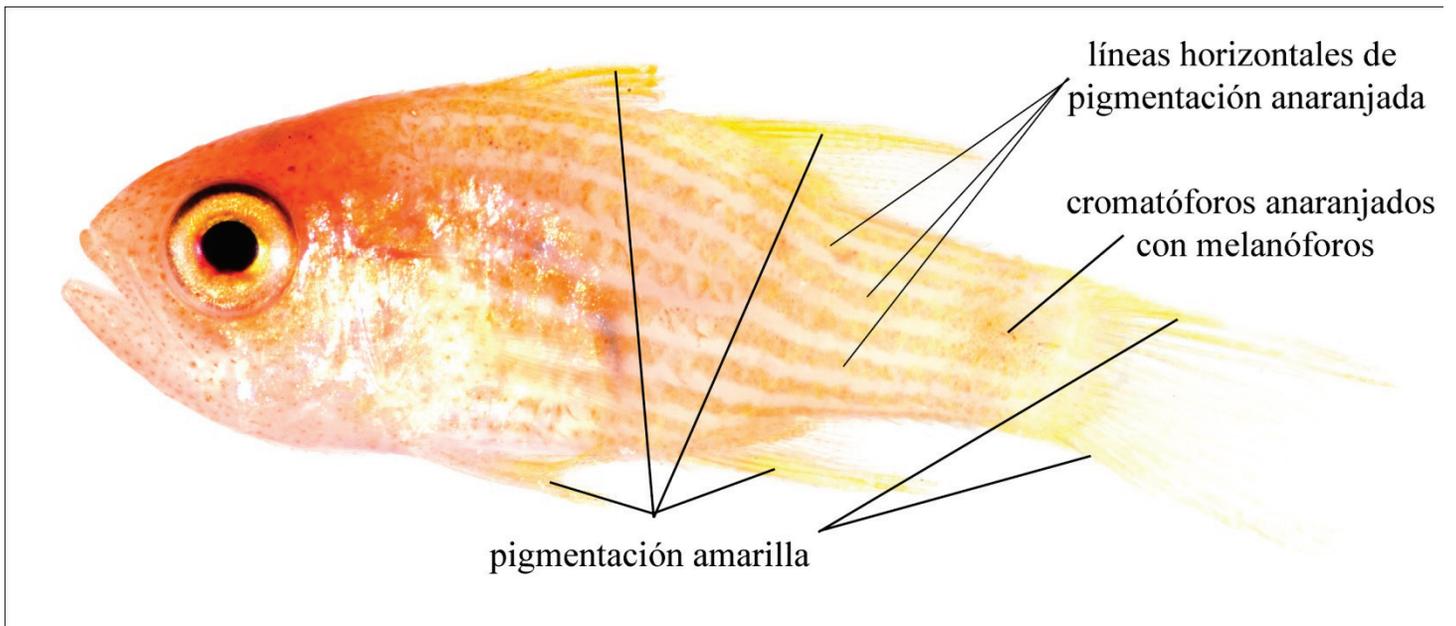


Fig. 33. Juvenil de *Apogon robbyi*, 17 mm SL, DNA # BLZ6084.

Apogon quadrisquamatus

Identificación. — Dos especímenes adultos de *A. quadrisquamatus* proporcionaron la base genética para la identificación de los juveniles pertenecientes a este linaje genético (Fig. 34). La combinación de caracteres que diferencian a los adultos de esta especie de las demás especies de éste género es: ocho rayos separados en la aleta anal; escamas del mismo tamaño en la línea lateral y en el resto del cuerpo; la ausencia de marcas de pigmentación en el área de la segunda aleta dorsal; una mancha con forma circular aproximadamente en el pedúnculo caudal restringido a la mitad del cuerpo, raramente alargado dorso-ventralmente; 11 ó 12 espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial (Böhlke y Chaplin 1968; Gon, 2002).

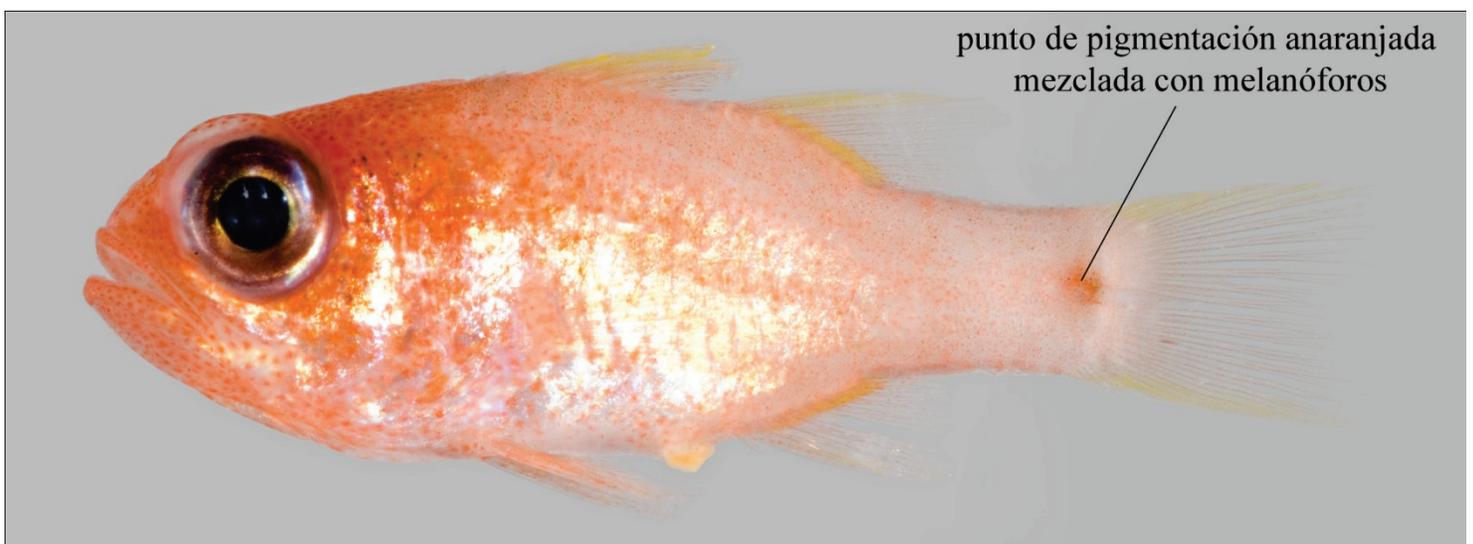


Fig. 34. Adulto de *Apogon quadrisquamatus*, 24 mm SL, DNA # BLZ6180.

Juveniles (Fig. 35). — La talla de los juveniles recolectados pertenecientes a esta especie, varía de los 14 a los 16 mm SL. El cuerpo es en su mayoría de color anaranjado pálido, pero hay una concentración mayor de pigmentación en una barra que se encuentra por debajo de la porción posterior de la base de la segunda aleta dorsal, y otra concentración de pigmentación formando una mancha anaranjada en la base del pedúnculo caudal. La cabeza presenta una pigmentación anaranjada. Las aletas dorsales y la aleta anal, presentan una sucesión de pigmentación anaranjada-amarilla. Las aletas pélvicas son de color anaranjado. La base de la primera aleta dorsal presenta una pigmentación anaranjada, seguida por una mancha de pigmentación amarilla. La segunda aleta dorsal y la aleta anal presentan dos bloques de pigmentación anaranjado-amarillo, empezando por la base que es de color anaranjado. La aleta caudal presenta tres bloques de pigmentación anaranjado-amarillo en cada lóbulo, empezando por la base de color anaranjado.

Existe una simetría en el patrón de pigmentación de las aletas, de tal forma que el patrón de la primera aleta dorsal asemeja al patrón de la aleta pélvica, la segunda dorsal a la aleta anal y el lóbulo superior de la aleta caudal al lóbulo inferior de la misma. Presentan melanóforos en la parte superior de la cabeza internamente sobre la región abdominal.

Comparaciones. — Los juveniles de *A. quadrisquamatus* se asemejan a los juveniles de *A. mosavi* (ver la sección de “Comparaciones” bajo la descripción de *A. mosavi*). En especímenes preservados, los juveniles de *A. quadrisquamatus* pueden ser diferenciados de otras especies una vez que aparecieron los melanóforos en la base del pedúnculo caudal, mediante la presencia de una única marca en el pedúnculo caudal.

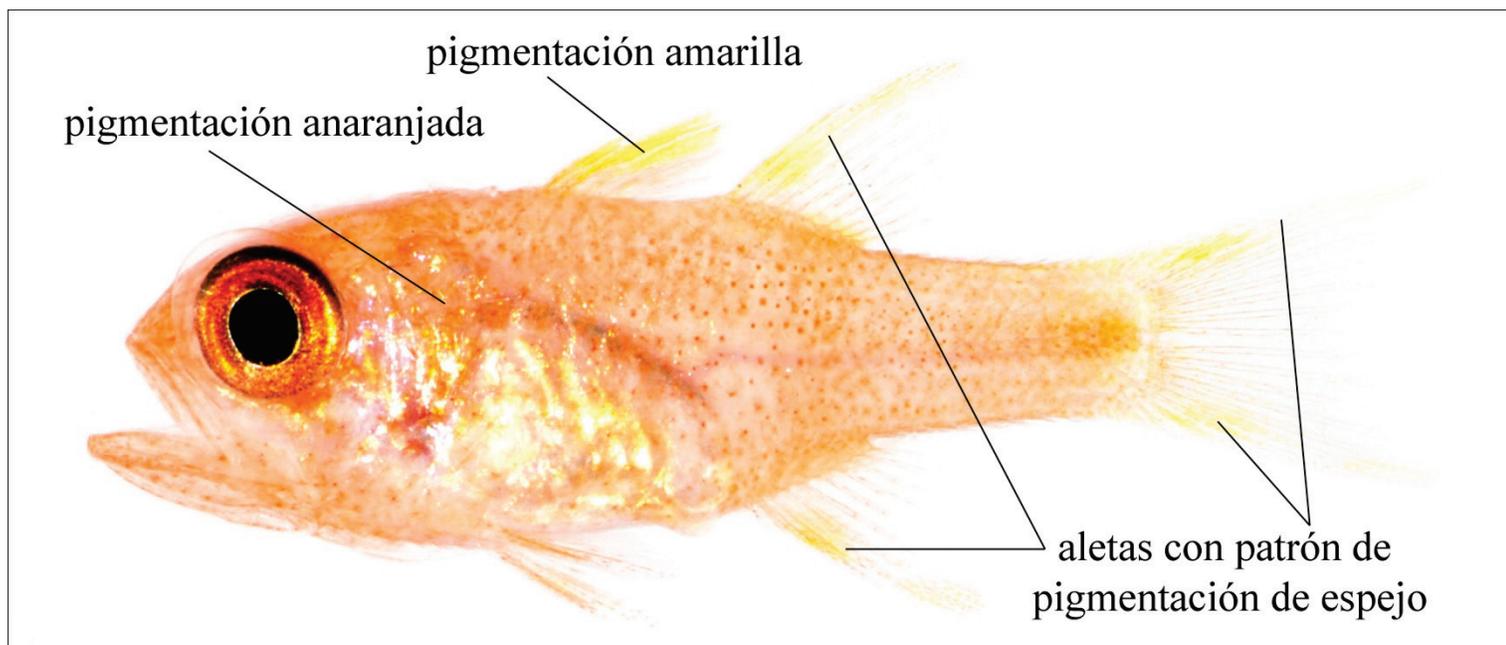


Fig. 35. Juvenil de *Apogon quadrisquamatus*, 14 mm SL, DNA # BLZ7712.

Tabla 3. Porcentaje del tamaño del pedúnculo caudal de las larvas. El porcentaje se calculó basándose en las imágenes ya que gran parte del organismo fue utilizado para tomar las muestras de DNA.

Especies\%	27	29	31	32	33	34	35	36	37	40
<i>Apogon aurolineatus</i>	1	2								
<i>Apogon phenax</i>				1				1		
<i>Apogon binotatus</i>				1	1	3		1	1	
<i>Apogon planifrons</i>							4	1		1
<i>Apogon sp.</i>							1			
<i>Apogon townsendi</i>						1	1			
<i>Apogon mosavi</i>			2	3	2	1				

Tabla 4. Número de espinas branquiales correspondientes al lóbulo inferior del primer arco branquial de juveniles.

Especies /número de espinas branquiales	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>Apogon aurolineatus</i> 12 mm SL	1							
<i>Apogon maculatus</i> 12 and 22 mm SL				2				
<i>Apogon pseudomaculatus</i> 19 and 23 mm SL			1	1				
<i>Apogon phenax</i> 16-22 mm SL			3	9				
<i>Apogon binotatus</i> 13.5-18 mm SL		5	2					
<i>Apogon pillionatus</i> 15-17 mm SL			4	1				
<i>Apogon townsendi</i> 13-21 mm SL						4	7	2
<i>Apogon lachneri</i> 18- 22 mm SL						7		
<i>Apogon mosavi</i> 14-20 mm SL				9	4			
<i>Apogon robbyi</i> 17 mm SL					1			
<i>Apogon quadrisquamatus</i> 14-16 mm SL		3						

Estructura genética y análisis filogeográfico

Tabla 5. Estructura genética de las poblaciones de las especies pertenecientes al género *Apogon*.

Especie	localidad	N	H(número de haplotipos)	π (diversidad de nucleótidos)	h (diversidad del gen)	θ_0	θ_1	τ (tiempo mutacional)	T (edad de la población en años después de la expansión)
<i>A. maculatus</i>								0.49	56 064
	Belice	7	4	0.01 ± 0.007	0.809 ± 0.129	0	99 999		
	Antillas Holandesas	4	1	0	0	0	0		
	SMS	5	4	0.003 ± 0.003	0.9 ± 0.16	0	0		
	Bahamas	1	1	0	1	0	0		
	Florida	1	1	0	1	0	0		
<i>A. phenax</i>								1.8	205 949
	Belice	24	10	0.004 ± 0.002	0.84 ± 0.06	0	5.891		
	Antillas Holandesas	6	3	0.004 ± 0.003	0.73 ± 0.15	0	6.123		
	Bahamas	2	2	0.002 ± 0.003	1	0	0		
<i>A. binotatus</i>								1.7	194 508
	Belice	22	8	0.003 ± 0.002	0.69 ± 0.101	0	2.488		
	Antillas Holandesas	3	3	0	1	0	0		
	Bahamas	3	2	0.003 ± 0.003	0.66 ± 0.31	0	0		
<i>A. townsendi</i>								1.2	137 299
	Belice	18	11	0.004 ± 0.003	0.92 ± 0.04	0	99 999		
	Antillas Holandesas	8	6	0.004 ± 0.002	0.89 ± 0.11	0	99 999		
	Bahamas	1	1	0	1	0	0		
<i>A. lachneri</i>								1.8	205 949
	Belice	8	6	0.002 ± 0.002	0.89 ± 0.11	0	99 999		
	Antillas Holandesas	3	2	0.003 ± 0.003	0.66 ± 0.31	0	11.0113		

Al igual que para la construcción del NJ, las secuencias de 650 pares de bases se recortaron para excluir las lecturas ambiguas tanto en el principio como en final de cada secuencia lo que dejó un total de 437 pares de bases por cada una de las secuencias. No se observaron indels para este marcador. Para las especies restringidas exclusivamente a Belice no se observó estructura genética significativa ($\Phi_{ST} p > 0.05$). En el caso de las especies con una distribución en Bahamas, Antillas Holandesas o Florida aparte de Belice, todas muestran una estructura genética significativa entre Belice y alguna de las otras localidades (ver secciones por especie abajo).

Para el análisis filogeográfico solo se pueden utilizar las especies que se encuentran representadas en diferentes localidades. Estas especies son *A. maculatus*, *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. pillionatus*, *A. townsendi* y *A. lachneri* (Fig. 4, Tabla 1 del Anexo). Para el caso específico de *A. pillionatus*, no fue posible definir la estructura genética entre Belice y las Antillas Holandesas debido a que la segunda localidad está representada solamente por un individuo, razón por la cual no es incluida dentro del análisis por localidades, solamente se incluye para obtener el dato de tiempo de divergencia y analizar la estructura del género *Apogon* (Tabla 5).

Para el caso particular de las especies analizadas en el presente estudio, más muestras son necesarias para poder interpretar correcta y de manera fiable los resultados obtenidos. El pequeño tamaño de las muestras provenientes de localidades como Bahamas, Florida y Antillas Holandesas puede influenciar el resultado de nuestros análisis.

Apogon maculatus

Un total de 11 haplotipos diferentes se identificaron como parte de la población de *A. maculatus*. De los 11 haplotipos ocho se encuentran representados en Belice por un total de 12 individuos, un haplotipo en las Antillas Holandesas representado por cuatro individuos y un haplotipo tanto para Florida como para Bahamas, en ambos casos representados por un solo individuo.

La población *Apogon maculatus* presenta un haplotipo muy abundante identificado como el haplotipo del individuo BLZ 4170. Este haplotipo se encuentra representado por el 50% de la población y se encuentra distribuido tanto en las Antillas Holandesas con una frecuencia del 44% y en Florida con una frecuencia del 11% de la frecuencia total del haplotipo (Fig. 36). Dos haplotipos presentan una frecuencia del 11 % dentro de la población y son BLZ 4551 y BLZ 7371, ambos específicos de Belice. El resto de los haplotipos presenta una frecuencia dentro de la población del 5%. El haplotipo BAH 8241 es específico para Bahamas.

La diversidad de haplotipos o del gen es alta ($h = 0.75 \pm 0.103$; Tabla 5) y la diversidad de nucleótidos baja ($\pi = 0.006 \pm 0.003$; Tabla 5). En el análisis por localidad el valor más alto de diversidad lo presentan tanto Bahamas como Florida ($h = 1 \pm 0.00$), debido a que solamente se encuentran representados por un solo individuo. Por lo tanto la diversidad de nucleótidos en ambos casos es de $\pi = 0.00 \pm 0.00$. Belice presenta una diversidad de haplotipos de $h = 0.85 \pm 0.04$ y una diversidad de nucleótidos de $\pi = 0.01 \pm 0.007$. No existen diferencias entre los

El haplotipo perteneciente al individuo BLZ 6335 es el más abundante presente en el 38% de los individuos de la población, seguido por el haplotipo del individuo BLZ 4422 presente en el 19% de los individuos de la población. Ambos haplotipos son compartidos por distintas localidades; para el caso del haplotipo BLZ6335, es compartido por los individuos de Belice, de Bahamas y de las Antillas Holandesas. El haplotipo BLZ 4422 es compartido solamente por los individuos de Belice y por los individuos de las Antillas Holandesas.

Seis haplotipos tienen una frecuencia del 3% cada uno dentro de la población. Uno se presenta solamente en Bahamas y otro solamente se encuentra representado en las Antillas Holandesas. Los haplotipos de los individuos BLZ 6148, BLZ 5173 y BLZ 7051 se encuentran presentes con un 9, 6 y 6% respectivamente.

La diversidad de haplotipos o la diversidad del gen es alta ($h = 0.82 \pm 0.05$) y la diversidad de nucleótidos es baja ($\pi = 0.004 \pm 0.002$), lo que habla de una población con una larga historia evolutiva que se encuentra ampliamente distribuida. En la Tabla 5 se muestra el análisis por localidad, donde es Bahamas la localidad que presenta el valor más alto de diversidad de haplotipos ($h = 1 \pm 0.5$), seguida por Belice cuyo valor de diversidad es $h = 0.84 \pm 0.006$. Las Antillas Holandesas presentan el valor más bajo de diversidad haplotípica ($h = 0.73 + 0.15$).

Por el contrario, la diversidad de nucleótidos es menor en Bahamas ($\pi = 0.002 \pm 0.003$). Belice y las Antillas Holandesas presentan la misma diversidad de nucleótidos con diferencia en la desviación estándar ($\pi = 0.004 \pm 0.002$ y $\pi = 0.004 \pm 0.003$ respectivamente).

Existe una estructura genética significativa entre la población de la localidad de Belice y la población de la localidad de las Antillas Holandesas (Tabla 6), donde el 20% de la variación es atribuible a la región geográfica ($\Phi_{ST} = 0.20$, $p = 0.0001$), lo cual indica que pese a que estas dos localidades comparten los haplotipos más comunes, la proporción en ambas localidades es lo suficientemente diferente como para pensar en una barrera del flujo genético en la historia evolutiva de esta especie. No hay diferencias significativas entre las poblaciones de Belice y Bahamas ($p > 0.05$) o de Bahamas y Antillas Holandesas ($p > 0.05$), debido a que el 50% de los haplotipos presentes en Bahamas se encuentran representados en Belice y un tamaño de muestra mayor es necesario para evaluar las diferencias con las Antillas Holandesas.

En *Apogon phenax* ninguna de las tres poblaciones ni la especie en conjunto muestran un desplazamiento del equilibrio que sea significativo (todas las $p > 0.05$; Tabla 5), por lo cual se puede suponer que la población se encuentra en expansión y no se encuentra en su equilibrio de deriva mutacional. El tiempo mutacional del gen desde la más reciente expansión para esta especie es de $\tau = 1.8$ lo cual nos habla de una edad poblacional de aproximadamente 200 000 años.

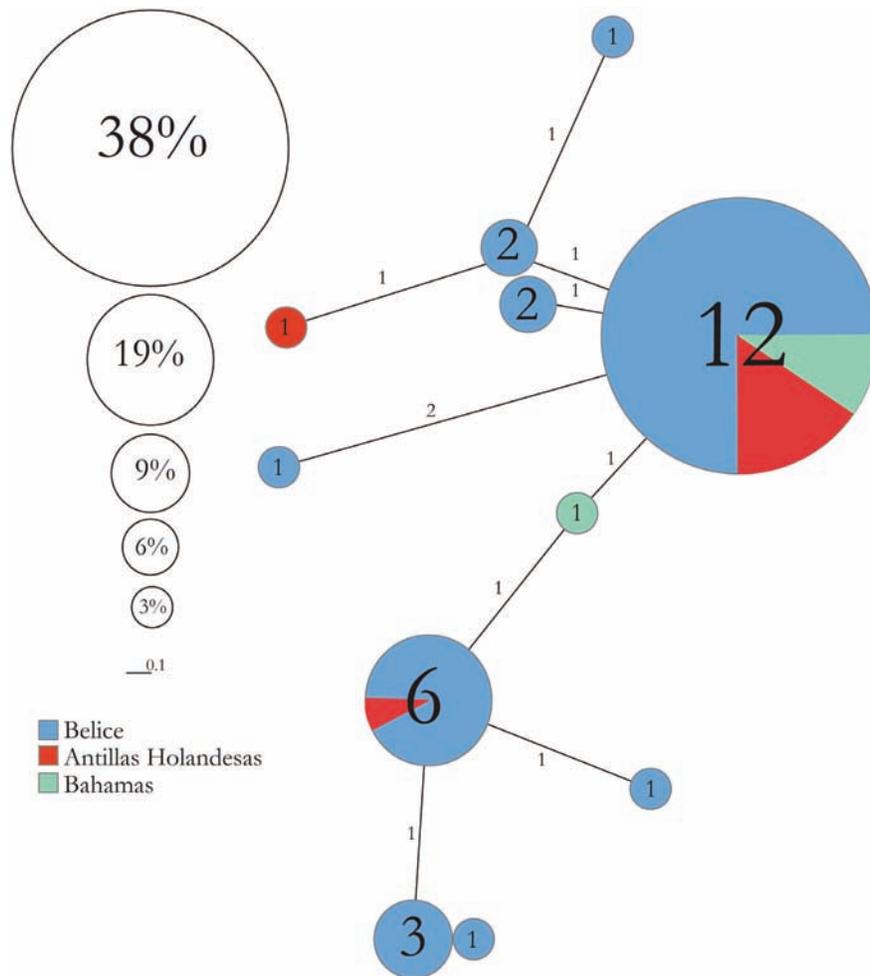


Fig. 37. Red de distancias mínimas de los haplotipos pertenecientes a *Apogon phenax*. En azul se encuentran los haplotipos recolectados en Belice, en verde los haplotipos recolectados en Bahamas y en rojo los haplotipos recolectados en las Antillas Holandesas. Las líneas significan la distancia entre un haplotipo y otro basado en el número de diferencias de nucleótidos entre . Cada círculo representa un haplotipo diferente. El número dentro de cada círculo significa el número de individuos que comparte ese haplotipo. Los círculos y los porcentajes son una representación de la frecuencia de ese haplotipo dentro de la población. *Apogon binotatus*

Trece haplotipos diferentes se identificaron como parte de la población de *A. binotatus*, ocho de los cuales se encuentran representados en Belice por un total de 22 individuos, tres haplotipos en las Antillas Holandesas representados por tres individuos y dos haplotipos en Bahamas representados por tres individuos distintos.

Para *Apogon binotatus* el haplotipo más abundante es el del individuo BLZ 4508 que se encuentra representado en el 50% de la población, seguido por el haplotipo del individuo BLZ 6326 que se encuentra distribuido en un 11% en la población y el haplotipo del individuo BLZ 6332 que es representado en la población por el 7% de los individuos (Fig. 38).

El resto de los haplotipos de esta especie tienen un porcentaje muy bajo dentro de la población (3.5%), incluidos los haplotipos presentes solo en Bahamas y las Antillas Holandesas. El haplotipo del individuo BLZ 4508

es compartido por las localidades de Belice y de Bahamas. Todos los haplotipos que se pueden encontrar en las Antillas Holandesas, solamente se distribuyen en esa localidad.

La diversidad de haplotipos en *A. binotatus* es baja ($h = 0.74 \pm 0.08$) en comparación con *A. phenax* ($h = 0.82 \pm 0.05$) y la diversidad de nucleótidos es menor ($\pi = 0.003 \pm 0.002$ en *A. binotatus*) si la comparamos de nuevo con *A. phenax* ($\pi = 0.004 \pm 0.002$). La diversidad de nucleótidos es muy baja con respecto a la diversidad de nucleótidos, lo que al igual que en *A. phenax*, nos habla de una población con una historia evolutiva reciente y que atravesó expansión. Analizando la diversidad de haplotipos por localidad (Tabla 5), son las Antillas Holandesas las que presentan el valor más alto ($h = 1 \pm 0.00$) debido a que los tres haplotipos analizados para esta especie son diferentes. Belice es la segunda localidad ($h = 0.69 \pm 0.101$) con mayor diversidad de haplotipos seguida por las Bahamas ($h = 0.66 \pm 0.31$).

La diversidad de nucleótidos es mayor en la localidad de Belice ($\pi = 0.003 \pm 0.002$) y similar a la de Bahamas ($\pi = 0.003 \pm 0.003$). La única diferencia entre estas dos localidades con respecto a la diversidad de nucleótidos es la desviación estándar la cual es mayor en Bahamas y menor en Belice. Las Antillas Holandesas presentan la menor diversidad de nucleótidos ($\pi = 0.00 \pm 0.00$; Tabla 5).

Belice presenta diferencias genéticas significativas con respecto de Bahamas ($\Phi_{ST} = 0.21$, $p = 0.03$) y las Antillas Holandesas ($\Phi_{ST} = 0.31$, $p = 0.004$), que explican una variación de 21% y 31% respectivamente en función de Belice que es atribuible a la localidad de muestreo (Tabla 6), lo cual era de esperarse debido a que Bahamas solo comparte un 7% del total de los haplotipos con Belice lo cual es un porcentaje muy bajo y las Antillas Holandesas no comparten ningún haplotipo con Belice (Fig. 38).

No hay diferencias significativas entre la estructura poblacional de Bahamas y de las Antillas Holandesas ($p > 0.05$), más muestras son necesarias para constatar que efectivamente no existe una estructura genética en la población de *A. binotatus* debida a estas dos localidades.

Existe un desplazamiento significativo del equilibrio en esta especie ($D = -2.076$; $p = 0.004$), por lo cual se llevo a cabo otro análisis de neutralidad por localidades donde solamente la población de Belice es la que muestra este desplazamiento ($D = -1.826$; $p = 0.01$; Tabla 5). El tiempo mutacional desde la más reciente expansión para esta especie es de 1.7, muy parecido al tiempo mutacional de *A. phenax* ($\tau = 1.8\%$ por ma.), por lo que la edad de la población es muy similar: 200 000 años aproximadamente.

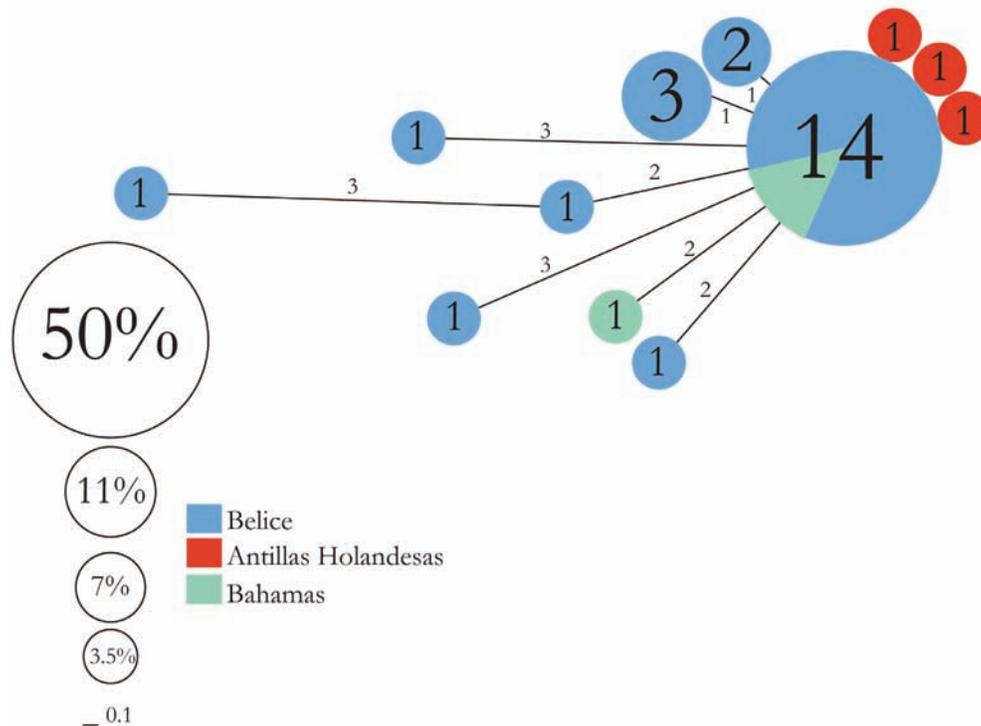


Fig. 38. Red de distancias mínimas de los haplotipos pertenecientes a *Apogon binotatus*. En azul se encuentran los haplotipos recolectados en Belice, en verde los haplotipos recolectados en Bahamas y en rojo los haplotipos recolectados en las Antillas Holandesas. Las líneas significan la distancia entre un haplotipo y otro basado en el número de diferencias de nucleótidos entre . Cada círculo representa un haplotipo diferente. El número dentro de cada círculo significa el número de individuos que comparte ese haplotipo. Los círculos y los porcentajes son una representación de la frecuencia de ese haplotipo dentro de la población. *Apogon townsendi*

Dieciocho haplotipos diferentes se identificaron como parte de la población de *A. townsendi*, once de los cuales se encuentran representados en Belice por un total de 18 individuos, seis haplotipos en las Antillas Holandesas representados por ocho individuos y un haplotipo en Bahamas representado por un solo individuo.

El haplotipo BLZ 4542 es el más común. Se encuentra representado en la población en un 30%, seguido por el haplotipo BLZ 5148 el cual posee un 14% de la población. Tanto el haplotipo BLZ 6295 como el haplotipo 7832 se encuentran representados por un 11 % de la población cada uno (Fig. 39). El resto de los haplotipos de *Apogon townsendi* tienen un porcentaje muy bajo en la población (3%).

El haplotipo BLZ 4542 es posible encontrarlo representado tanto en Bahamas como en las Antillas Holandesas, donde su porcentaje es mayor en las Antillas Holandesas (33%) con respecto a Bahamas (17%; Fig. 39). Este es el caso para los haplotipos más abundantes ya que todos ellos se encuentran representados en por los individuos de más de una localidad ej. para el haplotipo BLZ 5148 (14% dentro de la población) el 75% de los individuos provienen de Belice y el 25% de las Antillas Holandesas; para los haplotipos BLZ 6295 y BLZ 7832 (11% dentro de la población respectivamente), el 66.6% de los individuos provienen de Belice y el 33.3% de los individuos provienen de las Antillas Holandesas (Fig. 39).

Apogon townsendi presenta la mayor diversidad de haplotipos ($h = 0.88 \pm 0.043$) en comparación con *A. phenax* ($h = 0.82 \pm 0.05$) y *A. binotatus* ($h = 0.74 \pm 0.08$); en cambio, la diversidad de nucleótidos ($\pi = 0.004 \pm 0.002$) es igual a la que presenta *A. phenax* ($\pi = 0.004 \pm 0.002$) y mayor a la que presenta *A. binotatus* ($\pi = 0.003 \pm 0.002$). Lo que una vez más nos habla de una historia evolutiva larga y una población ampliamente distribuida en toda la región del Mar Caribe, al igual que para *A. phenax* y *A. binotatus*. Debido a que solamente existe un individuo representando a la localidad de Bahamas, esta presenta el valor más alto de diversidad ($h = 1 \pm 0.00$). Belice es la siguiente localidad que presenta el valor más alto de diversidad (0.92 ± 0.04), seguida por las Antillas Holandesas (0.89 ± 0.11 ; Tabla 5).

Tanto Belice como las Antillas Holandesas presentan la misma diversidad de nucleótidos (Tabla 5) sin embargo, es Belice la que presenta una desviación estándar mayor ($\pi = 0.004 + 0.003$ en Belice y $\pi = 0.004 + 0.002$ en las Antillas Holandesas). Para el caso particular de Bahamas la diversidad de nucleótidos es de $\pi = 0.00 \pm 0.00$ ya que no hay otra secuencia proveniente de esa localidad limitando este análisis. La estructura entre Bahamas y el resto de las localidades no presenta diferencias significativas debido a lo pequeña de la muestra que no es representativa de esta localidad por lo cual más muestras son necesarias para poder observar la estructura poblacional de esta localidad.

Entre Belice y las Antillas Holandesas si existe una estructura significativa ($\Phi_{ST} = 0.08$, $p = 0.006$), que explica que el 8% de la variación genética de la población entre estas dos localidades se debe a la región de muestreo (Tabla 6). El porcentaje es muy bajo debido a que la mayor parte de los haplotipos presentes en las Antillas Holandesas también se encuentran presentes en Belice y son parte de los cuatro haplotipos más comunes (Fig. 39). Solamente dos haplotipos son característicos de las Antillas Holandesas y su porcentaje dentro de la población es muy bajo con respecto a los haplotipos comunes (3% vs. 11-30% respectivamente; Fig. 39).

La población de *A. townsendi* tiene un desplazamiento significativo con respecto al equilibrio mutacional ($D = -1.862$; $p = 0.014$). El análisis secundario por localidad muestra que este desplazamiento solo es significativo para la localidad de Belice ($D = -1.665$; $p = 0.035$). El tiempo mutacional desde la más reciente expansión para *A. townsendi* es de 1.2, lo cual estima una edad poblacional de 137 000 años aproximadamente.

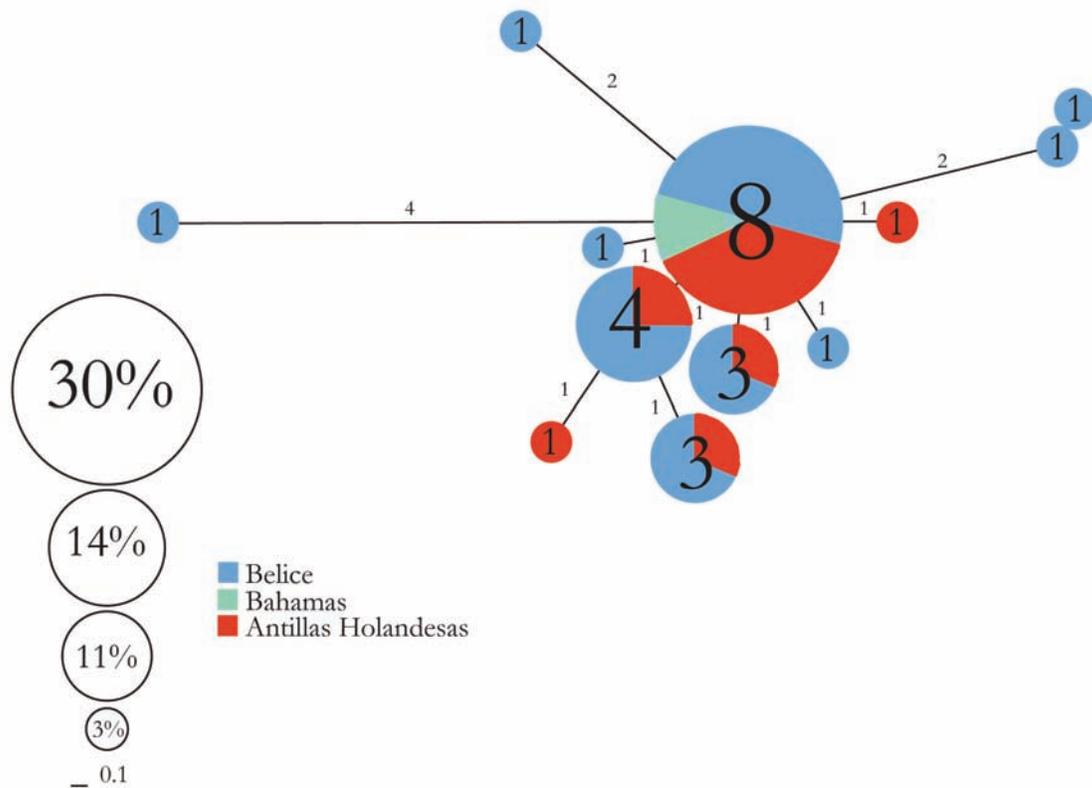


Fig. 39. Red de distancias mínimas de los haplotipos pertenecientes a *Apogon townsendi*. En azul se encuentran los haplotipos recolectados en Belice, en verde los haplotipos recolectados en Bahamas y en rojo los haplotipos recolectados en las Antillas Holandesas. Las líneas significan la distancia entre un haplotipo y otro basado en el número de diferencias de nucleótidos entre . Cada círculo representa un haplotipo diferente. El número dentro de cada círculo significa el número de individuos que comparte ese haplotipo. Los círculos y los porcentajes son una representación de la frecuencia de ese haplotipo dentro de la población. *Apogon lachneri*

Ocho haplotipos fueron identificados para esta especie, donde seis de ellos se encuentran representados en Belice por ocho individuos y dos haplotipos se encuentran representados en las Antillas Holandesas por tres individuos.

El haplotipo más común dentro de la población de *Apogon lachneri* es el del individuo BLZ 5059 que se distribuye en el 45% de la población. El resto de los haplotipos se presentan con una frecuencia del 9% (Fig. 40).

El haplotipo BLZ 5059 es compartido tanto por individuos recolectados en Belice cuya frecuencia es del 60% como por individuos recolectados en las Antillas Holandesas con una frecuencia del 40% en la población de esa localidad (Fig. 40).

La diversidad de haplotipos o del gen es mayor que en *A. binotatus* ($h = 0.8182 \pm 0.1191$ en *A. lachneri* vs. $h = 0.74 \pm 0.08$ en *A. binotatus*) y es menor que para el resto de las especies ($h = 0.88 \pm 0.043$ para *A. townsendi* y $h = 0.82 \pm 0.05$ para *A. phenax*). La diversidad de nucleótidos en *A. lachneri* es la más baja de entre todas las especies

evaluadas mediante este análisis ($\pi = 0.002 \pm 0.001$ en *A. lachneri*; $\pi = 0.004 \pm 0.002$ en *A. phenax* y *A. townsendi*; $\pi = 0.003 \pm 0.002$ en *A. binotatus*; Tabla 5).

En el análisis específico por localidad Belice es la localidad con la mayor diversidad de haplotipos ($h = 0.89 \pm 0.11$) y el valor más bajo lo presentan las Antillas Holandesas ($h = 0.66 \pm 0.31$). La diversidad de nucleótidos sigue el patrón contrario a la diversidad de haplotipos siendo más baja en Belice ($\pi = 0.002 + 0.002$) y mayor en las Antillas Holandesas ($\pi = 0.003 + 0.003$).

Existe una estructura genética significativa entre las dos localidades de muestreo ($\Phi_{ST} = 0.18$, $p = 0.04$), lo cual explica que el 18% de la variación genética entre estas dos localidades está en función de la región de muestreo (Tabla 6).

Apogon lachneri no presenta un desplazamiento del equilibrio significativo ($p > 0.05$). El tiempo mutacional es de 1.8 y el tiempo de divergencia generacional de 200 000 años aproximadamente.

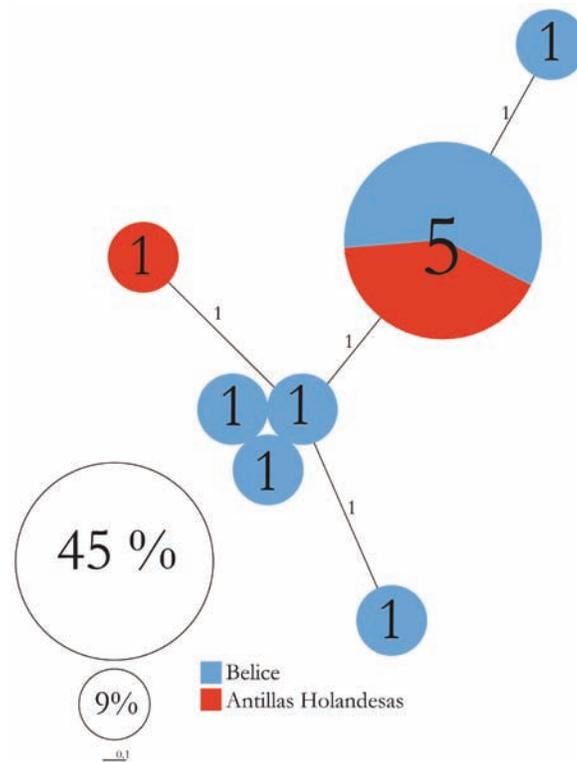


Fig. 40. Red de distancias mínimas de los haplotipos pertenecientes a *Apogon lachneri*. En azul se encuentran los haplotipos recolectados en Belice y en rojo los haplotipos recolectados en las Antillas Holandesas. Las líneas significan la distancia entre un haplotipo y otro basado en el número de diferencias de nucleótidos entre . Cada círculo representa un haplotipo diferente. El número dentro de cada círculo significa el número de individuos que comparte ese haplotipo. Los círculos y los porcentajes son una representación de la frecuencia de ese haplotipo dentro de la población.

Tabla 6. Valores de la estructura genética (Φ_{ST}) de las poblaciones de las especies del género *Apogon* en las diferentes regiones geográficas. Los diferencias significativas ($p < 0.05$) se encuentran resaltados en negritas.

Especies	Localidades	Belice	Bahamas	Antillas Holandesas
<i>Apogon maculatus</i>	Belice	$\Phi_{ST} = 0.41$; $p = 0.001$	$\Phi_{ST} = 1$; $p = 0.99$	$\Phi_{ST} = 1$; $p = 0.99$
	Bahamas			
	Antillas Holandesas			
	Florida			
<i>Apogon phenax</i>	Belice	$\Phi_{ST} = 0.20$; $p = 0.0001$	$\Phi_{ST} = 0.19$; $p = 0.25$	
	Bahamas			
	Antillas Holandesas			
<i>Apogon binotatus</i>	Belice	$\Phi_{ST} = 0.21$; $p = 0.03$	$\Phi_{ST} = 0.16$; $p = 0.39$	
	Bahamas			
	Antillas Holandesas			
<i>Apogon townsendi</i>	Belice	$\Phi_{ST} = 0.08$; $p = 0.006$	$\Phi_{ST} = 0.10$; $p = 0.99$	
	Bahamas			
	Antillas Holandesas			
<i>Apogon lachneri</i>	Belice	$\Phi_{ST} = 0.18$; $p = 0.04$		
	Antillas Holandesas			

Discusión

Análisis Taxonómico

Las larvas que se encuentran ya preservadas son de difícil identificación debido a que presentan muy pocos caracteres diagnósticos para separar a las diferentes especies (Smith, 1995). Sin un patrón de coloración que asemeje al patrón de coloración de los adultos, no es posible discernir entre los estados del desarrollo de dos especies diferentes, incluso es difícil determinar a qué especie corresponde cada larva porque tienen una variabilidad en pigmentación muy alta (Lara, 2006) y otros caracteres morfológicos son de poca utilidad.

En este estudio se pudieron identificar dos caracteres que permiten diferenciar a las larvas de *Apogon aurolineatus* del resto de las larvas del mismo género. El número de melanóforos en la parte superior de la cabeza (de 0 a 6 melanóforos en *A. aurolineatus* vs. más de 30 en el resto de las especies), y la longitud del pedúnculo caudal es menor en *A. aurolineatus* (27-29% de SL) a diferencia del resto de las larvas (31-40% de SL). *Apogon planifrons* presenta el pedúnculo caudal más grande (35-40% de SL), sin embargo *A. phenax*, *A. binotatus* y *A. townsendi* también presentan un pedúnculo caudal grande (32-37% SL; Tabla 3).

Los patrones de cromatóforos son la manera más sencilla y en la mayoría de los casos la única de separar e identificar desde un punto de vista de taxonomía clásica a las diferentes larvas del género *Apogon* (Balon, 1975). Hay

que considerar que para el caso de *A. aurolineatus* y *A. phenax*, se tienen únicamente tres y dos larvas respectivamente como representantes de la especie. Para tener un mayor sustento son necesarios más muestreos confirmando que estos dos caracteres estén proporcionando una información correcta en la identificación de las larvas de estas especies.

Los juveniles son más fáciles de identificar ya que la mayoría presentan el patrón de melanóforos de los adultos incipiente o casi totalmente desarrollado (Balon, 1975; ej. *A. pseudomaculatus*, *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. pillionatus*, *A. townsendi* y *A. lachneri* en el presente estudio). Cuando la pigmentación de los adultos no se encuentra desarrollada en su totalidad las especies son difíciles de separar unas de otras. Los patrones de cromatóforos en combinación con los patrones de melanóforos proveen en la mayoría de los casos la manera más sencilla de identificar a los juveniles (Baldwin *et al.* 2009). Debido a que los juveniles presentan el mismo número de espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial que los adultos, este es un carácter que resulta de gran ayuda para la diferenciación e identificación de las especies de juveniles (Tabla 4).

Los trabajos previos para la identificación de estadios del desarrollo de las especies del género *Apogon* se han enfocado principalmente en juveniles (Lara, 2006 en Richards, 2006 ed.). Lara (2006) identificó larvas y juveniles de 10 especies con base en los patrones de pigmentación y morfometría básica (*A. affinis*, *A. aurolineatus*, *A. binotatus*, *A. lachneri*, *A. maculatus*, *A. phenax*, *A. planifrons*, *A. pseudomaculatus*, *A. quadrisquamatus* and *A. townsendi*). La descripción de las larvas de *A. aurolineatus*, concuerda con los caracteres descritos en la sección de *A. aurolineatus* (Lara, 2006); sin embargo, no describe los patrones de pigmentación y los caracteres morfométricos básicos para la identificación de las larvas de esta especie. El resto de las descripciones de las larvas en el trabajo de Lara (2006) se basan principalmente en juveniles de más de 12 mm SL, que ya empezaron a desarrollar la pigmentación de los adultos.

En el presente estudio se describen por primera vez las larvas de *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. planifrons*, *A. townsendi* y *A. mosavi* al igual que los patrones de coloración de *A. aurolineatus*. En el presente estudio, adicionamos secciones de comparación donde se contrastan las diferentes características de las larvas de cada especie para así poder identificar las diferencias y los caracteres diagnósticos. En contraste con el trabajo de Lara (2006), las diferencias entre larvas de las especies de este género radican en los patrones de cromatóforos y el tamaño del pedúnculo caudal.

En las secciones de juveniles propuestas por Lara (2006), proporciona los patrones generales de pigmentación y en el caso particular de *A. aurolineatus*, provee en su totalidad las características de los individuos adultos. Las diagnosis de los juveniles en la publicación de Lara (2006) carecen de una detallada descripción de los patrones de cromatóforos y melanóforos que en contraste con este estudio son primordiales para la identificación y separación de los juveniles de las especies del género *Apogon*. En el presente estudio se describen por primera vez los juveniles de *A. aurolineatus*, *A. townsendi*, *A. pillionatus*, *A. mosavi*, *A. robbyi* and *A. quadrisquamatus*.

Como parte del desarrollo para convertirse en adultos, los peces desarrollan varios órganos específicos y características morfológicas (incluida los patrones de pigmentación) para larvas, los cuáles cambian cuando la larva crece y adquiere la condición de juvenil (Balon, 1975). Es en ésta última fase se empieza a desarrollar la pigmentación de los adultos al igual que otros caracteres que terminaran de desarrollarse cuando se vuelven adultos (ej. las gónadas y las escamas). Otros caracteres únicamente adquirirán un mayor tamaño cuando se alcance la fase adulta como las espinas de los arcos branquiales (Balon, 1975).

En las larvas y juveniles preservados analizados en este estudio la mayor parte de la pigmentación se perdió salvo por los patrones de melanóforos. Los adultos presentan un patrón de melanóforos distintivo para cada especie, sin embargo, en la caso de los juveniles, este patrón apenas está empezando a desarrollarse, lo cual no nos permite confiar ciegamente en este caracter para identificar y separar a las especies de este grupo.

En el caso particular de las larvas, los patrones de melanóforos no fueron suficientes para poder diferenciar a las especies por la ausencia de los mismos. Asimismo, la alta variabilidad en los patrones de pigmentación entre larvas, juveniles y adultos recién recolectados pertenecientes a una misma especie nos guía a identificar incorrectamente los diferentes estados del desarrollo de estas especies reduciendo la certidumbre de una correcta identificación.

Este factor es el eje central de la problemática actual de la taxonomía moderna: la plasticidad de los fenotipos en relación con la variabilidad genética en los caracteres empleados para la identificación de las especies (Hebert *et al.* 2003); la ampliación de las cualidades de un solo carácter que conlleva a considerar dos especies como una sola como es el caso de especies crípticas (Knowlton 1993; Jarman y Elliott 2000) y el gran hueco en el conocimiento que rodea a la identificación de las especies debido a la problemática señalada anteriormente (Hebert *et al.* 2003). Esta situación nos lleva a considerar otro tipo herramientas para la identificación de las especies como lo que en este caso es el código de barras genético.

La identificación de especies de peces mediante el uso de herramientas moleculares no es nueva. Se han utilizado diferencias en aloenzimas (Avise, 1975), la examinación y secuenciación del DNA mitocondrial (Bartlett y Davidson, 1991; Avise, 1994). Lo controversial del código de barras genético es el uso de 650 pares de bases de una sola región del DNA mitocondrial (CO1), para identificar especies de un amplio rango taxonómico (Dasmahapatra y Mallet, 2006; Ward *et al.* 2009).

El código de barras se utilizó para la identificación de larvas de la gran barrera arrecifal australiana (Pegg *et al.* 2006), el Mar Caribe (Victor, 2007) y la identificación de huevos de peces en aguas Australianas (Ward *et al.* 2009). En contraste con este estudio, no todos los especímenes secuenciados pudieron ser identificados hasta el nivel de especie debido a que no utilizaron las secuencias de los adultos para poder emparentar las larvas, juveniles y huevos de peces, por lo que faltó la confirmación de la especie con base en la comparación entre caracteres

diagnósticos y secuencias de los adultos. Para el presente estudio en particular, el uso del código de barras genético como soporte del trabajo taxonómico, permitió ubicar a las larvas y juveniles dentro de las especies correspondientes (Fig. 4), para posteriormente analizar cada uno de los especímenes secuenciados; mediante los patrones de pigmentación en el acervo fotográfico y algunas características morfológicas en preservación se obtuvieron caracteres diagnósticos de las larvas y juveniles de cada especie.

Con base en los patrones de pigmentación de larvas y juveniles, podemos agrupar a las especies del género *Apogon* en cinco grupos: 1) el grupo “aurolineatus” que incluye a *A. aurolineatus*, 2) el grupo “maculatus” que incluye a *A. maculatus*, *A. pseudomaculatus* y *A. affinis* el cual se caracteriza por la presencia de una mancha de pigmentación negra en la parte posterior de la base de la segunda aleta dorsal., 3) el grupo “planifrons” que incluye a *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. pillionatus*, *Apogon sp.*, *A. planiformis*, *A. robinsi* y *A. townsendi*, en el cual las larvas se caracterizan por presentar la parte anterior de la cabeza muy pálida o transparente, la pigmentación más intensa y brillante concentradas en la cabeza y en la región abdominal, y una línea de cromatóforos anaranjados en la región ventral del cuerpo, ya sea a partir de la aleta pélvica o a partir de la aleta anal hasta la base de la aleta caudal, 4) el grupo “lachneri” que incluye a *A. lachneri*, y 5) el grupo “quadrisquamatus” que incluye a *A. mosavi*, *A. robbyi* y *A. quadrisquamatus*, que se caracteriza por la presencia de melanóforos en la parte central anterior a la base de la aleta caudal.

Estos grupos corresponden a los grupos propuestos por Böhlke y Randall (1968), en los cuales tomaron como base los patrones de pigmentación de los adultos.

Tres especies más han sido reportadas para la región del Mar Caribe: *A. evermanni*, *A. gouldi* y *A. leptocaulus*. La única especie que no se pudo identificar hasta nivel de especie (el linaje genético correspondiente a *Apogon sp.*; Fig. 4), puede pertenecer a cualquiera de estas tres especies, puede ser un híbrido ya que la introgresión de DNA mitocondrial entre especies es un fenómeno frecuente o puede ser una especie nueva.

En el presente estudio, con base en el análisis de las secuencias de CO1, es posible diferenciar el linaje genético *Apogon sp.* de *A. affinis* y *A. robinsi*, los cuales aparecen en grupos completamente separados en el NJ. Para poder identificar las larvas y juveniles de estas cinco, posiblemente seis especies, se requieren muestreos adicionales y así poder ubicar a *Apogon sp.* en alguna de las especies descritas para esta región o identificarla como una especie nueva.

Para el caso específico de *Apogon mosavi* algunos especímenes que consideramos larvas, presentan la misma talla (14 a 17 mm SL) y el mismo patrón de pigmentación de los que consideramos juveniles. Esto puede llevar a una confusión con respecto a cómo diferenciar a las larvas de los juveniles basados en los patrones de pigmentación (Balon, 1975).

La transición del periodo de larva al periodo de juvenil, normalmente viene acompañada de cambios morfológicos y de pigmentación (Balon, 1975), como lo es la cobertura membranal de las aletas en larvas y aletas completamente diferenciadas en los adultos así como el desarrollo de la pigmentación adulta en los juveniles vs. una pigmentación completamente diferente en las larvas (Balon, 1975).

Estos caracteres no son perceptibles en estos especímenes, por lo que se consideraron larvas a aquellos individuos recolectados dentro de la red de plancton y juveniles a aquellos recolectados en hábitats de mayor profundidad.

La conducta de los juveniles es muy variable (Emery, 1968); muchas especies arrecifales cuyas larvas son planctónicas exhiben migraciones diarias de la zona epibéntica a la zona planctónica para alimentación y escape de los depredadores, permitiendo que ambas zonas actúen como un continuo en la conducta de los juveniles (Emery, 1968).

Es posible que juveniles de *A. mosavi* se encuentren en diferentes hábitats debido a estos factores. Sin embargo, no se ha reportado nada con respecto a la conducta de esta especie. Son necesarios otros estudios para saber el tiempo que estos juveniles pasan como parte del plancton, como el análisis de otolitos (Brothers *et al.* 1976), cortes histológicos para conocer el desarrollo gonadal y la presencia de gametos característicos de juveniles o la ausencia de los mismos característico de larvas (Balon, 1975).

Análisis Filogeográfico

En estudios comparativos de filogeografía donde se puede contrastar la distribución espacial de los haplotipos de especies que co-ocurren en una misma área (Carolina y Canaval, 2002); es posible identificar eventos históricos comunes que afectaron a los múltiples taxa de esa área en particular (ej. Patton *et al.* 1996; Schneider *et al.* 1998; Bates, 2000; Bates, 2002; Stuart-Fox *et al.* 2001; Schaüble y Mortiz, 2001; Carolina y Carnaval, 2002).

El análisis de la diversidad de haplotipos y de nucleótidos muestran la estructura actual de las poblaciones con base en el gen que se está analizando y sugieren la ocurrencia de eventos históricos que pudieron haber influido sobre esta estructura. Eventos tales como aislamiento poblacional, un segundo contacto entre las poblaciones que se encontraban aisladas durante un largo periodo de tiempo y cuellos de botella (D'Amato y Carvalho, 2005), pueden ser inferidos a partir de los patrones de variación molecular observados.

Los resultados de este estudio muestran una gran influencia de los cambios en el panorama geomorfológico del Caribe sobre la estructura genética de las especies del género *Apogon*. Un valor de diversidad de haplotipos de $h = 0$ indica que no existe ninguna diferencia entre los haplotipos, es decir, todos son idénticos y el valor de $h = 1$ explica una diversidad muy alta indicando que cada individuo presenta un haplotipo único (Grant y Bowen, 1998).

La diversidad de nucleótidos es el promedio de la divergencia entre haplotipos e indica la relativa edad evolutiva de la especie (Grant y Bowen, 1998). Índices bajos de diversidad de nucleótidos, indican que los linajes se formaron recientemente debido a la ocurrencia de eventos evolutivos de cuello de botella, lo cual parece ser el caso particular de las especies de este estudio, mientras que valores altos de diversidad de nucleótidos indican una divergencia muy antigua, donde se han acumulado una gran cantidad de mutaciones en poblaciones aisladas durante largos periodos de tiempo (Grant y Bowen, 1998).

Todas las especies pertenecientes al género *Apogon* presentan valores altos de diversidad de haplotipos ($h > 0.5$; Tabla 5) y valores bajos de diversidad de nucleótidos ($\pi < 0.5$; Tabla 5), de lo cual inferimos que estas especies comparten una misma historia evolutiva que estructuró las poblaciones mediante cambios geomorfológicos que conllevaron a procesos de reducción poblacional similares a cuellos de botella.

El aislamiento parcial de las poblaciones de las especies del género *Apogon* es posible reconocerlo en su estructura genética actual, donde los haplotipos de cada linaje corresponden a alguna de las regiones geográficas propuestas *a priori* (Tablas 5 y 6).

Con el análisis de coalescencia (Tabla 5), es posible identificar la correlación entre la estructura genética y los cambios geomorfológicos del Caribe (Pindall, 1993), y en particular a las regresiones y trasgresiones eustáticas del nivel del mar (Haq *et al.* 1987) como la causa principal del aislamiento parcial. Este mismo proceso se ha sugerido para diferentes grupos de peces teleosteos y equinodermos (Chenoweth *et al.* 1998; Waters *et al.* 2004).

El aislamiento parcial provocado por un efecto “fundador” o un evento evolutivo de cuello de botella en las poblaciones, fue seguido por un rápido crecimiento poblacional (Tabla 5). Este efecto se observa claramente en el número de haplotipos que presenta cada especie (Grant y Bowen, 1998) y es representado por la diferencia entre θ_0 y θ_1 (Tabla 5; Grant y Bowen, 1998), donde $\theta_0 \ll \theta_1$ en todos los casos.

El crecimiento poblacional representado por el valor de θ_1 , es el tamaño efectivo poblacional de gametos transmisibles a la siguiente generación, es decir, el tamaño de la población que podría soportar los efectos de la deriva con esa variación. En vista de que la mitocondria es heredada por la madre, también podríamos interpretarlo como la cantidad de hembras potencialmente reproductivas.

El efecto “fundador” consiste en que una población desciende de un pequeño número de individuos (Hedrik, 2005). El efecto de cuello de botella consiste en que un pequeño número de individuos o de haplotipos de un gen (para el caso del presente estudio) sobrevivió en una generación en particular o en generaciones consecutivas (Hedrik, 2005).

Frente a un cambio ambiental importante, la población ancestral sufrió una reducción drástica de haplotipos; ante esta reducción de la población, los procesos de endogamia y deriva génica se vuelven importantes (Hedrik, 2005; Eguiarte, 2009). Existe un incremento en la reproducción con los padres lo que aumenta la pérdida de heterocigosis; se pierden los haplotipos comunes y dominantes y se incrementa el número de haplotipos raros

dentro de la población; evita el efecto de la selección natural y eventualmente conduce a que se fije alguno de los haplotipos raros dentro de cada población (Eguiarte, 2009).

En casos de expansión cuando la diversidad de haplotipos se incrementa más rápido que la diversidad de nucleótidos, la población podría eliminar la señal de estructura genética dada la gran cantidad de haplotipos estrechamente relacionados (D'Amato y Carvalho, 2005). En contraste, los haplotipos divergentes acumularon una gran cantidad de mutaciones a lo largo del tiempo que provienen desde el haplotipo ancestral (D'Amato y Carvalho, 2005).

El tiempo mutacional desde la última expansión (τ) y la edad de la población, sitúan al evento de cuello de botella en el transcurso del último millón de años para las especies del género *Apogon* (Tabla 5).

El tiempo varía entre 200 ka (ka = mil años) y 56 ka. Estos efectos corresponden a las últimas dos regresiones eustáticas importantes del nivel del mar durante el Pleistoceno, donde el nivel del mar bajó entre 100 y 120m (Fig. 3; Haq *et al.* 1987). El mismo efecto vicariante, resultado de los eventos eustáticos de regresión, se ha propuesto para el atún de aleta azul, el pez espada (Alvarado Bremen, 2005) y para otros peces teleósteos (Chenoweth *et al.* 1998), así como para equinodermos (Waters *et al.* 2004).

El rápido crecimiento poblacional posterior al evento de cuello de botella se debe a trasgresiones del nivel del mar durante los periodos interglaciares que promovieron el re-contacto entre poblaciones y su posterior expansión. El nivel del mar, regresó a su nivel original y se incrementó entre dos y ocho metros aproximadamente por encima de este nivel (Fig. 3; Alvarado Bremen, 2005).

Este modelo de vicarianza debido a eventos eustáticos de regresión y trasgresión del nivel del mar sugiere que las barreras interoceánicas son permeables a lo largo de escalas de tiempo evolutivo (Bowen *et al.* 2001), dependiendo de las condiciones oceanográficas y afectando en un tiempo específico la región de distribución de una especie o de un grupo de especies (Alvarado Bremer *et al.* 2005).

Bajo este escenario las poblaciones no encuentran el equilibrio entre mutación y deriva génica (Grant y Bowen, 1998; D'Amato y Carvalho, 2005), presentando valores del análisis de Tajima significativos (desviación del equilibrio significativa) indicando que la variación molecular de la población no es neutral (Hedrik, 2005) debido a que las poblaciones de una especie se encuentran en crecimiento (Grant y Bowen 1998), permitiendo que incremente el efecto de la selección natural en vez de acumular mutaciones y permitir el efecto de la deriva génica (homocigosis y pérdida de variación genética; Hedrik, 2005; Eguiarte, 2009).

Este caso se presenta en *A. maculatus*, *A. binotatus* y *A. townsendi* donde se observa un haplotipo común muy parecido al ancestral y una gran cantidad de haplotipos únicos y con una mínima diferencia en la población radiando a partir del haplotipo común (Fig.36, 38 y 39).

La firma característica de la desviación del equilibrio en la estructura genética de las poblaciones se ha detectado en peces pelágicos como una red haplotípica (MST) con forma parecida a una estrella (Rogers y Harpending, 1992; Slatkin y Hudson, 1991; Alvarado Bremen *et al.* 2005; D'Amato y Carvalho, 2005), con un centro

donde se ubica el haplotipo más común y el resto de los haplotipos radiando a partir de él (ej. Fig.36, 38 y 39; Shields y Gust, 1995; Magoulas *et al.* 1997; Bowen y Grant, 1997; Grant y Bowen, 1998; McLean *et al.* 1999; D'Amato y Carvalho, 2005).

Caso contrario se presenta en *A. phenax* y *A. lachneri* donde las poblaciones no mostraron evidencia de expansión (Tabla 5). Estas dos especies están acumulando mutaciones donde la mayoría de las sustituciones alélicas de cada haplotipo no tiene una ventaja selectiva sobre el alelo que reemplaza (Hedrik, 2005), presentan los valores más altos de diversidad de haplotipos ($h = 0.84$ y $h = 0.89$ respectivamente) y la deriva génica es el factor principal de divergencia haplotípica (Hedrik, 2005; Eguiarte, 2009).

Asimismo, la red haplotípica no presenta un patrón parecido a una estrella (Fig. 37 y 40). El tiempo de divergencia del gen es mayor en estos dos grupos en comparación con las demás especies, lo que sugiere una historia evolutiva más antigua en comparación con las demás especies analizadas, lo que pudo haber llevado a estas dos especies a alcanzar su equilibrio mutacional-deriva génica, bajo la teoría de neutralidad (Alvarado Bremen *et al.* 2005; Hedrik, 2005).

Los patrones de haplotipos dominantes y numerosos haplotipos raros se pueden deber a selección (diferencias en las tasas de mortalidad en los diferentes estadios del ciclo de vida de los peces), patrones demográficos como el éxito reproductivo de algunas hembras o machos lo cual puede ser un factor entre las especies que presentan índices de fecundidad muy altos (Avise *et al.* 1984; Hedgecock, 1994) o eventos históricos en las poblaciones como cuellos de botella, seguidos de una rápida expansión poblacional (D'Amato y Carvalho, 2005).

La estructura genética de las especies del género *Apogon* puede entenderse en función de la región en la que se distribuyen las diferentes poblaciones ($p < 0.05$) relacionando la variación entre cada población con la localidad de muestreo.

Hart y Clark (1997, 2000) proponen casos extremos para los valores de Φ_{ST} donde el máximo valor teórico es de uno e indica una extensa diferenciación genética (sin flujo genético entre poblaciones de la misma especie). El mínimo valor teórico es de cero, lo que indica que no hay diferenciación genética y altos índices de flujo genético entre las diferentes poblaciones de la misma especie (Hart y Clark, 1997; Hart y Clark, 2000).

Hart y Clark (1997, 2000) proponen que un flujo genético moderado es posible comprenderlo dentro de los valores de Φ_{ST} de 0.05 a 0.15, una estructura genética intermedia es representado por los valores de Φ_{ST} de 0.15-0.25, donde todavía existe flujo genético importante y valores por encima de 0.25 indican altos niveles de diferenciación genética donde el flujo genético no existe o es muy bajo.

Los valores de Φ_{ST} significativos ($p < 0.05$; Tabla 6) de las especies analizadas en el presente estudio muestran que el aislamiento poblacional fue parcial ($\Phi_{ST} = 0.8-0.41$), que hubo un intercambio genético entre poblaciones presumiblemente por el incremento en el nivel del mar (Alvarado Bremer *et al.* 2005).

En *Apogon maculatus* el flujo genético fue casi nulo. Caso contrario se puede observar en *A. townsendi* donde el flujo genético fue muy importante por lo cual el porcentaje de la variación que puede ser explicado por la región de muestreo es muy bajo ($\Phi_{ST} = 0.8$; Tabla 6).

Un valor bajo en la estructura genética como *A. townsendi* se puede esperar en organismos cuya fase pelágica es muy extensa (Rocha *et al.* 2002; Bowen *et al.* 2006; Rocha *et al.* 2008). Este patrón se ha observado en especies arrecifales del Caribe como los equinodermos del género *Diadema* (Lessios *et al.* 2001) con un estadio larval de aproximadamente seis semanas y el pez cirujano *Acanthurus babianus* (Rocha *et al.* 2002) con aproximadamente 60 días de periodo larvario.

Sin embargo, este patrón también se ha identificado en especies caribeñas con una fase larvaria de poca duración como *Chromis multilineata* (Rocha, *et al.* 2008) cuya fase larvaria varía entre 27 y 33 días (Wellington y Robertson, 2001). Este periodo es muy pequeño para permitir que las larvas de una región como Belice puedan llegar a otra región como las Antillas Holandesas (Manning y Chace, 1991).

Los juveniles de *Chromis multilineata* (Rocha *et al.* 2008) en el Caribe y en juveniles de su especie hermana *C. atrilobata* (Mora, 2001; Wells y Rooker, 2004) en los arrecifes del Pacífico, se han observado a la deriva bajo objetos flotantes (Mora, 2001; Wells y Rooker, 2004). Por lo cual, los juveniles de *C. multilineata* sobreviven largos periodos de tiempo después de la transformación de larva a juvenil (Rocha *et al.* 2008), permitiendo que las corrientes tropicales del Caribe los transporten entre estas localidades (Stramma y England, 1999; Hazeleger *et al.* 2003).

Más estudios son necesarios para estimar la duración del periodo larvario y juvenil en *A. townsendi* como el análisis de otolitos (Brothers *et al.* 1976), así como la observación de la conducta de los juveniles (Emery, 1968) para ratificar que estos son los procesos que han permitido una estructura genética baja y un flujo genético moderado entre las poblaciones de esta especie (Tabla 6; Hart y Clark, 1997; Hart y Clark, 2000).

Belice es el centro de origen de la diversificación de las especies del género *Apogon* ya que la mayor parte de los haplotipos se encuentran en esta región, donde la distancia entre los haplotipos más comunes (cercaos al haplotipo ancestral; D'Amato y Carvalho, 2005) y los haplotipos raros de esta localidad es corta (Fig. 36-40). Asimismo todas las especies analizadas en el presente estudio se encuentran representadas en esta región geográfica (ver Anexo).

Bahamas y las Antillas Holandesas actúan como centros de acumulación de diversidad ya que la mayor parte de los haplotipos de estas regiones provienen de los haplotipos más comunes encontrados en Belice (Fig. 36-40).

El caso contrario es propuesto por Rocha *et al.* (2008); el análisis filogeográfico de *C. multilineata* y peces del género *Sparisoma* (peces perico; Rocha *et al.* 2008), muestran a las regiones cercanas a Brasil y del sur del Atlántico como el centro de origen de diversidad del Caribe donde se encuentran los haplotipos más comunes, relacionados al haplotipo ancestral (D'Amato y Carvalho, 2005) y donde los haplotipos del resto del Caribe se han diversificado a partir de los haplotipos brasileños.

Rocha *et al.* (2008) muestra al resto del Caribe como centro de acumulación de diversidad.

Apogon aurolineatus, *A. pseudomaculatus*, *A. planifrons*, *Apogon sp.*, *A. robinsi*, *A. mosavi*, *A. robbyi* y *A. quadrisquamatus* solo se encontraron en Belice. Estas especies han sido reportadas en todo el Caribe (Longley, 1932; Longley, 1934; Bhölke y Randall, 1968; Bhölke y Chaplin, 1968; Dale, 1977; Gilbert y Tyler, 1997), sin embargo, en el periodo de muestreo (2004 a 2008) del que provienen estas muestras solo fueron encontradas en Belice.

Los estudios filogeográficos en especies marinas se han llevado a cabo usando una gran variedad de técnicas y de marcadores como allozymas (ej. Doherty *et al.* 1994; Planes *et al.* 1996; Planes y Doherty, 1997), RFLP “Restriction Fragment Length Polymorphism” (ej. Bermingham y Lessios, 1993; Grant *et al.* 1998; Graves, 1998; Benzie *et al.* 2002; D’Amato y Carvalho, 2005), microsatelites (ej. Market *et al.* 1999; Benzie, 2000; Van Herwerden *et al.* 2000), la región control del DNA mitocondrial (Bernardi, 2000; Terry *et al.* 2000; Bernardi *et al.* 2001; Ovenden *et al.* 2002; Planes y Fauvelot, 2002) o citocromo *b*, citocromo oxidasa 1 (CO1) y genes nucleares (Duda y Palumbi, 1999; Nelson *et al.* 2000; Bowen *et al.* 2001; Colborn *et al.* 2001; Muss *et al.* 2001; Planes *et al.* 2001; Chenoweth *et al.* 2002; Rocha *et al.* 2002).

En estos estudios es la fase pelágica de las larvas y juveniles el mecanismo principal de dispersión (Palumbi, 1994; Palumbi, 1997; Knowlton, 2000; Lessios *et al.* 2001; Lessios *et al.* 2003). Estos estadíos de dispersión afectan el nivel de conectividad genética entre las diferentes poblaciones de una misma especie (Bowen *et al.* 2006).

Conclusiones

Este trabajo contribuye con siete puntos principales:

1. El código de barras genético mediante el uso del gen de CO1, mostró su utilidad en este estudio para separar y agrupar las larvas y juveniles del género *Apogon* dentro de los adultos ya descritos del mismo género de los arrecifes del Mar Caribe.
2. El subsecuente estudio del acervo fotográfico de larvas y juveniles tomado a la hora de la recolección, así como de las larvas y juveniles ya preservados permitió identificar sus caracteres diagnósticos.
3. Los caracteres que permiten diferenciar a las larvas del género *Apogon* son los patrones de cromatóforos. Los patrones de melanóforos y los caracteres morfométricos son limitados, solo ayudan a separar a *Apogon aurolineatus* del resto de las larvas del género *Apogon* por medio del tamaño del pedúnculo caudal. Los caracteres que ayudan a diferenciar a los juveniles son los patrones de cromatóforos, los patrones de melanóforos y el número de espinas branquiales en el lóbulo inferior del primer arco branquial.
4. Las especies del género *Apogon* (*A. maculatus*, *A. phenax*, *A. binotatus*, *A. townsendi* y *A. lachneri*) presentan una estructura genética relacionada con la separación espacial y ubicación geográfica de las localidades para el gen de CO1.

5. Belice es probablemente el centro de origen de la diversificación del gen CO1 en el género *Apogon* en el Caribe. Bahamas y las Antillas Holandesas actúan como centros de acumulación de diversidad, no obstante se requiere de un muestreo significativo para confirmarlo.
6. Los cambios eustáticos en el nivel del mar desde hace 200-56 mil años, pudieron ser los factores ambientales que determinaron la diversificación de las especies del género *Apogon*.

Larvas y juveniles de especies de peces de arrecifes que se encuentran cercanamente relacionadas presentan dificultades en su identificación debido a la falta de caracteres diagnósticos que la faciliten, como es el caso de los adultos.

Usar una pequeña sección de DNA mitocondrial para emparentar los diferentes estadios del desarrollo de peces arrecifales en el Mar Caribe, permite incrementar el número de identificaciones de larvas y juveniles de diferentes especies. Además de su importancia en estudios filogenéticos (ej. Ahlstrom *et al.* 1984) los diferentes estadios del desarrollo de los peces de arrecifes coralinos pueden ser importantes en el entendimiento de la dinámica y estructura tanto en tiempo como en espacio de las poblaciones y comunidades de los mismos (Longenecker y Langston, 2006).

A diferencia de los ambientes terrestres, en los ambientes marinos se podría pensar que no es posible identificar barreras geográficas claras para la dispersión y el flujo genético, sobre todo en especies pelágicas que presentan amplios rangos de distribución, lo que resultaría en una pequeña estructura genética entre las diferentes poblaciones de la misma especie (ej. Ovenden, 1990; Palumbi, 1994; Graves, 1998; Waples, 1998), sin embargo existen un gran número de casos en los que se muestra un patrón diferente con estructuras genéticas bien definidas (ej. Ruzzante *et al.* 1996; Lundy *et al.* 1999; Shaw *et al.* 1999; y el presente estudio).

La estructura genética actual del género *Apogon* es un reflejo de su historia filogeográfica y nos ayuda a entender su diversidad dentro de la región del Caribe, sugiriendo que este género, es propenso a la subdivisión genética y a evolucionar rápidamente. Sin embargo es preciso profundizar el estudio de la genética poblacional de estas especies incrementando el número de localidades y el tamaño de las muestras al igual que utilizando otros marcadores moleculares mitocondriales y nucleares.

Referencias

Alvarado Bremen, J. R., J. Viñas, J. Mejuto, B. Ely y C. Pla. 2005. Comparative phylogeography of Atlantic bluefin tuna and swordfish: the combined effects of vicariance, secondary contact, introgression, and population expansion on the regional phylogenies of two highly migratory pelagic fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 36, 169-187.

- Ana Carolina A. O. y Q. Carnaval (2002). Phylogeography of four frog species in forest fragments of Northeastern Brazil-A preliminary study. *Integrative and Comparative Biology*. 42, 913-921.
- Avé Lallemand, H. G. y V. B. Sisson. (1993). Caribbean-South American interactions: constraints from the Cordillea de la Costa Belt, Venezuela. *En: Pindell, J. L. (Ed.). Mesozoic and early Cenozoic Development of the Gulf of Mexico and Caribbean Region*. 13th Annual research Conference, Gulf Coast Section SEPM Foundation, Transactions.
- Avise, J. C. (1975). Systematic value of electrophoretic data. *Systematic Zoology* 23, 465–481.
- Avise, J. C., Neigel, J. E., y Arnold, J. 1984. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. *Journal of Molecular Evolution*. 20, 99-105.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, y N. C. Saunders. (1987). Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18, 489-522.
- Avise, J. C. (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. New York, NY. Chapman & Hall.
- Baldwin, C.C. y D. G. Smith. (2003). Larval Gobiidae (Teleostei: Perciformes) of Carrie Bow Cay, Belize, Central America. *Bulletin of Marine Science*, 72, 639–674.
- Baldwin, C. C., Mounts J. H., Smith D. G. & Lee, A. W. (2009). Genetic identification and color descriptions of early life-history stages of Belizean *Phaeoptyx* and *Astrapogon* (Teleostei: Apogonidae) with Comments on identification of adult *Phaeoptyx*. *Zootaxa*, 2008, 1–22.
- Bates, J. M. (2000). Allozymic genetic structure and natural habitat fragmentation: Data for five species of Amazonian forest birds. *Condor*. 102, 770–783.
- Bates, J. M. (2002). The genetic effects of forest fragmentation on five species of Amazonian birds. *Journal of Avian Biology*. 33, 276–294.
- Beets, D. J., W. V. Maresch, G. Th. Klaver, A. Mottana, R. Bocchio, F. F. Beunk y H. P. Monen. (1984). Magmatic rock series and high-pressure metamorphism as constraints on the tectonic history of the southern Caribbean, *En: Bonini, W. E., R. B. Hargraves, y R. Shagan (Eds.). The Caribbean-South American Plate Boundary and Regional Tectonics*. Geological Society of America Memoir. 162, 95-130.
- Benzie JAH, Ballment E, Forbes AT, Demetriades NT, Sugama K, Haryanti, Moria S. 2002. Mitochondrial DNA variation in Indo-Pacific populations of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Molecular Ecology*. 11, 2553-2569.

- Bermingham, E. y C. Moritz. (1998). Comparative phylogeography: Concepts and applications. *Molecular Ecology*. 7, 367–369.
- Bermingham, E. y J. C. Avise. (1986). Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics*. 113, 939–965.
- Balon, E. K. (1975). Terminology of intervals in fish development. *Journal of Fishery Research Board of Canada*, 32, 1663–1670.
- Barrett, R.D.H. y P. D. N. Hebert. (2005). Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*, 83, 481–491.
- Bartlett, S. E. y W. S. Davidson. (1991). Identification of Thunnus tuna species by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of their mitochondrial cytochrome b genes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 48, 309–317.
- Böhlke, J.E. y J. E. Randall. (1968). A key to the shallow-water Atlantic cardinalfishes (Apogonidae), with descriptions of five new species. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 120, 175–206.
- Böhlke, J. E. & Chaplin, C. C. G. (1968) *Fishes of the Bahamas and Adjacent Tropical Waters*. Segunda Edición. University of Texas Press, Austin, 771 pp.
- Bowen, B. W., and Grant, W. S. 1997. Phylogeography of sardines (*Sardinops spp.*): assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. *Evolution*. 51, 1601-1610.
- Bowen, B.W., Bass, A.L., Rocha, L.A., Grant, W.S., Robertson, D.R., 2001. Phylogeography of the trumpet fishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale. *Evolution*. 55, 1029–1039.
- Bowen B. W., Bass A. L., Muss A., Carlin J. L, Robertson D. R. 2006. Phylogeography of two Atlantic squirrelfishes (Family Holocentridae): exploring links between pelagic larval duration and population connectivity. *Marine Biology* 149, 899-913.
- Breder, C. M., Jr. y D. E. Rosen. (1966). *Modes of Reproduction in Fishes*. Natural History Press, Garden City, 941 pp.
- Briggs, J.C. (1984). Freshwater fishes and biogeography of Central America and the Antilles. *Systematic Zoology*. 33, 428-435.
- Brothers, E. B., C. P. Mathews y R. Lasker. 1976. Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. *Fishery Bulletin*. 74, 1-8.
- Briggs JC. 1981. Do centers of origin have a center? *Paleobiology*. 7, 305-307.

- Briggs JC. 2005. The marine East Indies: diversity and speciation. *Journal of Biogeography*. 32, 1517-1522.
- Buffler, R. T. y D. S. Sawyer. (1985). Distribution of crust and Early History, Gulf of Mexico Basin. *Gulf Coast Association of Geological Societies Transactions*. 35, 333-344.
- Chantangsi, C., D. H. Lynn, M. T. Brandl, J. C. Cole, N. Hetrick, y P. Ikonomi. (2007). Barcoding ciliates: a comprehensive study of 75 isolates of the genus *Tetrahymena*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 2412–2425.
- Charney, P. (1976). Oral brooding in the cardinalfishes *Phaeoptyx conklini* and *Apogon maculatus* from the Bahamas. *Copeia*, 1976, 198-200.
- Chenoweth, S.F., Hughes, J.M., Keenan, C.P., Lavery, S., 1998. When oceans meet: a teleost shows secondary intergradation at an Indian–Pacific interface. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*. 265, 415–420.
- Clare, E. L., B. K. Lim, M. D. Engstrom, J. L. Eger y P. D. N. Hebert. (2007). DNA barcoding of neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes*, 7, 184–190.
- Colborn, J., R. E. Crabtree, J. B. Shaklee, E. Pfeiler, and B. W. Bowen. 2001. The evolutionary enigma of bonefishes (*Albula* spp.): Cryptic species and ancient separations in a globally distributed shorefish. *Evolution*. 55, 807–20.
- Costa, F. O., J. R. deWaard, J. Boutillier, S. Ratnasingham, R. T. Dooh, M. Hajibabaei y P. D. N. Hebert. (2007). Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 64, 272–295.
- Dale, G. (1977). *Apogon mosavi*, a new Western Atlantic cardinalfish, and a note on the occurrence of *Apogon leptocaulus* in the Bahamas. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 90, 19–29.
- D’Amato, M. E. D. y G. R. Carvalho. (2005). Population genetic structure and history of the long-tailed hake, *Macruronus magellanicus*, in the SW Atlantic as revealed by mtDNA RFLP analysis. *Journal of Marine Science*. 62, 247-255.
- Dasdmahapatra, K. K. y J. Mallet. (2006). DNA barcodes: recent successes and future prospects. *Heredity* (2006) 97, 254–255.
- Dengo G, Case JE. (Ed., 1990). *The Caribbean Region*. Geological Society of America, Boulder, Colorado.
- Doherty PJ, Mather P, Planes S. 1994. *Acanthochromis polyacanthus*, a fish lacking larval dispersal, has genetically differentiated populations at local and regional scales on the Great Barrier Reef. *Marine Biology*. 121, 11-21.
- Ebina, K. (1932). Buccal Incubation in the Two Sexes of a Percoid Fish, *Apogon semilineatus* T. & S. *Journal of the*

Imperial Fisheries Institute, Tokyo, 27(1), 19–21.

- Eguiarte, L. E. 2009. Nueva guía para principiantes a la genética de poblaciones. En: Morrono, J.J., P. Magaña (Eds). *Evolución Biológica. Una visión actualizada desde la revista Ciencias*. Facultad de Ciencias, UNAM, México. Pp. 83-102.
- Emery, A. R. 1968. Preliminary Observations on Coral Reef Plankton. *Limnology and Oceanography*. 13, 293-303
- Engelbreton, D. C. (1982). *Relative motions between oceanic and continental plates in the Pacific basin*. Tesis Doctoral. Universidad de Stanford, CA. 211 pp.
- Excoffier, L., P. E. Smouse, and 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.
- Gonzalez de Juana, C., J. A. Arozema y X. Picard Cardillat. (1980). *Geología de Venezuela y sus cuencas petrolíferas*. Ed. Foninzes, Caracas, Venezuela. 1031 pp.
- Grant, W. S., and Bowen, B. W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*. 89, 415-426.
- Graves, J. E. (1998). Molecular insights into population structure of cosmopolitan fishes. *Journal of Heredity*. 89, 427-437.
- Gilbert, C. R. y J. C. Tyler. (1997). *Apogon robbyi* a new cardinalfish (Perciformes:Apogonidae) from the Caribbean Sea. *Bulletin of Marine Science*, 60(3), 764-781.
- Gon, O. (2002) Apogonidae. En: Carpenter, K. (Ed.), *The living marine resources of the Western Central North Atlantic. Vol. 3: Bony fishes part 2 (Opisthognathidae to Molidae), sea turtles and marine mammals*. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes and American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication No. 5, Rome, pp. 1386–1391.
- Hajibabaei, M., D. H. Janzen, J. M. Burns, W. Hallwachs y P. D. N. Hebert. (2006). DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 103, 968–971.
- Hajibabaei, M., Singer, G. A. C., Hebert, P. D. N & Hickey, D. A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23(4), 167–172.
- Hale, H. M. (1947). Evidence of the Habit of Oral Gestation in a South Australian Marine Fish (*Apogon conspersus* Klunzinger). *The South Australian Naturalist*, 24(3), 1–3.

- Hallman, A. (1990). Mass extinctions: processes, earth-bound causes, pp. 160-164 *En: Briggs, D. G. y P. R. Crowther (Ed.). Paleobiology: a synthesis*. Blackwell Scientific Publications. Londres.
- Haq BU, J. Hardonbol, P. R. Vail. (1987) Chronology of fluctuating sea levels since the Triassic. *Science*, 235, 1156-1167.
- Hazeleger W., de Vries P., Friocourt Y. 2003. Sources of the equatorial undercurrent in the Atlantic in a high-resolution ocean model. *Journal of Physical Oceanography*. 33, 677-693.
- Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S. L. Ball, J. R. de Waard. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B. Biological Sciences*, 270, 313–321.
- Hebert, P.D.N., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen y W. Hallwachs. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the Natural Academy of Science*, 101 (41), 14812–14817.
- Hebert, P. D. N., M. Y. Stoeckle, T. S. Zemplak y C. M. Francis. (2004). Identification of birds through DNA barcodes. *PloS Biology*, 2, 1657–1663.
- Hedgecock, D. (1994). Does variance in reproductive success limit effective population size in marine organisms? *En: Beaumont, A. R.. Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*, pp. 122-134. Chapman & Hall, London. 539 pp.
- Hedrik, P. H. 2005. *Genetics of Populations*. 3a. ed. Jones & Bartlett Publishers. Arizona, EUA. 737 pp.
- Jablonski, D. (1986). Causes and consequences of mass extinctions. Pp. 183-229. *En: Elliot, D. K. (Ed.). Dynamics of extinctions*. Wiley-Nueva York.
- Janzen, D.H., M. Hajibabaei, J. M. Burns, W. Hallwachs, E. Remigio, P. D. N. Hebert (2005). Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 360, 1835–1845
- Jarman, S. N. y N. G. Elliott. (2000). DNA evidence for morphological and cryptic Cenozoic speciations in the Anaspidae, 'living fossils' from the Triassic. *Journal of Evolutionary Biology*, 13,624–633.
- Johnson, G. D. 1984. Percoidei: development and relationships. *In: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. E., Kendall Jr., A. W. & Richardson, S. L. (Eds.). Ontogeny and systematics of fishes*. Special publication No. 1, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Lawrence, KS, pp. 464–498
- Johnson, G. D. y A. C. Gill. 1994. Perches and allies. *In: Eschmayer, W. N. & Paxton, J. R. (Eds.). Encyclopedia of Fishes*. New South Wales Press, Sydney, pp. 181–196.

- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- Knowlton, N. (1993). Sibling species in the sea. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24, 189-216.
- Kress, W. J. K. J. Wurdack, E. A. Zimmer, L. A. Weigt y D. H. Janzen (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Science*. 102, 8369–8374
- Ladd, J. W. (1976). Relative motion of South America with respect to North America and Caribbean tectonics. *Geological Society of America Bulletin*. 87, 969-976,
- Lambeck, K., Esat, T.M., Potter, E.K., (2002). Links between climate and sea levels for the past three million years. *Nature*. 419, 199-206.
- Lara, M. R. (2006). Apogonidae: Cardinalfishes. *En: Richards, W. J. (Ed.). Early stages of Atlantic fishes: an identification guide for western central North Atlantic*. Volume II, CRC Press, Boca Raton, pp. 1363–1387.
- Lefebure, T., C. J. Douady, M. Gouy y J. Gibiert. (2006). Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: proposal of a molecular threshold to help species delimitation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40, 435–447.
- Leis, J. M. y D. D. Rennis. (2000). Apogonidae (Cardinalfishes). *En: Leis, J. M y B. M. Carson—Ewart (Eds.). The larvae of Indo-Pacific coastal fishes. An identification guide to marine fish larvae*. Fauna Malesiana Handbooks, The Netherlands, pp. 273–279.
- Lessios H. A., Kessing B. D., Pearse J. S. 2001. Population structure and speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin *Diadema*. *Evolution*. 55, 955-975.
- Lessios HA, Kane J, Robertson DR. 2003. Phylogeography of the pantropical sea urchin *Tripneustes*: contrasting patterns of population structure between oceans. *Evolution*. 57, 2026-2036.
- Longenecker, K. y R. Langston. (2006). Life History Characteristics of a Small Cardinalfish, *Ostorbinchus rubrimacula* (Percoidei: Apogonidae), from Koro, Fiji. *Pacific Science*, 60(2), 225–233.
- Lundy, C. J., Moran, P., Rico, C., Milner, R. S., and Hewitt, G. M. 1999. Macrogeographical population differentiation in oceanic environments: a case study of European hake (*Merluccius merluccius*), a commercially important fish. *Molecular Ecology*. 8, 1889-1898.
- Mabuchi, K, N. Okuda, M. Nishida. (2006). Molecular phylogeny and stripe pattern evolution in the cardinalfish genus *Apogon*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38, 90-99.

- Magoulas, A., Tsimenides, N., y Zouros, E. 1996. Mitochondrial DNA phylogeny and the reconstruction of the population history of a species: the case of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Molecular Biology and Evolution*. 13, 178-190.
- Manning R. B., Chace F. A. 1999. Decapod and stomatopod Crustacea from Ascension Island, South Atlantic Ocean. *Smithsonian Contributions to Zoology*. 503, 1-91.
- McLean, J. E., Hay, D. E., and Taylor, E. B. 1999. Marine population structure in an anadromous fish: life history influences patterns of mitochondrial DNA variation in the eulachon, *Thaleichthys pacificus*. *Molecular Ecology*. 8, 143-158.
- Meyer, C. P. y G. Paulay. (2005). DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *Ploss Biology*. 3, 2229–2238.
- Montgomery, H., E. A. Pessagno, Jr. y I. M. Muñoz. (1992). Jurassic (Tithonian) Radiolaria from La Désirade (Lesser Antilles): Preliminary paleontological and tectonic implications. *Tectonics*. 11, 1426-1432.
- Mora C. 2001. Dispersal of juvenile and adult reef fishes with floating objects and their recruitment into Gorgona Island reefs. *Bulletin of Marine Science*. 68, 557-561.
- Mora C, Chittaro PM, Sale PF, Kritzer JP, Ludsin SA. 2003. Patterns and processes in reef fish diversity. *Nature*. 421, 933-936.
- Moritz, C. y D. P. Faith. (1998). Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology*. 7, 419–429.
- 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*. Columbia University Press, New York.
- Neigel JE, Avise JC (1993) Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. *Genetics*. 135, 1209-1220.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the World*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, pp. 339–442.
- Newell, N. D. (1967). Revolutions in the history of life. *Apecial papers of the Geological Society of America*. 89, 63-91.
- Ovenden, J. R. (1990). Mitochondrial DNA and marine stock assessment: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*. 41, 835-853.

- Packer, L., J. Gibbs, C. Sheffield y R. Hanner. (2009). DNA barcoding and the mediocrity of morphology. *Molecular Ecology Resources*, 9(1), 42–50.
- Palumbi, S. R. (1994). Genetic divergence, reproductive isolation and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 25, 547-572.
- Palumbi S.R. 1997. Molecular biogeography of the Pacific. *Coral Reefs*. 16,S47-S52.
- Pandolfi, J. M. (1999). Response of pleistocene coral reefs to environmental change over long temporal scales. *American Zoology*. 39, 113-130.
- Patton, J. L., M. N. F. da Silva, y J. R. Malcolm. (1996). Hierarchical genetic structure and gene flow in three sympatric species of Amazonian rodents. *Molecular Ecology*. 5, 229–238.
- Peeters, F.J. C., R. Acheson, G. J. Brummer, W.P.M. de Ruijter, R.R. Schneider, G.M. Ganssen, E. Ufkes, D. Kroon. (2004). Vigorous exchange between the Indian and Atlantic oceans at the end of the past Wve glacial periods. *Nature*. 430, 661–665.
- Pegg, G. G., B. Sinclair, L. Briskey y W. J. Aspden. (2006). MtDNA barcode identification of fish larvae in the southern Great Barrier Reef, Australia. *Scientia Marina*, 70 (Suppl. 2), 7–12.
- Pindell JL, Barrett SF (1990) Geological evolution of the Caribbean region; a plate-tectonic perspective. *En: Dengo G, Case JE. (Ed.). The Caribbean Region*. Pp. 405-432. Geological Society of America, Boulder, Colorado.
- Planes, S. and C. Fauvelot. 2002. Isolation by distance and vicariance drive genetic structure of a coral reef fish in the Pacific Ocean. *Evolution*. 56, 378–99.
- Planes S, Galzin R, Bonhomme F. 1996. A genetic metapopulation model for reef fishes in oceanic islands: the case of the surgeonfish, *Acanthurus triostegus*. *Journal of Evolutionary Biology*. 9, 103-117.
- Richards, W. J. (Ed., 2006). *Early stages of Atlantic fishes: an identification guide for western central North Atlantic*. Volume II, CRC Press, Boca Raton, 2640 pp.
- Rocha L. A., Bass A. L., Robertson D. R., Bowen B. W. 2002. Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae). *Molecular Ecology*. 11, 243-252.
- Rocha, L. A., C. R. Rocha, D. R. Robertson, B. W. Bowen. 2008. Comparative phylogeography of Atlantic reef fishes indicates both origin and accumulation diversity in the Caribbean. *Evolutionary Biology*. 8, 1-16.

- Rohling, E.J., Fenton, M., Jorissen, F.J., Bertrand, P., Ganssen, G., Caulet, J.P., (1998). Magnitudes of sea-level lowstands of the past 500,000 years. *Nature*. 394, 162-165.
- Rogers, A.R., Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9, 552–569.
- Rowley, D. B. y J. L. Pindell (1989). End Paleozoic-Early Mesozoic western Pangean reconstruction and its implications for the distribution of Precambrian and Paleozoic rocks around Meso-America. *Precambrian Research*. 42, 411-444.
- Ruzzante, D. E., Taggart, C. T., Cook, D., y Goddard, S. (1996). Genetic differentiation between inshore and offshore Atlantic cod (*Gadus morhua*) off Newfoundland: microsatellite variation and antifreeze level. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 53, 634-645.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.
- Santini F, Winterbottom R. 2002. Historical biogeography of the Indowestern Pacific coral reef biota: is the Indonesian region a centre of origin? *Journal of Biogeography*. 29, 189-205.
- Saunders, G. (2005). Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360, 1879–1888.
- Scicluna, S.M., B. Tawari y C. G. Clark. (2006) DNA barcoding of blastocystis. *Protist* 157, 77–85.
- Seifert, K. A., Samson, R. A., deWaard, J. R., Houbraken, J., Levesque, C. A., Moncalvo, J. M., Louis-Seize, G. & Hebert, P. D. N. (2007). Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 104, 3901–3906.
- Seutin, G., White, B. N. & Boag, P. T. (1990) Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analysis. *Canadian Journal of Zoology*, 69, 82–90.
- Sepulcre, S., L. Vidal, K. Tachikawa, F. Rostek y E. Bard. (2010). Sea-surface salinity variations in the Northern Caribbean Sea across the mid-Pleistocene transition. *Climate of the Past Discussions*.6, 1229-1265.
- Schäuble, C. S. y C. Mortiz. (2001). Comparative phylogeography of two open forest frogs from eastern Australia. *Biology Journal of Linnean Society*. 74, 157–170.

- Schneider, C. J., M. Cunningham, y C. Moritz. (1998). Comparative phylogeography and the history of endemic vertebrates in the Wet Tropics rainforests of Australia. *Molecular Ecology*. 7, 487-498.
- Schneider, S., D. Roessli, and L. Excoffier. 2000. Arlequin ver. 2.00. A software for population genetics data analysis. <http://anthro.unige.ch/arlequin>.
- Shaw, P. W., Pierce, G. J., and Boyle, P. R. 1999. Subtle population structuring within a highly vagile marine invertebrate, the veneid squid *Loligo forbesi*, demonstrated with microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 8, 407-417.
- Shields, G. F., y Gust, J. R. 1995. Lack of geographic structure in mitochondrial DNA sequences of the Bering Sea walleye pollock *Theragra chalcogramma*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 4, 69-82.
- Simonsen, K. L., Churchill, G. A., and Aquadro, C. F. (1995). Properties of statistical tests of neutrality for DNA polymorphism data. *Genetics*. 141, 413-429.
- Slatkin, M., Hudson, R., 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*. 129, 555–562.
- Smith, D. G. 1995. Preservation of color in larval fishes. *Curation Newsletter No. 11, American Society of Ichthyologists and Herpetologists*. 11, 5–6pp.
- Sogin, M.L., H. G. Morrison, J. A. Huber, D. M. Welch, S. M. Huse, P. R. Neal, J. M. Arrieta, G. J. Herndl. (2006) Microbial diversity in the deep sea and the underexplored ‘rare biosphere’. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103, 12115–12120.
- Stramma L., England M. 1999. On the water masses and mean circulation of the South Atlantic Ocean. *Journal of Geophysical Research*. 104, 20863-20884.
- Stuart-Fox, D. M., C. J. Schneider, C. Moritz, and P. J. Couper. 2001. Comparative phylogeography of three rainforest-restricted lizards from mid-east Queensland. *Australian Journal of Zoology*. 49, 119–127.
- Summerbell, R.C., C. A. Lévesque, K. A. Seifert, M. Bovers, J. W. Fell, M. R. Díaz, T. Boekhout, G. S. de Hoog, J. Stalpers y P. W. Crous. (2005) Microcoding: the second step in DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences*. 360, 1897–1903
- Swofford, D. L. (2002). *PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods), version 4beta10*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationships od DNA sequences in finite populations. *Genetics*. 105, 555-562.

- Tajima F. 1993. Measurement of DNA polymorphism. In *Mechanisms of Molecular Evolution. Introduction to molecular paleopopulation biology* Edited by: Takahata N, Clark AG. Tokyo, Japan Scientific Press.
- Taylor M. S. y M. E. Hellberg. (2006). Comparative phylogeography in a genus of coral reef fishes: biogeographic and genetic concordance in the Caribbean. *Molecular Ecology*. 15, 695-707.
- Victor, B.C. (2007). *Coryphopterus kuma*, a new goby (Perciformes: Gobiidae: Gobiinae) from the western Caribbean, with the identification of the late larval stage and an estimate of the pelagic larval duration. *Zootaxa*, 1526, 51–61.
- Victor, B. C., Hanner, R., Shivji, M., Hyde, J. & Caldow, C. (2009). Identification of the larval and juvenile stages of the Cubera Snapper, *Lutjanus cyanopterus*, using DNA barcoding. *Zootaxa*, 2215: 24–36.
- Waples, R. S. (1998). Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity*. 89, 438-450.
- Ward, R. D., Zemplak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R. & Hebert, P. D. N. (2005). DNA Barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360, 1847–1857.
- Ward, R.D., R. H. Hanner y P.D.N. Hebert. (2009). The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *Journal of Fish Biology*, 74, 329–356.
- Waters, J.M., O'Loughlin, P.M., Roy, M.S. 2004. Cladogenesis in a starfish species complex from southern Australia: evidence for vicariant speciation? *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 32, 236–245.
- Wellington G. M., Robertson D. R. 2001. Variation in larval life-history traits among reef fishes across the Isthmus of Panama. *Marine Biology*. 138, 11-22.
- Wells R. J. D, Rooker J. R. 2004. Spatial and temporal patterns of habitat use by fishes associated with Sargassum mats in the northwestern Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science*. 74, 81-99.
- Yoo, H. S., Eah, J. Y., Kim, J. S., Kim, Y. J., Min, M. S., Paek, W. K., Lee, H. & Kim, C. B. (2006). DNA barcoding Korean birds. *Molecules and Cells* 22, 323–327.
- Zink, R. M. (1996). Comparative phylogeography of North American birds. *Evolution*. 50, 308-317.
- Zink, R. M. (2002). Methods in comparative phylogeography, and their application to studying evolution in the North American Airlands. *Integrative and Comparative Biology* 42, 953-959.

ANEXO

Tabla 1. Material analizado.

Clave	Especie	DNA #	Estadio del ciclo de vida	SL (mm)	Espécimen preservado	Fotografía de espécimenl	Localidad
BLZ 4033	<i>Apogon aurolineatus</i>	4033	L	No	No	No	Belize
BLZ 4054	<i>Apogon aurolineatus</i>	4054	L	No	No	No	Belize
BLZ 4055	<i>Apogon aurolineatus</i>	4055	L	No	No	No	Belize
BLZ 4092	<i>Apogon aurolineatus</i>	4092	L	No	No	No	Belize
BLZ 5014	<i>Apogon aurolineatus</i>	5014	L	No	No	Yes	Belize
BLZ 5221	<i>Apogon aurolineatus</i>	5221	L	8	No	Yes	Belize
BLZ 5222	<i>Apogon aurolineatus</i>	5222	L	8	No	Yes	Belize
BLZ 5497	<i>Apogon aurolineatus</i>	5497	J	12	Yes	Yes	Belize
BLZ 6176	<i>Apogon aurolineatus</i>	6176	A	30	Yes	Yes	Belize
BLZ 6177	<i>Apogon aurolineatus</i>	6177	A	30	Yes	Yes	Belize
BLZ 7325	<i>Apogon aurolineatus</i>	7325	A	28	Yes	No	Belize
BLZ 7738	<i>Apogon aurolineatus</i>	7738	A	26	Yes	Yes	Belize
BAH8241	<i>Apogon maculatus</i>	8241	A	27	Yes	Yes	Bahamas
BLZ 4170	<i>Apogon maculatus</i>	4170	A	38	No	No	Belize
BLZ 4293	<i>Apogon maculatus</i>	4293	A	38	No	No	Belize
BLZ 4321	<i>Apogon maculatus</i>	4321	A	32	No	No	Belize
BLZ 4551	<i>Apogon maculatus</i>	4551	A	22	No	Yes	Belize
BLZ 5023	<i>Apogon maculatus</i>	5023	A	28	Yes	Yes	Belize
BLZ 5267	<i>Apogon maculatus</i>	5267	A	29	Yes	Yes	Belize
BLZ 7717	<i>Apogon maculatus</i>	7717	J	12	No	Yes	Belize
CUR8077	<i>Apogon maculatus</i>	8077	A	39	Yes	Yes	Curacao
CUR8078	<i>Apogon maculatus</i>	8078	J	14.5	Yes	Yes	Curacao
FCC8117	<i>Apogon maculatus</i>	8117	A	62	No	No	Florida
SAB0601005	<i>Apogon maculatus</i>	0601005	A	55	USNM 387764	No	Netherlands Antilles

SAB0612078	<i>Apogon maculatus</i>	0612078			No	No	Netherlands Antilles
SMS7370	<i>Apogon maculatus</i>	7370	A	85	No	No	Belize
SMS7371	<i>Apogon maculatus</i>	7371	A	70	No	No	Belize
SMS7372	<i>Apogon maculatus</i>	7372	A	68	No	No	Belize
SMS7373	<i>Apogon maculatus</i>	7373	A	75	No	No	Belize
SMS7374	<i>Apogon maculatus</i>	7374	a	60	No	No	Belize
BLZ 4550	<i>Apogon pseudomaculatus</i>	4550	J	23	Yes	Yes	Belize
CUR8079	<i>Apogon pseudomaculatus</i>	8079	J	19	Yes	Yes	Curacao
FWRI20646	<i>Apogon pseudomaculatus</i>	77521992	A	57	No	Yes	Florida 20646
FWRI20664a	<i>Apogon affinis</i>	77521936	A	77	No	Yes	Florida 20664a
FWRI20664b	<i>Apogon affinis</i>	77522012	A	78	No	Yes	Florida 20664b
BAH8075	<i>Apogon phenax</i>	8075	A	45	Yes	Yes	Bahamas
BAH8076	<i>Apogon phenax</i>	8076	A	27	Yes	Yes	Bahamas
BLZ 4422	<i>Apogon phenax</i>	4422	J	10	No	No	Belize
BLZ 5055	<i>Apogon phenax</i>	5055	A	28	Yes	Yes	Belize
BLZ 5173	<i>Apogon phenax</i>	5173	A	28	No	Yes	Belize
BLZ 5268	<i>Apogon phenax</i>	5268	A	32	Yes	Yes	Belize
BLZ 6147	<i>Apogon phenax</i>	6147	J	22	Yes	Yes	Belize
BLZ 6148	<i>Apogon phenax</i>	6148	J	20	Yes	Yes	Belize
BLZ 6286	<i>Apogon phenax</i>	6286	A	35	Yes	Yes	Belize
BLZ 6335	<i>Apogon phenax</i>	6335	L	9.5	No	Yes	Belize
BLZ 6355	<i>Apogon phenax</i>	6355	A	35	Yes	Yes	Belize
BLZ 6359	<i>Apogon phenax</i>	6359	J	11	Yes	Yes	Belize
BLZ 6361	<i>Apogon phenax</i>	6361	L	10	No	Yes	Belize
BLZ 7051	<i>Apogon phenax</i>	7051	J	11	Yes	No	Belize
BLZ 7056	<i>Apogon phenax</i>	7056	L	9.5	No	No	Belize
BLZ 7076	<i>Apogon phenax</i>	7076	L	9.5	No	No	Belize

BLZ 7153	<i>Apogon phenax</i>	7153	J	12.5	No	No	Belize
BLZ 7167	<i>Apogon phenax</i>	7167	J	11	No	No	Belize
BLZ 7234	<i>Apogon phenax</i>	7234	J	18	Yes	No	Belize
BLZ 7736	<i>Apogon phenax</i>	7736	J	19	Yes	Yes	Belize
BLZ 7737	<i>Apogon phenax</i>	7737	A	36	Yes	Yes	Belize
BLZ 8051	<i>Apogon phenax</i>	8051	A	27	Yes	Yes	Belize
BLZ 8079	<i>Apogon phenax</i>	8079	A	29	Yes	Yes	Belize
BLZ 8111	<i>Apogon phenax</i>	8111	J	19	Yes	Yes	Belize
BLZ 8166	<i>Apogon phenax</i>	8166	J	16	Yes	Yes	Belize
BLZ 8229	<i>Apogon phenax</i>	8229	J	16	Yes	Yes	Belize
CUR8067	<i>Apogon phenax</i>	8067	A	48	Yes	Yes	Curacao
CUR8088	<i>Apogon phenax</i>	8088	A	29	Yes	Yes	Curacao
CUR8089	<i>Apogon phenax</i>	8089	A	34	Yes	Yes	Curacao
CUR8090	<i>Apogon phenax</i>	8090	A	30	Yes	Yes	Curacao
CUR8322	<i>Apogon phenax</i>	8322	A	50	Yes	Yes	Curacao
CUR8323	<i>Apogon phenax</i>	8323	A	37.5	Yes	Yes	Curacao
BAH8072	<i>Apogon binotatus</i>	8072	A	36	Yes	Yes	Bahamas
BAH8073	<i>Apogon binotatus</i>	8073	A	36	Yes	Yes	Bahamas
BAH8074	<i>Apogon binotatus</i>	8074	A	32	Yes	Yes	Bahamas
BLZ 4446	<i>Apogon binotatus</i>	4446	L	9	No	No	Belize
BLZ 4508	<i>Apogon binotatus</i>	4508	L	8.5	No	No	Belize
BLZ 4574	<i>Apogon binotatus</i>	4574	J	14	No	Yes	Belize
BLZ 5426	<i>Apogon binotatus</i>	5426	L	9.5	No	Yes	Belize
BLZ 6203	<i>Apogon binotatus</i>	6203	J	10	No	Yes	Belize
BLZ 6325	<i>Apogon binotatus</i>	6325	A	46	Yes	Yes	Belize
BLZ 6326	<i>Apogon binotatus</i>	6326	A	42	Yes	Yes	Belize
BLZ 6327	<i>Apogon binotatus</i>	6327	A	33	Yes	Yes	Belize
BLZ 6330	<i>Apogon binotatus</i>	6330	L	9	No	Yes	Belize
BLZ 6331	<i>Apogon binotatus</i>	6331	L	9	No	Yes	Belize

BLZ 6332	<i>Apogon binotatus</i>	6332	L	9	No	Yes	Belize
BLZ 6360	<i>Apogon binotatus</i>	6360	J	13.5	No	Yes	Belize
BLZ 6373	<i>Apogon binotatus</i>	6373	A	26	No	Yes	Belize
BLZ 6398	<i>Apogon binotatus</i>	6398	L	8.5	No	Yes	Belize
BLZ 7009	<i>Apogon binotatus</i>	7009	J	11	Yes	No	Belize
BLZ 7010	<i>Apogon binotatus</i>	7010	L	9.5	Yes	No	Belize
BLZ 7018	<i>Apogon binotatus</i>	7018	J	10	Yes	No	Belize
BLZ 7075	<i>Apogon binotatus</i>	7075	L	8.8	No	No	Belize
BLZ 7123	<i>Apogon binotatus</i>	7123	J	14	Yes	Yes	Belize
BLZ 7197	<i>Apogon binotatus</i>	7197	L	10.5	No	Yes	Belize
BLZ 8319	<i>Apogon binotatus</i>	8319	J	18	Yes	Yes	Belize
BLZ6228	<i>Apogon binotatus</i>	6228	A	39	Yes	Yes	Belize
CUR8080	<i>Apogon binotatus</i>	8080	A	35	Yes	Yes	Curacao
CUR8081	<i>Apogon binotatus</i>	8081	A	40	Yes	Yes	Curacao
CUR8328	<i>Apogon binotatus</i>	8328	A	34	Yes	Yes	Curacao
BLZ5056	<i>Apogon pillionatus</i>	5056	J	16	No	Yes	Belize
BLZ5057	<i>Apogon pillionatus</i>	5057	J	17	Yes	Yes	Belize
BLZ8112	<i>Apogon pillionatus</i>	8112	J	16	Yes	Yes	Belize
BLZ8144	<i>Apogon pillionatus</i>	8144	J	15	Yes	Yes	Belize
CUR8098	<i>Apogon pillionatus</i>	8098	J	17	Yes	Yes	Curacao
BLZ5260	<i>Apogon sp.</i>	5260	L	10	No	Yes	Belize
BLZ5270	<i>Apogon planifrons</i>	5270	A	37	Yes	Yes	Belize
BLZ5389	<i>Apogon planifrons</i>	5389	L	10	Yes	Yes	Belize
BLZ6042	<i>Apogon planifrons</i>	6042	L	9	Yes	Yes	Belize
BLZ6427	<i>Apogon planifrons</i>	6427	L	10	No	Yes	Belize
BLZ7045	<i>Apogon planifrons</i>	7045	L	9.5	No	Yes	Belize
BLZ7126	<i>Apogon planifrons</i>	7126	L	10	No	Yes	Belize

BAH8065	<i>Apogon townsendi</i>	8065	A	30	Yes	Yes	Bahamas
BLZ4542	<i>Apogon townsendi</i>	4542	J	13	No	Yes	Belize
BLZ5002	<i>Apogon townsendi</i>	5002	J	16	Yes	Yes	Belize
BLZ5101	<i>Apogon townsendi</i>	5101	J	19	Yes	Yes	Belize
BLZ5148	<i>Apogon townsendi</i>	5148	J	21	Yes	Yes	Belize
BLZ5149	<i>Apogon townsendi</i>	5149	J	19	Yes	Yes	Belize
BLZ5150	<i>Apogon townsendi</i>	5150	J	14	Yes	Yes	Belize
BLZ5502	<i>Apogon townsendi</i>	5502	J	14	Yes	Yes	Belize
BLZ6127	<i>Apogon townsendi</i>	6127	J	19	Yes	Yes	Belize
BLZ6128	<i>Apogon townsendi</i>	6128	J	16	Yes	Yes	Belize
BLZ6295	<i>Apogon townsendi</i>	6295	A	31	No	Yes	Belize
BLZ6296	<i>Apogon townsendi</i>	6296	A	24	Yes	Yes	Belize
BLZ6329	<i>Apogon townsendi</i>	6329	L	11	No	Yes	Belize
BLZ6333	<i>Apogon townsendi</i>	6333	L	11	No	Yes	Belize
BLZ6334	<i>Apogon townsendi</i>	6334	J	12	No	Yes	Belize
BLZ6354	<i>Apogon townsendi</i>	6354	A	37	Yes	Yes	Belize
BLZ7832	<i>Apogon townsendi</i>	7832	A	34	Yes	Yes	Belize
BLZ7833	<i>Apogon townsendi</i>	7833	A	32	Yes	Yes	Belize
BLZ7834	<i>Apogon townsendi</i>	7834	A	31	Yes	Yes	Belize
CUR8068	<i>Apogon townsendi</i>	8068	A	35	Yes	Yes	Curacao
CUR8069	<i>Apogon townsendi</i>	8069	A	34	Yes	Yes	Curacao
CUR8070	<i>Apogon townsendi</i>	8070	A	32	Yes	Yes	Curacao
CUR8071	<i>Apogon townsendi</i>	8071	A	33	Yes	Yes	Curacao
CUR8072	<i>Apogon townsendi</i>	8072	J	14.5	Yes	Yes	Curacao
CUR8073	<i>Apogon townsendi</i>	8073	J	17	Yes	Yes	Curacao
CUR8074	<i>Apogon townsendi</i>	8074	J	15.5	Yes	Yes	Curacao
SAB0611075	<i>Apogon townsendi</i>	0611075			No	No	Netherlands Antilles
BLZ5059	<i>Apogon lachneri</i>	5059	J	No	Yes	Yes	Belize

BLZ5060	<i>Apogon lachneri</i>	5060	J	No	Yes	Yes	Belize
BLZ5118	<i>Apogon lachneri</i>	5118	A	36	Yes	Yes	Belize
BLZ5119	<i>Apogon lachneri</i>	5119	J	18	Yes	Yes	Belize
BLZ5264	<i>Apogon lachneri</i>	5264	J	22	Yes	Yes	Belize
BLZ5265	<i>Apogon lachneri</i>	5265	J	21	Yes	Yes	Belize
BLZ5266	<i>Apogon lachneri</i>	5266	J	21	Yes	Yes	Belize
BLZ7829	<i>Apogon lachneri</i>	7829	J	22	Yes	Yes	Belize
CUR8075	<i>Apogon lachneri</i>	8075	A	32	Yes	Yes	Curacao
CUR8076	<i>Apogon lachneri</i>	8076	A	39	Yes	Yes	Curacao
CUR8324	<i>Apogon lachneri</i>	8324	A	24	Yes	Yes	Curacao
BAH8142	<i>Apogon robinsi</i>	8142	A	63	Yes	Yes	Bahamas
BLZ5454	<i>Apogon mosavi</i>	5454	L	15	Yes	Yes	Belize
BLZ6182	<i>Apogon mosavi</i>	6182	J	20	No	Yes	Belize
BLZ6275	<i>Apogon mosavi</i>	6275	J	20	Yes	Yes	Belize
BLZ6403	<i>Apogon mosavi</i>	6403	J	15	Yes	Yes	Belize
BLZ6413	<i>Apogon mosavi</i>	6413	L	17	No	Yes	Belize
BLZ6436	<i>Apogon mosavi</i>	6436	J	14	No	No	Belize
BLZ7113	<i>Apogon mosavi</i>	7113	A	30	Yes	Yes	Belize
BLZ7114	<i>Apogon mosavi</i>	7114	A	26	Yes	Yes	Belize
BLZ7115	<i>Apogon mosavi</i>	7115	A	27	Yes	Yes	Belize
BLZ7116	<i>Apogon mosavi</i>	7116	A	24	Yes	Yes	Belize
BLZ7117	<i>Apogon mosavi</i>	7117	A	23	Yes	Yes	Belize
BLZ7118	<i>Apogon mosavi</i>	7118	A	24	Yes	Yes	Belize
BLZ7119	<i>Apogon mosavi</i>	7119	A	23	Yes	Yes	Belize
BLZ7120	<i>Apogon mosavi</i>	7120	J	18	Yes	Yes	Belize
BLZ7121	<i>Apogon mosavi</i>	7121	J	17	Yes	No	Belize
BLZ7122	<i>Apogon mosavi</i>	7122	J	15	No	No	Belize
BLZ7131	<i>Apogon mosavi</i>	7131	A	38	Yes	Yes	Belize

BLZ7132	<i>Apogon mosavi</i>	7132	A	35	Yes	Yes	Belize
BLZ7133	<i>Apogon mosavi</i>	7133	A	24	Yes	Yes	Belize
BLZ7134	<i>Apogon mosavi</i>	7134	J	18.5	Yes	No	Belize
BLZ7135	<i>Apogon mosavi</i>	7135	J	17	Yes	No	Belize
BLZ7288	<i>Apogon mosavi</i>	7288	L	16	Yes	Yes	Belize
BLZ7711	<i>Apogon mosavi</i>	7711	J	24	Yes	Yes	Belize
BLZ7713	<i>Apogon mosavi</i>	7713	J	15.5	No	Yes	Belize
BLZ7714	<i>Apogon mosavi</i>	7714	J	17	No	Yes	Belize
BLZ7739	<i>Apogon mosavi</i>	7739	J	17	Yes	Yes	Belize
BLZ7771	<i>Apogon mosavi</i>	7771	L	15	Yes	Yes	Belize
BLZ7772	<i>Apogon mosavi</i>	7772	L	15	Yes	Yes	Belize
BLZ8243	<i>Apogon mosavi</i>	8243	A	28	Yes	Yes	Belize
BLZ8244	<i>Apogon mosavi</i>	8244	A	31	Yes	Yes	Belize
BLZ8245	<i>Apogon mosavi</i>	8245	A	30	Yes	Yes	Belize
BLZ8246	<i>Apogon mosavi</i>	8246	A	28	Yes	Yes	Belize
BLZ8247	<i>Apogon mosavi</i>	8247	A	23	Yes	Yes	Belize
BLZ8386	<i>Apogon mosavi</i>	8386	A	25	Yes	Yes	Belize
BLZ8387	<i>Apogon mosavi</i>	8387	J	15	Yes	Yes	Belize
BLZ8388	<i>Apogon mosavi</i>	8388	L	14	Yes	Yes	Belize
BLZ8476	<i>Apogon mosavi</i>	8476	L	17	Yes	Yes	Belize
BLZ6083	<i>Apogon robbyi</i>	6083	J	22	Yes	Yes	Belize
BLZ6084	<i>Apogon robbyi</i>	6084	J	17	Yes	Yes	Belize
BLZ6179	<i>Apogon robbyi</i>	6179	A	27	Yes	Yes	Belize
BLZ6085	<i>Apogon quadrisquamatus</i>	6085	J	14	Yes	Yes	Belize
BLZ6180	<i>Apogon quadrisquamatus</i>	6180	A	24	Yes	Yes	Belize
BLZ6181	<i>Apogon quadrisquamatus</i>	6181	A	29	Yes	Yes	Belize
BLZ7196	<i>Apogon quadrisquamatus</i>	7196	J	16	No	Yes	Belize
BLZ7712	<i>Apogon quadrisquamatus</i>	7712	J	14	Yes	Yes	Belize

