



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

**DELIMITACIÓN INTEGRATIVA DE ESPECIES DE *OPHIOTHRIX*
ANGULATA (SAY, 1825) (ECHINODERMATA: OPHIUROIDEA) EN
EL ATLÁNTICO NOROCCIDENTAL**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA MARINA)

PRESENTA:

M. EN C. YOALLI QUETZALLI HERNÁNDEZ DÍAZ

TUTOR PRINCIPAL:

DR. FRANCISCO ALONSO SOLÍS MARÍN
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. PÍNDARO DÍAZ JAIMES
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM
DR. JOSÉ LUIS CARBALLO CENIZO
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM
DR. ELÍAS PIEDRA IBARRA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM
DR. OMAR DOMÍNGUEZ DOMÍNGUEZ
UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

MÉXICO, CD. MX., MAYO, 2024



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.



**DELIMITACIÓN INTEGRATIVA DE ESPECIES DE *OPHIOTHRIX*
ANGULATA (SAY, 1825) (ECHINODERMATA: OPHIUROIDEA) EN
EL ATLÁNTICO NOROCCIDENTAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA MARINA)

PRESENTA:
M. EN C. YOALLI QUETZALLI HERNÁNDEZ DÍAZ

TUTOR PRINCIPAL:
DR. FRANCISCO ALONSO SOLÍS MARÍN
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTOR:
DR. PÍNDARO DÍAZ JAIMES
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM
DR. JOSÉ LUIS CARBALLO CENIZO
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM
DR. ELÍAS PIEDRA IBARRA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM
DR. OMAR DOMÍNGUEZ DOMÍNGUEZ
UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

MÉXICO, CD. MX., MAYO, 2024



**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL
(Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

Delimitación integrativa de especies de *Ophiothrix angulata* (Say, 1825) (Echinodermata: Ophiuroidea) en el Atlántico Noroccidental

que presenté para obtener el grado de ----Doctorado---- es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

Atentamente

M. en C. Yoalli Quetzalli Hernández Díaz
No. cuenta: 098116762

(Nombre, firma y Número de cuenta de la persona alumna)

A mi Padre
Víctor Hernández López
Tu compromiso me forjó

A mi Madre
Susana Díaz Flores
De ti aprendí, juntas vencemos

A Antar Pérez
Por ser una luz en mi camino

*Por la música, los colores, el mar, el valor, la confianza
y la determinación*

AGRADECIMIENTOS

A los Drs. Francisco A. Solís Marín y Gustav Paulay por abrir las puertas de sus laboratorios para darme una oportunidad en el camino del doctorado. Al Dr. Píndaro Díaz, por guiarme y apoyarme durante los análisis moleculares, y a impulsarme en los momentos difíciles. A los Drs. Elías Piedra, Omar Domínguez y José Luis Carballo, por atender cada llamado, ser sinodales y sugerir cambios y correcciones que elevaron la calidad del escrito.

A mi alma mater, la Universidad Nacional Autónoma de México. Al Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología. Al CONACYT por la beca de doctorado 271645. A la beca Ernst Mayr del Museo de Zoología Comparada de la Universidad de Harvard. Al Dr. Gustav Paulay por respaldar el trabajo cubriendo los costos de secuenciación a través de NSF DEB 0529724.

A los curadores y manejadores de las diferentes colecciones científicas que facilitaron y contribuyeron con muestras biológicas para la secuenciación de ADN y los análisis de Morfometría Geométrica: Dr. Francisco Solís y M.C. Alicia Durán de la Colección Nacional de Equinodermos “Ma. Elena Caso Muñoz” ICML-UNAM, Ciudad de México; Dr. Gustav Paulay, John Slapcinsky y Amanda Bemis del Florida Museum of Natural History, University of Florida; Dr. Christopher Pomory de la University of West Florida; Dr. David Pawson y Chad Walter del Smithsonian Museum of Natural History; Dr. Gordon Hendler del Natural History Museum of Los Angeles County; Penny Benson y Adam Baldinger del Harvard Museum of Comparative Zoology, Harvard University; Dr. Juan José Alvarado Barrientos y Leonardo Chacón de las Colecciones del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica; Dr. Nuno Simões, Pedro Homa y Raúl Castillo de la Colección Regional de Equinodermos de la Península de Yucatán, UMDI-Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM.

A la Dra. Tania Pineda, por idear la propuesta inicial de este trabajo. A la y los Drs. Tania Pineda, Daniel Janies, Antar Pérez y Gustav Paulay, por su apoyo al secuenciar material extra. A Tania Pineda, Carolina Martín, Andrea Caballero y Tayra Parada por su apoyo para fotografiar etiquetas de colecciones científicas.

A la M.C. Berenit Mendoza Garfias del Laboratorio de Microscopía Electrónica, Instituto de Biología, UNAM por su invaluable apoyo técnico durante la toma de imágenes de MEB. A la Biól. Susana Guzmán Gómez del Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad II del Instituto de Biología, UNAM por su apoyo técnico durante la captura de imágenes con microscopio estereoscópico.

Al M.C. Miguel Ángel Pérez León por su apoyo técnico para utilizar vía remota el Laboratorio de Cómputo de Alto Rendimiento de la Facultad de Ciencias, UNAM. Al Dr. Antar Pérez por su apoyo para aprender a utilizar diferentes programas moleculares. A la Dra. Sandra Ospina por su apoyo para aprender a realizar los análisis de Morfometría Geométrica en R. Al Dr. Jesús Díaz por su apoyo durante los análisis en TNT. A la Dra. Patricia Ornelas por su apoyo para cursar la materia “Teoría y Métodos en Biología Evolutiva” del Posgrado de Ciencias Biológicas. A la Dra. Dorottya Angyal por enseñarme a ingresar las secuencias a GenBank.

Mi profundo agradecimiento a Alexandra Elbakyan por su valiosa contribución a la comunidad científica y por crear un acceso abierto a la información con la iniciativa Sci-Hub, rompiendo barreras dentro de la ciencia que todos generamos.

A mis amigas, amigos y compañeros de los laboratorios en Ensenada, en Ciudad de México (Laboratorio de Equinodermos, ICML) y en Gainesville. A mis amigas, amigos y compañeros de trabajo en Biodiversidad Marina de Yucatán y de la UMDI-Sisal de la Facultad de Ciencias. A mis amigos, mentores y maestros de buceo. A mis alumnas y alumnos. Su influencia ha dejado una huella en mi enfoque hacia la ciencia, mientras que sus enseñanzas y colaboración han sido fundamentales en mi camino.

A mis amigas y amigos, tanto a los cercanos como a los que están del otro lado del mundo, aquellos con los que me mensajeo frecuentemente y también con los que me comunico solo ocasionalmente, quienes siempre han tenido palabras de aliento, me han apoyado y se han preocupado no solo por verme completar un doctorado, sino por verme sana, feliz y realizada, a pesar de todo.

A Tania Pineda y Jorge Velez por su valiosa amistad, por su invaluable apoyo al inicio en Gainesville y por adoptarme en Los Angeles. A Adriana García (La Tocha) por adoptarme con cariño a mi llegada a Xalapa. A Miguel Pérez y Vicky Botello, por adoptarme en CdMx mientras procesaba muestras en invierno.

A toda la magia y energía que nos mueve, a los animales, los insectos, las plantas, las aves, el mar, el viento, el sol, la lluvia, los manglares, los árboles, los cenotes y a los maravillosos invertebrados marinos... ¡a Gaia! por sostenernos y brindarnos un espacio para crear, a pesar de que no le damos tregua.

A mi familia, que siempre se alegra con mis victorias. Gracias infinitas a mis padres y a Antar, gracias a su apoyo, paciencia y cariño, pude lograrlo.

CONTENIDO

Índice de Tablas.....	iii
Índice de Figuras	iii
Glosario.....	vi
Lista de abreviaturas usadas	xi
CAPÍTULO 1. Introducción.....	1
Complejos crípticos de especies en ofiuros.....	8
Equinodermos.....	12
Clase Ophiuroidea	13
Familia Ophiotrichidae	15
Género <i>Ophiothrix</i>	16
<i>Ophiothrix (Ophiothrix) angulata</i> (Say, 1825).....	20
Literatura citada	30
CAPÍTULO 2. Diferenciación genética de <i>Ophiothrix angulata</i>	44
Introducción	44
Objetivo General	48
Objetivos particulares	48
Materiales y Métodos.....	49
Área de estudio.....	49
Colección de especímenes.....	52
Extracción de ADN y alineación de secuencias.....	55
Análisis filogenéticos.....	56
Delimitación molecular de especies.....	56
Diversidad Genética	59
Resultados	59
Filogenia de <i>O. angulata</i>	59
Delimitación molecular de especies.....	64
Diversidad poblacional.....	66
Discusión	69
Diferenciación genética de <i>Ophiothrix angulata</i>	69
Delimitación molecular de especies en el complejo de <i>O. angulata</i>	74
Divergencia de COI en ofiuros.....	75
Conclusiones	77
Literatura citada	78

CAPÍTULO 3. Diferenciación morfológica de <i>Ophiothrix angulata</i>	91
Introducción	91
Objetivos	96
General	96
Particulares	96
Materiales y Métodos	97
Morfometría geométrica	97
Análisis de patrón de coloración del brazo dorsal	106
Resultados	114
Morfometría geométrica	114
Análisis de patrones de coloración dorsal del brazo	120
Discusión	121
Forma de las Placas Dorsales y Ventrals del brazo	121
Coloración dorsal de los brazos	122
Conclusiones	123
Literatura citada	124
CAPÍTULO 4. Delimitación integrativa de especies en <i>Ophiothrix angulata</i>	129
Introducción	129
Objetivo	131
Materiales y Métodos	132
Delimitación integrativa de especies	132
Resultados	133
Discusión	136
Conclusiones	140
Literatura citada	140
CONCLUSIONES GENERALES	142
Apéndice 1	144
Apéndice 2	148
Apéndice 3	155
Apéndice 4	157
Apéndice 5	159
Apéndice 6	161

Índice de Tablas

Tabla 1.1. Material examinado morfológicamente.....	27
Tabla 2.1. Condiciones de PCR para extraer COI.....	55
Tabla 2.2. Resumen de información genética poblacional.	66
Tabla 2.3. Distancias genéticas K2P entre los clados de <i>O. angulata</i> para COI...	69
Tabla 3.1. Valores de p asociados con las comparaciones pareadas de las distancias Procrustes entre las formas medias de DAP y VAP de los sub-clados 1A, 1A', 2A y Clado 3.....	114

Índice de Figuras

Figura 1.1. Árbol filogenético de diversas especies de equinodermos. Resaltan 3 grupos que representan 3 linajes distintos descubiertos dentro de <i>Ophiothrix angulata</i> (Gustav Paulay; datos no pub).	11
Figura 1.2. Principales características morfológicas de un ofiuo.....	14
Figura 1.3. Algunos géneros representantes de la Fam. Ophiotrichidae.....	15
Figura 1.4. Placas dorsales de los brazos de especies del género <i>Ophiothrix</i>	19
Figura 1.5. Especies representantes del subgénero <i>Ophiothrix</i> y placas dorsales congénicas.....	20
Figura 1.6. Características morfológicas de <i>Ophiothrix angulata</i> ICML-UNAM 3.34.100.1	24
Figura 1.7. Fotografías MEB de <i>Ophiothrix angulata</i>	25
Figura 1.8. Fotografías MEB de <i>Ophiothrix angulata</i>	26
Figura 1.9. Fotografías MEB de <i>Ophiothrix angulata</i>	27
Figura 1.10. Distribución de <i>Ophiothrix angulata</i> basada en las provincias y ecorregiones de Spalding <i>et al.</i> (2007).....	28
Figura 2.1. Localidades de donde se obtuvieron las muestras de <i>Ophiothrix angulata</i>	54
Figura 2.2. Árbol consenso bayesiano para <i>Ophiothrix angulata</i>	60

Figura 2.3. Mapa con las localidades de muestreo incluyendo la proporción de especímenes por clado	62
Figura 2.4. Filogenias basadas en ADN mitocondrial (COI) y en ADN ribosomal nuclear (ITS2).....	63
Figura 2.5. Profundidades de las muestras recolectadas por clado..	64
Figura 2.6. Delimitación molecular de especies de los clados y sub-clados de la filogenia para el gen COI reconstruida usando MrBayes v.3.2.7.....	65
Figura 2.7. Clados 1 y 2. Red de haplotipos de secuencias de ADN mitocondrial de dos clados de <i>Ophiothrix angulata</i> (632 pb).....	67
Figura 2.8. Clado 3. Red de haplotipos de las secuencias de ADN mitocondrial de <i>Ophiothrix angulata</i> (632 pb).....	68
Figura 3.1. Localidades procesadas con Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) y datos moleculares..	98
Figura 3.2. Subclado 1A. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB.	100
Figura 3.3. Subclado 1A'. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB.	101
Figura 3.4. Subclado 2A. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB.	102
Figura 3.5. Subclado 3. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB.	103
Figura 3.6. Landmarks tipo II (rojo) y semilandmarks (amarillo) usados en los análisis de Morfometría Geométrica de <i>O. angulata</i>	104
Figura 3.7. Localidades que cuentan con organismos fotografiados <i>in vivo</i> y con secuencias del gen COI moleculares	108
Figura 3.8. <i>In vivo</i> , caracteres 1, 2, 3, 4, 5, 7, 12, 15, 17, 20 y 23 de los patrones de color del brazo.....	109
Figura 3.9. <i>In vivo</i> , caracteres 10, 11, 14 y 18 de los patrones dorsales de color del brazo	110
Figura 3.10. <i>In vivo</i> , caracteres 6, 8, 9, 13, 21y 24 de los patrones dorsales de color del brazo.....	111

Figura 3.11. <i>In vivo</i> , caracteres de color del brazo del grupo externo. <i>Ophiactis savignyi</i> ICML-UNAM 18084	112
Figura 3.12. Gráficas de dispersión de los análisis de MG	115
Figura 3.13. DAP. Gradillas de deformación	116
Figura 3.14. VAP. Gradillas de deformación	117
Figura 3.15. Gráfica de dispersión tridimensional de DAP y VAP	118
Figura 3.16. Porcentaje de varianza explicado por los ejes de los Componentes Principales. (A) Placa Dorsal del Brazo y (B) Placa Ventral del Brazo.....	119
Figura 3.17. Cladograma de máxima parsimonia basado en la matriz de coloración morfológica.....	120
Figura 4.1. Resultados de la delimitación iBPP utilizando la topología RAxML-HPC2 como árbol guía.....	134
Figura 4.2. Delimitación integrativa de especies para los clados y subclados del complejo de especies de <i>Ophiothrix angulata</i> basada en enfoques moleculares, morfológicos e integrativos.....	135

Glosario

Acanthophiothrix: Subgénero del género *Ophiothrix* descrito por Ailsa M. Clark en 1966.

Amphiophiothrix: Género de la familia Ophiotrichidae propuesto por H.L. Clark en 1946, sin embargo, posteriormente fue sinonimizado con el género *Macrophiothrix* por Ailsa M. Clark en 1968.

Árbol filogenético: Es una representación gráfica del curso histórico de la especiación. Las líneas son linajes únicos o un grupo monofilético de linajes representados por su antepasado. Los vértices/nodos son eventos de especiación (Wiley & Lieberman, 2012).

Área interbraquial o interrradio: Área dorsal o ventral del disco que existe entre cada par de brazos (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Brazo: Proyección ambulacral móvil unida al disco, dividido en segmentos (articulaciones); El último segmento en la punta del brazo se llama placa terminal, el brazo crece formando nuevos segmentos proximales a la placa terminal (Stöhr *et al.*, 2012).

Caracteres diagnóstico: Cualquier atributo de un organismo o de un grupo de organismos por el cual se diferencia de un organismo perteneciente a una categoría diferente o se asemeja a un organismo de la misma categoría (Mayr *et al.*, 1953).

Clado genético: Agrupación de descendientes (vivos y extintos) que comparten un antepasado común. En un árbol filogenético cada una de las ramas que agrupa a los seres vivos (Ibáñez y Méndez, 2014).

Complejo de especies: Grupos de especies que se encuentran relacionadas, pero que sus relaciones son inexplicables o imperfectamente conocidas (Harbach, 2012).

Concepto unificado de especie: Las especies son segmentos de linajes de metapoblación que evolucionan por separado de otros linajes, las cuales tienen propiedades contingentes (aislamiento reproductivo intrínseco, sistema de fertilización y reconocimiento de pareja específico, mismo nicho o zona adaptativa, diagnosabilidad, monofiléticas, coalescencia exclusiva de alelos, que forman un clúster fenético, que forman un clúster genotípico, etc.) que pueden o no adquirir durante el curso de su existencia y que deben ser empleadas como líneas de evidencia durante la delimitación de especies (De Queiroz, 2007).

Diámetro del disco: Unidad de tamaño común para ofiuroideos, medida del borde distal de los escudos radiales al borde opuesto interrradio (Stöhr *et al.*, 2012).

Dientes: Pequeños elementos esqueléticos de la placa dental pueden tener forma de bloque o forma de espina (Stöhr *et al.*, 2012).

Disco: Cuerpo central, que contiene los principales órganos internos de los ofiuroideos (Stöhr *et al.*, 2012).

Distancias genéticas: La distancia genética es una medida de la relación genética que tienen las muestras entre poblaciones. La estimación se basa en el número de sustituciones alélicas por locus que se han producido durante la evolución separada de dos poblaciones (Nei, 1987).

Divergencia filogenética: Acumulación de diferencias en su composición genética de manera gradual en el transcurso de varias generaciones. Se produce bajo la influencia de las 4 fuerzas evolutivas: selección natural, mutación, migración (flujo génico) y deriva génica (Page & Holmes, 2009).

Dorsal: Superficie de un animal opuesto a la boca (Stöhr *et al.*, 2012).

Escama del poro tentacular: Osículo aplanado o redondeado que protege la entrada del pie ambulacral (O'Hara, 2017).

Escama o placa genital: Un par de elementos esqueléticos que se encuentran a cada lado de la hendidura genital, sosteniéndola y articulándose internamente con los escudos radiales. Placa especializada encontrada únicamente en la Clase Ophiuroidea (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Escudo oral: Gran placa distal de cada mandíbula, redondeado, se encuentra bordeado a cada lado por un par de pequeñas placas llamadas placas adorales. Uno (rara vez más) de los escudos orales tiene la función de madreporita, siendo la entrada al sistema vascular acuífero. Placa especializada encontrada únicamente en la Clase Ophiuroidea (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Escudos radiales: Un par de placas dorsales alargadas del disco, que se encuentran cerca de la base de cada brazo. Placa especializada encontrada únicamente en la Clase Ophiuroidea (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Especiación alopátrica o geográfica: Es un proceso de especiación que surge cuando una gran y continua población es dividida dentro de unidades pequeñas por barreras extrínsecas, separando el intercambio genético entre estas, lo cual conlleva a la divergencia genética entre ellas; la construcción de diferencias genéticas conduce a generar barreras intrínsecas en su reproducción, la cual separará a las poblaciones en especies diferentes que no podrán reproducirse nuevamente aunque la barrera extrínseca desaparezca (Palumbi, 1994).

Especiación simpátrica: Es un proceso de formación de especies en el cual una especie se divide en dos o más especies distintas sin que exista un aislamiento geográfico entre las poblaciones en proceso de divergencia. En lugar de estar separadas por barreras geográficas, las poblaciones en especiación simpátrica pueden divergir debido a otros tipos de barreras, como de reproducción o selección de hábitat (Barluenga *et al.*, 2006).

Especie críptica: Dos o más especies distintas que son o han sido clasificadas como una única especie nominal debido a que, al menos de forma superficial, son morfológicamente indistinguibles; sin embargo, pertenecen a diferentes linajes evolutivos (Sáez & Lozano, 2005; Bickford *et al.*, 2007; Boissin *et al.*, 2008), los cuales pueden o no presentar solapamiento en sus distribuciones.

Espinas: Elementos esqueléticos articulados y móviles de forma alargada, lisa o dentada, con o sin espinas terminales (Stöhr *et al.*, 2012).

Espineletas: Modificación de las espinas. Cobertura del disco dorsal y/o ventral. Pequeñas espinas hialinas que pueden estar bifurcadas o trifurcadas.

Grupo monofilético: Grupo de organismos compuesto por un ancestro común y todas sus especies descendientes (Fiser *et al.*, 2018).

Grupo parafilético: Grupo de organismos derivado de un ancestro común, el cual excluye algunos descendientes (Fiser *et al.*, 2018).

Grupo polifilético: Grupo de organismos derivado de diferentes ancestros (Fiser *et al.*, 2018).

Hendidura genital: Las hendiduras genitales son la abertura externa de la bursa y se encuentran sobre la superficie ventral del disco, bordeando cada brazo (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Introgresión: La transferencia de variación genética entre especies mediante hibridación y retrocruzamientos repetidos (Blanco-Pastor, 2022).

Keystonea: Subgénero del género *Ophiothrix* descrito por Ailsa M. Clark en 1966, sin embargo, posteriormente fue sinonimizado con el género *Macrothrix* por Hoggett en 1990.

Lissophiothrix: Género de la familia Ophiotrichidae propuesto por H.L. Clark en 1938, que contiene únicamente una especie descrita y aceptada.

Macrothrix: Género de la familia Ophiotrichidae propuesto por H.L. Clark en 1938.

Marcador molecular: Un marcador molecular es una entidad observable y medible que se utiliza para identificar la presencia o ausencia de una característica genética particular en un organismo. Proporcionan información sobre la variabilidad genética entre individuos, poblaciones y especies, relacionadas con la evolución de esos organismos (Alberts *et al.*, 2008).

Metapoblación: Población inclusiva compuesta de subpoblaciones conectadas (Hanski & Gaggiotti, 2004). Una especie no es un linaje de metapoblación completo sino solo un segmento de dicho linaje. Cualquier especie dada es solo uno de los muchos segmentos que conforman un linaje a nivel de especie (De Queiroz, 2007).

Ophiopteron: Género de la familia Ophiotrichidae propuesto por Ludwig en 1888.

Ophiothrix: Género de la familia Ophiotrichidae propuesto por Müller & Troschel en 1840.

Papilas dentales, infradentales o apicales: Serie de pequeñas papilas presentes en algunos grupos ubicadas en la punta de la mandíbula, puede ser simple o un conjunto de ellas (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Papilas dentales: conjunto de pequeñas papilas apicales en forma de gránulos de la placa dental; presentes en las familias Ophiotrichidae y Ophiocomidae (Stöhr *et al.*, 2012).

Papilas orales: Serie de pequeñas papilas presentes en algunos grupos ubicadas a lo largo de los lados de la mandíbula (O'Hara, 2017).

Placa ventral del brazo: Elemento esquelético que se encuentra en la cara ventral del brazo en cada segmento, en contacto con el sustrato. Encierra completamente el canal radial y los nervios y por lo tanto los ofiuros tienen un sistema ambulacral cerrado (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Placas o escudos adorales: Elemento esquelético, se encuentra en pares a lado de cada escudo oral, separándolo de la placa bucal (Stöhr *et al.*, 2012).

Placas de los brazos: Elementos esqueléticos dorsales y ventrales separadas por las placas laterales de los brazos (O'Hara, 2017).

Placas dorsales de los brazos: Elemento esquelético que se encuentra sobre la parte dorsal de cada segmento del brazo (Stöhr *et al.*, 2012).

Placas laterales de los brazos: Elemento esquelético que se encuentra lateralmente en ambos lados de cada segmento del brazo y que lleva una serie de articulaciones para que las espinas puedan fijarse. Elemento de alto valor

taxonómico para nivel de familia y a veces a nivel genérico (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Placophiothrix: Género de la familia Ophiotrichidae propuesto por H.L. Clark en 1938, sin embargo, posteriormente fue sinonimizado con el género *Macrophiothrix* por Fell en 1960; aunque después, Ailsa M. Clark lo bajó a nivel subgénico en 1966. No obstante, los autores Price & Rowe lo sinonimizaron con el género *Macrophiothrix* en 1996.

Plasticidad fenotípica: Capacidad de un solo genotipo de exhibir una variedad de fenotipos en respuesta a la variación en el medio ambiente (Fordyce, 2006).

Protuberancias, gránulos espinosos o stumps: Diferentes tipos de cubiertas que se encuentran fijos y pueden estar presentes en el disco de los ofiuroides (Stöhr *et al.*, 2012; O'Hara, 2017).

Segmento del brazo: en ofiuros modernos, cada segmento del brazo en ofiuros consiste en un osículo en forma de vértebra rodeado por una serie de placas del brazo externas. (O'Hara, 2017).

Sinapomorfía: Estado de carácter derivado y compartido que respalda una hipótesis de ascendencia común para dos o más taxones (Brower, 2021).

Taxonomía alfa: La taxonomía alfa es un término acuñado por Turrill (1938): "La taxonomía 'tradicional', 'ortodoxa' o 'alfa' se basa en la morfología...". Davis & Heywood (1963: 3 – 4) elaboraron esta idea con más detalle: "[Las fases pionera y de consolidación de la clasificación de la flora mundial] corresponden a la clasificación 'alfa' de Turrill..., una clasificación preliminar basada casi enteramente en factores morfológicos externos".

Taxonomía integrativa: Enfoque interdisciplinario en la delimitación de especies, basado en la confrontación de evidencia genética, morfológica, conductual y ecológica para separar linajes (Fiser *et al.*, 2018).

Theophrix: Subgénero del género *Ophiothrix* descrito por Ailsa M. Clark en 1966.

Ventral: Del lado de la boca, más comúnmente usado que oral (Stöhr *et al.*, 2012).

Lista de abreviaturas usadas

BI: Inferencia bayesiana

C: Carolina (ecorregión biogeográfica)

CCS: Especie candidata confirmada

COI: Citocromo Oxidasa I

COREPY: Colección Regional de la Península de Yucatán, UMDI-Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM

DAP: Placa dorsal del brazo

DCL: Linaje conespecífico profundo

EC: Caribe oriental (Eastern Caribbean)

F: Floridana

G: Guiana

ICML-UNAM: Colección Nacional de Equinodermos “Dra. María Elena Caso Muñoz”, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM

ITS2: Internal transcribed spacer-2

LACM: Natural Museum of Los Angeles County

MCZ: Museum of Comparative Zoology, Harvard University

MEB: Microscopio electrónico de barrido

ML: Máxima verosimilitud

MZ-UCR: Museo de Zoología, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica

NGM: Norte del Golfo de México

SC: Caribe sur (Southern Caribbean)

SGM: Sur del Golfo de México

SWC: Caribe suroccidental (Southwestern Caribbean)

UCS: Especie candidata no confirmada

UF: Invertebrate Zoology Collection, Florida University

USNM: National Museum of Natural History, Smithsonian Institution

UWF: University of West Florida

VAP: Placa ventral del brazo

WC: Caribe occidental (Western Caribbean)

CAPÍTULO 1. Introducción

La biodiversidad se compone de genes, especies y ecosistemas (Fiser *et al.*, 2018). Entre estos, la especie y su conceptualización han sido un tema complejo y debatido, como lo demuestra la existencia de al menos 24 definiciones diferentes (Mayden, 1997). Un avance importante al respecto fue distinguir entre problemas conceptuales y operativos en la definición de especie. Actualmente, hay un consenso creciente en que conceptualmente las especies son entidades que emergen del proceso de especiación como segmentos evolutivos separados de linajes de metapoblaciones (Bock, 2004; Hey, 2006; De Queiroz, 2007; Fiser *et al.*, 2018). Las especies son la unidad básica para el estudio y caracterización de la biodiversidad y asociar nombres científicos sin errores es fundamental para un sistema de referencia confiable de información biológica (Padial *et al.*, 2010). La catalogación y descripción de especies es una tarea fundamental porque permite entender mejor la biodiversidad de la Tierra, la complejidad de los ecosistemas, y contribuye a la comprensión y conservación de la biodiversidad. Además, esta labor es crucial para identificar nuevos recursos y oportunidades para el desarrollo humano sostenible (Watson *et al.*, 2019). Catalogar y describir especies es parte esencial de la sistemática y proporcionan la base para la investigación científica y la comunicación interdisciplinaria (Masonick & Weirauch, 2019). La designación de especies tiene injerencia en áreas clave como la taxonomía, biogeografía, ecología, fisiología, conservación y la macroevolución (Agapow *et al.*, 2004; De Queiroz 2005b). Al conocer las especies que habitan en un ambiente, podemos saber la cantidad de recursos y servicios que el ecosistema ofrece, ayudando a tomar decisiones informadas sobre su conservación y manejo (Watson *et al.*, 2019).

Desde el surgimiento de la nomenclatura linneana en 1758 a la actualidad, se estima se han descrito entre 15,000 y 20,000 especies sólo entre animales. Estas cifras aumentan cada año gracias a la incorporación de nuevas herramientas dentro de la taxonomía, la cual resurge como una disciplina científica sólida al incorporar avances tecnológicos, como el acceso virtual a museos, secuenciación de ADN,

tomografía computarizada, uso de Sistemas de Información Geográfica y digitalización de la información a través de iniciativas globales como The Global Biodiversity Information Facility (GBIF), The Encyclopaedia of Life (EOL), ZooBank (Padial *et al.*, 2010). Sin embargo, determinar la categoría de “especie” puede ser un desafío, especialmente para grupos con morfologías poco informativas, plásticas fenotípicamente y con caracteres difíciles de describir (Hebert *et al.*, 2003).

No existen propiedades específicas que delimiten universalmente a una especie (Fiser *et al.*, 2018). Las especies están definidas por eventos de especiación y extinción, y su delimitación depende de propiedades como la falta de diferencias morfológicas, el aislamiento reproductivo y la monofilia. Estas propiedades dependen del contexto en que esté ocurriendo la especiación y pueden surgir en diferente momento sin seguir un orden secuencial, además se debe considerar que no todas las propiedades siempre surgen (De Queiroz, 2005a; De Queiroz, 2005b; De Queiroz, 2007; Roux *et al.*, 2016).

Por razones prácticas e históricas, la taxonomía basada únicamente en la morfología fue usada para la clasificación de las especies, facilitando la catalogación, la investigación geográfica, la biología del desarrollo, la ecología y la conservación (Dunn, 2003; Caputi *et al.*, 2007; Miura *et al.*, 2006; Duminil & Di Michele, 2009; Boissin *et al.*, 2011; Duminil *et al.*, 2012). Como principal ventaja, los caracteres morfológicos a menudo sirven para asignar individuos a especies de forma directa únicamente mediante inspección visual, y esta práctica es aplicable tanto para organismos vivos como para especímenes conservados y fosilizados (Padial *et al.*, 2010). Sin embargo, utilizar únicamente caracteres morfológicos presenta algunas desventajas cómo: (a) siempre habrá un componente subjetivo al definir e interpretar los estados de los caracteres, (b) demostrar la fijación de un estado requiere grandes tamaños de muestra, (c) los taxónomos se basan en gran medida en la naturaleza continua de los caracteres en lugar de la naturaleza discreta de las diferentes formas de vida, y (d) no todos los caracteres morfológicos son apropiados para agrupar organismos, ya sea porque la especiación ocurre sin cambios morfológicos, lo que resulta en especies morfológicamente crípticas, o

porque las estructuras morfológicas son inestables o difíciles de estudiar (Padial *et al.*, 2010). En estos escenarios, el resultado genera que la taxonomía basada únicamente en caracteres morfológicos no sea suficiente para generar delimitaciones realistas.

En las últimas dos décadas, ha surgido evidencia creciente de las llamadas especies crípticas (Fiser *et al.*, 2018), que se cree están ampliamente distribuidas en la mayoría de los Phylum de animales (Pérez-Ponce de León & Poulin, 2016). Estas especies surgen por dos fenómenos: alta plasticidad fenotípica con una gran similitud genética (Agrawal *et al.*, 1999) y falta de diferenciación morfológica con una considerable divergencia genética (Müller, 2000).

La falta de diferencias morfológicas entre especies puede explicarse mediante 3 hipótesis: a) la *divergencia reciente* que sugiere que las especies crípticas han divergido recientemente, pero aún no se han diferenciado morfológicamente de manera evidente (Egea *et al.*, 2016); b) la *conservación filogenética del nicho* que postula que la evolución del nicho y la diferenciación morfológica entre especies descendientes está limitada por la selección natural, un fenómeno conocido como estasis morfológica (Bravo *et al.*, 2014); y c) la *convergencia morfológica*, basada también en la selección natural, sugiere que la similitud morfológica puede evolucionar de forma independiente entre especies distantes pero relacionadas, como respuesta a presiones similares de selección (Trontelj *et al.*, 2009; Bravo *et al.*, 2014).

Incluso en especies marinas que se consideran bien conocidas, la aparente homogeneidad morfológica puede ocultar complejos de especies crípticas. En tales circunstancias, el uso de marcadores moleculares surge como una herramienta valiosa para abordar este desafío en especies morfológicamente similares (Bond *et al.*, 2001; Whittall *et al.*, 2004; Duminil & Di Michele, 2009). Los caracteres moleculares, utilizados en taxonomía de animales, actualmente son secuencias de ADN mitocondrial y de genes nucleares (Padial *et al.*, 2010). Sin embargo, cada vez se reconoce más que la delimitación precisa de especies requiere un enfoque multilocus que considere dos o más marcadores independientes de los mismos

individuos. Esto implica necesariamente la secuenciación de genes nucleares, ya que todos los marcadores mitocondriales están vinculados entre sí (Moore, 1995).

Las secuencias de ADN se pueden amplificar a partir de pequeños fragmentos de tejido y se pueden obtener a partir de muestras frescas, material conservado en colecciones e incluso de fósiles del Pleistoceno (Shimada *et al.*, 2008). Las secuencias de ADN se analizan utilizando métodos basados en árboles para buscar grupos monofiléticos que podrían representar especies (Sites & Marshall, 2004). Todos los métodos moleculares de delimitación de especies buscan el cese de flujo genético entre poblaciones, este aislamiento es un indicador primario de especiación en curso y el surgimiento de entidades que evolucionan de forma independiente y sirve para la delimitación de especies (Bock, 2004; De Queiroz, 2007).

Sin embargo, una limitación de los métodos genéticos de delimitación de especies es que sigue siendo un reto elegir cuál de los múltiples clados fuertemente respaldados y que son detectados en los análisis representan especies independientes y cuáles no. Además, muestra que la discordancia entre los árboles genéticos y los árboles de especies es un fenómeno común causado por procesos como el ordenamiento incompleto de linajes, la hibridación, la duplicación genética, la evolución reticulada o la recombinación (Padiál *et al.*, 2010). Todas estas situaciones complican la resolución de problemas taxonómicos.

Estas dificultades han llevado a la proliferación de métodos basados en diferentes premisas para delimitar especies, que varían en precisión según el contexto de especiación (Fontaneto *et al.*, 2015; Dellicour & Flot, 2015). Estos métodos han convertido a los taxa de especies delimitados en hipótesis científicas de entidades evolutivas separadas (Hey *et al.*, 2003; De Queiroz, 2007). Estas hipótesis pueden someterse a pruebas iterativas utilizando combinaciones de diferentes tipos de datos (como diferencias en morfología, fisiología, ecología, comportamiento o genética) para delimitar especies con un enfoque multicriterio, en una nueva metodología conocida como "*taxonomía integrativa*" (Padiál *et al.*, 2010; Yeates *et al.*, 2011; Fiser *et al.*, 2018). Actualmente, es común usar múltiples tipos

de datos para evaluar hipótesis de especies en diversos grupos de organismos, en donde estos enfoques integrativos han sido especialmente útiles en casos donde los métodos tradicionales fallan, como en grupos con polimorfismo intraespecífico significativo, dimorfismo sexual y diferencias interespecíficas sutiles (MacGuigan *et al.*, 2017; Freitas *et al.*, 2018; Masonick & Weirauch, 2019). En los trabajos de taxonomía integrativa, se utiliza un enfoque integral, así como la aplicación de métodos estadísticos complementarios, lo que permite obtener una visión objetiva y rigurosa que ayuda a comprender el proceso de división y divergencia entre linajes, evitando las limitaciones asociadas con el uso de un único método de análisis (Padiál *et al.*, 2010; Duminil *et al.*, 2012).

Sin embargo, ¿por qué es importante delimitar especies difíciles de distinguir? Los diferentes linajes genéticos encontrados en los complejos crípticos a menudo exhiben adaptaciones y un potencial evolutivo único, que son el resultado de sus historias evolutivas particulares (Westram *et al.*, 2011). Estas adaptaciones incluyen rasgos biológicos que han evolucionado a lo largo de diferentes linajes, como la competencia intraespecífica y el comportamiento elusivo contra depredadores (Cothran *et al.*, 2013). Debido a estas diferencias en rasgos biológicos y ecológicos, no es apropiado hacer generalizaciones sobre cómo responderán al cambio ambiental todos los linajes dentro de un complejo de especies críptico, basándose únicamente en un solo linaje (Feckler *et al.*, 2014). Realizar generalizaciones puede tener implicaciones significativas en la gestión ambiental, incluyendo la evaluación de riesgos ecológicos, el biomonitoreo y la biología de la conservación (Bálint *et al.*, 2011; Feckler *et al.*, 2013). Por lo tanto, la identificación precisa de complejos de especies crípticas y la comunicación de las diferencias específicas entre especies en términos de rasgos biológicos también son esenciales para desarrollar pautas adecuadas que garanticen una gestión ambiental sólida y confiable (Sattler *et al.*, 2007; Feckler *et al.*, 2014).

Actualmente, la alarmante pérdida de especies impulsa la urgencia de comprender y documentar la distribución espacial y temporal de las especies presentes en ecosistemas vulnerables (Fisher *et al.*, 2015). En ambientes marinos,

los arrecifes de coral se encuentran entre los ecosistemas biológicamente más diversos, complejos y económicamente más valiosos del planeta. Se considera que albergan entre un cuarto y un tercio de todas las especies marinas conocidas. Estimaciones recientes sugieren que entre 550,000 y 1,330,000 especies multicelulares habitan en los arrecifes de coral en todo el mundo (Fisher *et al.*, 2015; Ransome *et al.*, 2017), muchas de las cuales aún no han sido descritas o nombradas (Rogers, 2013). Sin embargo, estos ecosistemas enfrentan múltiples amenazas como la sedimentación excesiva debido a modificaciones en la línea de costa, contaminación, explotación de recursos naturales, impactos locales como destrucción del hábitat por eventos hidrometeorológicos cada vez más intensos y encallamientos de embarcaciones, así como la aparición de enfermedades emergentes y hasta de impactos globales como el calentamiento global y la acidificación del océano (Knowlton, 2001; Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007; Albright *et al.*, 2016; González-Barrios *et al.*, 2023). Por lo tanto, comprender la biodiversidad de los arrecifes de coral es crucial para continuar comprendiendo su funcionamiento y resiliencia.

A pesar de la importancia de los arrecifes de coral, muchos organismos asociados a estos ambientes han recibido poca atención en comparación con grupos más visibles como los corales, peces y algunos moluscos (Chapin *et al.*, 2000; Roberts *et al.*, 2002; Tittensor *et al.*, 2010; Glynn, 2011; Hubert *et al.*, 2012). Los esfuerzos para evaluar la diversidad de especies arrecifales han dado menos atención a especies pequeñas y crípticas, así como a aquellas cuya riqueza de especies no es visualmente reconocible debido a que inicialmente suelen ser morfológicamente indistinguibles, aunque sean genéticamente diferentes (Bickford *et al.*, 2007). Además, estos y todos los ecosistemas desempeñan un papel importante en los procesos de especiación, donde las diferencias entre dos ecotipos pueden explicarse mediante la especiación ecológica (Baric & Sturmbauer, 1999). La especiación ecológica implica que las poblaciones ancestrales divergen debido a la distribución de recursos ecológicamente accesibles que pueden ser explotados evolutivamente (Rundle & Nosil, 2005). En otras palabras, la especiación ecológica depende de las oportunidades ecológicas que varían en el espacio y tiempo

(Schluter, 2016). Esta dinámica puede contribuir a tasas de especiación y eventos evolutivos importantes como la radiación adaptativa (Stroud & Losos, 2016), lo cual abre posibles explicaciones mecanicistas entre las oportunidades ecológicas y los patrones globales de diversidad (Fiser *et al.*, 2018).

En este contexto, destaca la presencia de *Ophiothrix (Ophiothrix) angulata* (Say, 1825) (de aquí en adelante *Ophiothrix angulata*), una especie de ofiuero presente en sistemas arrecifales del Gran Caribe. Esta especie pertenece a la Clase Ophiuroidea del Phylum Echinodermata, organismos marinos que poseen una importancia ecológica significativa desempeñando roles transcendentales como depredadores de pequeños invertebrados del sedimento y suspensívoros, presas principalmente de peces y participantes activos en la bioturbación del sustrato (O'Hara, 2017). Sin embargo, debido a su elevada plasticidad fenotípica y amplia distribución tanto geográfica como batimétrica, se ha considerado que *O. angulata* podría ser un complejo de especies (Hendler *et al.*, 1995; Santana *et al.*, 2017; Alitto *et al.*, 2019; *obs. pers.*).

En la última década, estudios de taxonomía integrativa han demostrado la presencia de diferentes especies crípticas tanto en el género *Ophiothrix* (Pérez-Portela *et al.*, 2013; Taboada & Pérez-Portela, 2016) como en lo que hasta hace poco se consideraba *O. angulata* en su distribución brasileña (Alitto *et al.*, 2019). Sin embargo, aún no está claro si los organismos actualmente clasificados como *O. angulata* y distribuidos en el Atlántico Noroccidental forman parte de una única especie o si son parte de un complejo de especies. Por lo tanto, este estudio utilizará un enfoque integrativo que combine marcadores moleculares y morfológicos, junto con el conocimiento biológico y ecológico disponible en la literatura y colecciones científicas, para determinar si la especie conocida hasta ahora como *O. angulata* en el Atlántico Noroccidental debería considerarse como una o varias especies distintas. Esta investigación contribuirá a una mejor comprensión del estatus taxonómico de *O. angulata* en su distribución dentro del Atlántico Noroccidental, así como de su diversidad, distribución geográfica y batimétrica. A su vez, estos hallazgos podrían mejorar la comprensión de las complejas interacciones

ecológicas en los arrecifes de coral y otros hábitats marinos donde se encuentre presente esta especie. Además, el conocimiento adquirido será útil para futuras investigaciones en los campos de taxonomía, ecología y conservación marina.

Complejos crípticos de especies en ofiuos

A mediados del siglo pasado se creía que la taxonomía general de los ofiuos estaba bien establecida (O'Hara *et al.*, 2017). Sin embargo, el análisis de secuencias genéticas ha revelado que varias especies de ofiuos o estrellas quebradizas son en realidad complejos de especies crípticas. Ejemplos destacados incluyen a la especie cosmopolita *Amphipholis squamata* (Boissin *et al.*, 2008), *Ophiothrix fragilis* del Atlántico nororiental (Pérez-Portela *et al.*, 2013; Taboada & Pérez-Portela, 2016), la especie cosmopolita de mar profundo *Asteronyx loveni* (Okanishi *et al.*, 2018) y el complejo de especies de *Ophioderma longicauda*, común en el Mediterráneo, que recientemente fue dividida en 5 especies, 3 de las cuales son nuevas (Stöhr *et al.*, 2020). Estos ejemplos son modelos útiles que han comenzado a abrir un espacio de análisis acerca de las dinámicas de especiación que podrían estar ocurriendo en los linajes crípticos de ofiuos.

La especie *Amphipholis squamata* es conocida por no presentar una fase larvaria libre y tener una distribución cosmopolita. Sin embargo, los autores Sponer & Roy (2002) utilizaron análisis de ADN nuclear y mitocondrial para examinar 16 poblaciones costeras a lo largo de Nueva Zelanda, descubriendo que las poblaciones locales y regionales se estructuran genéticamente de acuerdo con el aislamiento por distancia. Encontraron 4 linajes genéticamente divergentes y reproductivamente aislados que pueden existir en sintopía (conviviendo en el mismo espacio y tiempo). Estos linajes varían en abundancia, diversidad de haplotipos y distribución geográfica, con una división norte/sur consistente con las zonas biogeográficas marinas conocidas en Nueva Zelanda. Este patrón parece estar relacionado con el régimen de circulación oceánica. Por otro lado, las poblaciones de *Amphipholis squamata* de la costa mediterránea francesa muestran 6 linajes

filogenéticos correspondientes a por lo menos 4 especies biológicas (Boissin *et al.*, 2008; Boissin *et al.*, 2010). Estas especies hermanas parecen vivir en simpatria, pero muestran niveles contrastados de diversidad genética, lo que sugiere que tienen historias evolutivas independientes.

En el caso de *Ophiactis savignyi*, una especie que se considera la más común en el mundo, se ha encontrado un patrón genético que sugiere una historia de aislamiento. Se ha demostrado que esta especie se ha dispersado recientemente entre el Océano Pacífico y el Océano Atlántico occidental. Estos resultados se basan en un análisis filogenético utilizando secuencias de ADN mitocondrial de poblaciones de ambas regiones. Los autores Roy & Sponer (2002) concluyen que la presencia de haplotipos idénticos entre ambos océanos y una firma genética de la expansión de la población, proporcionan evidencia convincente de que el Atlántico occidental contiene al menos un grupo de haplotipos recientemente derivados del Indo-Pacífico.

El trabajo de Hoareau & Boissin (2010) revela que, mediante el uso del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI), se pueden encontrar altas divergencias intraespecíficas (>3%) entre muestras alopatricas de las especies de ofiuros *Macrophiothrix longipeda* y *Ophiothrix trilineata*, incluyendo algunas observadas entre los océanos Índico y Pacífico. Estas distancias genéticas son significativamente mayores que las distancias genéticas intraespecíficas observadas por Ward *et al.* (2008) para equinodermos, lo que sugiere que podrían representar complejos de especies. En conjunto, estos hallazgos destacan la importancia de examinar la diversidad y estructura genética en las poblaciones de especies con amplia distribución para comprender mejor su historia evolutiva y la estructura de sus poblaciones.

Hasta ahora, un factor común durante el descubrimiento de las diversas especies de ofiuros que forman parte de complejos de especies, es su reconocimiento a partir de linajes mitocondriales divergentes. Un ejemplo ocurrió con *Acrocnida brachiata*, una especie que habita tanto la zona intermareal como la submareal. Un estudio realizado por Muths *et al.* (2006) demostró que las 17

poblaciones a lo largo de la costa noroeste de Europa presentan una clara ruptura genética entre las poblaciones de las zonas intermareal y submareal en las que habitan. Antes de este estudio, las diferencias morfológicas entre las poblaciones se interpretaron como variación intraespecífica (Stöhr & Muths, 2010). Sin embargo, el estudio de Muths *et al.* sugirió que estas diferencias están relacionadas con el hábitat, el tamaño, la duración de vida, el tiempo de reproducción y el reclutamiento, posiblemente causando procesos de especiación alopátrica, y que no solo se encuentran relacionadas con efectos ambientales sobre individuos dentro de la misma especie. Los datos moleculares sugieren que existen dos linajes distintos y, en última instancia, dos especies crípticas con clara segregación batimétrica. La distribución geográfica de la población intermareal parece estar más restringida que la población submareal, y se estima que la divergencia entre los dos clados ocurrió hace unos 5 millones de años, durante la transición Mio-Plioceno. Sin embargo, la aparición de híbridos en pocas localidades sugiere una especiación críptica incompleta en zonas donde aún puede existir contacto secundario.

Los desafíos asociados al uso de marcadores genéticos y la inferencia de relaciones evolutivas para delimitar complejos de especies crípticas ponen de manifiesto fenómenos en los que la historia evolutiva de las especies podría no reflejar por completo sus relaciones filogenéticas. Este escenario puede ocurrir en especies recientemente divergentes, donde los cambios genéticos no han tenido tiempo suficiente para fijarse completamente en las poblaciones antes de la siguiente divergencia. Como resultado, las dos nuevas especies pueden no reflejar con precisión la división original; en cambio, algunas regiones genéticas podrían parecer más similares de lo esperado entre las nuevas especies (Maddison & Knowles, 2006). Este fenómeno es conocido como “segregación incompleta de linajes” (ILS, *incomplete lineage sorting*) y fue abordado en el caso del complejo de especies de *Ophioderma longicauda*. Weber *et al.* (2019), al analizar el complejo de *O. longicauda* registraron la presencia de un fuerte ILS, demostrando que agrupar genotipos de múltiples loci es adecuado ante la presencia de ILS, ya que no se necesitan diferencias de diagnóstico para encontrar grupos genéticos, sólo diferencias de frecuencia.

Debido al descubrimiento de ejemplares recolectados tanto en los Cayos de Florida (EUA) como en Guadalupe (Antillas Menores) por el Dr. Gustav Paulay, curador del Museo de Zoología de Invertebrados de la Universidad de Florida, se revelaron al menos dos linajes mitocondriales divergentes para la especie *Ophiothrix angulata* (Figura 1.1; *datos no publicados*). Este hallazgo motivó el presente estudio, cuyo objetivo es investigar la posible existencia de un complejo de especies en *Ophiothrix angulata* dentro de su distribución Atlántico noroccidental utilizando un enfoque de taxonomía integrativa, en el que se combinen marcadores moleculares y morfológicos, para contribuir a una mejor comprensión del estatus taxonómico de este ofiuo.

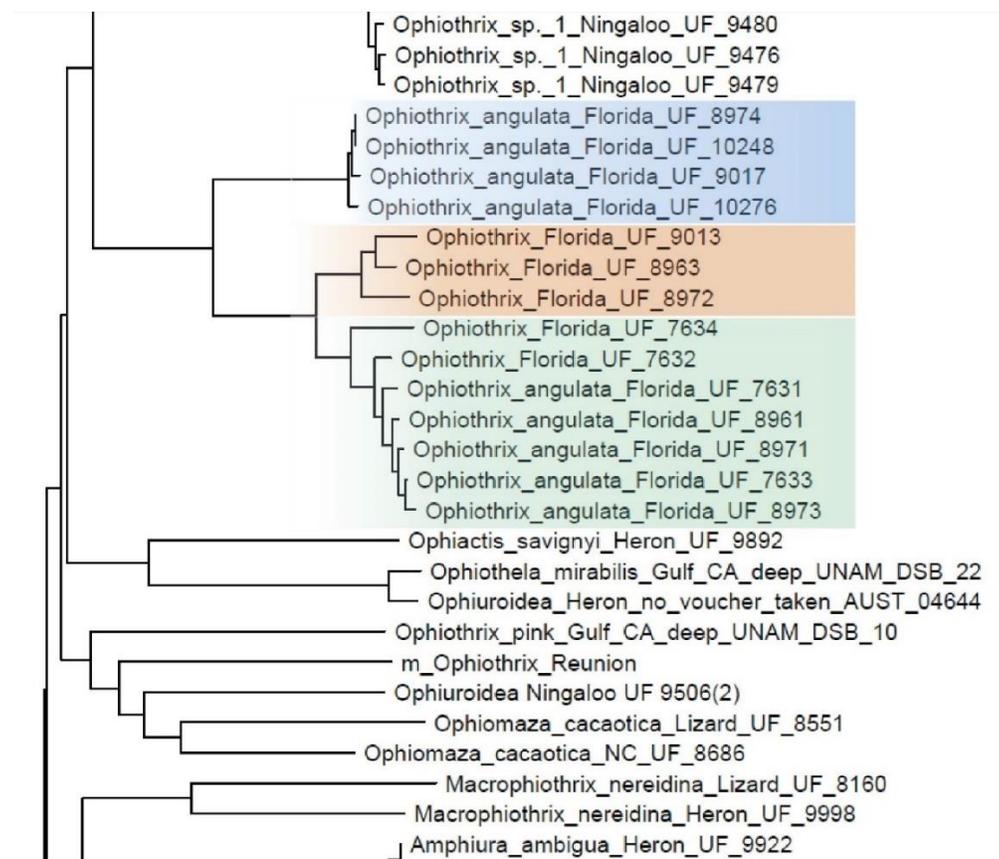


Figura 1.1. Árbol filogenético de diversas especies de equinodermos en el que se resaltan 3 grupos que representan 3 linajes distintos descubiertos dentro de *Ophiothrix angulata* (Gustav Paulay; datos no pub).

Equinodermos

Los equinodermos representan un Phylum diverso de deuterostomados que cuentan con aproximadamente 7,000 especies descritas (Pawson, 2007). Las estrellas de mar, los erizos de mar, los ofiuros, los crinoides y los pepinos de mar son animales usualmente usados para representar ambientes marinos (Byrne & O'Hara, 2017). Poseen un arreglo distintivo de 5 ejes, a menudo presentan colores brillantes y frecuentemente conforman un componente conspicuo de la fauna de invertebrados de los océanos (O'Hara, 2017). En México, se han registrado 858 especies de equinodermos distribuidas en ambas costas, lo que representa aproximadamente el 12.25% del total de especies reportado en el mundo (Laguada-Figueras *et al.*, 2018). Se consideran un componente importante de la diversidad en ecosistemas de arrecifales representando una proporción significativa de la biomasa presente en ellos (O'Hara, 2017).

La mayoría de los equinodermos tienen un ciclo de vida que incluye una etapa larval plantónica seguida por una etapa de adultos sésiles, y suelen presentar un comportamiento de desove externo, aunque en el grupo existen algunas especies incubadoras (Giese *et al.*, 1991). Debido a que tienen distintos tipos de hábitats durante su ciclo de vida, resulta difícil comprender la relación entre algunas etapas juveniles y las etapas maduras de la misma especie (Hoareau & Boissin, 2010), el dimorfismo sexual de algunas especies (Stöhr, 2001; Tominaga *et al.*, 2004; Montgomery *et al.*, 2018) y los casos de plasticidad fenotípica (Owen *et al.*, 2009) presentan un amplio espectro de variabilidad morfológica, que van desde alta variación intraespecífica (Crawford & Crawford, 2007), hasta la falta de diferencias morfológicas entre clados cuyas distancias genéticas son iguales o superiores a las normalmente observadas entre distintas especies (Roy & Sponer, 2002; Boissin *et al.*, 2008). Dada la importancia de este Phylum en los ecosistemas bentónicos, a la gran plasticidad fenotípica de algunos de sus integrantes que ha provocado ambigüedad taxonómica y a las dificultades para vincular las diferentes etapas de vida de los equinodermos, en las últimas décadas, al igual que con otros grupos de invertebrados marinos, la identificación que utiliza un enfoque genético ha resultado

útil y ha ayudado a esclarecer las relaciones sistemáticas entre las especies de este grupo (Hoareau & Boissin, 2010).

Clase Ophiuroidea

Los miembros de la Clase Ophiuroidea, o también conocidos como estrellas frágiles o estrellas quebradizas, son un grupo importante de invertebrados marinos bentónicos cuyo registro fósil se remonta a 480 millones de años en el Ordovícico Temprano (O'Hara *et al.* 2014). Actualmente, los ofiuros presentan una gran diversidad y dispersión geográfica, con cerca de 250 géneros y alrededor de 2,064 especies recientes (O'Hara *et al.* 2014). En México existen 240 especies registradas de ofiuros, lo que corresponde al 11.42% de las especies conocidas globalmente (Colección Nacional de Equinodermos, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología). Esta clase es la más diversa de las 5 y a menudo sus miembros son abundantes y, en ocasiones, dominantes en las comunidades marinas bentónicas (Kissling & Taylor, 1977; Lewis & Bray, 1983; Hendler & Littman, 1986; Aronson, 1988; Stöhr *et al.*, 2012; Boissin *et al.*, 2016).

El nombre "Ophiuroidea" se deriva del griego *ophis* "serpiente" y *oura* "cola" y hace referencia a la forma en que estos organismos pueden mover y enrollar sus brazos, los cuales son delgados y serpentiformes (Stöhr *et al.*, 2012). Dentro de la clase, existen diversos tipos de ofiuros, incluyendo las estrellas canasta (que tienen sus brazos ramificados) y las estrellas serpiente (con brazos no ramificados y muy flexibles capaces de enrollarse). Los ofiuros se distribuyen ampliamente por todos los océanos, desde la zona intermareal hasta la zona hadal a 6,500 m de profundidad, en arrecifes intermareales y estuarios, y desde los polos hasta los trópicos (Stöhr *et al.*, 2012).

Los ofiuros tienen un esqueleto de carbonato de calcio compuesto por pequeñas placas, se caracterizan por presentar un cuerpo dorso-ventralmente deprimido compuesto por un disco central y 5 o 6 brazos articulados, los cuales pueden estar ramificados o no. Tienen la boca en la parte inferior del cuerpo que es

aquella que se encuentra en contacto con el fondo marino, la boca tiene 5 dientes, no tienen ano y sus pies ambulacrales los usan principalmente como órganos sensoriales para detectar la luz y químicos en la columna de agua. No tienen ojos, ni cerebro (O'Hara, 2017).

Estructuralmente, en la parte dorsal del disco se observan los escudos radiales, la piel o escamas, así como diversas ornamentaciones que pueden incluir gránulos, placas, espinas y/o espineletas. En la parte ventral del disco se encuentran las mandíbulas compuestas por escudos orales, escudos adorales, papilas orales, papilas dentales y dientes. Externamente los brazos se componen de placas dorsales, ventrales y laterales, así como espinas de diferentes tamaños y formas ancladas a las placas laterales, escamas tentaculares y podios externos, y una estructura interna llamada vértebra (Figura 1.2; Laguarda-Figueroa *et al.*, 2009).

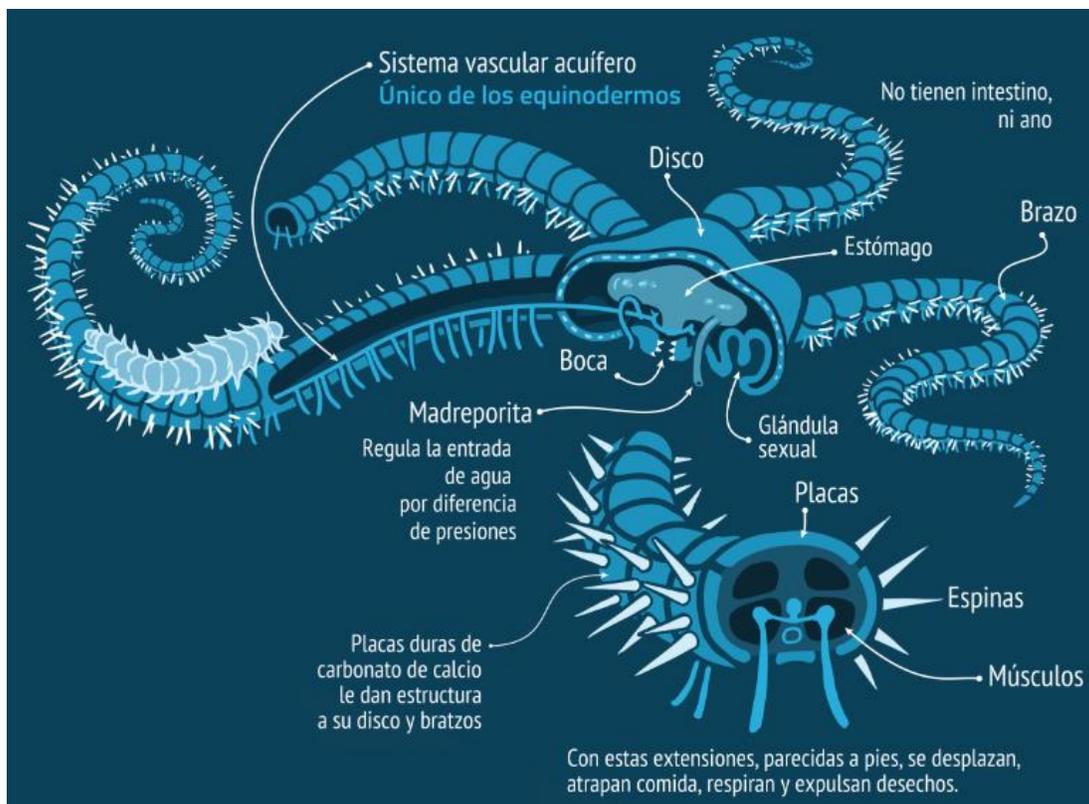


Figura 1.2. Principales características morfológicas de un ofiuo. Ilustración: Hernández-Díaz *et al.* (2020a). <https://doi.org/10.5281/zenodo.7063179>.

Familia Ophiotrichidae

En su revisión de 1966 sobre la Familia Ophiotrichidae Ailsa M. Clark, señaló que esta había sido una "fuente de problemas considerables para los sistemáticos" debido al alto grado de variación morfológica de muchas de sus especies (p. 637). Incluso algunas de las distinciones entre los géneros de la familia se consideran problemáticas, lo que hace que la identificación de los ophiotrichidos sea difícil (Hendler, 2005). Sin embargo, O'Hara *et al.* (2017) crearon una nueva filogenia integral a nivel familiar de los miembros recientes de la Clase Ophiuroidea, basada en un conjunto de datos genéticos de 273 kb de 576 especies analizadas mediante secuenciación de nueva generación. Esta nueva filogenia colocó a la Familia Ophiotrichidae en el Orden Amphilepidida, Suborden Gnathophiurina junto a las familias Amphiuridae, Amphilepididae y Ophiactidae, formando un grupo morfológicamente coherente, bien reconocido con un registro fósil relativamente reciente (Eoceno), y restringido en gran medida a hábitats de aguas poco profundas de clima tropical templado (Figura 1.3; O'Hara *et al.*, 2014; O'Hara *et al.*, 2017).



Figura 1.3. Algunos géneros representantes de la Familia Ophiotrichidae. (A) *Ophiothela mirabilis*, distribución Océano Pacífico Sur como simbiote de *Protoreaster nodosus* ©Kamil Jureczko iNaturalist. (B) *Ophiothrix fragilis*, distribución

Oceáno Atlántico Sur ©Georgina Jones iNaturalist. (C) *Ophiocnemis marmorata*, distribución Indopacífica ©Budak iNaturalist. D) *Macrophiothrix nereidina*, distribución Indopacífica ©Tsu Soo Tan iNaturalist.

Género *Ophiothrix*

El género *Ophiothrix* fue descrito por Müller & Troschel en 1840, es uno de los 13 géneros taxonómicos aceptados en la Familia Ophiotrichidae. *Ophiothrix* se encuentra geográfica y batimétricamente extendido, distribuido en los océanos Atlántico, Índico y Pacífico (Clark HL, 1938; Clark HL, 1939; Clark HL, 1946; Clark AM, 1966; Hendler *et al.*, 1995; Hendler, 2005; Alvarado & Solís-Marín, 2013). Dicho género es abundante en aguas cálidas superficiales o ambientes tropicales del Atlántico Noroccidental, desde 1 m y alcanzando los 540 m de profundidad (Hendler *et al.*, 1995; Stöhr *et al.*, 2012; Alvarado & Solís-Marín, 2013). Algunas especies presentan colores brillantes y se encuentran generalmente asociados con corales y esponjas (Hendler, 2005). La taxonomía confusa de los ophiotrichidos es un problema antiguo en el Caribe, donde las especies del género *Ophiothrix* son extremadamente variables, y la variabilidad de dichas especies no ha sido adecuadamente descrita (Hendler *et al.*, 1995). Bajo tales circunstancias, no es de extrañarse que la validez y la distribución de las especies del género *Ophiothrix*, que son organismos abundantes y ampliamente distribuidos, siga siendo pobremente conocido.

En 1842, Müller & Troschel describieron 18 especies nominales para el género. Posteriormente, Hubert Lyman Clark intentó separar grupos que consideró muy diferentes del "típico" *Ophiothrix* y propuso la creación de 4 géneros nuevos para reducir la acumulación de especies nominales: *Lissophiothrix*, *Macrophiothrix*, *Placophiothrix* (Clark HL, 1938) y *Amphiophiothrix* (Clark HL, 1946). Sin embargo, Fell (1960) sinonimizó *Placophiothrix* con *Macrophiothrix* basándose en las espinas de los brazos de las articulaciones proximales, que consideró unidas "por una membrana delgada". Por otro lado, Ailsa M. Clark (1966) mantuvo *Placophiothrix* y sugirió que *Ophiothrix* y *Placophiothrix* diferían solo a nivel subgenérico,

manteniendo así el subgénero *Ophiothrix*. Además, la misma Ailsa M. Clark describió otros 3 subgéneros basados en diversos caracteres morfológicos, como la ornamentación del disco, la longitud y anchura de los brazos, la forma de la placa dorsal del brazo y la presencia de cobertura cutánea en la parte dorsal de los brazos. Estos 3 subgéneros se denominaron *Acanthophiothrix*, *Keystonea* y *Theophrix*. Posteriormente, *Amphiophiothrix* se sinonimizó con *Macrophiothrix* (en Ailsa M. Clark, 1968), de la misma manera que ocurrió con *O. (Placophiothrix)* y *O. (Keystonea)* (Hoggett, 1990; Price & Rowe, 1996). En 1938, Hubert Lyman Clark sugirió una conexión entre *Ophiopteron* y *O. (Keystonea)* (ambos ophiotrichidos), debido a la presencia de espinas palmeadas en el brazo (un rasgo característico de *Ophiopteron*) en los juveniles de algunas especies. Mortensen (1932) también notó que algunas especies nominales de *Ophiopteron*, representaban juveniles de especies ahora referidas como *O. (Keystonea)* y *O. (Placophiothrix)*. A pesar de la aceptación implícita de una relación estrecha entre la mayoría de estos géneros, no se han encontrado sinapomorfías dentro del grupo (Hoggett, 1990).

Es importante destacar que la delimitación de especies en el género *Ophiothrix* se ha basado tradicionalmente en diversos caracteres morfológicos diagnósticos, lo que ha generado confusión taxonómica (Arlyza *et al.*, 2013). Se han realizado intentos, como los de Müller & Troschel (1842), Hubert Lyman Clark (1918), y Tommasi (1970), para descifrar si los patrones de coloración pueden interpretarse en términos taxonómicos, pero sin éxito. Entre los caracteres morfológicos de importancia taxonómica se incluyen el número, la forma y las longitudes relativas de las espinas dorsales de los brazos, así como la geometría de la sección transversal de los segmentos del brazo (Baric & Sturmbauer, 1999). Actualmente, este género es el que cuenta con el mayor número de especies dentro de la Familia Ophiotrichidae, que comprende 96 especies válidas, incluyendo 41 en el género *Ophiothrix sensu stricto* (s.s.) y 3 subgéneros nominales aceptados no monofiléticos (O'Hara *et al.*, 2017): *Ophiothrix* (36), *Acanthophiothrix* (18) y *Theophrix* (1) (Stöhr *et al.*, 2023). Sin embargo, sigue existiendo una considerable confusión que rodea la taxonomía y las relaciones filogenéticas de las especies de la Familia Ophiotrichidae, ya que la evidencia genética de especies del género *Ophiothrix*

distribuidas en el Atlántico occidental, sugiere que la diversidad de especies se encuentra subestimada (Paulay datos no publicados). Por lo tanto, consideramos que aclarar tal rompecabezas taxonómico requiere un estudio exhaustivo de las relaciones morfológicas y genéticas a través del género, tal como lo señalaron Hendler (2005) y Stöhr *et al.* (2012).

Ophiothrix Müller & Troschel, 1840

Müller & Troschel, 1840, 328; Müller & Troschel, 1842, 109-110.

Material tipo. *Asterias fragilis* = *Ophiothrix fragilis* (Abildgaard in Müller OF, 1789).

Diagnosis (modificada de Müller & Troschel, 1840; Müller & Troschel, 1842; Clark AM, 1966): un género de Ophiotrichidae que se caracteriza por tener brazos principalmente flexibles en el plano horizontal, cubiertos por una piel delgada que no oculta las placas subyacentes. El disco está armado periférica y ventralmente por protuberancias o gránulos espinosos y dorsalmente por espinas, espineletas, protuberancias o gránulos espinosos, a veces en combinación y a veces esparcidos o, raramente, incluso careciendo, aunque el armamento ventral está siempre presente. Además, presenta 10 escudos radiales aplanados, que están escasamente armados con protuberancias espinosas o gránulos, o más o menos completamente desnudos. El diámetro del disco es proporcionalmente pequeño en relación con la longitud del brazo, rara vez llegando a 1:10 y normalmente en el rango de 1:4-8. El género sólo presenta papilas dentales, con dientes interiores, y las espinas de los brazos están equinuladas. Presenta un par de hendiduras genitales por cada área interbraquial, y las escamas de los poros tentaculares son indistintas o están ausentes.

En las especies *Ophiothrix sensu stricto* (s.s.), las placas dorsales de los brazos son rómbicas o en forma de abanico con un ángulo proximal estrecho y la mitad distal es angular simple y continuamente convexa; las placas consecutivas están por lo tanto solo estrechamente en contacto, también su longitud: la amplitud de su radio usualmente es 1:1.25 a 1:1.5 (Figura 1.4).

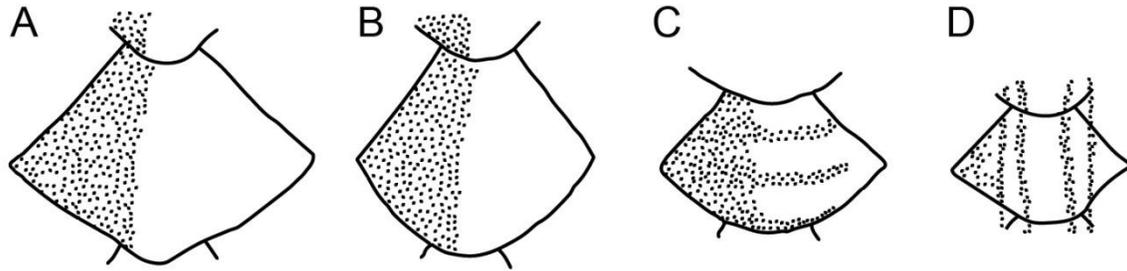


Figura 1.4. Placas dorsales de los brazos de especies del género *Ophiothrix* s.s.: (A) *Ophiothrix fragilis*, (B) *Ophiothrix aristulata* (C) *Ophiothrix foveolata* y (D) *Ophiothrix trilineata* (imágenes tomadas de Ailsa M. Clark, 1966).

Subgénero *Ophiothrix* Müller & Troshel, 1840

Diagnosis (tomada de Ailsa M. Clark, 1966): El disco se caracteriza por presentar una armadura más o menos densa de espinas, espineletas, protuberancias o gránulos espinosos, los cuales suelen ocultar los límites de las escamas subyacentes. Los escudos radiales, por lo general, presentan una capa escasa de stumps o gránulos espinosos, aunque en ocasiones están desnudos. Los brazos exhiben espinas semihalinas, que regularmente se estrechan hacia la punta. Las placas dorsales de los brazos se encuentran estrechamente en contacto y tienen forma rómbica o de abanico. Son más anchas que largas, pero no de manera pronunciada, y su relación longitud-amplitud es generalmente cercana a 1:1.25-1.5. El diámetro del disco comúnmente oscila entre los 8-12 mm, rara vez superando los 20 mm (Figura 1.5).

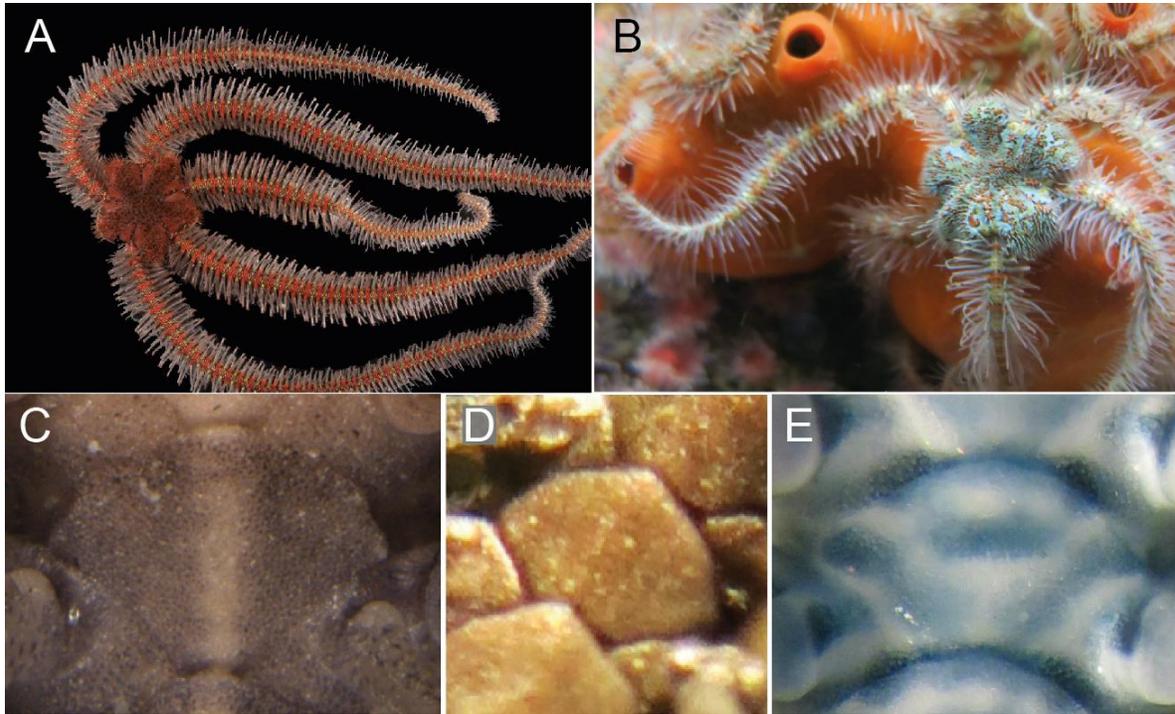


Figura 1.5. Especies representantes del subgénero *Ophiothrix* y placas dorsales congénéricas. (A) *Ophiothrix (Ophiothrix) oerstedii*, Cayo Arcas, Banco de Campeche ©Biodiversidad Marina de Yucatán. (B) *Ophiothrix (Ophiothrix) spiculata*, Monterey Aquarium, California. Placas dorsales del brazo: (C) *Ophiothrix angulata*, morfotipo mexicano. (D) *Ophiothrix (Ophiothrix) spiculata*, morfotipo panameño. (E) *Ophiothrix (Ophiothrix) rudis*, morfotipo California. Fotografías por: Hernández-Díaz, YQ.

***Ophiothrix (Ophiothrix) angulata* (Say, 1825)**

Dentro del género *Ophiothrix*, se encuentra la especie *Ophiothrix angulata*, la cual cuenta con una larga historia de descripciones. Es una de las primeras estrellas quebradizas y el primer ophiotrichido descrito para el continente americano. Además, es conocido por ser uno de los ofiuros caribeños más comunes y abundantes en aguas someras (Figura 1.6; Hubert Lyman Clark, 1933; Hendler *et al.*, 1999). Su taxonomía, sinonimias, subespecies, diagnosis y descripción se presentan a continuación:

I. Taxonomía

Phylum Echinodermata

Subphylum Asterozoa

Clase Ophiuroidea

Subclase Myophiuroida

Infraclase Metophiurida

Superorden Ophintegrada

Orden Amphilepidida

Suborden Gnathophiurina

Superfamilia Ophiactoidea

Familia Ophiothrichidae

Género *Ophiothrix*

Subgénero *Ophiothrix* (*Ophiothrix*)

Especie *Ophiothrix* (*Ophiothrix*) *angulata*

Sinonimias:

Ophiura angulata Say, 1825

Ophiothrix angulata (Say, 1825)

Ophiothrix hispida Ayres, 1854

Subespecies:

Ophiothrix angulata var. *atrolineata* Clark HL, 1918

Ophiothrix angulata var. *megalaspis* Clark HL, 1918

Ophiothrix angulata var. *phlogina* Clark HL, 1918

Ophiothrix angulata var. *phoinissa* Clark HL, 1918

Ophiothrix angulata var. *poecila* Clark HL, 1918

Ophiothrix angulata var. *violacea* Müller & Troschel, 1842

Ophiothrix angulata albodiscus Clark HL, ? *Nomen nudum* (nombre no publicado)

Diagnosis (modificado de Say, 1825, 145-146p.): El disco es ligeramente pentagonal y presenta espinas bífidas o trífidas que están soportadas por pequeñas granulaciones apenas erguidas. Presenta 5 brazos. El borde del disco es prominente y lobulado en las zonas interbraquiales. La superficie del disco se encuentra irradiada con 10 líneas espinosas, de las cuales 5 están alargadas, y el resto es muy estrecho. En proporción a aquellas de los brazos, las espinas del disco son muy pequeñas. Los escudos radiales son pequeños, ovalados y están cubiertos por espinas. Los escudos orales son ovalados y más anchos que largos. Las placas

adorales son triangulares. Las placas orales son alargadas. Las mandíbulas carecen de papilas orales y presentan grupos de 17 papilas dentales. Las hendiduras genitales son grandes y ovaladas. Los brazos son moderadamente largos y deprimidos dorsalmente; poseen una escama tentacular pequeña a cada lado de las placas ventrales, las cuales son rectangulares. Las placas dorsales son pequeñas y tienen forma de rombo, mientras que las placas laterales son delgadas y abarcan la parte lateral y la mitad de la parte dorsal de los brazos. La placa lateral presenta 6 ó 7 espinas aserradas, palmeadas e hialinas, que son casi dos veces mayores que el diámetro transversal del brazo.

Hasta hace poco, no existía material “tipo” disponible para la especie *O. angulata*. Sin embargo, la reciente designación de un neotipo por Santana *et al.* (2017) seguramente ayudará en su estudio. Sin embargo, es importante destacar que la designación del neotipo se basó únicamente en datos morfológicos adquiridos a partir de material antiguo, a pesar de la razonable existencia y accesibilidad de datos moleculares. Esto es de destacarse, debido al estatus polimórfico de la especie y a que históricamente el uso de caracteres morfológicos como única fuente de evidencia en su estudio sistemático ha generado problemas taxonómicos. Dado lo anterior, es de esperarse que la designación del neotipo todavía pueda ser confirmada molecularmente.

Descripción del Neotipo (modificado de Santana *et al.* 2017). Un ejemplar con un diámetro de disco de 5.36 mm. Cinco brazos, 5 veces más largos que el diámetro del disco. Disco pentagonal (Figura 1.6A), robusto, con 2 mm de altura; regiones interradales cubiertas por pequeñas escamas redondas e imbricadas que portan espinas cortas de menos de 1 mm de longitud, placas primarias cubiertas por escamas, espinas con puntas bifurcadas y trifurcadas (Figura 1.8A); proporción de espinas 3 espinas bifurcadas por una espina trifurcada. Cobertura del disco densa, formando 5 grandes filas de espinas en la región dorsal interradales (Figura 1.6A), cada una con al menos 8 espinas entre pares de escudos radiales. Escudos radiales planos, escalenos triangulares, más largos que anchos con el borde proximal afilado y distalmente redondeado, separados por 1-2 escamas alargadas

cubiertas por espinas con puntas bifurcadas y trifurcadas (Figuras 1.6B, 1.8B); espinas dispersas irregularmente, formando 1-2 filas estrechas. El interrradio ventral está cubierto por las mismas espinas que la superficie dorsal del disco. Placas genitales abradiales no cubiertas por escamas (Figura 1.7C). Mandíbulas con una abertura en el medio del disco. Agrupación de papilas dentales (Figura 1.6C) que cubren al menos la mitad de la altura de la placa dental (Figura 1.7E). Papilas orales ausentes. Escudos orales con forma de rombo, más anchos que largos, con bordes proximales en un ángulo amplio y bordes distales y laterales redondeados (Figura 1.7D). Escudos adorales afilados por encima de los escudos orales y ensanchados distalmente (Figura 1.6C). Brazos comprimidos dorsoventralmente, disminuyendo gradualmente hacia la punta del brazo. Placas dorsales del brazo con forma de abanico, con borde proximal alargado y borde distal redondeado, tan largas como anchas (Figuras 1.6D y 1.9A). Placas laterales del brazo que ocupan parte de la superficie dorsal del brazo (Figura 1.7B); soportando 9 espinas proximalmente y 5-6 distalmente, la tercera espina superior es la más larga (Figura 1.8C); la espina inferior está modificada en un gancho (Figuras 1.6E, 1.8D). Espinas del brazo vítreas, con espinas marginales y una corona de espinas en la punta (Figuras 1.6D-E, 1.8C). Placas ventrales del brazo con forma de corazón, con borde proximal recto y cóncavo distalmente, más anchas que largas (Figuras 1.6E, 1.9B). Una escama tentacular espiniforme. Vértebras estreptospondilosas (Figuras 1.6F, 1.7A).

Variación. Ejemplares juveniles con menos de 4 mm de diámetro del disco; disco variable en forma desde redondeado hasta subpentagonal. Placa ventral del brazo con borde distal recto. La especie *O. angulata* presenta una notable variabilidad, lo que complica su identificación. Su coloración es particularmente variable y parece depender del lugar donde se encuentra (Stancyk & Shaffer, 1977).

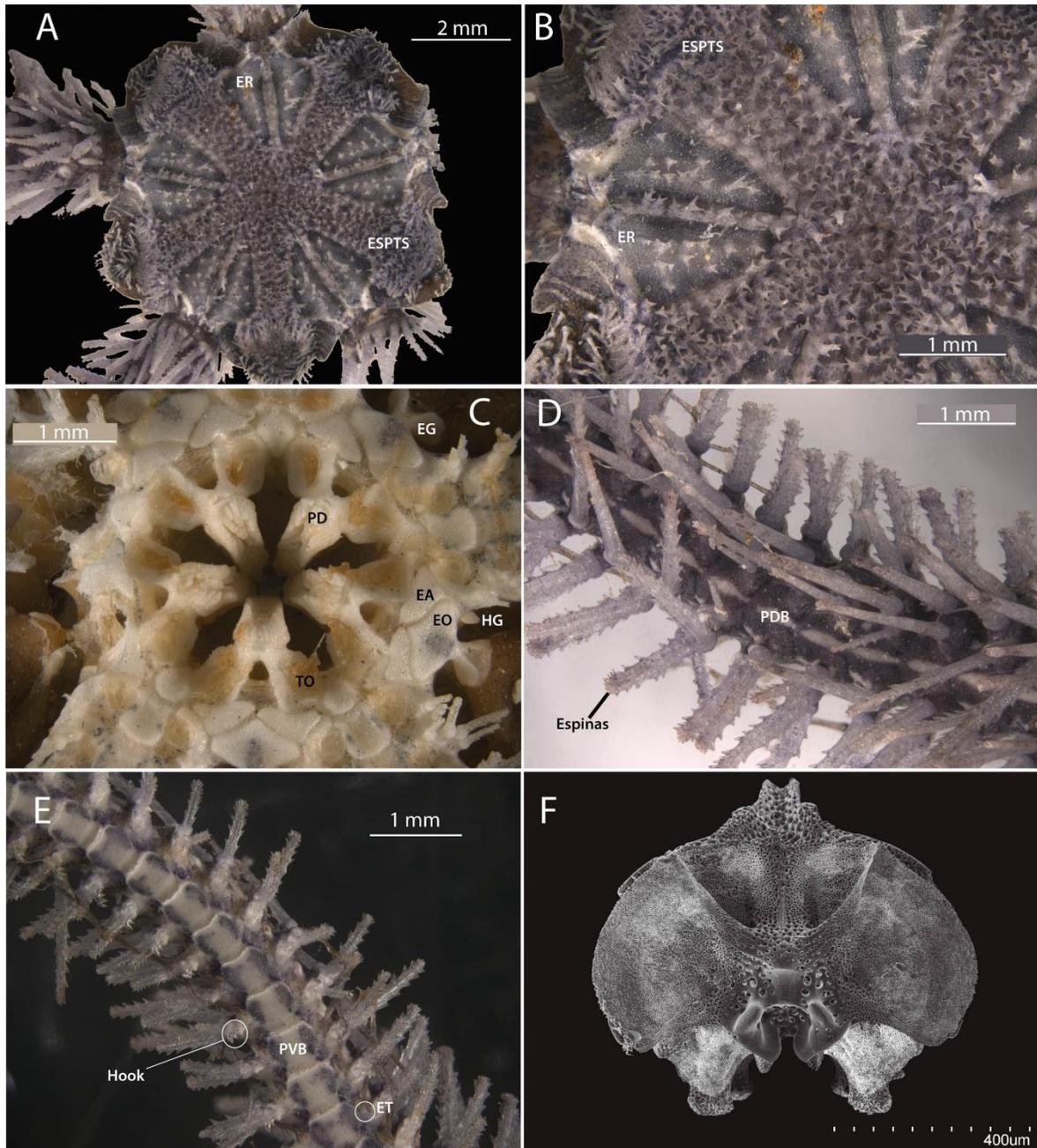


Figura 1.6. Características morfológicas de *Ophiothrix angulata* ICML-UNAM 3.34.100.1 que concuerdan con el neotipo de Santana *et al.* (2017). (A) Vista dorsal del disco; (B) Escudos radiales con presencia de espinas; (C) Vista ventral del disco; (D) Placas dorsales del brazo y espinas. (E) Placas ventrales del brazo y espinas; (F) Fotografía con Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de la vista proximal de la vértebra. ER: escudos radiales. ESPTS: espineletas. EA: escudos adorales. EO: escudo oral. PDB: placa dorsal del brazo. PVB: placa ventral del brazo. ET: escama tentacular. PD: cluster de papilas dentales. TO: tentáculo oral. HG: hendidura genital. EG: escama genital. Fotografías por: Hernández-Díaz, YQ.

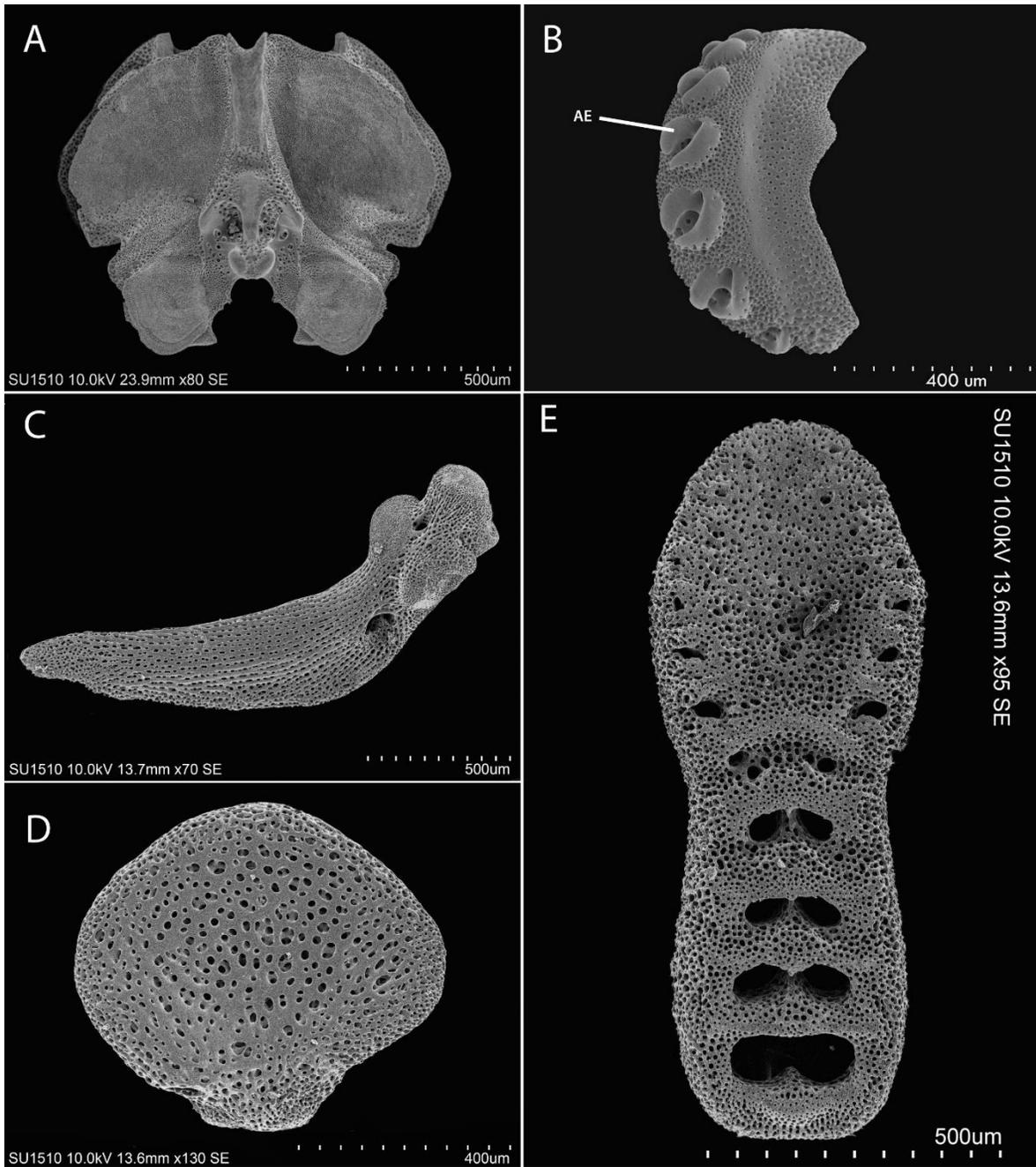


Figura 1.7. Fotografías MEB de *Ophiothrix angulata*. (A) Vista distal de la vértebra ICML-UNAM 3.34.15; (B) Placa lateral del brazo ICML-UNAM 18269; ICML-UNAM 3.34.100.1; (C) Escama o placa genital, vista interna; (D) Escudo oral; (E) Placa dental. AE: articulación de la espina. Fotografías por: Hernández-Díaz, YQ.

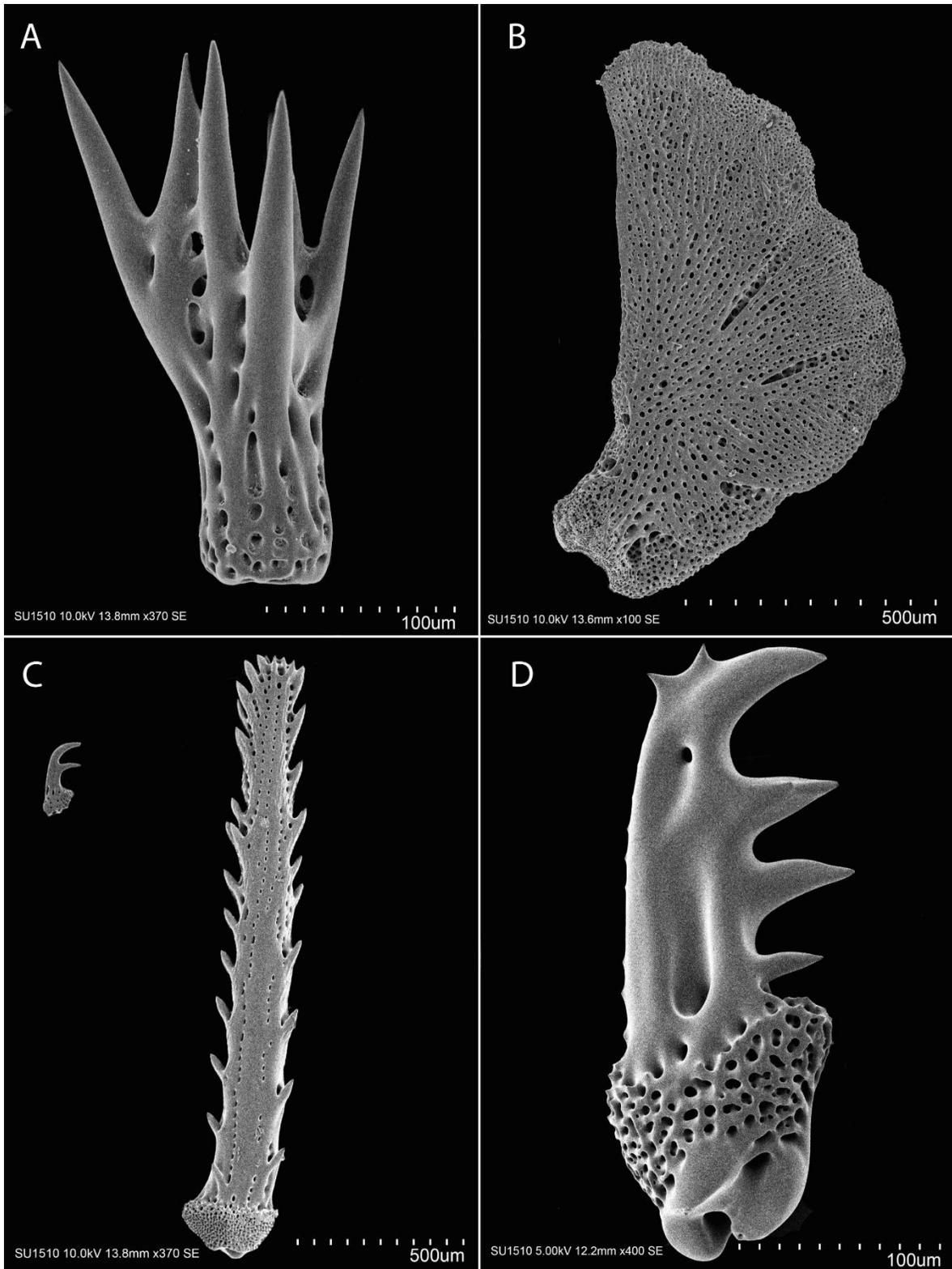


Figura 1.8. Fotografías MEB de *Ophiothrix angulata*. ICML-UNAM 3.34.100.1: (A) Espineleta del disco; (B) Escudo radial; ICML-UNAM 10994: (C) Espina más larga; (D) Espina modificada “hook”. Fotografías por: Hernández-Díaz, YQ.

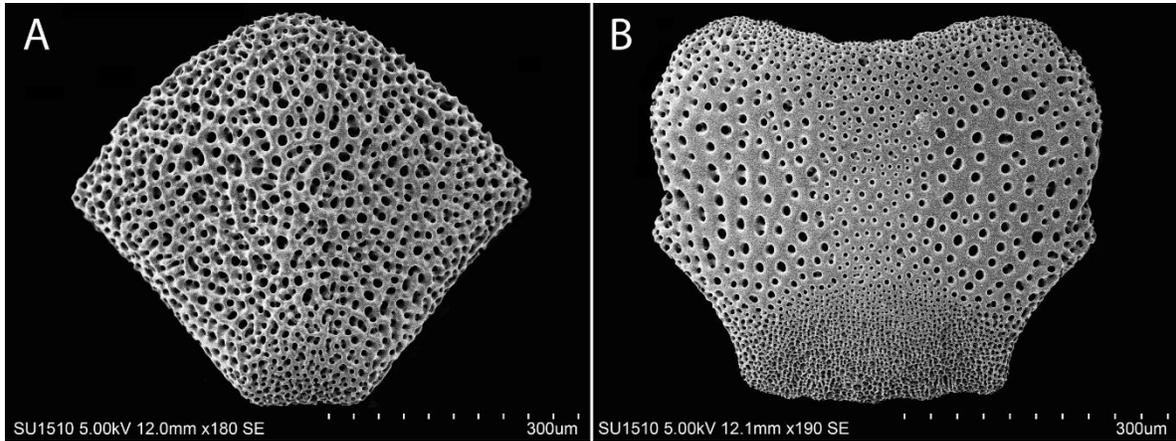


Figura 1.9. Fotografías MEB de *Ophiothrix angulata*. ICML-UNAM 10985: (A) Placa dorsal del brazo; (B) Placa ventral del brazo. Fotografías por: Hernández-Díaz, YQ.

Localidad tipo: Charleston, South Carolina, USA.

Tabla 1.1. Material examinado morfológicamente. Aproximadamente 2 mil individuos repartidos en cerca de 800 lotes (Apéndice 1).

No.	Colección	Número de lotes revisados
1	Colección Nacional de Equinodermos “Dra. María Elena Caso Muñoz”, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM (ICML-UNAM) México	158
2	Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida (UF), Florida, USA	177
3	Natural History Museum of Los Angeles County (LACM), California, USA	30
4	Museum of Comparative Zoology (MCZ), Harvard University, Massachusetts, USA	135
5	National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington D.C., USA	232
6	University of West Florida (UWF)	1
7	Museo de Zoología, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica (MZ-UCR), Costa Rica	5
8	Colección Regional de Equinodermos de la Península de Yucatán, UMDI-Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM, México	45
	Total	783

Distribución y hábitat

En el presente estudio, se consideró la distribución norte de la especie, la cual se extiende desde aguas templadas a tropicales, abarcando desde Carolina del Norte, USA, hasta al menos Guyana Francesa (Figura 1.10), sin embargo, es de considerarse que existe extensa bibliografía en la que se reporta la especie en Venezuela (incluyendo las islas del Gran Caribe), Bahamas y Bermudas (Devaney, 1974; Herrera-Moreno & Betancourt Fernández, 2004; Alvarado *et al.*, 2008; Borrero-Pérez *et al.*, 2008; del Valle García *et al.*, 2008; Laguarda-Figueras *et al.*, 2009; Alvarado & Solís-Marín, 2013; Noriega & Fuentes-Carrero, 2014; Sandino *et al.*, 2017; "GBIF Backbone Taxonomy", 2022). Cabe destacar que los registros de *O. angulata* de Brasil hacia el sur ahora se atribuyen a distintas especies de acuerdo con los trabajos taxonómicos de Santana *et al.* (2017; 2020).

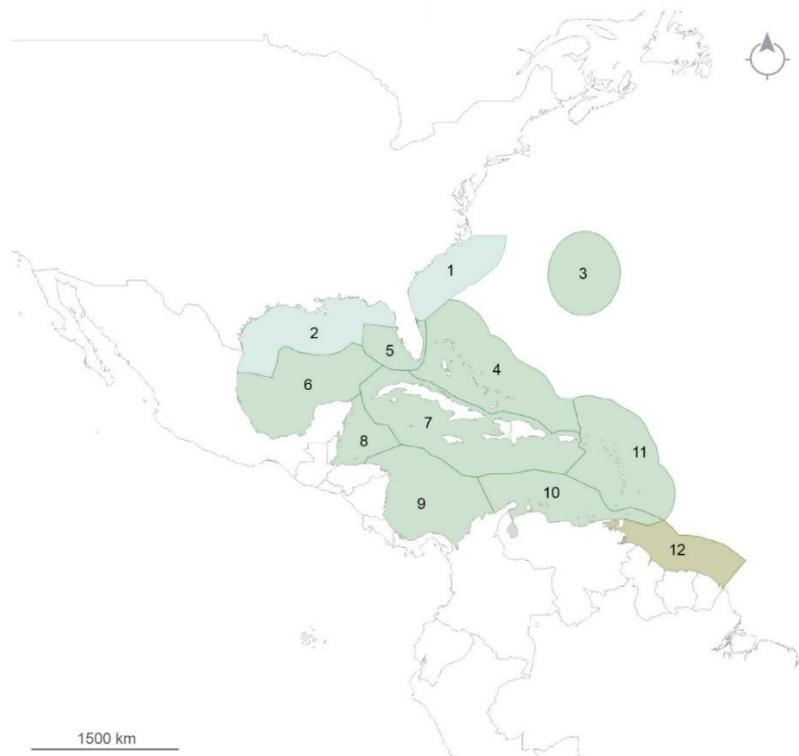


Figura 1.10. Distribución de *Ophiothrix angulata* basada en las provincias y ecorregiones de Spalding *et al.* (2007). Provincia del Atlántico Noroeste de Temperatura Templada (gris), ecorregiones 1: Carolina; 2: Norte del Golfo de México; Provincia del Atlántico Noroccidental Tropical (verde), ecorregiones 3: Bermuda; 4: Bahamas; 5: Florida; 6: Sur del Golfo de México; 7: Antillas Mayores; 8: Caribe occidental; 9: Caribe suroccidental; 10: Caribe sur; 11: Caribe oriental; Provincia de la costa norte de Brasil (café), ecorregión 12: Guyana.

En México, *O. angulata* se ha registrado en los siguientes estados y áreas de distribución: en el estado de Veracruz, frente a Tamiahua, en el Sistema Arrecifal Veracruzano y Coatzacoalcos; en el estado de Tabasco; en el estado de Campeche, en la Laguna de Términos y el arrecife de Cayo Arcas; en el estado de Yucatán, frente a Ría Lagartos, en los arrecifes Bajo de 10, Madagascar, Serpiente y en el Parque Nacional Arrecife Alacranes; y en el estado de Quintana Roo, en Cozumel, Puerto Morelos, Akumal, Mahahual, Cabo Catoche, Banco Chinchorro y Bahía de Ascensión (Laguarda-Figueras *et al.*, 2009; Hernández-Díaz, 2011; Hernández-Díaz *et al.*, 2020b).

Esta especie es altamente variable y su amplia distribución latitudinal y batimétrica ha atraído la atención hacia la necesidad de una revisión taxonómica (Tommasi, 1970; Clark HL, 1933; Hendler *et al.*, 1995; Hendler *et al.*, 1999; Hendler, 2005; Santana *et al.*, 2017). Así mismo, se ha registrado su distribución batimétrica desde la zona intermareal hasta profundidades batiales (~1,000 m; ICML-UNAM 3.34.40: 770 m; MCZ OPH-30910: 1,499 m). Esta especie es capaz de habitar corales, esponjas, estar debajo de las rocas y entre algas, lo que le da una gran capacidad para adaptarse a diferentes microhábitats.

Historias de vida reportadas

En términos de características biológicas, Stancyk (1974) describió la estrategia de historia de vida para *O. angulata* de Cedar Key, Florida, un estuario polihalino variable que se encuentra al noroeste de Florida en el Norte del Golfo de México. Señaló las siguientes características para la especie: 1) se adhiere abundantemente a las esponjas en áreas de alta corriente; 2) el diámetro del disco de las hembras maduras es de 4.2 a 7.7 mm; 3) desove continuo, pero asincrónico, con picos en la primavera y principios del verano y solo con una parte de la población en condición de desove en cualquier momento del año; 4) número de huevos entre 19,084 a 91,603; 5) tamaño de los huevos entre 0.09-0.10 mm; 6) alta tasa de fertilización; 7) larva pelágica planctotrófica de vida corta que permanece entre 7 a 10 días en el plancton; 8) especie de rápido crecimiento bajo condiciones

favorables, con pocos individuos sobreviviendo por más de un año; 9) baja tolerancia a las fluctuaciones ambientales en etapas adultas y larvales, mostrando descensos en el verano cuando las temperaturas medias se encontraron por encima de 30° C y cuando ocurrieron salinidades inusualmente bajas que denotaban mortalidad variable o alta de los adultos; y, 10) estrategia para colonizar y recolonizar áreas perturbadas después de la extinción local.

Por su parte, Mladenov (1976) registró información sobre *O. angulata* en Barbados en el Caribe oriental, señalando que: 1) habita epizoicamente en muchas especies de esponjas; 2) el diámetro del disco de las hembras maduras es de 3.9 a 4.2 mm; 3) registró el desove en febrero; 4) número de huevos entre 7,100 a 7,500; 5) tamaño de los huevos entre 0.095-0.104 mm; 6) alta tasa de fertilización; y, 7) una duración larval pelágica de más de 19 días.

Literatura citada

- Agapow PM, Emonds ORPBE, Crandall KA, Gittleman JC, Mace GM, Marshall JC, Purvis A. 2004. The impact of species concept on biodiversity studies. *Quarterly Review of Biology* 79(2):161–179.
- Agrawal AA, Laforsch C, Tollrian R. 1999. Transgenerational induction of defences in animals and plants. *Nature* 401:60–63.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2008. *Molecular Biology of the Cell*. 5th edition, Garland Science, New York.
- Albright R, Caldeira L, Hoffelt J, Kwiatkowski L, Maclaren JK, Mason BM, Nebuchina Y, Ninokawa A, Pongratz J, Ricke KL, Rivlin T, Schneider K, Sesboüe M, Shamberger K, Silverman J, Wolfe K, Zhu K, Caldeira K. 2016. Reversal of ocean acidification enhances net coral reef calcification. *Nature* 531:362–365.
- Alitto RAS, Zacagnini Amaral AC, Dias de Oliveira L, Serrano H, Seger KR, Borges Guilherme PD, Di Domenico M, Christensen AB, Bolsoni Lourenço L, Tavares M, Borges M. 2019. Atlantic west *Ophiothrix* spp. In the scope of integrative taxonomy: Confirming the existence of *Ophiothrix trinidadensis* Tommasi, 1970. *PLoS ONE* 14:1–28. DOI: 10.1371/journal.pone.0210331.

- Alvarado JJ, Solís-Marín FA (eds). 2013. *Echinoderms research and diversity in Latin America*. Springer. 658 p.
- Alvarado JJ, Solís-Marín FA, Ahearn C. 2008. Equinodermos (Echinodermata) del Caribe Centroamericano. *Revista de Biología Tropical* 56:37–55.
- Arlyza IS, Shen KN, Solihin DD, Soedharma D, Berrebi P, Borsa P. 2013. Species boundaries in the *Himantura uarnak* species complex (Myliobatiformes: Dasyatidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66:429–435. DOI: 10.1016/j.ympev.2012.09.023
- Aronson RB. 1988. Palatability of five Caribbean ophiuroids. *Bulletin of Marine Science* 43:93–97.
- Bálint M, Domisch S, Engelhardt CHM, Haase P, Lehrian S, Sauer J, Theissing K, Pauls SU, Nowak C. 2011. Cryptic biodiversity loss linked to global climate change. *Nature Climate Change* 1:313–318.
- Baric S, Sturmbauer C. 1999. Ecological parallelism and cryptic species in the genus *Ophiothrix* derived from Mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11:157-162.
- Barluenga M, Stölting KN, Salzburger W, Muschick M, Meyer A. 2006. Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish. *Nature* 439:719-723.
- Bickford D, Lohman DJ, Sodhi NS, Ng PKL, Meier R, Winker K, Ingram KK, Das I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in ecology & evolution* 22:148-155.
- Blanco-Pastor JL. 2022. Alternative Modes of Introgression-Mediated Selection Shaped Crop Adaptation to Novel Climates. *Genome Biology and Evolution* 14(8):1-12. DOI:10.1093/gbe/evac107.
- Bock WJ. 2004. Species: The concept, category and taxon. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 42(3):178–190. DOI: 10.1111/j.1439-0469.2004.00276.x.
- Boissin E, Féral JP, Chenuil A. 2008. Defining reproductively isolated units in a cryptic and syntopic species complex using mitochondrial and nuclear markers: the brooding brittle star, *Amphipholis squamata* (Ophiuroidea). *Molecular Ecology* 17:1732–1744. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03652.x.
- Boissin E, Chenuil A, Féral JP. 2010. Species of the complex *Amphipholis squamata* (Ophiuroidea) from Marseilles. Harris LG, Böttger SA, Walker CW, Lesser MP. (Eds),

Conference: 12th International Echinoderm Conference, 7-11 August 2006. Volume: Echinoderms: Durham, Taylor & Francis Group: London, pp 135-138.

- Boissin E, Stöhr S, Chenuil A. 2011. Did vicariance and adaptation drive cryptic speciation and evolution of brooding in *Ophioderma longicauda* (Echinodermata: Ophiuroidea), a common Atlanto-Mediterranean ophiuroid? *Molecular Ecology* 20:4737–4755. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05309.x.
- Boissin E, Hoareau TB, Paulay G, Bruggemann JH. 2016. Shallow-water reef ophiuroids (Echinodermata: Ophiuroidea) of Réunion (Mascarene Islands), with biogeographic considerations. *Zootaxa* 4098:273. DOI: 10.11646/zootaxa.4098.2.4.
- Bond JE, Hedin MC, Ramirez MG, Opell BD. 2001. Deep molecular divergence in the absence of morphological and ecological change in the Californian coastal dune endemic trapdoor spider *Aptostichus simus*. *Molecular Ecology* 10:899–910.
- Borrero-Pérez GH, Benavides-Serrato M, Solano Ó, Navas GR. 2008. Brittle-stars (Echinodermata: Ophiuroidea) from the continental shelf and upper slope of the Colombian Caribbean. *Revista de Biología Tropical* 56:169–204.
- Bravo GA, Remsen JV, Brumfield RT. 2014. Adaptive processes drive ecomorphological convergent evolution in antwrens (Thamnophilidae). *Evolution* 68(10):2757–2774. DOI: 10.1111/evo.12506.
- Brower AV. 2021. A slippery reality: The epistemological shifting sands of tokogeny, phylogeny, lineages and species delimitation. *Systematics and Biodiversity* 19(7): 782-796.
- Byrne M, O'Hara TD (Eds). 2017. *Australian echinoderms: biology, ecology and evolution*. Melbourne and ABRS, Canberra: CSIRO Publishing.
- Caputi L, Andreakis N, Mastrototaro F, Cirino P, Vassillo M, Sordino P. 2007. Cryptic speciation in a model invertebrate chordate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:9364–9369.
- Chapin FS III, Zavaleta ES, Eviner VT, Naylor RL, Vitousek PM, Reynolds HL, Hooper DU, Lavorel S, Sala OE, Hobbie SE, Mack MC, Díaz S. 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405:234–242.
- Clark AM. 1966. Notes on the family Ophiotrichidae (Ophiuroidea). *Annals and Magazine of Natural History* 9(106-108):637–655. DOI: 10.1080/00222936608651676.
- Clark AM. 1968. Notes on some tropical Indo-Pacific Ophiotrichids and Ophiodermatids (Ophiuroidea). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology* 16:279–322.

- Clark HL. 1918. Brittle-stars, new and old. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 62:265–338.
- Clark HL. 1933. *Scientific Survey of Porto Rico and the Virgin Islands*. New York: New York Academy of Sciences.
- Clark HL. 1938. Ophiotrichidae. In: *Echinoderms from Australia. An account of collections made in 1929 and 1932*. *Memories of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College, Cambridge Mass, USA*, 271–317.
- Clark HL. 1939. Ophiuroidea. *Scientific Reports of the John Murray Expedition* 4(2):29 – 136.
- Clark HL. 1946. Family Ophiotrichidae. In: *The echinoderm fauna of Australia. Its Composition and its origin*. Washington, D.C.: Carnegie Institution of Washington Publication, 213–228.
- Cothran RD, Henderson KA, Schmidenberg D, Relyea RA. 2013. Phenotypically similar but ecologically distinct: differences in competitive ability and predation risk among amphipods. *Oikos* 122:1429–1440.
- Crawford TJ, Crawford BJ. 2007. *Linckia multifora* (Echinodermata: Asteroidea) in Rarotonga, Cook Islands: reproductive mechanisms and ecophenotypes. *Pacific Science* 61:371-381.
- Davis PH, Heywood VH. 1963. Principles of Angiosperm Taxonomy. Oliver & Boyd, Edinburgh. In: Mayo SJ. 2022. Plant taxonomic species and their role in the workflow of integrative species delimitation. *Kew Bulletin* 77(1):1-26.
- Dellicour S, Flot JF. 2015. Delimiting species-poor data sets using single molecular markers: A study of barcode gaps, haplowebs and GMYC. *Systematic Biology* 64(6):900–908. DOI: 10.1093/sysbio/syu130.
- Devaney DM. 1974. Shallow-water echinoderms from british Honduras, with a description of a new species of *Ophiocoma* (Ophiuroidea). *Bulletin of Marine Science* 22:122–164.
- Duminil J, Di Michele M. 2009. Plant species delimitation: a comparison of morphological and molecular markers. *Plant Biosystems* 143:528–542.
- Duminil J, Kenfack D, Viscosi V, Grumiau L, Hardy OJ. 2012. Testing species delimitation in sympatric species complexes: the case of an African tropical tree, *Carapa* spp. (Meliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62:275-285.
- Dunn CP. 2003. Keeping taxonomy based in morphology. *Trends in Ecology and Evolution* 6(18):270-271. DOI: 10.1016/S0169-5347(03)00094-6.

- Egea E, David B, Choné T, Laurin B, Féral JP, Chenuil A. 2016. Morphological and genetic analyses reveal a cryptic species complex in the echinoid *Echinocardium cordatum* and rule out a stabilizing selection explanation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 94:207–220. DOI:10.1016/j.ympev.2015.07.023.
- Feckler A, Schulz R, Bundschuh M. 2013. Cryptic lineages – same but different? *Integrated Environmental Assessment and Management* 9:172–173.
- Feckler A, Zubrod JP, Thielsch A, Schwenk K, Schulz R, Bundschuh, M. 2014. Cryptic species diversity: an overlooked factor in environmental management?. *Journal of Applied Ecology* 51:958-967.
- Fell HB. 1960. Synoptic Keys to the Genera of Ophiuroidea. *Zoology Publications from Victoria University of Wellington* 26:1–44.
- Fiser C, Robinson CT, Malard F. 2018. Cryptic species a window into the paradigm shift of the species concept. *Molecular Ecology* 27:613-635. DOI: 10.1111/mec.14486.
- Fisher R, O’Leary RA, Low-Choy S, Mengersen K, Knowlton N, Brainard RE, Caley MJ. 2015. Species richness on coral reefs and the pursuit of convergent global estimates. *Current Biology* 25:500–505.
- Fontaneto D, Flot JF, Tang CQ. 2015. Guidelines for DNA taxonomy, with a focus on the meiofauna. *Marine Biodiversity* 45:433–451. DOI: 10.1007/s12526-015-0319-7.
- Fordyce JA. 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology* 209:2377–2383.
- Freitas FV, Júnior JES, Santos FR, Silveira FA. 2018. Species delimitation and sex associations in the bee genus *Thygater*, with the aid of molecular data, and the description of a new species. *Apidologie* 49:484–496.
- GBIF: *Ophiothrix angulata* (Say, 1825) in GBIF Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on May 26th, 2022.
- Giese AC, Pearse JS, Pearse VB (Eds). 1991. *Reproduction of Marine Invertebrates: Echinoderms and Lophophorates*, 6. The Boxwood Press, California. 808 p.
- Glynn PW. 2011. In tandem reef coral and cryptic metazoan declines and extinctions. *Bulletin of Marine Science* 87:1–28.
- González-Barrios FJ, Estrada-Saldívar N, Pérez-Cervantes E, Secaira-Fajardo F, Álvarez-Filip L. 2023. Legacy effects of anthropogenic disturbances modulate dynamics in the world's coral reefs. *Global Change Biology* 29:3285-3303.

- Hanski I, Gaggiotti OE. 2004. Metapopulation biology: Past, present, and future. *In: Ecology, genetics, and evolution of metapopulations* (Hanski I, Gaggiotti OE Eds.). Elsevier, Amsterdam. 3-22 pp.
- Harbach RE. 2012. *Culex pipiens*: species versus species complex—taxonomic history and perspective. *Journal of the American Mosquito Control Association* 28:10-23. DOI: 10.2987/8756-971X-28.4.10.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, DeWaard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270:313–321. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.
- Hendler G, Littman BS. 1986. The ploys of sex: relationships among the mode of reproduction, body size and habitats of coral-reef brittlestars. *Coral Reefs* 5:31–42. DOI: 10.1007/BF00302169.
- Hendler G, Miller JE, Pawson DL, Kier PM. 1995. *Echinoderms of Florida and the Caribbean: Sea stars, sea urchins, and allies*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press.
- Hendler G, Baldwin CC, Smith DG, Thacker CE. 1999. Planktonic dispersal of juvenile brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) on a Caribbean reef. *Bulletin of Marine Science* 65:283–288.
- Hendler G. 2005. Two new brittle star species of the genus *Ophiothrix* (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophiotrichidae) from coral reefs in the Southern Caribbean Sea, with notes on their biology. *Caribbean Journal of Science* 41:583–599.
- Hernández-Díaz YQ. 2011. *Zoogeografía de equinodermos (Echinodermata) de los bajos de Sisal y Arrecife Alacranes, Yucatán, México*. Tesis Maestría, UNAM, pp 131.
- Hernández-Díaz, YQ, Ugalde D, Simões N, Guerra A. 2020a. Ofiuroideos, Estrellas quebradizas. Zenodo. DOI: 10.5281/zenodo.7063179.
- Hernández-Díaz YQ, Márquez-Borrás F, Sulub E, Pech D, Balan-Zetina S, León-Hernández A, Sotelo R, Mendoza T, Castillo-Cupul RE, Homá-Canché P, Ugalde D, & Simões N. 2020b. Echinoderms from the Gulf of Mexico and Mexican Caribbean at the "Colección Regional de Equinodermos de la Península de Yucatán" at UMDI-Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM, México (1.0) [Data set]. Zenodo. DOI: 10.5281/zenodo.3893272.
- Herrera-Moreno A, Betancourt Fernández L. 2004. Especies de equinodermos recientes (Echinodermata: Crinoidea, Asteroidea, Ophiuroidea, Echinoidea y Holothuroidea) conocidas para la Hispaniola. *Revista Ciencia y Sociedad* 29:506–533.

- Hey J, Waples RS, Arnold ML, Butlin RK, Harrison RG. 2003. Understanding and confronting species uncertainty in biology and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 18(11):597–603. DOI: 10.1016/j.tree.2003.08.014.
- Hey J. 2006. On the failure of modern species concepts. *Trends in Ecology and Evolution* 21(8):447–450. DOI: 10.1016/j.tree.2006.05.011.
- Hoareau TB, Boissin E. 2010. Design of phylum-specific hybrid primers for DNA barcoding: addressing the need for efficient COI amplification in the Echinodermata. *Molecular Ecology Resources* 10:960–967. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02848.x.
- Hoegh-Guldberg O, Mumby PJ, Hooten AJ, Steneck RS, Greenfield P, Gomez E, Harvell CD, Sale PF, Edwards AJ, Caldeira K, Knowlton N, Eakin CM, Iglesias-Prieto R, Muthiga N, Bradbury RH, Dubi A, Hatzioiols ME. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* 318:1737–1742.
- Hoggett AK. 1990. Taxonomy and systematic position of the brittlestar genus *Macrophiothrix* Clark HL (Echinodermata: Ophiuroidea). University of Queensland. 412 p.
- Hubert N, Meyer CP, Bruggemann HJ, Guérin F, Komeno RJL, Espiau B, Causse R, Williams JT, Planes S. 2012. Cryptic diversity in Indo-Pacific coral-reef fishes revealed by DNA-barcoding provides new support to the centre-of-overlap hypothesis. *PLoS ONE* 7(3):e28987. DOI: 10.1371/journal.pone.0028987 PMID:22438862.
- Ibáñez CM, Méndez MA. 2014. Filogenia y método comparado: el estudio de la evolución de los rasgos. *En: Méndez MA, Navarro J (Eds). Introducción a la biología evolutiva, Eseb-Socevol, Chile:165-174.*
- Kissling DL, Taylor GT. 1977. Habitat factors for reef-dwelling ophiuroids in the Florida Keys. *In: Third International Coral Reef Symposium. Miami, Florida: University of Miami, 225–231.*
- Knowlton N. 2001. The future of coral reefs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:5419–5425.
- Laguarda-Figueras A, Hernández-Herrejon LA, Solís-Marín FA, Durán-González A. 2009. *Ophiuroideos del Caribe Mexicano y Golfo de México*. CONABIO. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, pp 249.
- Laguarda-Figueras A, Solís-Marín FA, Durán-González A. 2018. Las “series tipo” de la Colección Nacional de Equinodermos “Dra. Ma. E. Caso Muñoz” del ICML, UNAM. Seminarios del ICML: Contribución al Conocimiento de los mares de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Ciudad Universitaria, Ciudad de México.

- Lewis J, Bray R. 1983. Community structure of ophiuroids (Echinodermata) from three different habitats on a coral reef in Barbados, West Indies. *Marine Biology* 73:171–176.
- Ludwig H. 1888. *Ophiopteron elegans*, eine neue, wahrscheinlich schwimmende Ophiuridenform. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie* 47(3):459-464.
- MacGuigan DJ, Geneva AJ, Glor RE. 2017. A genomic assessment of species boundaries and hybridization in a group of highly polymorphic anoles (*distichus* species complex). *Ecology and Evolution* 7:3657–3671.
- Maddison WP, Knowles LL. 2006. Inferring phylogeny despite incomplete lineage sorting. *Systematic biology* 55(1):21-30. DOI: 10.1080/10635150500354928.
- Masonick P, Weirauch C. 2019. Integrative species delimitation in Nearctic ambush bugs (Heteroptera: Reduviidae: Phymatinae): insights from molecules, geometric morphometrics and ecological associations. *Systematic Entomology* 45:205-223. DOI: 10.1111/syen.12388.
- Mayden RL. 1997. A hierarchy of species concepts: The denouement in the saga of the species problem. In: MF Claridge, HA Dawah, MR Wilson (Eds.). *Species. The units of biodiversity* (pp. 381–423). London, UK: Chapman and Hall.
- Mayr E, Linsley EG, Usinger RL. 1953. *Methods and principles of systematic zoology*. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
- Miura O, Torchin ME, Kuris AM, Hechinger RF, Chiba S. 2006. Introduced cryptic species of parasites exhibit different invasion pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:19818–19823.
- Mladenov PV. 1976. *Reproduction and Larval Development in Ophiuroids (Echinodermata) of Barbados, West Indies*. McGill University.
- Montgomery EM, Ferguson-Roberts JM, Gianasi BL, Hamel JF, Kremenetskaia A, Mercier A. 2018. Functional significance and characterization of sexual dimorphism in holothuroids. *Invertebrate Reproduction & Development*, 62(4), 191-201.
- Moore WS. 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution* 49:718–726.
- Mortensen T. 1932. On an extraordinary ophiurid, *Ophiocanops fugiens* Koehler. With remarks on *Astrogymnotes*, *Ophiopteron*, and on an albino *Ophiocoma*. Papers from Dr. Th. Mortensen's Pacific Expedition 1914–16. LX. Vidensk. Medd. Dansk. Naturhist. Foren. 93:1–21.
- Müller OF. 1789. *Zoologia Danica seu animalium Daniae et Norvegiae rariorum ac minus notorum descriptiones et historia*. Volumen tertium: pp. [1-2], 1-71, pls. 81-120.

Havniae [Copenhagen], N. Möller. Disponible en línea en: <http://gdz.sub.uni-goettingen.de/dms/load/img/?PPN=PPN614794331>.

- Müller J, Troschel FH. 1840. Ueber die Gattungen der Asterien. *Archiv für Naturgeschichte* 6:326–330.
- Müller J, Troschel FH. 1842. *System der Asteriden*. 1. Asteriae. 2. Ophiuridae. Vieweg: Braunschweig: 115.
- Müller J. 2000. Mitochondrial DNA variation and the evolutionary history of cryptic *Gammarus fossarum* types. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15:260–268.
- Muths D, Davoult D, Gentil F, Jollivet D. 2006. Incomplete cryptic speciation between intertidal and subtidal morphs of *Acrocnida brachiata* (Echinodermata: Ophiuroidea) in the Northeast Atlantic. *Molecular Ecology* 15:3303–3318.
- Nei M. 1987. "Chapter 9". *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press.
- Noriega N, Fuentes-Carrero Y. 2014. Contribución al conocimiento de la diversidad de los equinodermos del Parque Nacional Archipiélago de Los Roques, Venezuela. *Acta Biologica Venezuelica* 34:285–292.
- O'Hara TD, Hugall AF, Thuy B, Moussalli A. 2014. Phylogenomic resolution of the class Ophiuroidea unlocks a global microfossil record. *Current Biology* 24:1874-1879.
- O'Hara TD. 2017. Class Ophiuroidea. In: Byrne M, O'Hara TD (eds). *Australian echinoderms: biology, ecology and evolution*. Melbourne and ABRS, Canberra: CSIRO Publishing, 294–349.
- O'Hara TD, Hugall AF, Thuy B, Stöhr S, Martynov AV. 2017. Restructuring higher taxonomy using broad-scale phylogenomics: The living Ophiuroidea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 107:415–430. DOI: 10.1016/j.ympev.2016.12.006.
- Okanishi M, Sentoku A, Martynov A, Fujita T. 2018. A new cryptic species of *Asteronyx* Müller and Troschel, 1842 (Echinodermata: Ophiuroidea), based on molecular phylogeny and morphology, from off Pacific Coast of Japan. *Zoologischer Anzeiger* 274:14-33. DOI: /10.1016/j.jcz.2018.03.001.
- Owen CL, Messing CG, Rouse GW, Shivji MS. 2009. Using a combined approach to explain the morphological and ecological diversity in *Phanogenia gracilis* Hartlaub, 1893 (Echinodermata: Crinoidea) *sensu lato*: two species or intraspecific variation?. *Marine Biology* 156:1517-1529.
- Padial JM, Miralles A, De la Riva I, Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7(1):16. DOI: 10.1186/1742-9994-7-16.

- Page RDM, Holmes EC. 2009. *Molecular evolution: a phylogenetic approach*. Blackwell Publishing Ltd: Hoboken, NJ, USA.
- Palumbi SR. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 25:547–572.
- Pawson DL. 2007. Phylum Echinodermata. In: Zhang ZQ, Shear W, editors. Linnaeus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy, volume 1668 of *Zootaxa*. Magnolia Press, New Zealand, 1668:749-764. <https://www.mapress.com/zootaxa/2007f/zt01668p764.pdf>
- Pérez-Ponce de León G, Poulin R. 2016. Taxonomic distribution of cryptic diversity among metazoans: Not so homogeneous after all. *Biology Letters* 12(8): 20160371. DOI: 10.1098/rsbl.2016.0371.
- Pérez-Portela R, Almada V, Turon X. 2013. Cryptic speciation and genetic structure of widely distributed brittle stars (Ophiuroidea) in Europe. *Zoologica Scripta* 42:151–169. DOI: 10.1111/j.1463-6409.2012.00573.x.
- Price ARG, Rowe FWE. 1996. Indian Ocean echinoderms collected during the Sindbad Voyage (1980-81): 3. Ophiuroidea and Echinoidea. *Bulletin-Natural History Museum London (Zoology)* 62:71–82.
- De Queiroz K. 2005a. A unified species concept and its consequences for the future of taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 56:196–215. DOI: 10.1073/pnas.0502030102.
- De Queiroz K. 2005b. Different species problems and their resolution. *BioEssays* 27(12):1263–1269. DOI: 10.1002/bies.20325.
- De Queiroz K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic biology* 56(6):879-886. DOI:10.1080/10635150701701083.
- Ransome E, Geller JB, Timmers M, Leray M, Mahardini A, Sembiring A, Collins AG, Meyer CP. 2017. The importance of standardization for biodiversity comparisons: A case study using autonomous reef monitoring structures (ARMS) and metabarcoding to measure cryptic diversity on Mo'orea coral reefs, French Polynesia. *PLoS One* 12:e0175066.
- Roberts CM, McClean CJ, Veron JE, Hawkins JP, Allen GR, McAllister DE, Mittermeier CG, Schueler FW, Spalding M, Wells F, Vynne C, Webner TB. 2002. Marine biodiversity hotspots and conservation priorities for tropical reefs. *Science* 295:1280–1284.
- Rogers CS. 2013. Coral reef resilience through biodiversity. *International Scholarly Research Notices Oceanography* 1–18.

- Roux C, Fraïsse C, Romiguier J, Anciaux Y, Galtier N, Bierne N. 2016. Shedding light on the grey zone of speciation along a continuum of genomic divergence. *PLoS Biology* 14(12):1–22. DOI: 10.1371/journal.pbio.2000234.
- Roy MS, Sponer R. 2002. Evidence of a human-mediated invasion of the tropical western Atlantic by the “world’s most common brittlestar”. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 269:1017–1023. DOI: 10.1098/rspb.2002.1977.
- Rundle HD, Nosil P. 2005. Ecological speciation. *Ecology Letters* 8:336–352. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2004.00715.x.
- Sáez AG, Lozano E. 2005. Body doubles. *Nature* 433:111. DOI: 10.1038/433111a.
- Sandino OB, Solís-Marín FA, Caballero-Ochoa AA, Conejeros-Vargas CA, Márquez-Borrás F, Ayala-Aguilera AP, Laguarda-Figueras A. 2017. Equinodermos de Nicaragua: nuevos registros del Pacífico y Caribe Sur. *Revista de Biología Tropical* 65:S288–S298.
- Santana A, Manso CLC, Almeida ACS, Alves OFS. 2017. Redescription and designation of a neotype for *Ophiothrix angulata* (Say, 1825) (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophiotrichidae). *Zootaxa* 4344:291–307. DOI: 10.11646/zootaxa.4344.2.5.
- Santana A, Manso CL, Almeida ACS, Alves OF. 2020. Taxonomic review of *Ophiothrix* Müller & Troschel, 1840 (Echinodermata: Ophiuroidea) from Brazil, with the description of four new species. *Zootaxa* 4808:51-78.
- Sattler T, Bontadina F, Hirzel AH, Arlettaz R. 2007. Ecological niche modelling of two cryptic bat species calls for a reassessment of their conservation status. *Journal of Applied Ecology* 44:1188–1199.
- Say T. 1825. On the species of the Linnean genus *Asterias*, inhabiting the coast of the United States. *Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 5:141–154.
- Schluter D. 2016. Speciation, ecological opportunity, and latitude. *American Naturalist* 187(1):1–18. DOI: 10.1086/684193.
- Shimada T, Matsui M, Yambun P, Lakim M, Mohamed M. 2008. Detection of two cryptic taxa in *Meristogenys amoropalmatus* (Amphibia, Ranidae) through nuclear and mitochondrial DNA analyses. *Zootaxa* 1843:24-34. DOI: 10.11646/ZOOTAXA.1843.1.2.
- Sites JW Jr, Marshall JC. 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematics* 35:199-227. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.35.112202.130128.

- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A, Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CA, Robertson J. 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57:573–583. DOI: 10.1641/B570707.
- Sponer R, Roy MS. 2002. Phylogeographic analysis of the brooding brittle star *Amphipholis squamata* (Echinodermata) along the coast of New Zealand reveals high cryptic genetic variation and cryptic dispersal potential. *Evolution* 56:1954–1967.
- Stancyk SE. 1974. *Life history patterns of three estuarine brittlestars (Ophiuroidea) at Cedar Key, Florida*. University of Florida. DOI: 10.5962/bhl.title.37098.
- Stancyk SE, Shaffer PL. 1977. The salinity tolerance of *Ophiothrix angulata* (Say) (Echinodermata: Ophiuroidea) in latitudinally separate populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 29: 35-43.
- Stöhr S. 2001. *Amphipholis linopneusti* n. sp., a sexually dimorphic amphiuroid brittle star (Echinodermata: Ophiuroidea), epizoic on a spatangoid sea urchin. *In*: Barker M, editor. *Echinoderms 2000*. Proceedings of the 10th International Echinoderm Conference, Dunedin, New Zealand. Dunedin: Balkema. pp. 317–322.
- Stöhr S, Muths D. 2010. Morphological diagnosis of the two genetic lineages of *Acrocnida brachiata* (Echinodermata: Ophiuroidea), with description of a new species. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 90:831–843.
- Stöhr S, O'Hara TD, Thuy B. 2012. Global Diversity of Brittle Stars (Echinodermata: Ophiuroidea). *PLoS ONE* 7:e31940. DOI: 10.1371/journal.pone.0031940.
- Stöhr S, Weber AAT, Boissin E, Chenuil A. 2020. Resolving the *Ophioderma longicauda* (Echinodermata: Ophiuroidea) cryptic species complex: five sisters, three of them new. *European Journal of Taxonomy* 600:1-37. DOI: 10.5852/ejt.2020.600.
- Stöhr S, O'Hara TD, Thuy B. 2023. World Ophiuroidea Database. Available at <http://www.marinespecies.org/ophiuroidea> (accessed April 16th, 2023). DOI: 10.14284/358.
- Stroud JT, Losos JB. 2016. Ecological opportunity and adaptive radiation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 47:507–532. DOI: 10.1146/annurev-ecolsys-121415-032254.
- Taboada S, Pérez-Portela R. 2016. Contrasted phylogeographic patterns on mitochondrial DNA of shallow and deep brittle stars across the Atlantic-Mediterranean area. *Scientific Reports* 6:32425. DOI: 10.1038/srep32425.

- Tittensor DP, Mora C, Jetz W, Lotze HK, Ricard D, Berghe EV, Worm B. 2010. Global patterns and predictors of marine biodiversity across taxa. *Nature* 466: 1098–1101.
- Tominaga H, Nakamura S, Komatsu M. 2004. Reproduction and development of the conspicuously dimorphic brittle star *Ophiodaphne formata* (Ophiuroidea). *The Biological Bulletin* 206:25-34.
- Tommasi LR. 1970. *Os ofiuróides recentes do Brasil e de regiões vizinhas*. Universidade de São Paulo. Instituto oceanográfico. 146 p.
- Trontelj P, Douady CJ, Fiser C, Gibert J, Goricki S, Lefébure T, Sket B, Zaksek V. 2009. A molecular test for cryptic diversity in ground water: How large are the ranges of macrostygobionts? *Freshwater Biology* 54(4):727–744. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2007.01877.x.
- Turrill WB. 1938. The expansion of taxonomy with special reference to Spermatophyta. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 13:342-373. In: Mayo SJ. 2022. Plant taxonomic species and their role in the workflow of integrative species delimitation. *Kew Bulletin* 77(1):1-26.
- del Valle García R, Abreu Pérez M, Rodríguez R, Solís-Marín FA, Laguarda-Figueras A, Durán-González A. 2008. Equinodermos (Echinodermata) del occidente del Archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba. *Revista de Biología Tropical* 56:19–35.
- Ward RD, Holmes BH, O'Hara TD. 2008. DNA barcoding discriminates echinoderm species. *Molecular Ecology Resources* 8:1202–1211. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2008.02332.x.
- Watson R, Baste I, Larigauderie A, Leadley P, Pascual U, Baptiste B, Demissew S, Dziba L, Erpul G, Fazel A, Fischer M, Hernández AM, Karki M, Mathur V, Pataridze T, Sousa Pinto I, Stenseke M, Török K, Vilá B. 2019. Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. *IPBES Secretariat: Bonn, Germany* 22-47.
- Weber AAT, Stöhr S, Chenuil A. 2019. Species delimitation in the presence of strong incomplete lineage sorting and hybridization: Lessons from *Ophioderma* (Ophiuroidea: Echinodermata). *Evolution* 131:138-148. DOI: 10.1016/j.ympcv.2018.11.014.
- Westram AM, Jokela J, Baumgartner C, Keller I. 2011. Spatial distribution of cryptic species diversity in European freshwater amphipods (*Gammarus fossarum*) as revealed by pyrosequencing. *PLoS One*, 6, e23879.

- Whittall JB, Hellquist CB, Schneider EL, Hodges SA. 2004. Cryptic species in an endangered pondweed community (Potamogeton, Potamogetonaceae) revealed by AFLP markers. *American Journal of Botany* 91:2022–2029.
- Wiley EO, Lieberman BS. 2012. *Phylogenetics: the theory and practice of phylogenetics*, 2nd edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Yeates DK, Seago A, Nelson L, Cameron SL, Joseph L, Trueman JWH. 2011. Integrative taxonomy, or iterative taxonomy? *Systematic Entomology* 36:209–217. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2010.00558.x.

CAPÍTULO 2. Diferenciación genética de *Ophiothrix angulata*

Introducción

El Atlántico Noroccidental, en su área tropical, alberga la segunda barrera de arrecifes de coral más grande del mundo, con una alta diversidad y endemismos, y es el hogar de una fauna de ofiuros abundante y ecológicamente diversa (Kissling & Taylor, 1977; Stöhr *et al.*, 2012; Sobha *et al.*, 2023). Dentro de los ofiuros, la familia Ophiotrichidae (Ljungman, 1867) es la tercera familia más grande y está bien representada en el Atlántico Noroccidental.

Los ofiuros han experimentado una extensa revisión sistemática como resultado de investigaciones filogenómicas (O'Hara *et al.*, 2018). Estas revisiones han revelado que los ophiotrichidos muestran congruencia entre los datos genéticos y los datos morfológicos. Sin embargo, aunque los ofiuros se han definido bien a nivel de familia, aún quedan incertidumbres taxonómicas dentro de los diferentes géneros y especies. *Ophiothrix* es el género de ofiuros con mayor número de especies de la familia Ophiotrichidae y en la actualidad cuenta con 96 especies aceptadas (Alitto *et al.*, 2019; Santana *et al.*, 2020; Stöhr *et al.*, 2023). Sin embargo, ni el género ni sus subgéneros son monofiléticos (O'Hara *et al.*, 2017; O'Hara *et al.*, 2018). La alta diversidad y variabilidad morfológica de los ophiotrichidos han hecho que su taxonomía a nivel de especie sea un desafío (Clark HL, 1946; Clark AM, 1966; Tommasi, 1970; Hoggett, 1991; Hendler, 2005).

Dentro de la sistemática molecular, los protocolos que implican el análisis de secuencias de ADN para delimitar especies han demostrado ser un complemento para la taxonomía basada en caracteres morfológicos, lo que contribuye a mejorar la evaluación de la biodiversidad (Fontaneto *et al.*, 2015; Luo *et al.*, 2018). Estos estudios son cada vez más accesibles gracias a diversos factores. La abundancia de datos moleculares, impulsada por los continuos avances en tecnología de secuenciación y métodos analíticos, ha permitido una mayor eficiencia y reducción

de costos en la obtención de información genética (McCormack *et al.*, 2013). La evolución de técnicas como la secuenciación de nueva generación ha sido fundamental al hacer más asequible la generación rápida y rentable de datos genéticos. Además, la existencia de grandes repositorios públicos de datos como GenBank (NCBI Resource Coordinators, 2018) ha facilitado el acceso e intercambio de datos genéticos a nivel global, fomentando la colaboración internacional y la posibilidad de comparar datos entre diferentes estudios, enriqueciendo la comprensión de la diferenciación genética en diversos contextos geográficos (Shendure & Ji, 2008). Por último, los avances en herramientas bioinformáticas han simplificado considerablemente el análisis de datos genéticos, haciendo que este proceso sea más eficiente y accesible incluso para investigadores sin extensa experiencia en bioinformática (Diniz & Canduri, 2017). Además, los métodos filogenéticos cuantitativos también han emergido como una herramienta útil para la delimitación genética de especies (Carstens *et al.*, 2013).

El análisis del ADN mitocondrial (ADNmt) ha sido una herramienta crucial en el estudio evolutivo de diversas especies animales por más de 3 décadas (Avice & Walker, 1999). Esto se debe a su mayor tasa de mutación y menor tamaño efectivo poblacional en comparación con el ADN nuclear (Kerr *et al.*, 2007). Esta situación llevó a la propuesta de establecer un método estandarizado para la identificación de especies basado en el análisis de un segmento uniforme del genoma mitocondrial. En este enfoque, una biblioteca de secuencias de especímenes de referencia, previamente identificados, funciona como códigos de barras de ADN para cada especie, según lo propuesto por Hebert *et al.* (2003).

En el caso de los animales, la atención se ha centrado en un fragmento de entre 600 a 650 pares de base (pb) del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI), que puede obtenerse fácilmente de diversas especies con un conjunto limitado de primers. El uso de códigos de barras de ADN convierte el conocimiento taxonómico experto de caracteres morfológicos diagnósticos en un formato ampliamente accesible, lo que ha permitido a más personas identificar especímenes (Kerr *et al.*, 2007). Además de asignar especímenes a especies ya

conocidas, los códigos de barras de ADN pueden agilizar el descubrimiento de nuevas especies, ya que las notables diferencias en las secuencias de ADNmt de animales generalmente han indicado la presencia de una especie distinta (Layton *et al.*, 2014).

La eficacia del uso del gen COI como código de barras se ha demostrado en diferentes grupos taxonómicos incluyendo aves (Kerr *et al.*, 2007), murciélagos (Clare *et al.*, 2007), peces (Ward *et al.*, 2005), insectos (Blagoev *et al.*, 2009) y varios grupos de invertebrados marinos. Estos incluyen estomatópodos (Barber & Boyce, 2006), moluscos (Layton *et al.*, 2014), crustáceos (Eischeid *et al.*, 2016) y equinodermos (Ward *et al.*, 2008; Uthicke *et al.*, 2010; Hoareau & Boissin, 2010; Bribiesca-Contreras *et al.*, 2013; Layton *et al.*, 2016; Boissin *et al.*, 2017).

Dentro de la Clase Ophiuroidea, el gen COI ha demostrado ser una herramienta adecuada para comprender su diversificación, y su uso ha ayudado a resolver problemas asociados con la aplicación de enfoques basados únicamente en la morfología (Boissin *et al.*, 2008; Stöhr *et al.*, 2009; Boissin *et al.*, 2011; Hoareau *et al.*, 2013; Boissin *et al.*, 2015; Layton *et al.*, 2016). Sin embargo, también existen limitaciones en su uso, como la falta de recombinación debido al origen mitocondrial, que se hereda de manera intacta de la madre, proporcionando una imagen incompleta de la historia evolutiva de una especie. Además, se necesita una biblioteca de referencia lo más completa posible y existe el riesgo de ignorar especies recientemente divergentes o presentar un nivel elevado de error en grupos con muestras incompletas (Meyer & Paulay, 2005; Barber & Boyce, 2006; Sbordon, 2010).

El enfoque de delimitación de especies con herramientas moleculares apela al concepto de especie filogenética y tiene como objetivo construir un esquema taxonómico para un conjunto de muestras e inferir una delimitación *de novo* de unidades taxonómicas operativas (OTUs) (Vogler & Monaghan, 2007; Mallo & Posada, 2016). Sin embargo, este enfoque es polémico, ya que no se basa en un concepto explícito de especie, y su uso también tiene sus propias limitaciones y desafíos (Rubinoff *et al.*, 2006; Waugh, 2007).

En las últimas décadas, se ha demostrado la eficacia de los análisis moleculares que incorporan tanto el gen mitocondrial COI como a los genes nucleares, como herramientas valiosas para la identificación de linajes evolutivos y la estructura filogeográfica en el género *Ophiothrix*. Estos análisis han sido fundamentales en los estudios de taxonomía integrativa (Pérez-Portela *et al.*, 2013; O'Hara *et al.*, 2014; Richards *et al.*, 2015; Taboada & Pérez-Portela, 2016; Alitto *et al.*, 2019). Dichas investigaciones han evidenciado que la utilización tanto del gen COI como de los genes nucleares, junto con la incorporación de datos ecológicos, reproductivos y morfológicos, proporciona información relevante que facilita el análisis y la comparación de especímenes, incluso aquellos conespecíficos y filogenéticamente distantes.

A pesar de los estudios morfológicos desarrollados, aún existe un vacío de información genética que permita entender la relación evolutiva y los patrones filogeográficos de los individuos pertenecientes a *Ophiothrix angulata* en la región de estudio. Por lo tanto, en el Capítulo 2 se realizó un análisis que combinó métodos filogenéticos, delimitación molecular de especies y patrones filogeográficos regionales. Este enfoque se aplicó para investigar la posible existencia de un complejo de especies entre individuos asignados a la especie *O. angulata* en su distribución dentro del Atlántico Noroccidental (30-6°N). Se espera que los hallazgos de este capítulo aporten elementos clave que ayuden a resolver los problemas taxonómicos que rodean a esta especie común y emblemática.

Objetivo General

Resolver las controversias taxonómicas de *Ophiothrix angulata* mediante el análisis de ADN mitocondrial (COI), utilizando organismos distribuidos a lo largo de un gradiente longitudinal en el Atlántico Noroccidental (5,000 km) en latitudes templado-tropicales (30-06°N) desde el norte de Veracruz (97°W) hasta el norte de Guyana Francesa (52°W).

Objetivos particulares

- Analizar las relaciones filogenéticas de *Ophiothrix angulata* basadas en el ADN mitocondrial y el ADN ribosomal de forma independiente.
- Identificar los principales clados genéticos en las filogenias generadas y calcular los valores de distancias genéticas K2P de cada clado.
- Llevar a cabo análisis de delimitación de especies y ubicar clados divergentes en *O. angulata*.
- Caracterizar la diversidad genética de los diferentes clados de ADN mitocondrial de *O. angulata*.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El Gran Caribe es una cuenca semicerrada del Océano Atlántico occidental, que se encuentra delimitada por las costas de Florida, Centro y Sudamérica y por la cadena de islas de las Antillas (Robertson & Van Tassell, 2023). Tiene un área de aproximadamente 6,300 km², más de 14,500 km de costa y alberga 27 países además de 19 territorios dependientes de Francia, Países Bajos, Inglaterra y Estados Unidos. Hacia el este y noreste, la cadena de islas y bancos estrechamente espaciados de las Antillas separa al Caribe del Océano Atlántico y actúa como un tamiz para el flujo de agua atlántica, mientras que, hacia el noreste, el Caribe está vinculado al Golfo de México por el Canal de Yucatán.

El fondo del Caribe está dividido por diversas cuencas, la mitad de las aguas en el Caribe son más profundas que 3,600 m y el 75% son más profundas que 1,800 m (Miloslavich *et al.*, 2010; Robertson & Van Tassell, 2023). La circulación superficial en la región consiste en un flujo generalizado llamado “corriente del Caribe”, que radica en una circulación oceanográfica dominada por la rama occidental del giro subtropical, que viaja a través del mar Caribe como una corriente zonal desde las Antillas Menores hacia el noroeste (Andrade & Barton, 2000; Johns *et al.*, 2002). Cuando la corriente del Caribe se acerca a la costa de la Península de Yucatán, gira hacia el norte intensificando su flujo y convirtiéndose en la corriente de Yucatán, de esta forma se conectan el Caribe con el golfo de México (GM) a través del Canal de Yucatán (Carrillo *et al.*, 2015). Una vez en el GM, la corriente de Yucatán se convierte en la Corriente de Lazo (CL), la cual, es espacialmente variable, la misma posteriormente sale del GM a través del estrecho de Florida como la corriente de Florida. Una vez libre del estrecho, la corriente fluye hacia el Océano Atlántico Norte como la corriente del Golfo. Estas corrientes son muy variables en el espacio y el tiempo debido a su interacción con la topografía del fondo, las fuerzas atmosféricas y las corrientes que provocan los remolinos de mesoescala que se originan corriente arriba hacia la Corriente del Norte de Brasil (Carrillo *et al.*, 2017; Huang *et al.*, 2021).

Las aguas del Caribe son mayormente claras y cálidas (temperatura superficial del mar entre 22 y 29°C), y el rango de marea muy bajo (<0.4 m) (Robertson & Van Tassell, 2023). Los ecosistemas más característicos del Caribe son los arrecifes de coral que cubren aproximadamente 28,000 km², las praderas de pastos marinos con un área de aproximadamente 67,000 km², y los manglares con casi 11,560 km² (Robertson & Van Tassell, 2023; Casal *et al.*, 2024). Aunque el Caribe ha sido considerado como oligotrófico, puede ser mejor definido como mesotrófico, dependiendo de la época del año (Gilbes & Armstrong, 2004). La intrusión del río Orinoco durante el otoño genera grandes concentraciones de clorofila a en el Caribe oriental, que pueden llegar hasta la isla de Puerto Rico (Gilbes & Armstrong, 2004). Además, los fuertes vientos alisios durante el invierno y la primavera son responsables de la surgencia costera a lo largo de gran parte de la costa noreste de Colombia y Venezuela, llevando nutrientes a la superficie y aumentando la concentración de biomasa de fitoplancton en esa área (Andrade & Barton, 2000; Müller-Karger & Castro, 1994).

De acuerdo con el último sistema de clasificación biogeográfica marina en ecorregiones marinas (Ecorregiones Marinas del Mundo o MEOW) (Spalding *et al.*, 2007), el Gran Caribe es parte de la Provincia Tropical del Atlántico Noroccidental que comprende 9 ecorregiones: Caribe occidental, Caribe suroccidental, Caribe oriental, Caribe sur, Grandes Antillas, Bermudas, Bahamense, Golfo de México Meridional y Floridana. El Caribe contiene la mayor concentración de especies marinas en el Océano Atlántico y es un *hot spot* de biodiversidad marina a escala global (Roberts *et al.*, 2002). Se considera que, a pesar de una larga historia de investigación científica en la región, el conocimiento sobre la biodiversidad marina y la distribución de especies en el Caribe aún no satisface las necesidades para definir objetivamente las prioridades de conservación geográfica (Miloslavich *et al.*, 2010).

El GM es una cuenca de tipo mediterráneo delimitada por Estados Unidos, México y la isla de Cuba (Darnell & Defenbaugh, 1990). Los patrones de circulación en todo el GM están dominados por la enérgica Corriente de El Lazo, que tiene

como característica física más destacada un flujo anticiclónico que exhibe una intrusión variable hacia el norte en el golfo (Morey *et al.*, 2003; Ohlmann & Niiler, 2005), con una influencia significativa en varios procesos, como la dispersión de hidrocarburos derramados, el transporte de sedimentos, la extracción de recursos pesqueros, así como la distribución de nutrientes y larvas (Huang *et al.*, 2021). La orientación del viento dominante sobre los ejes principales de las plataformas es muy variable, lo que provoca diferencias estacionales en los patrones de circulación dentro del GM (Sanvicente-Añorve *et al.*, 2018). Hacia su parte sureste, sobre el Banco de Campeche, la circulación es anticiclónica durante todo el año (Zavala-Hidalgo *et al.*, 2003), sin embargo, una recirculación provocada por un giro ciclónico semipermanente en la bahía de Campeche (Norte de Veracruz, Centro de Veracruz, Sur de Veracruz y Suroeste del Banco de Campeche) es débil durante el verano y fuerte en otoño-invierno (Pérez-Brunius *et al.*, 2013; Lara-Hernández *et al.*, 2019). Este patrón provoca que dos corrientes opuestas se encuentren en el golfo más austral durante un período del año (Zavala-Hidalgo *et al.*, 2003). Sobre las plataformas interiores del norte de Texas y Luisiana, la dirección predominante de las corrientes se encuentra principalmente hacia el este durante el verano, y hacia el oeste y el suroeste el resto del año (Zavala-Hidalgo *et al.*, 2003).

En la plataforma del oeste de Florida (West Florida Shelf, WFS), hay una circulación hacia el noroeste durante el verano y hacia el sureste el resto del año (Liu & Weisberg, 2005). La WFS tiene una larga superficie, extendiéndose aproximadamente 600 km y cubriendo un amplio rango de morfologías de superficie marina, gradientes batimétricos, tipos de sedimento, comunidades bentónicas marinas, áreas expuestas de fondos rocosos y estructuras arrecifales (Hine & Locker, 2011). La WFS se puede dividir en dos áreas, la plataforma oeste de la cual se estima contenga aproximadamente un 50% de fondos duros, compuesto de afloramientos carbonatados discontinuos que van de norte a sur extendiéndose más de 200 km al oeste desde una zona intermareal hasta profundidades de 200 m (Mallinson *et al.*, 2014), y los cayos de Florida, región conocida por sus hábitats de arrecifes coralinos. En la plataforma oeste, los hábitats de fondo duro y poco profundos (<20m) contienen generalmente aguas turbias y bajas diversidades de

corales duros ahermatípicos, octocorales, macroalgas y esponjas (Walker *et al.*, 2008; Lirman, 2013). Mientras el sur de la WFS se ha identificado como uno de los fondos que contienen una comunidad de “fondos de esponjas” (Hedgpeth, 1954; Briggs 1958), en las que además de la parte extrema sur donde se encuentran los arrecifes, todas las demás zonas se consideran desfavorables para un desarrollo arrecifal (Jaap, 2015), por lo que existe una pérdida de riqueza de especies de corales duros de latitud sur a norte (Jaap, 2015; Walker *et al.*, 2020). En la WFS existe un gradiente climático que va de templado-cálido en el norte, hasta subtropical en el sur, lo que provoca evidentes cambios latitudinales en las comunidades del fondo duro (Engle & Summers, 2000; Spalding *et al.*, 2007; Toonen *et al.*, 2016). A lo largo del WFS se han identificado dos ecorregiones biogeográficas marinas basadas en biodiversidad de especies, historias evolutivas, patrones de dispersión y aislamiento (Spalding *et al.*, 2007), ubicando la división entre el norte del Golfo de México y Florida, justo al norte de la Bahía de Tampa (Walker *et al.*, 2020).

Colección de especímenes

Se incluyeron un total de 146 especímenes de *Ophiothrix angulata* pertenecientes a 24 localidades, que abarcaron 9 ecorregiones biogeográficas: Carolina, Floridana, Norte del Golfo de México, Sur del Golfo de México, Caribe occidental, Caribe suroccidental, Caribe sur, Caribe oriental y Guiana (Figura 2.1; Apéndice 2). Los especímenes fueron recolectados a mano o con draga entre los 0 y los 135 metros de profundidad. Para este proyecto se recolectaron 35 muestras de individuos; mientras que, el resto de las muestras se consiguieron dentro del material biológico presente en las siguientes colecciones científicas:

- Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida (UF), Florida, USA.
- University of West Florida (UWF), Florida, USA.
- Natural History Museum of Los Angeles County (LACM), Los Angeles, USA.
- Colección Nacional de Equinodermos “Dra. María Elena Caso Muñoz” (ICML-UNAM), Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, México.
- Colección Regional de la Península de Yucatán (COREPY-UNAM), UMDI-Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Museo de Zoología (MZ-UCR), Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

Además, se utilizaron 12 secuencias adicionales de *O. angulata* que estaban disponibles en GenBank (Apéndice 2). Por último, para enraizar los árboles se secuenciaron 9 individuos que pertenecen a 5 especies para representar al grupo externo (*Out-group*). Se investigaron los límites de las especies al incluir 4 especies congénicas de *Ophiothrix* de la misma región como posibles grupos externos, así como la inclusión de otra especie filogenéticamente cercana: *Ophiactis savignyi* (Müller & Troschel, 1842) al ser considerado grupo hermano de acuerdo con O’Hara *et al.* (2014); *Ophiothrix cimmar* Hendler, 2005; *Ophiothrix lineata* Lyman, 1860; *Ophiothrix stri* Hendler, 2005; y, *Ophiothrix suensonii* Lütken, 1856.

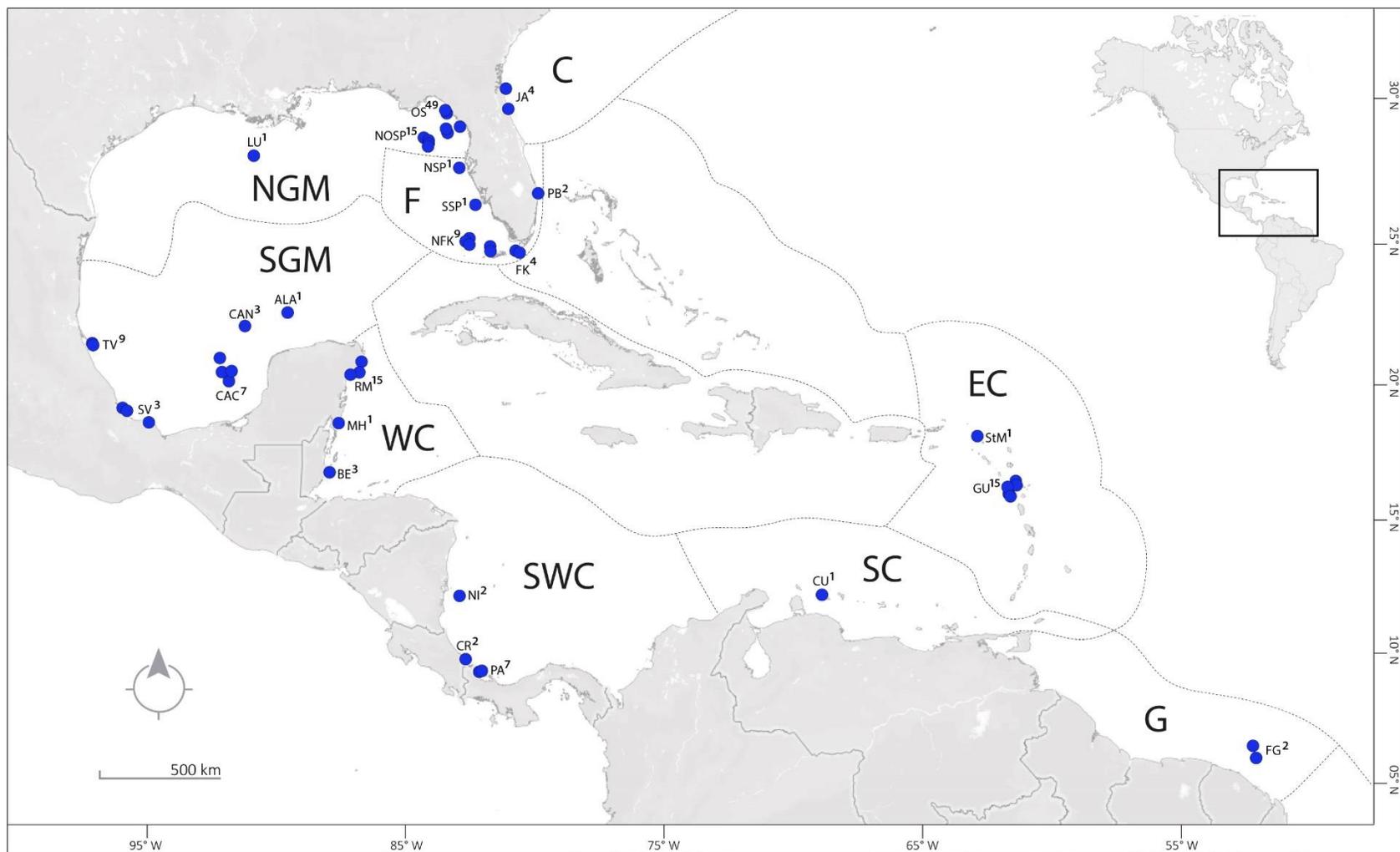


Figura 2.1. Localidades de donde se obtuvieron las muestras de *Ophiothrix angulata*. JA: Jacksonville; PM: Palm Beach; OS: frente a Steinhatchee, al norte de San Petersburgo y Cedar Key; NOSP: NNO de San Petersburgo; NSP y SSP: N y S de San Petersburgo; NFK: N de los Cayos de Florida; FK: Cayos de Florida; LU: área cerca de Luisiana; TV: Tuxpan Veracruz; SV: Sistema Arrecifal Veracruzano y Monte Pio; CAC: área alrededor y en Cayo Arcas; CAN: Cayo Arenas; ALA: Arrecife Alacranes; RM: Riviera Maya; MH: Mahahual; BE: Belice; NI: Nicaragua; CR: Costa Rica; PA: Panamá; CU: Curazao; StM: Saint Martin; GU: Guadalupe; FG: Guyana Francesa. Super-índices: número de secuencias por localidad. Detalles de localidades en Apéndice 2. Ecorregiones marinas: C. Carolina. F. Floridana. NGM. Norte del Golfo de México. SGM. Sur del Golfo de México. WC. Caribe occidental. SWC. Caribe suroccidental. SC. Caribe sur. EC. Caribe oriental. G. Guiana.

Extracción de ADN y alineación de secuencias

El ADN se extrajo de un fragmento del tejido del brazo previamente fijado con etanol utilizando los protocolos Chelex (Walsh *et al.*, 1991) y Omega Bio-Tek E.Z.N.A. Kit de ADN para moluscos, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se amplificó una región de 655 pares de bases (pb) del gen COI del ADN mitocondrial utilizando los “*echinoderm barcoding primers*” COIceF (5'-ACTGCCACGCCCTAGTAATGATATTTTTTATGGTNATGCC-3') y COIceR (5'-TCGTGTGTCTACGTCCATTCCTACTG-3') (Hoareau & Boissin, 2010). Los productos de PCR se secuenciaron en ambas direcciones en el Interdisciplinary Center for Biotechnological Research at the University of Florida (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Condiciones de PCR que fueron utilizadas siguiendo la metodología de Michonneau & Paulay (2014).

Número de ciclos	Proceso	Temperatura (°C)	Tiempo (segundos)
1	Desnaturalización inicial	95	90
40	Desnaturalización	94	60
	Hibridación	42	40
	Alargamientos	72	60
	Alargamiento final	72	240

Se comprobaron los electroferogramas, se ensamblaron en contigs y se editaron manualmente utilizando Sequencher 4.6 (Gene Code Corps, Ann Arbor, Michigan). Las secuencias consenso se alinearon utilizando Muscle (Edgar, 2004) y la alineación se verificó visualmente utilizando PhyDE v.10.0 (Müller *et al.*, 2010). La alineación se tradujo a proteínas utilizando Genius v8.1.7 (Kearse *et al.*, 2012) para confirmar que las secuencias estaban en el marco de lectura correcto y para verificar la ausencia de codones “stop”, lo que resultó en un fragmento de 655 pares de base (pb) del gen COI. Además, se amplificó una región parcial del arreglo ribosomal para solo un subconjunto de 14 muestras que cubren los clados principales de los linajes mitocondriales encontrados. Se amplificó la sección parcial del “*internal transcribed spacer-2*” (ITS2) utilizando los primers OphITS2F (5'-TCGTTTCGTCTGAGGGTCGTTA-3') y OphITS2R (5'-GTAGTCTCGCTCGATCTG-

3'). La longitud de la alineación final del ITS2 fue de 527 pb. Todas los PCR se realizaron de acuerdo con Naughton *et al.* (2014). Las secuencias fueron depositadas en GenBank (números de acceso COI: MT338285–MT338398, ON245084–ON245096; números de acceso ITS2: OQ225473–OQ225482).

Análisis filogenéticos

Se identificaron haplotipos únicos utilizando DnaSP v6.12 (Rozas *et al.*, 2017). Los análisis filogenéticos de Inferencia Bayesiana (Bayesian Inference, BI) y Máxima Verosimilitud (Maximum Likelihood, ML) tanto para el gen mitocondrial COI como para el gen nuclear ITS se realizaron en el portal CIPRES Science Gateway (Miller *et al.*, 2010). Se utilizó jModelTest2 (Darriba *et al.*, 2012) en el portal CIPRES para seleccionar el mejor modelo de evolución molecular basado en las pruebas de criterios de información de Akaike (AIC). El análisis de ML se realizó utilizando RAxML-HPC2 (Stamatakis, 2006; Stamatakis *et al.*, 2008) con el modelo evolutivo GTR + GAMMA, los valores de soporte nodal se evaluaron mediante 'bootstrap' utilizando 1,000 iteraciones (Felsenstein, 1985). El análisis de BI se realizó utilizando MrBayes v.3.2.7a (Ronquist *et al.*, 2012) en XSEDE utilizando el modelo GTR+I+G. La búsqueda de MCMC se basó en dos corridas independientes de 4 cadenas cada una y 6,000,000 de generaciones (muestreadas cada 1,000 generaciones), hasta que el promedio final y la desviación estándar estuvieron cerca de 0.01. El veinticinco por ciento de los árboles iniciales se descartaron como *burn-in*. Los resultados se evaluaron en Tracer v.1.7.1 (Rambaut *et al.*, 2018), de acuerdo con el tamaño de muestra efectivo (ESS, *Effective Sample Size*) para cada parámetro. Las filogenias de genes resultantes se visualizaron en FigTree v.1.4.4 (Rambaut, 2018) y se etiquetaron en Adobe Illustrator CC v.2017-22.0.1.

Delimitación molecular de especies

Los análisis de delimitación molecular únicamente se realizaron para las secuencias de DNA mitocondrial con el gen COI. Se utilizaron 3 métodos de delimitación para clasificar las secuencias en grupos genéticos. En primer lugar, se

realizó el análisis “Descubrimiento Automático de Brechas de Código de Barras” (ABGD; Puillandre *et al.*, 2012). Este método se basa en el supuesto de que la divergencia entre organismos pertenecientes a la misma especie será menor que la divergencia observada entre organismos de especies diferentes. La primera brecha significativa en la distribución de distancias de secuencia más allá de la divergencia de secuencia intraespecífica se puede utilizar para inferir unidades taxonómicas operativas (OTUs) que pueden estar relacionadas con las especies (Vogler & Monaghan, 2007). El análisis ABGD se ejecutó en <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>. La divergencia mínima y máxima de la diversidad intraespecífica se ha establecido en 0.011 y 0.017 respectivamente, de acuerdo con los valores reportados de las especies *Ophiothrix fragilis*, *Ophiothrix* sp. II y *Ophiothrix* sp. III (Taboada & Pérez-Portela, 2016). Los demás parámetros se establecieron en los valores predeterminados (Steps=10, X=1.5, Distancia=Jukes-Cantor(JC69), Nb bins:20) (Puillandre *et al.*, 2012).

El “Proceso de árbol de Poisson de tasa múltiple” (mPTP, *Multi-rate Poisson tree processes*; Zhang *et al.*, 2013; Kapli *et al.*, 2017) identifica cambios en el ritmo de los eventos de ramificación, donde se asume que el número de sustituciones entre especies es significativamente mayor que el número de sustituciones dentro de las especies. Además, el modelo incorpora diferentes niveles de diversidad genética en el nivel intraespecífico que se derivan de diferencias en la historia evolutiva o en el muestreo de cada especie (Zhang *et al.*, 2013). Este software no requiere designaciones taxonómicas *a priori*, pero utiliza umbrales estadísticos para delimitar taxones en un árbol filogenético de entrada. La delimitación de especies se estimó utilizando la versión en línea de mPTP (<https://mptp.h-its.org/#/tree>) con el árbol resultado del análisis RAxML-HPC2 como entrada. El análisis se realizó con el modelo de procesos de árboles de Poisson de tasas múltiples seleccionado y los 9 especímenes del grupo externo mencionados en la sección de “Colección de especímenes”. Los árboles resultantes se importaron a FigTree v.1.4.4 para su visualización.

Por otra parte, se utilizó el programa bayesiano BPP v.4.1.4 (Yang, 2015) para inferir patrones filogenéticos y filogeográficos bajo el modelo coalescente multi-

específico (MSC, *multispecies coalescent model*) para determinar, con base en la probabilidad posterior, diferencias entre patrones filogeográficos y diferencias entre especies potenciales (Yang & Rannala, 2010; Yang, 2015). El BPP parece ser relativamente robusto a la influencia de tamaños de muestra desiguales, tasas de crecimiento poblacional, heterogeneidad de la tasa de mutación (Luo *et al.*, 2018), y también se utiliza en análisis de evolución y divergencia de taxones (Zhang *et al.*, 2013; Moritz *et al.*, 2018). Un conjunto de datos de 146 taxones y el árbol RAxML-HPC2 se utilizaron para todos los análisis de BPP. La estimación de los tiempos de divergencia de las especies o τ s y los parámetros de tamaño de población tanto para especies modernas como ancestrales o θ s se obtuvieron a través del análisis A00 BPP (Masonick & Weirauch, 2019). Dicha estimación fue la base del número esperado de mutaciones por kilobase (Yang, 2015). Se utilizó BPP v4.1.4 para estimar los parámetros del modelo MSC (este es el análisis A00 de Yang, 2015). Se aplicaron parámetros de gamma inversa de τ prior(5, 0.02) y θ prior(5, 0.05) para realizar una delimitación conjunta de especies y estimación del árbol de especies (A11: delimitación de especies = 1, árbol de especies = 1), en el cual el algoritmo explora diferentes modelos de delimitación de especies y diferentes filogenias de especies, intentando fusionar diferentes poblaciones en una especie, pero nunca intenta dividir una población en múltiples especies (Rannala & Yang, 2017; Yang, 2015). El análisis A11 ha demostrado ser eficiente en la delimitación de especies en presencia de linajes incompletos e hibridación en ofiuros (Weber *et al.*, 2019). El análisis A11 se ejecutó durante 100,000 generaciones, muestreando cada dos pasos después de descartar un *burn-in* de 10,000 generaciones. Sólo los linajes con valores de probabilidad posterior (pp) \geq 0.95 se consideraron bien respaldados. Para cada análisis BPP, se realizaron 3 corridas independientes para confirmar la consistencia entre las corridas (Masonick & Weirauch, 2019).

Diversidad Genética

La información de diversidad población únicamente se obtuvo para las secuencias de DNA mitocondrial con el gen COI. Se calcularon las medidas estándar de diversidad genética (número de haplotipos, diversidad de haplotipos h y diversidad nucleotídica π) utilizando Arlequin v.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). Los haplotipos únicos fueron identificados utilizando DnaSP v.6.12 (Rozas *et al.*, 2017). La distribución espacial de los haplotipos de DNA mitocondrial se resumió utilizando el algoritmo TCS (Clement *et al.*, 2002) en el software PopART v.1.7 (Leigh & Bryant, 2015). Para comparar el nivel de divergencia con otras especies de ofiuros, se obtuvieron valores de distancia genética en MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021) utilizando el modelo de Kimura-2 parámetros (K2P; Kimura, 1980), valores de soporte basados en 1,000 réplicas Bootstrap. Los parámetros seleccionados en MEGA 11 para correr los análisis de K2P de distancia genética fueron: inclusión de transiciones y transversiones, variación de la tasa entre sitios modelada con una distribución gamma (parámetro de forma = 1), incluyéndose las posiciones de codón de 1 a 3.

Resultados

Filogenia de *O. angulata*

Los árboles filogenéticos de consenso obtenidos por ambos métodos (BI y ML) para COI revelaron 3 clados divergentes (distancias K2P 17.0-27.9%; Tabla 2.3), altamente respaldados (PP/Bootstrap a 100/ \geq 90) en *O. angulata* (Figura 2.2). Dos de los clados (Clado 2 y Clado 3) se encuentran ampliamente distribuidos, mientras que uno (Clado 1) muestra un rango geográfico más restringido (Figura 2.3). Los organismos agrupados en los 3 clados habitan profundidades que tienen rangos que se superponen hasta los 45 m, mientras que el Clado 3 fue el único registrado en aguas más profundas, con 5 especímenes secuenciados en profundidades entre 45 y 135 m (Figura 2.5). Los Clados 1 y 2 no se diferenciaron en ITS2, pero el Clado 3 fue divergente (Figura 2.4).

profundidades de entre 0 y 41 m (Figura 2.5). Cabe destacar que llegaron a superponerse muy poco en distribución y profundidad con organismos agrupados en los Clados 2 y 3 en el norte del Golfo de México, mientras que, existió una mayor superposición con los clados 2 y 3 al sur de Florida (Figura 2.3). Con el gen COI en el Clado 1 se pueden diferenciar dos subclados que sobrelapan sus distribuciones (0.046% K2P): un subclado distribuido exclusivamente en el este, sur y oeste de la península de Florida 1A (n=68; Figura 2.7) y el subclado 1B (n=3), recolectado tanto en la localidad Steinhatchee en el Norte del Golfo de México, así como en Isla Verde, dentro del Sistema Arrecifal Veracruzano, en México. El Clado 1 muestra una red de haplotipos con un 99% de singletones o haplotipos únicos.

Clado 2

Los organismos agrupados en el Clado 2 (n = 51) fueron recolectados en 6 de las 9 ecorregiones muestreadas en este estudio: Floridana, Norte del Golfo de México, Sur del Golfo de México, Caribe occidental, Caribe suroccidental y Caribe oriental (Figura 2.3) en profundidades de entre 0.4 y 42 m (Figura 2.5). En el Clado 2 se pueden diferenciar dos subclados alopátricos y divergentes (5.1% K2P): un subclado ampliamente distribuido 2A (n = 42) que muestra una red de haplotipos con forma de estrella (Figura 2.7) y el subclado 2B (n=2), recolectado únicamente en Guadalupe (Caribe oriental).

Clado 3

Los organismos agrupados en el Clado 3 incluyeron 31 especímenes distribuidos en 7 de las 9 ecorregiones muestreadas en este estudio: Floridana, Norte del Golfo de México, Sur del Golfo de México, Caribe occidental, Caribe sur, Caribe oriental y Guiana (Figura 2.3), en un rango de profundidades de entre 1.5 a 135 m (Figura 2.5). Este clado mostró niveles elevados de diferenciación genética, con el 99% de singletones, separados por múltiples sustituciones que variaron en un rango de 6 a 44 pasos mutacionales (mutational steps = m-s; Figura 2.8). El valor de variación intraespecífica fue ~5.3% K2P. No se observaron sub-clados en el Clado 3.

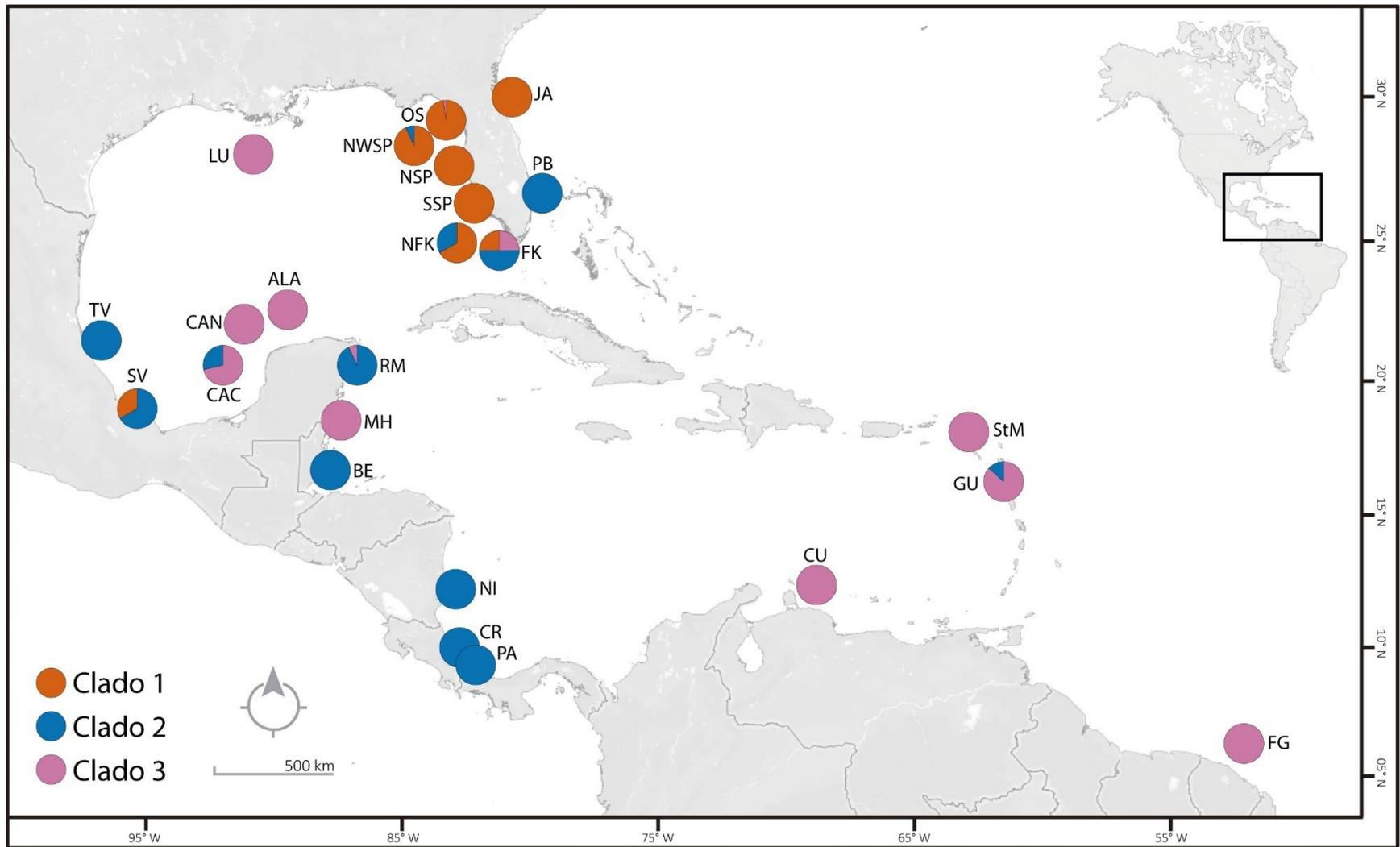


Figura 2.3. Mapa con las localidades de muestreo incluyendo la proporción de especímenes por clado. Detalles de localidades en Apéndice 2.

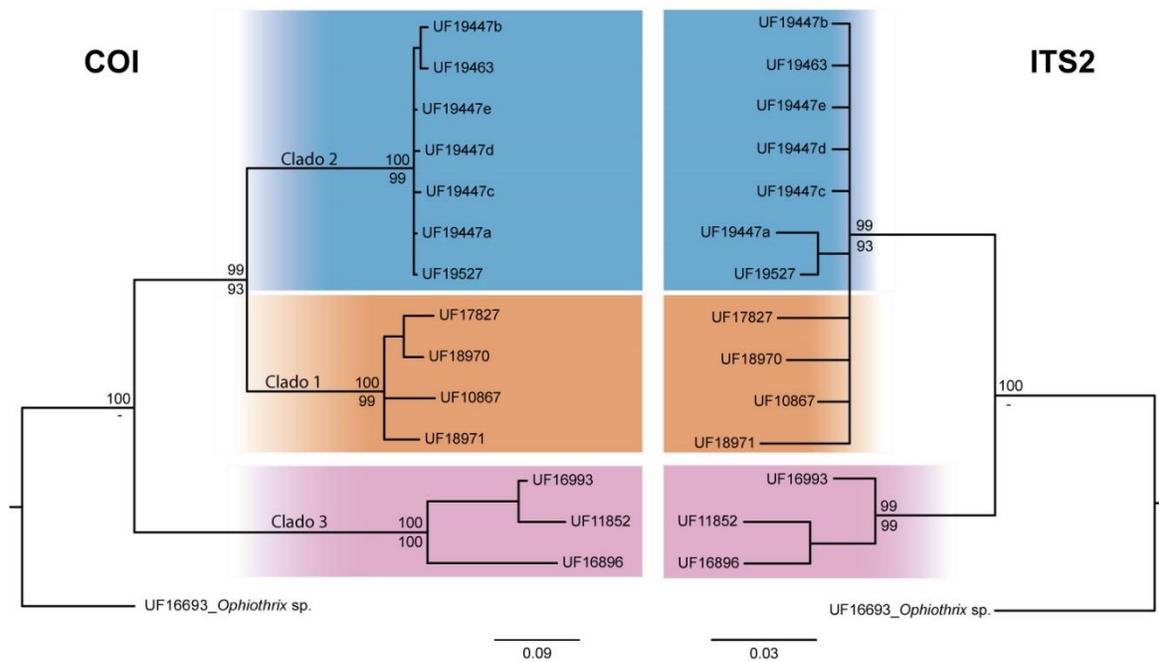


Figura 2.4. Filogenias basadas en ADN mitocondrial (COI) y en ADN ribosomal nuclear (ITS2), obtenidas a partir de los análisis de máxima verosimilitud (ML) y de inferencia bayesiana (BI), se muestran como cladogramas para *Ophiothrix angulata*.

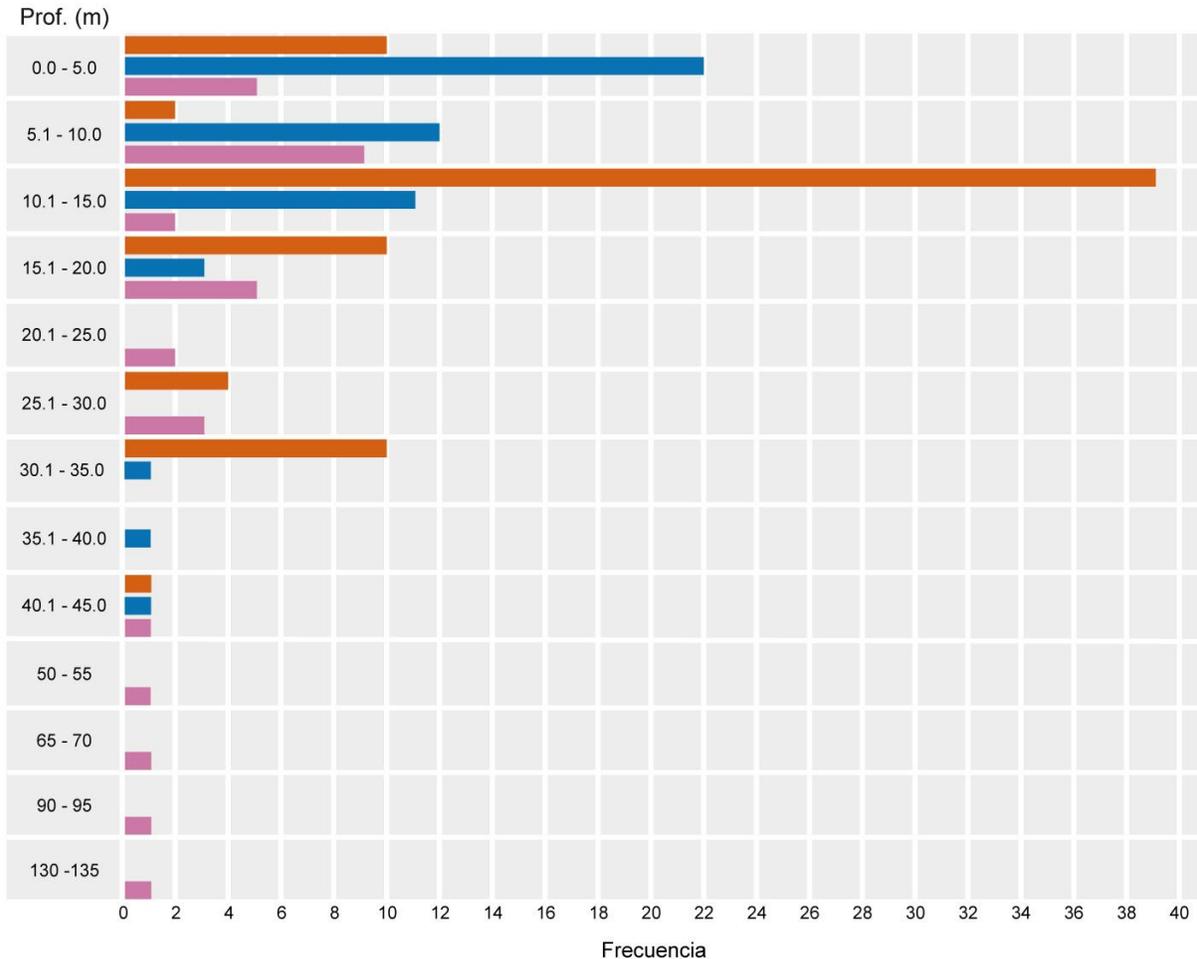


Figura 2.5. Profundidades de las muestras recolectadas por clado. Para cada rango de profundidad los clados se presenta de la siguiente forma: Clado 1, en la barra superior; Clado 2 en la barra de en medio; Clado 3 en la barra inferior.

Delimitación molecular de especies

Los análisis mPTP y BPP recuperaron los clados 1, 3 y los subclados 2A y 2B como distintos, con valores de probabilidad posterior >99 para todos los clados. El análisis ABGD confirmó el resultado anterior para los clados 1 y 2, sin embargo, para el Clado 3 recuperó 3 entidades distintas (Figura 2.6).

DELIMITACIÓN MOLECULAR

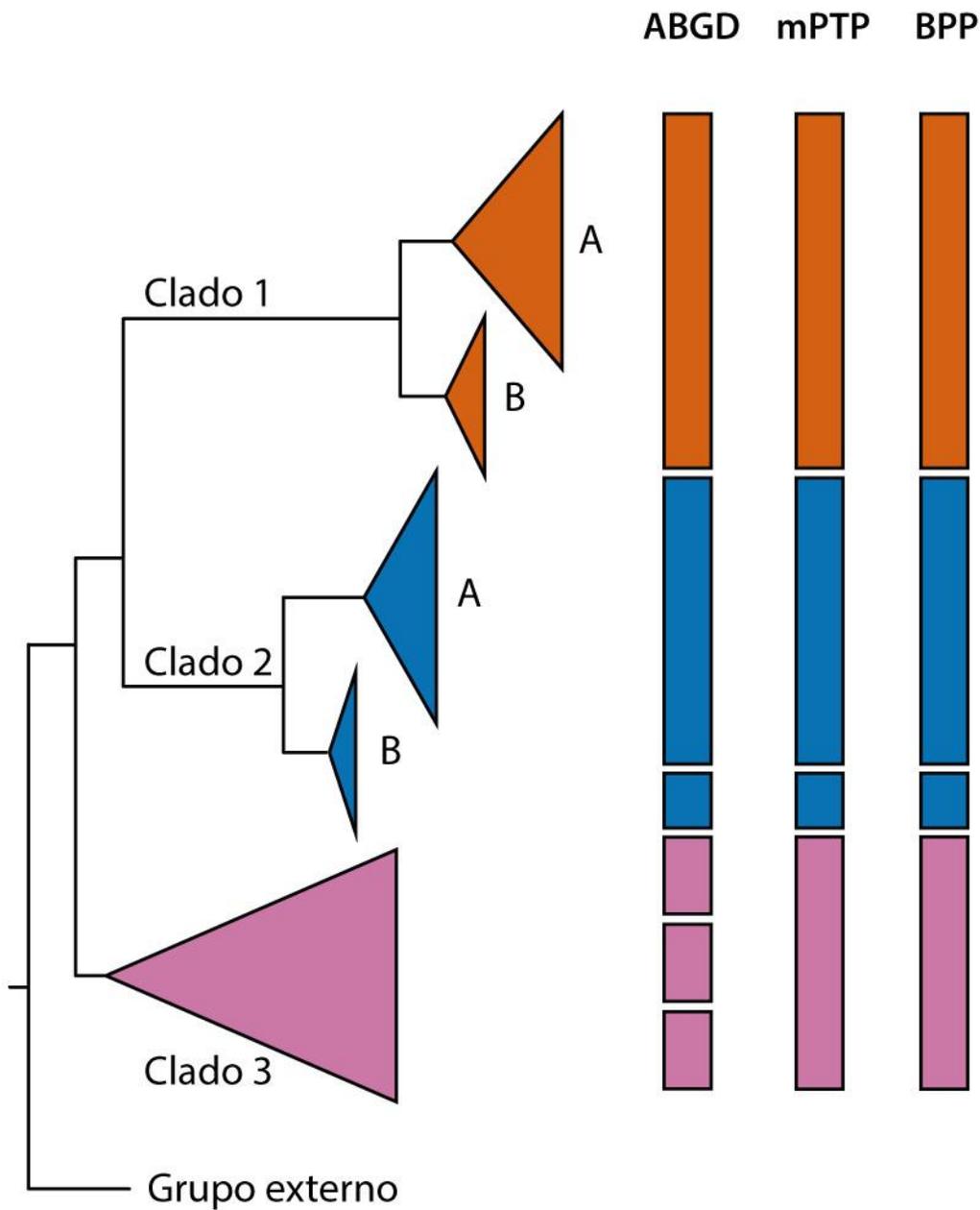


Figura 2.6. Delimitación molecular de especies de los clados y sub-clados de la filogenia para el gen COI reconstruida usando MrBayes v.3.2.7. Cada barra representa una delimitación de especie específica considerando uno de los 3 análisis utilizados. Clado 1 (naranja), Clado 2 (azul) y Clado 3 (rosa).

Diversidad poblacional

La diversidad poblacional de los 3 clados de ADN mitocondrial se evaluó mediante la medición de la diversidad de haplotipos (h) y la diversidad nucleotídica (π), las cuales oscilaron entre 0.743 y 1.000, y entre 0.007 y 0.048, respectivamente (Tabla 2.2). Las redes de haplotipos recuperaron los mismos 3 clados que el análisis filogenético de ADN mitocondrial.

En la Figura 2.7, se muestra que el Clado 1 se separó del Clado 2 por 77 m-s (Figura 2.7), mientras que el Clado 3 se separó del Clado 1 por 110 m-s, y respecto del Clado 2 por 96 m-s. Es importante destacar que los clados 1 y 3 están conformados principalmente por singletones, mientras que el Clado 2 muestra una red de haplotipos con forma de estrella, con un haplotipo dominante y ampliamente distribuido, así como una diversidad relativamente baja de haplotipos únicos.

Los valores de diversidad nucleotídica (π) y de diversidad de haplotipos (h) indicaron que el Clado 3 es genéticamente más diverso (Figura 2.8), seguido del Clado 1, mientras que el Clado 2 presentó una menor diversidad nucleotídica y de haplotipos (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Resumen de diversidad genética poblacional. N = número de individuos, número de haplotipos, h = diversidad de haplotipos, π = diversidad nucleotídica para los clados más grandes de *Ophiothrix angulata* incluidos en los análisis.

Clado	N	Número de haplotipos	h	π
Clado 1	76	74	0.999 ± 0.003	0.032 ± 0.001
Clado 2	51	23	0.743 ± 0.068	0.007 ± 0.002
Clado 3	31	30	0.998 ± 0.009	0.048 ± 0.003

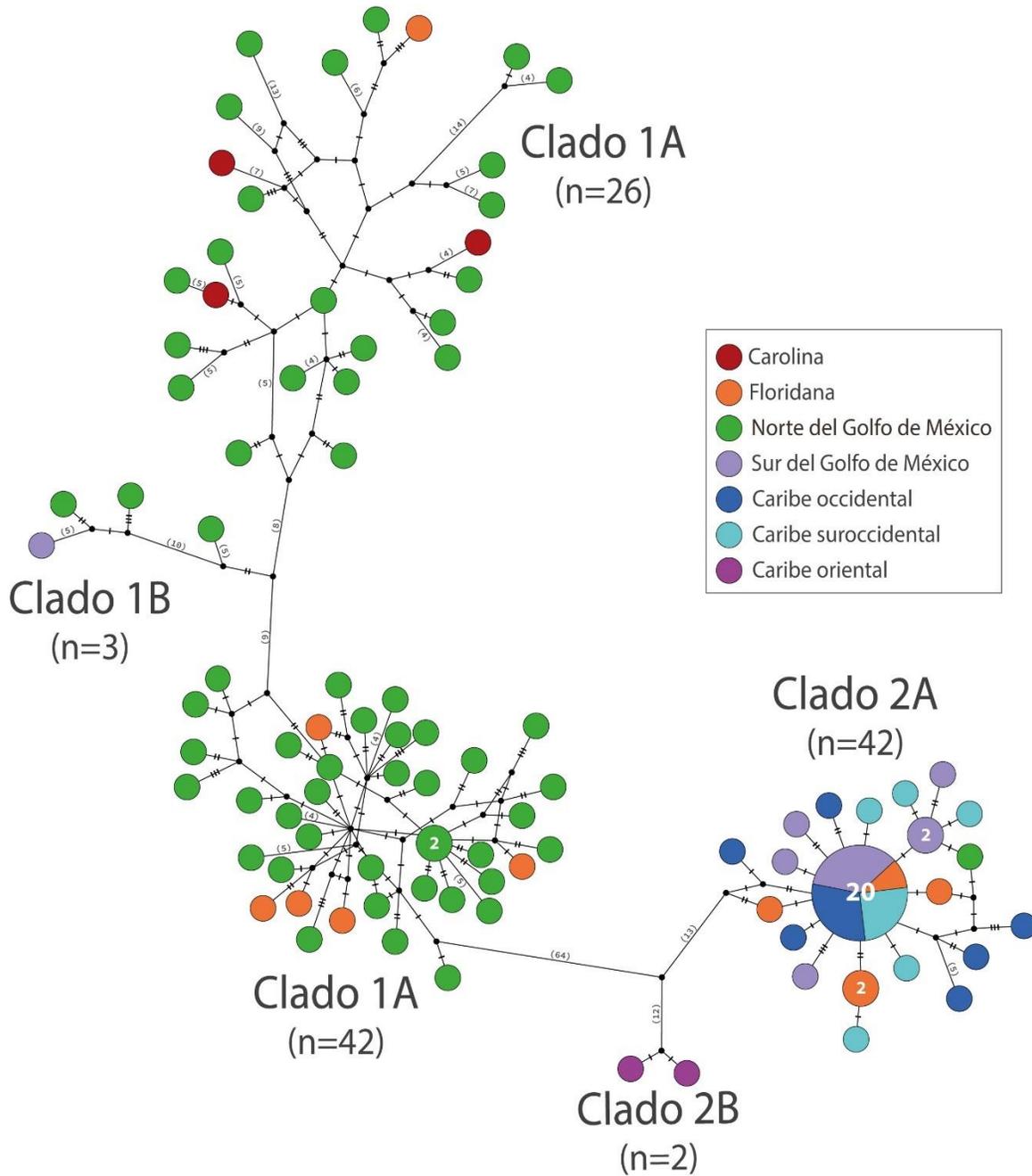


Figura 2.7. Clados 1 y 2. Red de haplotipos de secuencias de ADN mitocondrial de dos clados de *Ophiothrix angulata* (632 pb). El número de especímenes se superpone en los haplotipos más abundantes.

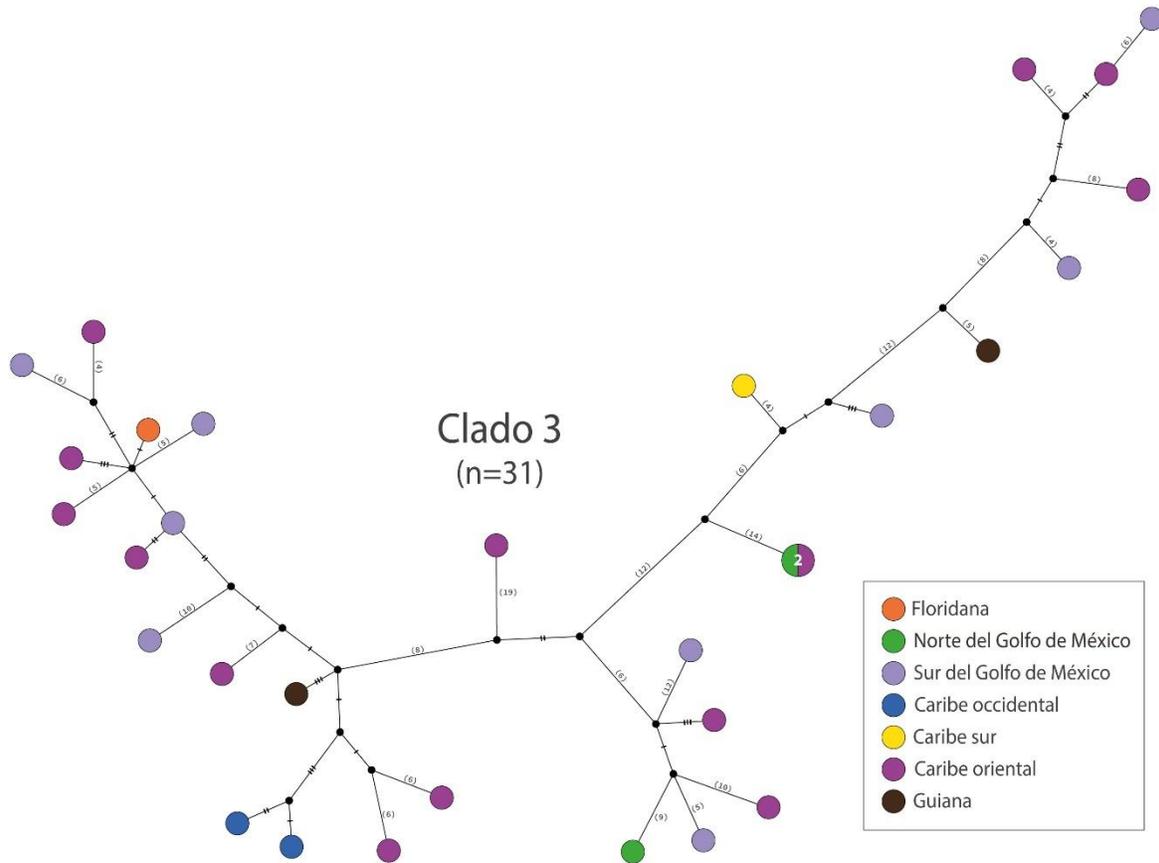


Figura 2.8. Clado 3. Red de haplotipos de las secuencias de ADN mitocondrial de un clado de *Ophiothrix angulata* (632 pb). El número de especímenes se superpone en los haplotipos más abundantes.

Las distancias genéticas K2P entre los clados de *O. angulata* para el gen COI variaron entre 17.0 y 27.9% (Tabla 2.3). La distancia genética entre clados más pequeña se encontró entre las muestras del Clado 1 y Clado 2 (17.0% K2P), mientras que, la más grande se observó entre los clados 1 y 3 (27.9% K2P). Las distancias también fueron altas entre los clados 2 y 3 (26.4% K2P). Además, la distancia genética K2P entre los subclados 1A y 1B fue de 4.6% y entre los subclados 2A y 2B fue de 5.1%.

Tabla 2.3. Distancias genéticas (\pm error estándar) entre los clados recuperados de *Ophiothrix angulata* basados en el modelo de Kimura 2-parámetros para COI. Los valores de distancia interespecífica se presentan debajo de la diagonal. Los números a lo largo de la diagonal resaltados y en corchetes representan variaciones intraespecíficas. Se compararon las distancias genéticas con las especies congénéricas *Ophiothrix lineata* y *Ophiothrix suensonii* distribuidas en el golfo de México y mar Caribe; *Ophiothrix cimar* distribuida en el Caribe y *Ophiactis savignyi* (Grupo externo).

COI	Clado 1	Clado 2	Clado 3	<i>O. cimar</i>	<i>O. lineata</i>	<i>O. suensonii</i>	<i>O. savignyi</i>
Clado 1	[0.032 \pm 0.004]						
Clado 2	0.170 \pm 0.019	[0.007 \pm 0.001]					
Clado 3	0.279 \pm 0.028	0.264 \pm 0.026	[0.053 \pm 0.006]				
<i>O. cimar</i>	0.316 \pm 0.032	0.310 \pm 0.033	0.278 \pm 0.028	–			
<i>O. lineata</i>	0.276 \pm 0.028	0.253 \pm 0.027	0.254 \pm 0.026	0.133 \pm 0.016	–		
<i>O. suensonii</i>	0.304 \pm 0.030	0.278 \pm 0.029	0.274 \pm 0.028	0.243 \pm 0.027	0.264 \pm 0.028	–	
<i>O. savignyi</i>	0.323 \pm 0.032	0.302 \pm 0.031	0.319 \pm 0.032	0.279 \pm 0.030	0.263 \pm 0.027	0.302 \pm 0.032	–

Discusión

Diferenciación genética de *Ophiothrix angulata*

La accesibilidad y el análisis del material biológico de colecciones científicas, combinados con los estudios de campo y el análisis de los genes COI e ITS2, han sido fundamentales para evaluar la diversidad genética de *Ophiothrix angulata* en el Atlántico Noroccidental. Este enfoque ha permitido identificar la presencia de 3 clados mitocondriales divergentes dentro de *O. angulata*, tal como lo reveló el análisis filogenético del gen COI, los cuales podrían corresponder a 3 especies no reconocidas. Además, mientras que el Clado 3 mostró divergencia incluso con el gen nuclear ITS2, los Clados 1 y 2 no presentaron la misma señal filogenética, ya que no se separaron con el gen nuclear.

Las fronteras biogeográficas tienen importantes implicaciones en términos de procesos evolutivos como el aislamiento reproductivo, el mantenimiento de zonas híbridas y la especiación (Pérez-Portela *et al.*, 2013), y los invertebrados que viven asociados a tales barreras han revelado divergencias filogeográficas importantes (Muths *et al.*, 2006). El Clado 1 de *Ophiothrix angulata* presentó una distribución

batimétrica entre 0 y 45 m de profundidad, dentro de una distribución geográfica relativamente aislada. La red TCS reveló un patrón dominado por singletones, con una distribución que destaca en las ecorregiones de altas latitudes en este estudio: Carolina, Floridana y Norte del Golfo de México (NGM). Esta distribución refleja en gran medida la diferenciación entre las faunas calosahatchianas (desde Carolina del Norte hasta Florida y el Norte del Golfo de México) y las gatunianas (que incluyen el Caribe), establecidas desde el Mioceno y que podrían representar una ruptura biogeográfica entre la provincia del Atlántico Noroccidental Templado-Cálido y la provincia cálida del Atlántico Noroccidental Tropical (Spalding *et al.*, 2007). Estas faunas ejemplifican un patrón general en el cual las especies templado-cálidas raramente se establecen en los trópicos, mientras que las especies tropicales a menudo se extienden hacia latitudes más altas durante intervalos cálidos (Vermeij, 2005). Esto sugiere una diferenciación alopátrica a lo largo de dicha frontera en el Atlántico Noroccidental.

Si bien los procesos biofísicos contemporáneos pueden no ser responsables de la divergencia genética de los clados de *Ophiothrix angulata*, podrían ser una fuerza que actúa en el mantenimiento de la separación de linajes que se diferenciaron en el pasado. Por ejemplo, la corriente de El Lazo, que transporta masas de agua flujo arriba de la Corriente del Caribe después de pasar entre la península de Yucatán y Cuba (Hemond & Vollmer, 2010), podría estar actuando como una barrera ambiental en dirección norte a sur para las larvas de los invertebrados en el Norte del Golfo de México y centro de Florida. Esto sustentaría el argumento de que el patrón medio de asentamiento larvario proviene principalmente de colonizadores locales (Sanvicente-Añorve *et al.*, 2018; Lara-Hernández *et al.*, 2019). Sin embargo, se considera que se necesitan estudios adicionales para evaluar con mayor precisión los patrones históricos de dispersión.

El Clado 2, al igual que el Clado 1 presentó una distribución batimétrica entre 0 y 45 m de profundidad, lo que sugiere una adaptación a condiciones ambientales similares dentro de esta franja batimétrica. En términos geográficos, la presencia del Clado 2 en seis de las nueve ecorregiones biogeográficas de este estudio (Floridana, Norte del Golfo de México, Sur del Golfo de México, Caribe occidental, Caribe suroccidental y Caribe oriental), indica una capacidad y adaptabilidad histórica a diferentes ambientes dentro del Atlántico Noroccidental. Además, refleja a una especie con alta capacidad de dispersión, probablemente alcanzando diferentes ecorregiones a través de la dispersión por corrientes y encontrando refugio durante los ciclos climáticos glaciares hasta el Pleistoceno. Durante el Último Máximo Glacial, en el Golfo de México y Caribe, la reducción de los niveles del mar en más de 35 m (Simms *et al.*, 2007) pudo haber facilitado la dispersión de los haplotipos sobrevivientes en una amplia gama de ubicaciones. La posibilidad de haber experimentado contacto secundario de linajes provenientes de múltiples refugios de aguas poco profundas (Allcock & Strugnell, 2012; Ludt & Rocha, 2015), también es una hipótesis probable. Este patrón de distribución sugiere una historia compleja de migración y colonización, posiblemente influenciada por cambios climáticos y niveles del mar en el pasado.

El Clado 3 se caracterizó por su amplia distribución batimétrica, abarcando desde la superficie hasta los 135 metros de profundidad, convirtiéndolo en el único de los 3 clados estudiados que alcanzó este rango de profundidad. Esta distribución sugiere que el Clado 3 podría poseer ventajas adaptativas que le permiten aprovechar una variedad de recursos y hábitats, así como responder a cambios ambientales (Smith *et al.*, 2008). Además, esta amplia distribución podría facilitar la conectividad entre diferentes hábitats marinos, lo que podría diferenciarlo en su capacidad de dispersión y adaptación en comparación con los Clados 1 y 2. Por otra parte, el análisis de la red de haplotipos del Clado 3 reveló una estructura peculiar, caracterizada por estar compuesta exclusivamente de singletones, similar a lo observado en el Clado 1. Sin embargo, el Clado 3 exhibió una elevada divergencia genética intraespecífica, medida por el modelo K2P y alcanzando un valor de 5.3% (Tabla 2.3). Esta alta divergencia se reflejó en singletones separados con un mínimo

de 6 y un máximo de 44 pasos mutacionales, representando la mayor separación encontrada dentro de este estudio.

Los Clados 1 y 3 de este estudio revelaron alta diversidad de haplotipos, pero baja diversidad de nucleótidos (Tabla 2.2). Esta combinación puede ser una señal de una rápida expansión poblacional a partir de un tamaño de población efectivo pequeño, como ocurriría después de un evento de cuello de botella (de Jong *et al.*, 2011) o una señal de que la población se originó a partir de múltiples eventos de colonización, donde los eventos de dispersión y establecimiento pueden ocurrir desde una o varias fuentes de la población inicial a lo largo de su historia (Clegg *et al.*, 2002). La red de haplotipos también permite visualizar claramente en qué áreas geográficas se registró la presencia del Clado 3, abarcando 7 de las 9 ecorregiones de este estudio, incluyendo Florida, Norte del Golfo de México, Sur del Golfo de México, Caribe occidental, Caribe sur, Caribe oriental y Guiana. Además, es importante destacar no solo su presencia en ecorregiones tan distantes entre sí, sino también la presencia de un haplotipo compartido entre el Caribe oriental (Guadalupe, Antillas menores) y el Norte del Golfo de México (Cedar Key Florida), lo que sugiere posibles eventos de dispersión o conexión entre estas dos regiones geográficas, resultando en algún grado de conectividad. Sin embargo, otra posible explicación podría existir considerando polimorfismos ancestrales, variantes antiguas que predominaron en poblaciones y alcanzaron altas frecuencias, manteniéndose en el tiempo, y que no necesariamente representan conexiones entre poblaciones distantes.

Además, al considerar la distribución del Clado 3, destaca la ausencia de un patrón espacial claro en la distribución de haplotipos, únicamente resaltan algunos agrupamientos como en el Sur del Golfo de México, Caribe oriental y Guiana. Asociaciones geográficamente aleatorias de haplotipos pueden surgir por diferentes razones. De acuerdo con Gold & Richardson (1998), la ausencia de patrones espaciales en la distribución de haplotipos entre muestras geográficas de una especie es evidencia de que existe una población única sin barreras al flujo génico. Además, las poblaciones pueden verse impulsadas por efectos fundadores que

surgen cada vez que se crean refugios adecuados o nuevos parches de hábitat, que luego son colonizados por una selección aleatoria de colonos de fuentes regionales (Van Gremberghe *et al.*, 2011; Dangalle *et al.*, 2014). Las amplias distribuciones con poca firma biogeográfica también pueden ocurrir debido a una alta capacidad de dispersión de las especies o a una dispersión asistida por el rafting en organismos con baja vagilidad (Dangalle *et al.*, 2014). Cuando una población se expande o coloniza una nueva área geográfica, se podría crear homogeneidad genética dentro del área recientemente colonizada, pero además, se espera que los haplotipos antiguos estén geográficamente más extendidos que sus parientes derivados, menos comunes, ya que los haplotipos jóvenes tienen una probabilidad reducida de ser parte de eventos de dispersión (Fry & Zink, 1998). Por lo tanto, los resultados sugieren que a pesar de su amplia distribución, los organismos del Clado 3 podrían pertenecer a una única población antigua, separada en subpoblaciones que se encuentran distribuidas en ecorregiones marinas contiguas.

La agrupación de secuencias en dos sub-clados en el Clado 1 y de dos sub-clados en el Clado 2 representa un desafío de interpretación. En el Clado 1, estos grupos se sobrelaparon en al menos una localidad en el noroeste de Florida. En el Clado 2, los dos sub-clados son alopátricos. El Clado 2A se encuentra ampliamente distribuido, mientras que el Clado 2B está representado por solo dos organismos de Guadalupe en el Caribe oriental. Esto podría sugerir una diferenciación geográfica entre ambos sub-clados.

Por último, se debe considerar la posible presencia de un proceso de “Clasificación Incompleta de Linajes” (ILS, *Incomplete Lineage Sorting*) en los resultados de este estudio al igual que fue registrado durante el análisis del complejo del ofiuro *Ophioderma longicauda* (Weber *et al.*, 2019). Este fenómeno, es común en análisis filogenéticos y ocurre cuando los linajes ancestrales no se han consolidado en un solo linaje filogenético reciente, produciendo un árbol discordante de un solo gen que difiere del árbol a nivel de especie, lo que podría resultar en que no se representen las relaciones reales entre las especies (Kuritzin *et al.*, 2016). Además, existen otros mecanismos que pueden conducir a la misma discordancia

aparente, por ejemplo, los casos de hibridación (Avice & Robinson, 2008). Esta hibridación aparentemente puede llegar a ser común entre *O. angulata* y organismos de su especie congénérica *Ophiothrix oestедii* (*obs. pers.*). En el caso de *O. angulata*, eventos de hibridación podrían reflejar un patrón de ILS, donde la historia evolutiva de estas poblaciones ha sido influenciada por eventos de divergencia y dispersión históricos. El ILS puede afectar la interpretación de la relación filogenética entre los clados y su estatus taxonómico, destacando la importancia de considerar este fenómeno al analizar la diversidad genética en especies con historias demográficas complejas. Es fundamental considerar que el uso de múltiples genes para crear filogenias puede ser una solución efectiva para reducir las implicaciones del ILS y fenómenos como la hibridación (Wiley & Lieberman, 2011), por lo que para futuros análisis genéticos de *O. angulata*, se sugiere el análisis de genes múltiples o el uso de datos genómicos que permitan una mejor comprensión de la historia evolutiva.

Delimitación molecular de especies en el complejo de *O. angulata*

Por otro lado, los algoritmos de delimitación molecular de especies, basados en los datos del gen COI, en general, recuperaron los mismos 3 clados genéticos con la excepción del Clado 3. En este caso para el Clado 3, el análisis ABGD recuperó 3 entidades distintas, posiblemente debido a la elevada variación genética intraespecífica registrada para este clado (Tabla 2.3). Se ha reportado que el análisis ABGD puede sobreestimar el número de especies al identificar grupos genéticamente distintos como especies separadas, especialmente cuando hay variación genética intrapoblacional (Puillandre *et al.*, 2012). La diferenciación genética entre los 3 clados, medida por sus distancias genéticas K2P, sugiere un aislamiento genético que concuerda con la existencia de distintas especies, según se indica en la Tabla 2.3. Es interesante notar que los 3 clados co-ocurren en algunas áreas, como en los Cayos de Florida, donde se recolectaron organismos pertenecientes a los 3 clados en el mismo día, sitio y profundidad (UF10247–1A,

UF10248–2A y UF10250–Clado 3; Apéndice 2), lo que podría sugerir la existencia de aislamiento reproductivo entre el Clado 3 respecto a los Clados 1 y 2.

Hasta el momento, el estatus taxonómico de los clados 1, 2 y 3 es incierto, ya que han sido separados únicamente por secuencias de ADN mitocondrial, y solo en el caso del Clado 3 también se encuentra separado por el gen nuclear ITS2. Basándonos exclusivamente en la evidencia molecular, los 3 clados se pueden considerar como “Especies Candidatas no Confirmadas” (UCS, *Unconfirmed Candidate Species*), pues corresponden a grupos de individuos dentro de una especie nominal que muestran grandes distancias genéticas, pero sin más información que hasta ahora pueda ayudar a separarlas (Padial *et al.*, 2010). Debido a que los clados 1 y 2 no se separaron con el gen nuclear ITS2, se podría suponer que existe flujo génico entre ambos linajes y que aparentemente eso podría no estar relacionado con la lejanía geográfica.

Divergencia de COI en ofiueros

El Phylum Echinodermata puede presentar amplias variabilidades genéticas tanto intra como interespecíficas. En un estudio de codificación de ADN que analizó 503 especímenes pertenecientes a 191 especies de ofiueros, Ward *et al.* (2008) observaron que la variación intraespecífica se encontraba entre el 0 y el 3% (con una media de 0.62%), mientras que la divergencia interespecífica entre géneros promediaba el 15%. En cuanto a la capacidad de discriminación de especies mediante el gen COI en la Clase Ophiuroidea, se encontró que el rango variaba entre el 0.00 y el 2.23% (con una media de $0.88 \pm 0.19\%$), mientras que, para separar géneros, el rango se situaba entre 1.61 y el 27.06% (con una media de $20.64 \pm 0.67\%$). Estos amplios rangos de valores límite subrayan la complejidad y diversidad genética presente en este grupo taxonómico.

Las distancias K2P del gen COI entre los 3 clados reportados para *Ophiothrix angulata* (17.0%-27.9%) en este trabajo superan la divergencia interespecífica promedio observada en la mayoría de las especies de ofiueros, e incluso sobrepasan

el valor promedio estimado para la separación de géneros, según los resultados de Ward *et al* (2008). Sin embargo, el umbral para distinguir especies utilizando datos de divergencia molecular es variable entre los diferentes grupos de animales, y para realizar comparaciones adecuadas, es necesario comparar con taxones estrechamente relacionados (Hebert *et al.*, 2003; Pérez-Portela *et al.*, 2013).

La comparación de las distancias genéticas entre los clados divergentes de *Ophiothrix angulata* encontrados en este estudio con respecto a otras especies de ofiuros revela similitudes notables. Por ejemplo, el nivel de divergencia genética encontrada se acerca a las distancias genéticas reportadas entre *Ophiothrix lineata*, *O. trilineata* y *O. aristulata* (17%; Pérez-Portela *et al.*, 2013). Además, existen otros ejemplos de distancias intraespecíficas K2P en complejos de ofiuros que muestran variabilidades genéticas cercanas: complejo de *Acrochnida brachiata* K2P = 19% (Muths *et al.*, 2006); complejo de *Ophiothrix fragilis* distancia K2P = 18.6% (Muths *et al.*, 2009), 15-17% (Pérez-Portela *et al.*, 2013), 19-22% (Taboada & Pérez-Portela, 2016); complejo de *Ophioderma longicaudum* distancia K2P = 2.2-10.2% (Boissin *et al.*, 2011), 0.8-10.7% (Weber *et al.*, 2019); *Ophiomyxa vivipara*, *Ophiacantha vivipara*, *Ophiura ooplax*, *Ophiactis abyssicola* y complejos de *Ophiothrix aristulata* distancia K2P = 2.9–3.7%, 14.1–16.7%, 22%, 6.7% y 22.9%, respectivamente (O'Hara *et al.*, 2014); y el complejo de *Ophiacantha wolfarntzi* distancia K2P = 5.4–25.7% (Martín-Ledo *et al.*, 2013). Mientras que, el valor p-distance=16.8-17.2% para COI que se registró entre *O. trinidadensis* y *O. angulata* (Alitto *et al.*, 2019), es poco comparable, debido a los escasos estudios que utilizan dicho modelo de divergencia genética.

La existencia de nuevas especies anidadas dentro de complejos de especies y especies crípticas suelen reconocerse por los altos niveles de divergencia genética, como se ha reportado para otros organismos (Buhay, 2009). Las divergencias genéticas registradas en este trabajo entre los 3 clados de *Ophiothrix angulata* son, hasta ahora, las más altas reportadas para un complejo de especies en ofiuros, únicamente se asemejan al valor superior reportado por Hart & Podolsky (2005), quienes obtuvieron un rango de 1.7 a 25.4% de distancia genética

interespecífica al comparar diferentes especies del género *Macrophiothrix* (Pérez-Portela *et al.*, 2013). Por otra parte, las diferencias con las especies congénéricas de *Ophiothrix* en general fueron similares e inclusive mayores. Por lo tanto, la evidencia sugiere que los organismos pertenecientes a la especie conocida hasta ahora como *Ophiothrix angulata* en el Atlántico Noroccidental, en realidad corresponden a un complejo de especies.

Conclusiones

El presente capítulo se centró en la diferenciación genética de la especie *Ophiothrix angulata*, un ofiuero común en el Atlántico Noroccidental. Mediante el análisis del gen COI, se identificaron 3 clados mitocondriales divergentes dentro de *O. angulata*. El Clado 3 mostró divergencia genética incluso con el gen nuclear ITS2, mientras que los Clados 1 y 2 no presentaron la misma señal filogenética. La estructura de la red TCS para el Clado 1 sugiere una diferenciación alopátrica a lo largo de las ecorregiones de latitudes más altas de este estudio, mientras que los clados 2 y 3 demostraron una capacidad histórica de adaptabilidad a diferentes ambientes dentro del Atlántico Noroccidental.

Además, como se puede visualizar en la red de haplotipos, el Clado 2 se encontró presente en seis diferentes ecorregiones, lo que sugiere una alta capacidad de dispersión, posiblemente alcanzando diferentes ecorregiones a través de la dispersión por corrientes y encontrando refugio durante los ciclos climáticos glaciares del Pleistoceno. Por otro lado, el Clado 3, además de la elevada capacidad de dispersión histórica, se caracterizó por su amplia distribución batimétrica, abarcando desde la superficie hasta los 135 metros de profundidad, lo que podría indicar ventajas adaptativas tanto para aprovechar una variedad de recursos y hábitats, como para responder a cambios ambientales.

Los algoritmos de delimitación molecular de especies basados en los datos del gen COI recuperaron los mismos 3 clados genéticos, sugiriendo un aislamiento genético que concuerda con la existencia de distintas especies dentro de *O.*

angulata. La co-ocurrencia de estos clados sugiere la existencia de aislamiento reproductivo del Clado 3 respecto a los Clados 1 y 2. Sin embargo, basándonos exclusivamente en la evidencia molecular, los 3 clados se deben considerar como "Especies Candidatas no Confirmadas", pues corresponden a grupos de individuos dentro de una especie nominal que muestran grandes distancias genéticas, pero sin más información que pueda ayudar a separarlas.

Las divergencias genéticas K2P encontradas entre los 3 clados de *O. angulata* varían entre 17.0% y 27.9%. Esta alta divergencia es similar a la observada en otros organismos según reportes previos, sin embargo, son las más altas reportadas hasta ahora para un complejo de especies en ofiuros, indicando la presencia de un complejo de especies en el Atlántico Noroccidental.

Literatura citada

- Alitto RAS, Zacagnini Amaral AC, Dias de Oliveira L, Serrano H, Seger KR, Borges Guilherme PD, Di Domenico M, Christensen AB, Bolsoni Lourenço L, Tavares M, Borges M. 2019. Atlantic west *Ophiothrix* spp. in the scope of integrative taxonomy: Confirming the existence of *Ophiothrix trinidadensis* Tommasi, 1970. *PLoS ONE* 14:1–28. DOI: 10.1371/journal.pone.0210331.
- Allcock AL, Strugnell JM. 2012. Southern Ocean diversity: New paradigms from molecular ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 27:520–528. DOI: 10.1016/j.tree.2012.05.009.
- Andrade CA, Barton ED. 2000. Eddy development and motion in the Caribbean Sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 105:26191–26201. DOI: 10.1029/2000jc000300.
- Avise JC, Robinson TJ. 2008. "Hemiplasy: A New Term in the Lexicon of Phylogenetics". *Systematic Biology* 57(3):503–507. DOI:10.1080/10635150802164587.
- Avise JC, Walker D. 1999. Species realities and numbers in sexual vertebrates: perspectives from an asexually transmitted genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96(3):992-995. DOI: 10.1073/pnas.96.3.992.

- Barber P, Boyce SL. 2006. Estimating diversity of Indo-Pacific coral reef stomatopods through DNA barcoding of stomatopod larvae. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273:2053–2061. DOI: 10.1098/rspb.2006.3540.
- Blagoev G, Hebert P, Adamowicz S., Robinson E. 2009. Prospects for using DNA barcoding to identify spiders in species-rich genera. *ZooKeys* 16:27–46. DOI: 10.3897/zookeys.16.239.
- Boissin E, Féral JP, Chenuil A. 2008. Defining reproductively isolated units in a cryptic and syntopic species complex using mitochondrial and nuclear markers: the brooding brittle star, *Amphipholis squamata* (Ophiuroidea). *Molecular Ecology* 17:1732–1744. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03652.x.
- Boissin E, Stöhr S, Chenuil A. 2011. Did vicariance and adaptation drive cryptic speciation and evolution of brooding in *Ophioderma longicauda* (Echinodermata: Ophiuroidea), a common Atlanto-Mediterranean ophiuroid? *Molecular Ecology* 20:4737–4755. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05309.x.
- Boissin E, Egea E, Féral JP, Chenuil A. 2015. Contrasting population genetic structures in *Amphipholis squamata*, a complex of brooding, self-reproducing sister species sharing life history traits. *Marine Ecology Progress Series* 539:165–177. DOI: 10.3354/meps11480.
- Boissin E, Hoareau TB, Paulay G, Bruggemann JH. 2017. DNA barcoding of reef brittle stars (Ophiuroidea, Echinodermata) from the southwestern Indian Ocean evolutionary hot spot of biodiversity. *Ecology and Evolution* 7:11197–11203. DOI: 10.1002/ece3.3554.
- Bribiesca-Contreras G, Solís-Marín FA, Laguarda-Figueras A, Zaldívar-Riverón A. 2013. Identification of echinoderms (Echinodermata) from an anchialine cave in Cozumel Island, Mexico, using DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources*, 13:1137-1145. DOI: 10.1111/1755-0998.12098.
- Briggs JC. 1958. A list of Florida fishes and their distribution. *Bulletin of Florida State Museum* 2:223–318.
- Buhay JE. 2009. “COI-like” Sequences Are Becoming Problematic in Molecular Systematic and DNA Barcoding Studies. *Journal of Crustacean Biology* 29(1):96–110. DOI: 10.1651/08-3020.1.
- Carrillo L, Johns EM, Smith RH, Lamkin JT, Largier JL. 2015. Pathways and Hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef System Part 1: Circulation. *Continental Shelf Research* 109:164–176. DOI: 10.1016/j.csr.2015.09.014.

- Carrillo L, Lamkin JT, Johns EM, Vásquez-Yeomans L, Sosa-Cordero F, Malca E, Smith RH, Gerard T. 2017. Linking oceanographic processes and marine resources in the western Caribbean Sea Large Marine Ecosystem Subarea. *Environmental Development* 22:84–96. DOI: 10.1016/j.envdev.2017.01.004.
- Carstens BC, Pelletier TA, Reid NM, Satler JD. 2013. How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology* 22:4369–4383. DOI: 10.1111/mec.12413.
- Casal G, Trégarot E, Cornet CC, McCarthy T, van der Geest M. 2024. A cost-effective method to map mangrove forest extent, composition, and condition in small islands based on Sentinel-2 data: Implications for management. *Ecological Indicators* 159:111696. DOI: 10.1016/j.ecolind.2024.111696.
- Clare EL, Lim BK, Engstrom MD, Eger JL, Hebert P. 2007. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes* 7:184–190. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2006.01657.x.
- Clark AM. 1966. Notes on the family Ophiotrichidae (Ophiuroidea). *Annals and Magazine of Natural History* 9(106-108):637–655. DOI: 10.1080/00222936608651676.
- Clark HL. 1946. Family Ophiotrichidae. In: *The echinoderm fauna of Australia. Its Composition and its origin*. Washington, D.C.: Carnegie Institution of Washington Publication, 213–228.
- Clegg SM, Degnan SM, Kikkawa J, Moritz C, Estoup A, Owens IP. 2002. Genetic consequences of sequential founder events by an island-colonizing bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(12):8127-8132. DOI: 10.1073/pnas.102583399.
- Clement M, Snell Q, Walker P, Posada D, Crandall K. 2002. TCS: Estimating gene genealogies. In: *Parallel and Distributed Processing Symposium, International Proceedings* 184.
- Dangalle CD, Pallewatta N, Vogler AP. 2014. Inferring population history of tiger beetle species of Sri Lanka using mitochondrial DNA sequences. *Ceylon Journal of Science* 43(2):47-63. DOI: 10.4038/cjsbs.v43i2.7324.
- Darnell RM, Defenbaugh RE. 1990. Gulf of Mexico: Environmental Overview and History of Environmental Research. *American Zoologist* 30(1):3-6. URL: <http://www.jstor.org/stable/3883418>.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. JModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9:772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.
- Diniz WJDS, Canduri F. 2017. Bioinformatics: an overview and its applications. *Genetics and Molecular Research* 16(1):1-21.

- Edgar RC. 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32:1792–1797. DOI: 10.1093/nar/gkh340.
- Eischeid AC, Stadig SR, Handy SM, Fry FS, Deeds J. 2016. Optimization and evaluation of a method for the generation of DNA barcodes for the identification of crustaceans. *LWT* 73:357-367. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.06.033.
- Engle DV, Summers JK. 2000. Biogeography of benthic macroinvertebrates in estuaries along the Gulf of Mexico and western Atlantic coasts. *Hydrobiologia* 436:17–33.
- Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite version 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10:564–567. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783–791.
- Fontaneto D, Flot JF, Tang CQ. 2015. Guidelines for DNA taxonomy, with a focus on the meiofauna. *Marine Biodiversity* 45:433–451. DOI: 10.1007/s12526-015-0319-7.
- Fry AJ, Zink RM. 1998. Geographic analysis of nucleotide diversity and song sparrow (Aves: Emberizidae) population history. *Molecular Ecology* 7:1303-1313. DOI: 10.1046/j.1365-294x.1998.00462.x.
- Gilbes F, Armstrong R. 2004. Phytoplankton dynamics in the eastern Caribbean Sea as detected with space remote sensing. *International Journal of Remote Sensing* 25:1449–1453. DOI: 10.1080/01431160310001592427.
- Gold JR, Richardson LR. 1998. Genetic homogeneity among geographic samples of snappers and groupers: evidence of continuous geneflow? *Proceedings of the 50th Gulf and Caribbean Fisheries Institute*:709-726.
- Hart MW, Podolsky RD. 2005. Mitochondrial DNA phylogeny and rates of larval evolution in *Macrophiothrix* brittlestars. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34(2):438-447. DOI: 10.1016/j.ympev.2004.09.011.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, DeWaard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270:313–321. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.
- Hedgpeth JW. 1954. “Bottom communities of the Gulf of Mexico”. In: *Gulf of Mexico: Its Origin, Waters, and Marine Life*, ed. PS Galtsoff (Washington D.C.: United States Government Printing Office), 279–284.

- Hemond EM, Vollmer SV. 2010. Genetic diversity and connectivity in the threatened staghorn coral (*Acropora cervicornis*) in Florida. *PLoS ONE* 5:e8652. DOI: 10.1371/journal.pone.0008652.
- Hendler G. 2005. Two new brittle star species of the genus *Ophiothrix* (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophiotrichidae) from coral reefs in the Southern Caribbean Sea, with notes on their biology. *Caribbean Journal of Science* 41:583–599.
- Hine AC, Locker S. 2011. “Florida Gulf of Mexico continental shelf: great contrasts and significant transitions,” In: *Gulf of Mexico Origin, Water, and Biota*. Volume 3, Geology, eds N. A. Buster and C. W. Holmes (Corpus Christi, TX: Texas A&M University Press):101–127.
- Hoareau TB, Boissin E. 2010. Design of phylum-specific hybrid primers for DNA barcoding: addressing the need for efficient COI amplification in the Echinodermata. *Molecular Ecology Resources* 10:960–967. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02848.x.
- Hoareau TB, Boissin E, Paulay G, Bruggemann JH. 2013. The Southwestern Indian Ocean as a potential marine evolutionary hotspot: perspectives from comparative phylogeography of reef brittle-stars. *Journal of Biogeography* 40:2167–2179. DOI: 10.1111/jbi.12155.
- Hoggett AK. 1991. The genus *Macrophiothrix* (Ophiuroidea: Ophiotrichidae) in Australian waters. *Invertebrate Taxonomy* 4:1077–1146. DOI: 10.1071/IT9901077.
- Huang M, Liang X, Zhu Y, Liu Y, Weisberg RH. 2021. Eddies Connect the Tropical Atlantic Ocean and the Gulf of Mexico. *Geophysical Research Letters* 48:1–10. DOI: 10.1029/2020GL091277.
- Jaap WC. 2015. Stony coral (Milleporidae and Scleractinia) communities in the eastern Gulf of Mexico: a synopsis with insights from the Hourglass collections. *Bulletin of Marine Sciences* 91:207–253. DOI: 10.5343/bms.2014.1049.
- Johns WE, Townsend TL, Fratantoni DM, Wilson WD. 2002. On the Atlantic inflow to the Caribbean Sea. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 49:211–243. DOI: 10.1016/S0967-0637(01)00041-3.
- de Jong MA, Wahlberg N, van Eijk M, Brakefield PM, Zwaan BJ. 2011. Mitochondrial DNA signature for range-wide populations of *Bicyclus anynana* suggests a rapid expansion from recent refugia. *PLoS ONE* 6(6):1-5. DOI: 10.1371/journal.pone.0021385.
- Kapli P, Lutteropp S, Zhang J, Kobert K, Pavlidis P, Stamatakis A, Flouri T. 2017. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum

- likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics* 33:1630–1638. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx025.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A. 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647–1649. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts199.
 - Kerr KC, Stoeckle MY, Dove CJ, Weigt LA, Francis CM, Hebert PD. 2007. Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. *Molecular ecology notes* 7:535–543. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01670.x.
 - 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. DOI: 10.1007/BF01731581.
 - Kissling DL, Taylor GT. 1977. Habitat factors for reef-kwelling ophiuroids in the Florida Keys. *In: Third International Coral Reef Symposium*. Miami, Florida: University of Miami, 225–231.
 - Kuritzin A, Kischka T, Schmitz J, Churakov G. 2016. Incomplete lineage sorting and hybridization statistics for large-scale retroposon insertion data. *PLoS Computational Biology* 12(3):e1004812. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004812.
 - Lara-Hernández JA, Zavala-Hidalgo J, Sanvicente-Añorve L, Briones-Fourzán P. 2019. Connectivity and larval dispersal pathways of *Panulirus argus* in the Gulf of Mexico: A numerical study. *Journal of Sea Research* 155:101814. DOI: 10.1016/j.seares.2019.101814.
 - Layton KKS, Corstorphine EA, Hebert PDN. 2016. Exploring canadian echinoderm diversity through DNA barcodes. *PLoS ONE* 11:1–16. DOI: 10.1371/journal.pone.0166118.
 - Layton KK, Martel AL, Hebert PD. 2014. Patterns of DNA barcode variation in Canadian marine mollusks. *PLoS ONE* 9:e95003. DOI: 10.1371/journal.pone.0095003.
 - Leigh JW, Bryant D. 2015. POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* 6:1110–1116. DOI: 10.1111/2041-210X.12410.
 - Lirman D. 2013. “Benthic habitat: coral and hardbottom”. *In: Integrated Conceptual Ecosystem Model Development for the Southeast Florida Coastal Marine Ecosystem*,

eds W. K. Nuttle and P. J. Fletcher (Miami, FL: NOAA Technical Memorandum), 53–62. OAR-AOML-103 and NOS-NCCOS-163.

- Liu Y, Weisberg RH. 2005. Patterns of ocean current variability on the West Florida Shelf using the self-organizing map. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 110:1–12. DOI: 10.1029/2004JC002786.
- Ljungman A. 1867. Ophiuroidea viventina huc usque cognita enumerat. Öfversigt af Kgl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar 23:303–336.
- Ludt WB, Rocha LA. 2015. Shifting seas: the impacts of Pleistocene sea-level fluctuations on the evolution of tropical marine taxa. *Journal of Biogeography* 42:25–38. DOI: 10.1111/jbi.12416.
- Luo A, Ling C, Ho SYW, Zhu CD. 2018. Comparison of methods for molecular species delimitation across a range of speciation scenarios. *Systematic Biology* 67:830–846. DOI: 10.1093/sysbio/syy011.
- Lütken CF. 1856. Bidrag til Kundskab om Slangestjernerne. II. Oversigt over de vestindiske Ophiurer. *Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening i Kjøbenhavn* 7:1–19.
- Lyman T. 1860. Descriptions of new Ophiuridae, belonging to the Smithsonian Institution and to the Museum of Comparative Zoology at Cambridge. *Proceedings of the Boston Society of Natural History 1859-61*, 7:193-204.
- Mallinson D, Hine A, Naar D, Locker S, Donahue B. 2014. New perspectives on the geology and origin of the Florida Middle Ground carbonate banks, West Florida Shelf, USA. *Marine Geology* 355:54–70. DOI: 10.1016/j.margeo.2014.04.007.
- Mallo D, Posada D. 2016. Multilocus inference of species trees and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371:20150335. DOI: 10.1098/rstb.2015.0335.
- Martín-Ledo R, Sands CJ, López-González PJ. 2013. A new brooding species of brittle star (Echinodermata: Ophiuroidea) from Antarctic waters. *Polar Biology* 36:115–126. DOI: 10.1007/s00300-012-1242-z.
- Masonick P, Weirauch C. 2019. Integrative species delimitation in Nearctic ambush bugs (Heteroptera: Reduviidae: Phymatinae): insights from molecules, geometric morphometrics and ecological associations. *Systematic Entomology* 45:205-223. DOI: 10.1111/syen.12388.

- McCormack JE, Hird SM, Zellmer AJ, Carstens BC, Brumfield RT. 2013. Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Molecular phylogenetics and evolution* 66:526–538. DOI: 10.1016/j.ympev.2011.12.007.
- Meyer CP, Paulay G. 2005. DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology* 3:1–10. DOI: 10.1371/journal.pbio.0030422.
- Michonneau F, Paulay G. 2014. Revision of the genus *Phyrella* (Holothuroidea: Dendrochirotida) with the description of a new species from Guam. *Zootaxa* 3760:101–140. DOI: 10.11646/zootaxa.3760.2.1.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010. Creating the CIPRES Science gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. New Orleans, L.A.:1–8.
- Miloslavich P, Díaz JM, Klein E, Alvarado JJ, Díaz C, Gobin J, Escobar-Briones E, Cruz-Motta JJ, Weil E, Cortés J, Bastidas AC, Robertson R, Zapata F, Martín A, Castillo J, Kazandjian A, Ortiz, M. 2010. Marine biodiversity in the Caribbean: regional estimates and distribution patterns. *PloS one* 5(8):e11916. DOI: 10.1371/journal.pone.0011916.
- Morey SL, Martin PJ, O'Brien JJ, Wallcraft AA, Zavala-Hidalgo J. 2003. Export pathways for river discharged fresh water in the northern Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 108:1–15. DOI: 10.1029/2002jc001674.
- Moritz CC, Pratt RC, Bank S, Bourke G, Bragg JG, Doughty P, Keogh JS, Laver RJ, Potter S, Teasdale LC, Tedeschi LG, Oliver PM. 2018. Cryptic lineage diversity, body size divergence, and sympatry in a species complex of Australian lizards (*Gehyra*). *Evolution* 72:54–66. DOI: 10.1111/evo.13380.
- Müller J, Troschel FH. 1842. *System der Asteriden*.1. Asteriae. 2. Ophiuridae. Vieweg: Braunschweig: 115.
- Muller-Karger FE, Castro RA. 1994. Mesoscale processes affecting phytoplankton abundance in the southern Caribbean Sea. *Continental Shelf Research* 14:199-221. DOI: 10.1016/0278-4343(94)90013-2.
- Müller K, Müller J, Neinhuis C, Quandt D. 2010. PhyDE–Phylogenetic Data Editor, version 0.9971. Program distributed by the authors. <http://www.phyde.de>.
- Muths D, Davoult D, Gentil F, Jollivet D. 2006. Incomplete cryptic speciation between intertidal and subtidal morphs of *Acrocnida brachiata* (Echinodermata: Ophiuroidea) in the Northeast Atlantic. *Molecular Ecology* 15: 3303–3318. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.03000.x.

- Muths D, Jollivet D, Gentil F, Davoult D. 2009. Large-scale genetic patchiness among NE Atlantic populations of the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *Aquatic Biology* 5:117–132. DOI: 10.3354/ab00138.
- Naughton KM, O’Hara TD, Appleton B, Cisternas PA. 2014. Antitropical distributions and species delimitation in a group of ophiocomid brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophiocomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 78:232–244. DOI: 10.1016/j.ympev.2014.05.020.
- NCBI Resource Coordinators. 2018. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. DOI: 10.1093/nar/gkx1095.
- O’Hara TD, England PR, Gunasekera RM, Naughton KM. 2014. Limited phylogeographic structure for five bathyal ophiuroids at continental scales. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 84:18–28. DOI: 10.1016/j.dsr.2013.09.009.
- O’Hara TD, Hugall AF, Thuy B, Stöhr S, Martynov AV. 2017. Restructuring higher taxonomy using broad-scale phylogenomics: The living Ophiuroidea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 107:415–430. DOI: 10.1016/j.ympev.2016.12.006.
- O’Hara TD, Stöhr S, Hugall AF, Thuy B, Martynov A. 2018. Morphological diagnoses of higher taxa in Ophiuroidea (Echinodermata) in support of a new classification. *European Journal of Taxonomy* 1–35. DOI: 10.5852/ejt.2018.416.
- Ohlmann JC, Niiler PP. 2005. Circulation over the continental shelf in the northern Gulf of Mexico. *Progress in Oceanography* 64:45–81. DOI: 10.1016/j.pocean.2005.02.001.
- Padial JM, Miralles A, De la Riva I, Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7:1–14. DOI: 10.1186/1742-9994-7-16.
- Pérez-Brunius P, García-Carrillo P, Dubranna J, Sheinbaum J, Candela J. 2013. Direct observations of the upper layer circulation in the southern Gulf of Mexico. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 85:182–194. DOI: 10.1016/j.dsr2.2012.07.020.
- Pérez-Portela R, Almada V, Turon X. 2013. Cryptic speciation and genetic structure of widely distributed brittle stars (Ophiuroidea) in Europe. *Zoologica Scripta* 42:151–169. DOI: 10.1111/j.1463-6409.2012.00573.x.
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G. 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21:1864–1877. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x.
- Rambaut A. 2018. FigTree version 1.4.4. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh, U.K.

- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. 2018. Posterior summarization in Bayesian Phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67:901–904. DOI: 10.1093/sysbio/syy032.
- Rannala B, Yang Z. 2017. Efficient Bayesian Species Tree Inference under the Multispecies Coalescent. *Systematic Biology* 66(5):823–842. DOI: 10.1093/sysbio/syw119.
- Richards VP, DeBiasse MB, Shivji MS. 2015. Genetic evidence supports larval retention in the Western Caribbean for an invertebrate with high dispersal capability (*Ophiothrix suensonii*: Echinodermata, Ophiuroidea). *Coral Reefs* 34:313–325. DOI: 10.1007/s00338-014-1237-z.
- Roberts CM, McClean CJ, Veron JEN, Hawkins JP, Allen GD, McCallister DE, Mittermeier CG, Schueller FW, Spalding M, Wells F, Vynne C, Werner TB. 2002. Marine biodiversity hotspots and conservation priorities for tropical reefs. *Science* 295:1280–1284. DOI: 10.1126/science.1067728.
- Robertson DR, Van Tassell J. 2023. *Shorefishes of the Greater Caribbean: online information system*. Version 3.0 Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panama. Consultado 24 febrero 2024. <https://biogeodb.stri.si.edu/caribbean/en/pages>
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes version 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology* 61:539–542.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP v6: DNA Sequence polymorphism analysis of large datasets. *Molecular Biology and Evolution* 34:3299–3302.
- Rubinoff D, Cameron S, Will K. 2006. A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for “barcoding” identification. *Journal of heredity* 97:581–594. DOI: 10.1093/jhered/esl036.
- Santana A, Manso CL, Almeida ACS, Alves OF. 2020. Taxonomic review of *Ophiothrix* Müller & Troschel, 1840 (Echinodermata: Ophiuroidea) from Brazil, with the description of four new species. *Zootaxa* 4808:51-78.
- Sanvicente-Añorve L, Zavala-Hidalgo J, Allende-Arandía E, Hermoso-Salazar M. 2018. Larval dispersal in three coral reef decapod species: Influence of larval duration on the metapopulation structure. *PLoS ONE* 13:1–22. DOI: 10.1371/journal.pone.0193457.

- Sbordoni V. 2010. Strength and limitations of DNA barcode under the multidimensional species perspective. *In: Nimis PL, Vignes Lebbe R (Eds). Tools for identifying biodiversity: Progress and problems*, 275-280.
- Shendure J, Ji H. 2008. Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology* 26:1135–1145. DOI: 10.1038/nbt1486.
- Simms AR, Lambeck K, Purcell A, Anderson JB, Rodriguez AB. 2007. Sea-level history of the Gulf of Mexico since the Last Glacial Maximum with implications for the melting history of the Laurentide Ice Sheet. *Quaternary Science Reviews* 26:920-940.
- Smith CR, De Leo FC, Bernardino AF, Sweetman AK, Arbizu PM. 2008. Abyssal food limitation, ecosystem structure and climate change. *Trends in ecology & evolution* 23(9):518-528. DOI: 10.1016/j.tree.2008.05.002.
- Sobha TR, Vibija CP, Fahima P. 2023. Coral Reef: A Hot Spot of Marine Biodiversity. *In: Sukumaran ST, TR, K. (Eds) Conservation and Sustainable Utilization of Bioresources. Sustainable Development and Biodiversity. Vol. 30.* Springer, Singapore. DOI: 10.1007/978-981-19-5841-0_8.
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña Z, Finlayson M, Halpern BS, Jorge M, Lombana A, Lourie S, Martin KD, Mcmanus E, Molnar J, Recchia C, Robertson J. 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57:573–583. DOI: 10.1641/B570707.
- Stamatakis A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22:2688–2690. DOI: 10.1093/bioinformatics/btl446.
- Stamatakis A, Hoover P, Rougemont J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systematic Biology* 57:758–771. DOI: 10.1080/10635150802429642.
- Stöhr S, Boissin E, Chenuil A. 2009. Potential cryptic speciation in Mediterranean populations of *Ophioderma* (Echinodermata: Ophiuroidea). *Zootaxa* 2071:1–20.
- Stöhr S, O'Hara TD, Thuy B. 2012. Global Diversity of Brittle Stars (Echinodermata: Ophiuroidea). *PLoS ONE* 7:e31940. DOI: 10.1371/journal.pone.0031940.
- Stöhr S, O'Hara TD, Thuy B. 2023. World Ophiuroidea Database. Available at <http://www.marinespecies.org/ophiuroida> (accessed April 16th, 2023). DOI: 10.14284/358.
- Taboada S, Pérez-Portela R. 2016. Contrasted phylogeographic patterns on mitochondrial DNA of shallow and deep brittle stars across the Atlantic-Mediterranean area. *Scientific Reports* 6:32425. DOI: 10.1038/srep32425.

- Tamura K, Stecher G, Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38:3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120.
- Tommasi LR. 1970. Os ofiuróides recentes do Brasil e de regiões vizinhas. Universidade de São Paulo. Instituto oceanográfico. 146 p.
- Toonen RJ, Bowen BW, Iacchei M, Briggs JC. 2016. Biogeography, Marine. *In: Encyclopedia of Evolutionary Biology*. (Ed) Kliman RM. 166–178. DOI: 10.1016/B978-0-12-800049-6.00120-7.
- Uthicke S, Byrne M, Conand C. 2010. Genetic barcoding of commercial Bêche-de-mer species (Echinodermata: Holothuroidea). *Molecular Ecology Resources* 10:634–646. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02826.x.
- Van Gremberghe I, Leliaert F, Mergeay J, Vanormelingen P, Van der Gucht K, Debeer AE, Lacerot G, Meester LD, Vyverman W. 2011. Lack of phylogeographic structure in the freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* suggests global dispersal. *PLoS ONE* 6(5):1-12. DOI: 10.1371/journal.pone.0019561.
- Vermeij GJ. 2005. One-way traffic in the western Atlantic: causes and consequences of Miocene to early Pleistocene molluscan invasions in Florida and the Caribbean. *Paleobiology* 31:624–642.
- Vogler AP, Monaghan MT. 2007. Recent advances in DNA taxonomy. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 45:1–10. DOI: 10.1111/j.1439-0469.2006.00384.x.
- Walker BK, Riegl B, Dodge RE. 2008. Mapping coral reef habitats in southeast Florida using a combined technique approach. *Journal of Coastal Research* 24:1138–1150. DOI: 10.2112/06-0809.1.
- Walker BK, Eagan S, Ames C, Brooke S, Keenan S, Baumstark R. 2020. Shallow-Water Coral Communities Support the Separation of Marine Ecoregions on the West-Central Florida Gulf Coast. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8:210. DOI: 10.3389/fevo.2020.00210.
- Walsh PS, Metzger DA, Higushi R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques* 10:506–513.
- Ward RD, Holmes BH, O’Hara TD. 2008. DNA barcoding discriminates echinoderm species. *Molecular Ecology Resources* 8:1202–1211. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2008.02332.x.

- Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PD. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360:1847–1857. DOI: 10.1098/rstb.2005.1716.
- Waugh J. 2007. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *BioEssays* 29:188–197. DOI: 10.1002/bies.20529.
- Weber AAT, Stöhr S, Chenuil A. 2019. Species delimitation in the presence of strong incomplete lineage sorting and hybridization: Lessons from *Ophioderma* (Ophiuroidea: Echinodermata). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 131:138–148. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.11.014.
- Wiley EO, Lieberman BS. 2011. *Phylogenetics: theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley & Sons.
- Yang Z. 2015. The BPP program for species tree estimation and species delimitation. *Current Zoology* 61:854–865. DOI: 10.1093/czoolo/61.5.854.
- Yang Z, Rannala B. 2010. Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:9264–9269. DOI: 10.1073/pnas.0913022107.
- Zavala-Hidalgo J, Morey SL, O'Brien JJ. 2003. Seasonal circulation on the western shelf of the Gulf of Mexico using a high-resolution numerical model. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 108:C12, 3389. DOI: 10.1029/2003jc001879.
- Zhang J, Kapli P, Pavlidis P, Stamatakis A. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics* 29:2869–2876. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt499.

CAPÍTULO 3. Diferenciación morfológica de *Ophiothrix angulata*

Introducción

La taxonomía de ofiuros se ha basado tradicionalmente en el análisis de caracteres macro-morfológicos, lo que ha generado confusiones taxonómicas debido a la superposición de caracteres, especialmente dentro de los complejos de especies (Arlyza *et al.*, 2013). Uno de los problemas más importantes en la taxonomía actual de los ofiuros es la incertidumbre en la delimitación de características puntualmente diferentes dentro de morfotipos similares y el uso de estos caracteres taxonómicos para su determinación (Martynov, 2010). Una taxonomía inestable puede fomentar la adopción de criterios subjetivos, generando confusión en la taxonomía alfa y dificultando los esfuerzos de conservación y el estudio de especies amenazadas ante los crecientes escenarios de pérdida de hábitats (Fujita *et al.*, 2012).

En contraste, en las últimas décadas, el uso de caracteres microestructurales ha surgido como una herramienta valiosa para el estudio sistemático de los ofiuros, revelando su valor filogenético (O'Hara *et al.*, 2014; Thuy & Stöhr, 2016; Alitto *et al.*, 2019). La forma de estas microestructuras ha demostrado ser particularmente importante al establecer congruencia con datos moleculares, permitiendo la inferencia de relaciones filogenéticas incluso a nivel de género (Thuy & Stöhr, 2016). Por lo tanto, el análisis de la forma de caracteres microestructurales podría ofrecer un enfoque valioso para analizar complejos de especies y contribuir a la delimitación de especies en ofiuros.

Entre los caracteres microestructurales de los ofiuros utilizados actualmente, las microestructuras del esqueleto del brazo se han convertido en esenciales para la identificación taxonómica, ya que se ha descubierto una concordancia notable entre la relación de dichas características morfológicas y las estimaciones filogenéticas realizadas durante la reestructuración de la taxonomía de la Clase

Ophiuroidea utilizando amplias escalas filogenómicas (Martynov, 2010; Thuy & Stöhr, 2016; O'Hara *et al.*, 2017).

Un enfoque utilizado en el estudio de la forma ha sido el uso de enfoques morfométricos, que incluyen la medición directa de características (morfometría tradicional), las comparaciones de las posiciones de puntos de referencia distintivos (morfometría geométrica), y la cuantificación del contorno general de estructuras o del organismo entero (Webster & Sheets, 2010). Los enfoques morfométricos tienen la ventaja de ser intuitivos, ya que las métricas de las formas que se están estudiando corresponden directamente a parámetros que se pueden visualizar fácilmente (Deline, 2021).

La Morfometría Geométrica (MG) basada en puntos de referencia o *landmarks*, cuantifica la morfología en función de un subconjunto de características. Sin embargo, es importante considerar si los patrones que se caracterizan son representativos de la morfología general o exclusivamente de las características examinadas (Klingenberg, 2016; Deline, 2021). La MG se ha utilizado en diferentes escenarios para diferenciar especies, evaluar el cambio ontogenético o documentar cambios en la disparidad a través del tiempo (Deline, 2021). Cada *landmark* colocado debe representar un punto homólogo fácilmente reconocible, de manera que la ubicación de dicho punto sea preciso y reproducible (Klingenberg, 2016).

Utilizando estos *landmarks* en combinación y por separado, MacLeod (2015) quien estudió *Gogia*, un género primitivo de equinodermo pelmatozoario, sugiere que pudo extraer información biológicamente significativa e irrefutable de los individuos caracterizados, pudiendo diferenciar entre posibles especies y estadios del ciclo de vida, y recuperando la mayor proporción de la variación de la forma. En la actualidad, varios trabajos realizados con equinodermos han utilizado métodos de morfometría geométrica para diferenciar entre géneros y encontrar diferencias entre estructuras y placas de especies hermanas. Por ejemplo, Martínez-Melo *et al.* (2017) utilizaron métodos de morfometría geométrica para diferenciar entre géneros en la familia Cassidulidae, Clase Echinoidea, basándose en la morfología crítica de las formas de las placas de erizos. Por su parte, Swisher (2021) estudió la

ontogenia en clypeasteroideos fósiles (erizos irregulares) y confirmó los cambios de tamaño y forma en las placas orales/aborales utilizando métodos de morfometría geométrica. De los Palos-Peña *et al.* (2021) combinaron microscopía electrónica de barrido (MEB) y estudios ontogenéticos del odontóforo en la estrella de mar *Luidia superba* para comprender los patrones de variación de tamaño y forma. Márquez-Borras *et al.* (2020) utilizaron imágenes de MEB con análisis de morfometría geométrica para encontrar diferencias entre las placas dorsales, ventrales y laterales del brazo de las especies hermanas de ofiuros, que hasta hace poco se creía que eran una sola especie: *Ophionereis reticulata* y *O. commutabilis*, la primera marina y la segunda cavernícola, encontrando que *O. commutabilis* presenta adaptaciones morfológicas a la vida en caverna presentando mayores tamaños y elongaciones de los brazos, entre otras características.

Por otra parte, una de las características más conspicuas en casi cualquier organismo es la coloración, la cual proporciona un acceso excepcional a la diversidad fenotípica porque podemos cuantificar cómo el color es percibido por los sistemas visuales de diversas especies, y siendo los humanos animales visuales, podemos idear metodologías para estudiarla (Cuthill *et al.*, 2017). La coloración media la relación entre un organismo y su ambiente de forma importante, incluyendo señalización social, defensas antidepredatorias, explotación parasitaria, la termorregulación y la protección contra la luz ultravioleta y la abrasión; esto a su vez sugiere que el color puede llegar a jugar un papel en la evolución de las especies, ya que tiene implicaciones adaptativas de las apariencias externas, lo que puede influir en la supervivencia, la reproducción, la comunicación y la selección sexual (Cuthill *et al.*, 2017). Por ejemplo, el color puede ayudar a los organismos a camuflarse con su entorno o imitar a otras especies para evitar la depredación. Por lo tanto, individuos con colores menos visibles para los depredadores tienen más probabilidades de sobrevivir, reproducirse y transmitir sus genes, aumentando la frecuencia de esos colores en la población a lo largo del tiempo (Endler, 1990; Cuthill *et al.*, 2017).

En diferentes especies, los colores brillantes están asociados con la selección sexual, donde los machos a menudo exhiben colores llamativos para atraer a las hembras durante el cortejo. Esta preferencia por los colores brillantes puede llevar a la selección de rasgos coloridos en los machos a lo largo del tiempo (Cuthill *et al.*, 2017). Además, el color de un individuo puede adaptarse a su entorno específico, como en áreas con luz ultravioleta intensa, donde algunos organismos desarrollan pigmentos protectores para evitar daños en el ADN. Estos cambios adaptativos en el color pueden ser el resultado de presiones selectivas ambientales a lo largo de muchas generaciones (Cuthill *et al.*, 2017).

En los ofiuros, las coloraciones evidentes se observan principalmente en la superficie aboral o dorsal de los ejemplares, sin embargo, la coloración de la superficie oral o ventral también suele ser registrada en la descripción original. Aunque la coloración de los ofiuros se registra habitualmente, suele considerarse no informativa debido principalmente a la elevada plasticidad que se observa en la diversidad de patrones de color que pueden presentar los organismos. No obstante, un trabajo reciente ha demostrado que, el estudio de los patrones de coloración en el estudio de los complejos crípticos en ofiuros puede ser un carácter morfológico útil y relevante debido a su potencial para mostrar congruencia con información filogenética a nivel de género y contribuir a la delimitación de especies.

Stöhr *et al.* (2020) descubrieron que los patrones de coloración de lo que inicialmente se consideraba como *Ophioderma longicauda* ofiuro conspicuo del Mediterráneo, poseen un alto valor taxonómico dentro del complejo de especies críptico. Estos patrones de color, junto con datos geográficos, ecológicos y genéticos fueron cruciales en el análisis de taxonomía integrativa, lo que permitió determinar y describir 3 nuevas especies del género *Ophioderma*, así como a revivir una especie que había sido sinonimizada. Notablemente, todas estas especies, excepto una, presentan un patrón de coloración distinto. En contraste, suele ser común no encontrar señales locales de adaptación o diferenciación genética entre morfotipos con patrones diferentes de coloración, como lo reportaron Leiva *et al.* (2023) para la especie de ofiuro *Ophiocoma nigra* en el Atlántico Mediterráneo, en

donde a pesar de presentar patrones de coloración extremadamente variables, las dos coloraciones más contrastantes demostraron ser una única unidad evolutiva al no mostrar divergencia genética entre ellas. Ante estos dos escenarios contrastantes, en el que el estudio de los patrones de coloración pueda o no proporcionar información valiosa para comprender la diversidad biológica y evolutiva de los ofiuros asociados a complejos crípticos, se considera que es necesario realizar un análisis exhaustivo que ayude a conocer si los patrones de coloración del ofiuro *Ophiothrix angulata* objeto de estudio de este trabajo, serán informativos o no.

En el caso de *O. angulata*, se ha reconocido históricamente su alta variabilidad y plasticidad morfológica. Esta variabilidad se manifiesta en diversas características, como la forma pentaradial o circular del disco, la cantidad de espineletas en el disco dorsal, cambios sutiles en la forma de las placas dorsales de los brazos, la dureza o fragilidad del armamento de su estructura calcárea, la presencia o ausencia de pápulas, escamas o espinas en la superficie ventral del disco, y por supuesto en la gran diversidad de patrones de coloración reportadas. A lo largo de su amplia distribución geográfica, varios taxónomos a lo largo de la historia han intentado describir y categorizar estas características morfológicas para dar coherencia a la compleja morfología de *O. angulata* (Tommasi, 1970; Clark HL, 1933; Hendler *et al.*, 1995; Hendler *et al.*, 1999; Hendler, 2005; Santana *et al.*, 2017), sin que hasta ahora se hayan intentado establecer delimitaciones congruentes entre la morfología y la genética.

Debido a la enorme variación mencionada en los patrones de coloración de *O. angulata*, se han descrito numerosas variedades que se han clasificado únicamente en función de la coloración (Lyman, 1865; Verrill, 1899; Clark HL, 1901, Tommasi, 1970). Clark HL (1918) describió 5 variedades basadas en los patrones de coloración de los brazos y el disco, y dejó una sexta sin publicar, pero con holotipo y paratipos separados y número baucher en el Museum of Comparative Zoology de la Universidad de Harvard. Por otro lado, Tommasi (1970) caracterizó 21 variedades diferentes de coloración en muestras recolectadas únicamente en Brasil. Hendler *et*

al. (1995) concluyeron que tanto la variación en la coloración como la variación en la forma del disco y la disposición de las espineletas en la superficie dorsal del disco no parecen ser significativas a nivel de especie.

En este capítulo, para el complejo de especies del ofiuo *Ophiothrix angulata* se realizó un análisis detallado de la morfometría geométrica de las formas generales de las placas dorsales y ventrales del brazo ya que se sugiere son susceptibles a una caracterización morfométrica cuantitativa. Además, se llevó a cabo un análisis de los patrones de coloración dorsal del brazo. Si los enfoques morfométricos y de coloración pueden ser utilizados para identificar y documentar diferencias biológicamente significativas entre los patrones de variación morfológica en el complejo de especies de *O. angulata*, estas herramientas han demostrado utilidad durante la delimitación de especies y en la detección de diversidad genética al probar hipótesis taxonómicas.

Objetivos

General

Utilizar técnicas de morfometría geométrica para identificar caracteres morfológicos filogenéticamente informativos que diferencien especies crípticas en el complejo de especies de *Ophiothrix angulata*, además de realizar un análisis de la coloración dorsal del brazo.

Particulares

- Aplicar técnicas de morfometría geométrica para determinar cuantitativamente la variación morfológica de la forma de las placas dorsal (DAP) y ventral (VAP) del brazo.
- Analizar la relación filogenética entre la coloración dorsal del brazo y su correspondencia con los clados genéticos de ADN mitocondrial mediante un análisis de máxima parsimonia.

Materiales y Métodos

Morfometría geométrica

Obtención de muestras

De los 146 especímenes con secuenciación del gen COI, se seleccionaron 50 individuos para analizarlos con morfometría geométrica (MG) las placas dorsales (DAP, *dorsal arm plates*) y las placas ventrales del brazo (VAP, *ventral arm plates*) de cada espécimen; sin embargo, 4 individuos tuvieron que ser descartados, así como otras placas individuales, resultando un total de 13 imágenes en la que las placas no consiguieron la calidad mínima necesaria para ser utilizadas en los análisis por encontrarse rotas, incompletas o carcomidas. DAP y VAP se consideran un indicador confiable de la morfología de la placa lateral del brazo (Thuy & Stöhr, 2011), y las más adecuadas para el análisis morfométrico geométrico 2D. Los 46 individuos restantes pertenecen a 8 localidades distintas, distribuidas a lo largo de 5 regiones biogeográficas: Florida, Norte del Golfo de México, Sur del Golfo de México, Caribe suroccidental y Caribe oriental (Figura 3.1).

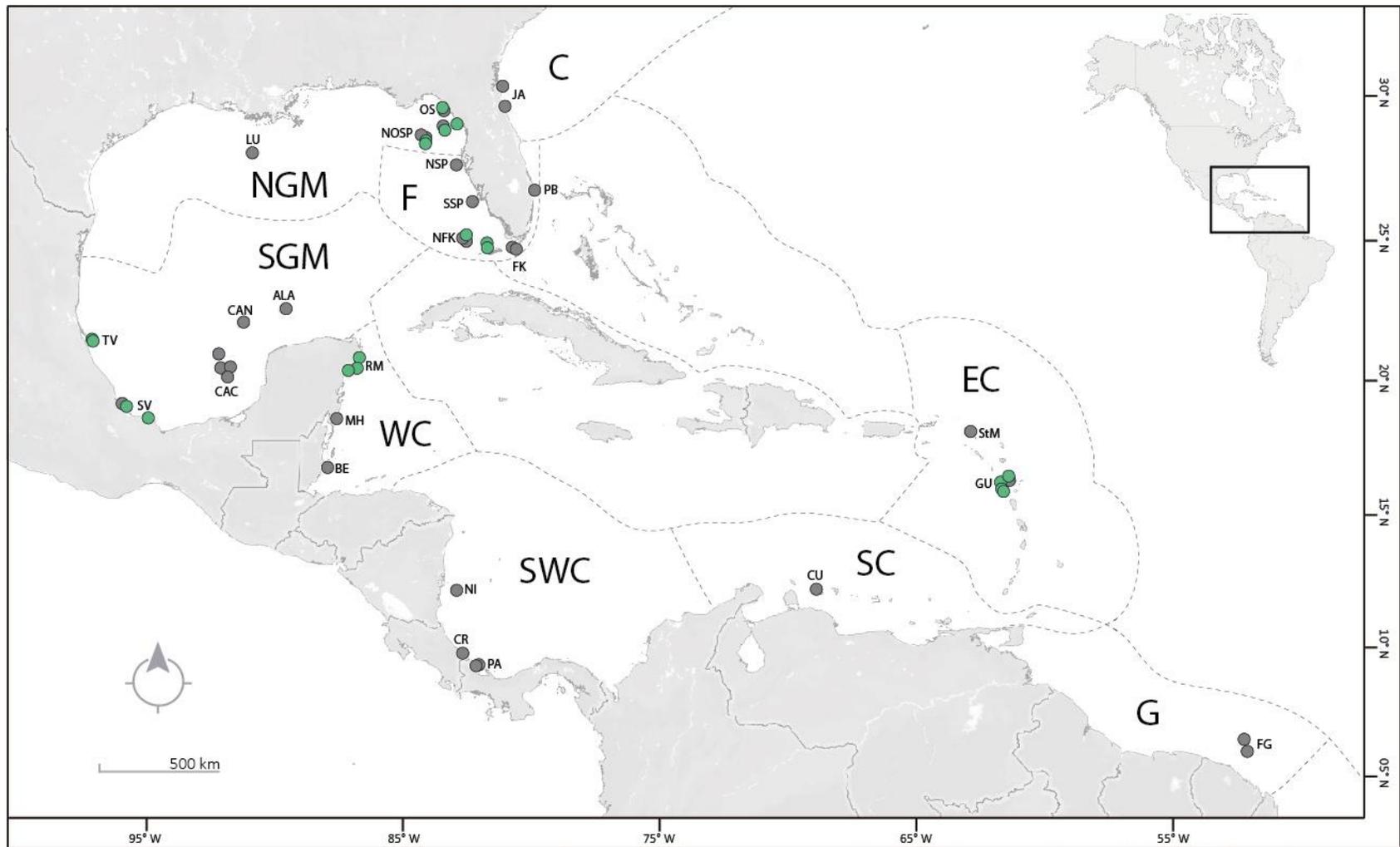


Figura 3.1. ● Localidades procesadas con MEB y datos moleculares. ● Localidades que cuentan únicamente con datos moleculares. Biorregiones marinas muestreadas: C: Carolina; F: Florida; NGM: Norte del Golfo de México; SGM: Sur del Golfo de México; WC: Caribe occidental; SWC: Caribe suroccidental; SC: Caribe sur; EC: Caribe oriental; G: Guyana (Spalding *et al.*, 2007). Detalles de localidades en Apéndice 2.

Obtención de imágenes

Para asegurar la independencia de la variabilidad del tamaño, se tomaron imágenes de DAP y VAP a través de microscopía electrónica de barrido (MEB) se seleccionaron 12 organismos por clado que oscilaron entre 2.5 y 5.5 mm, considerados una longitud intermedia del diámetro del disco (DD). En la sección “Medición de error y Prueba de alometría” se explica el análisis realizado para asegurar que el resultado obtenido no se deba a las diferencias del tamaño de las placas. Todos los especímenes seleccionados provienen de la transición entre juveniles y adultos ya que tienen una morfología adulta bien desarrollada, aunque fisiológicamente aún puedan ser sexualmente inmaduros (Morgan & Jangoux, 2004; Stöhr, 2005). Debido a que en ofiuros las placas proximales del brazo han mostrado el mayor grado de diferenciación morfológica, pudiendo reflejar hasta diferencias entre especies (Thuy & Stöhr, 2011), se eliminó el tegumento de los segmentos de brazo 4^{to} al 8^{vo}, contados a partir del primer segmento de brazo que contenía una vértebra y placas laterales regulares (Stöhr, 2005), sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.3% (lejía casera al 5-8%) por periodos entre 2-8 horas. Una vez que las placas se encontraron desconectadas entre sí del tejido conectivo, se separaron, se enjuagaron 3 veces con agua destilada, 3 veces con etanol al 96° y posteriormente se dejaron secar al aire libre protegiéndolas del polvo. Las microestructuras limpias y secas se montaron de forma ordenada en un porta muestra de aluminio, adheridas a cinta de carbón. Posteriormente, las muestras se bañaron en oro y escanearon utilizando un MEB SEM Hitachi-SU1510 en las instalaciones de LANABIO del Instituto de Biología, UNAM. Con el brazo desarticulado se escanearon 6 placas diferentes: 1) Placa dorsal del brazo (DAP), 2) Placa ventral del brazo (VAP), 3) Placa lateral del brazo, 4) Vértebra, vista distal, 5) Espina más larga, y 6) Espina más ventral, modificada en forma de gancho “hook” (Figuras 3.2–3.5). Sin embargo, después de intentar analizar con MG las 6 placas obtenidas, se concluyó que únicamente DAP y VAP eran apropiadas para realizar los análisis. Debido a su enorme variabilidad y a las diferencias en ángulo en que fueron colocadas y fotografiadas, las placas laterales, vertebra y espinas, fueron descartadas para los análisis de MG.

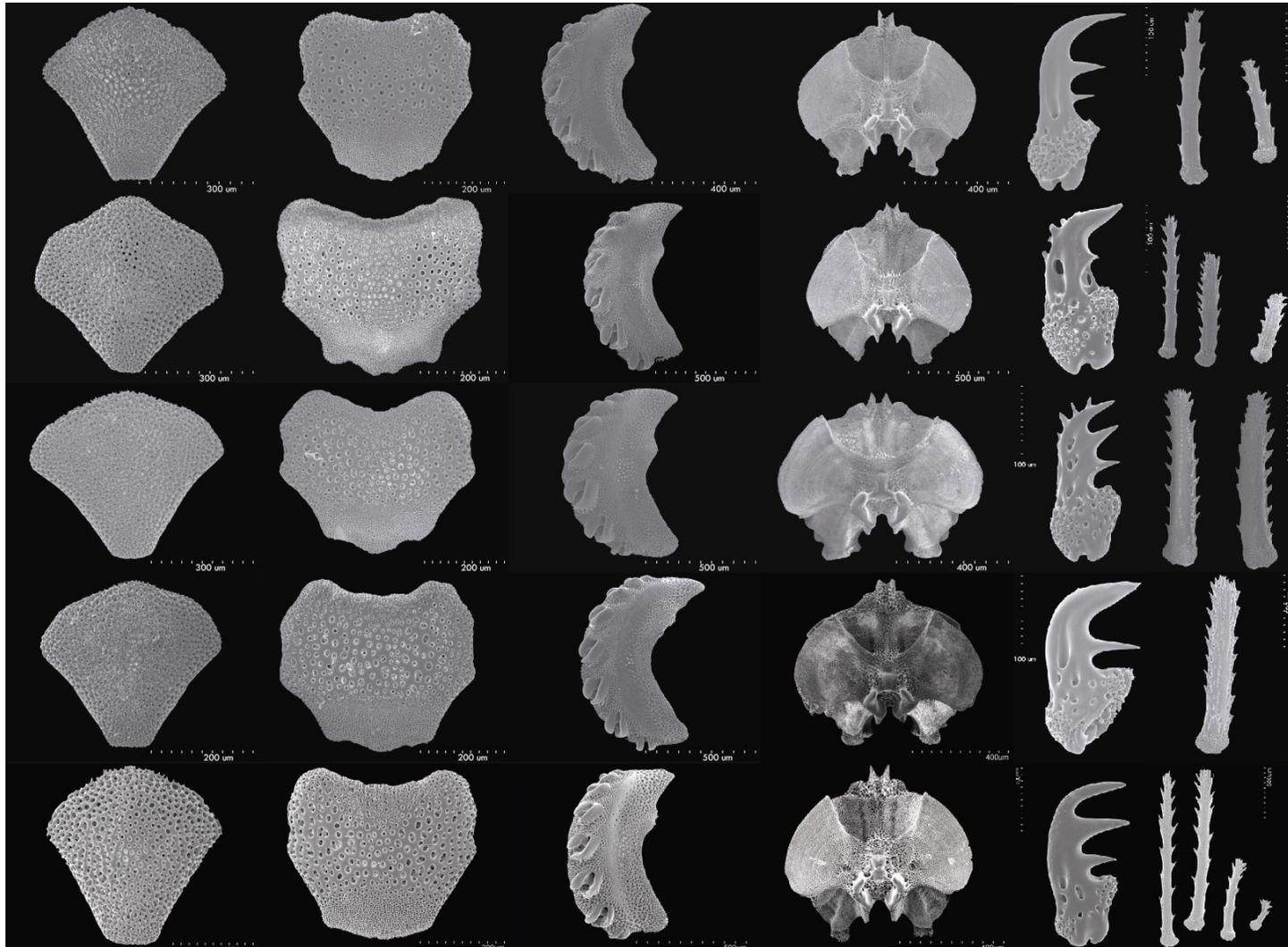


Figura 3.2. Subclado 1A. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB. De izquierda a derecha: placa dorsal, placa ventral, placa lateral, vista distal de vértebra, hook y espina más larga.

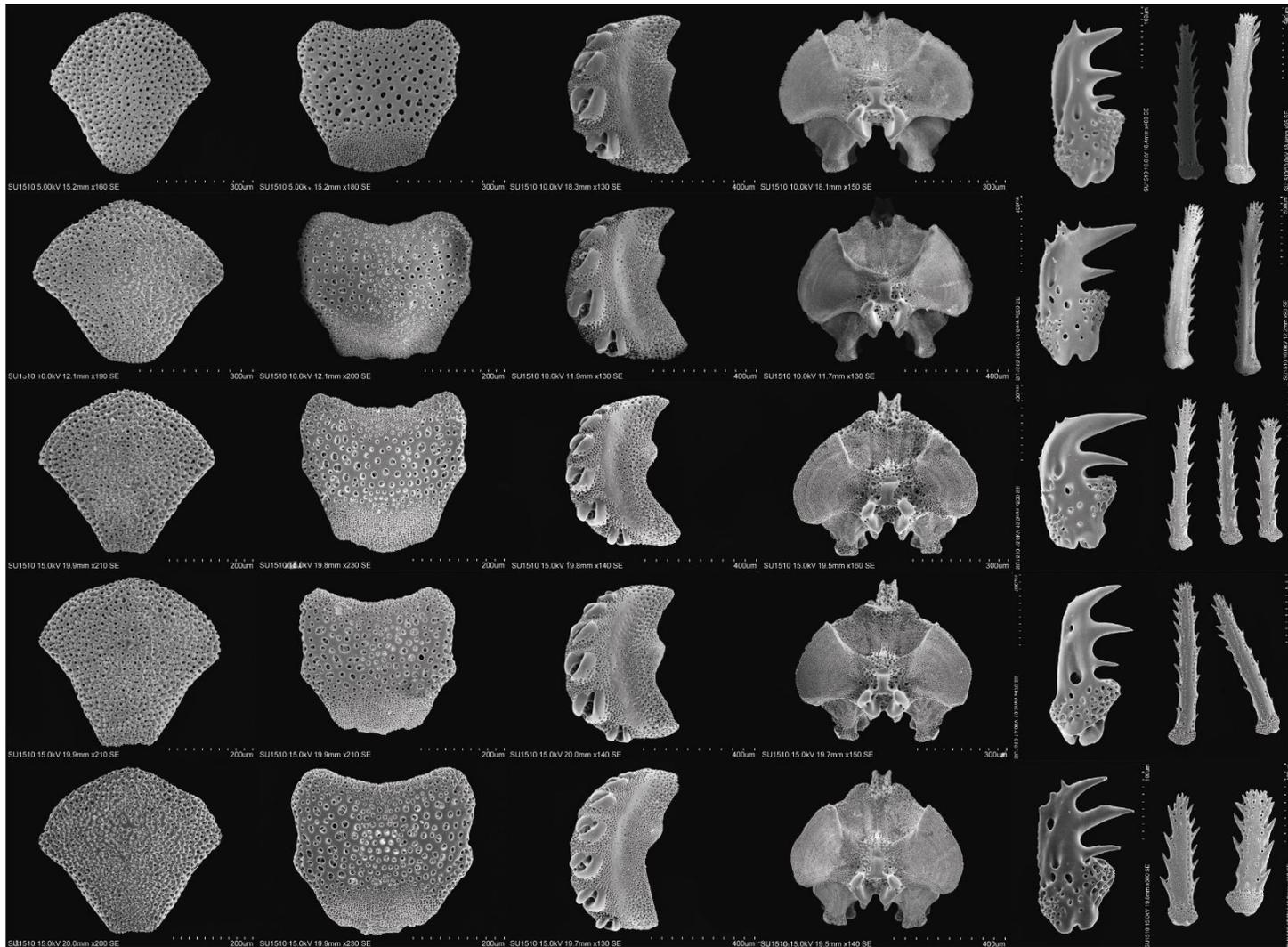


Figura 3.3. Subclado 1A'. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB. De izquierda a derecha: placa dorsal, placa ventral, placa lateral, vista distal de vértebra, hook y espina más larga.

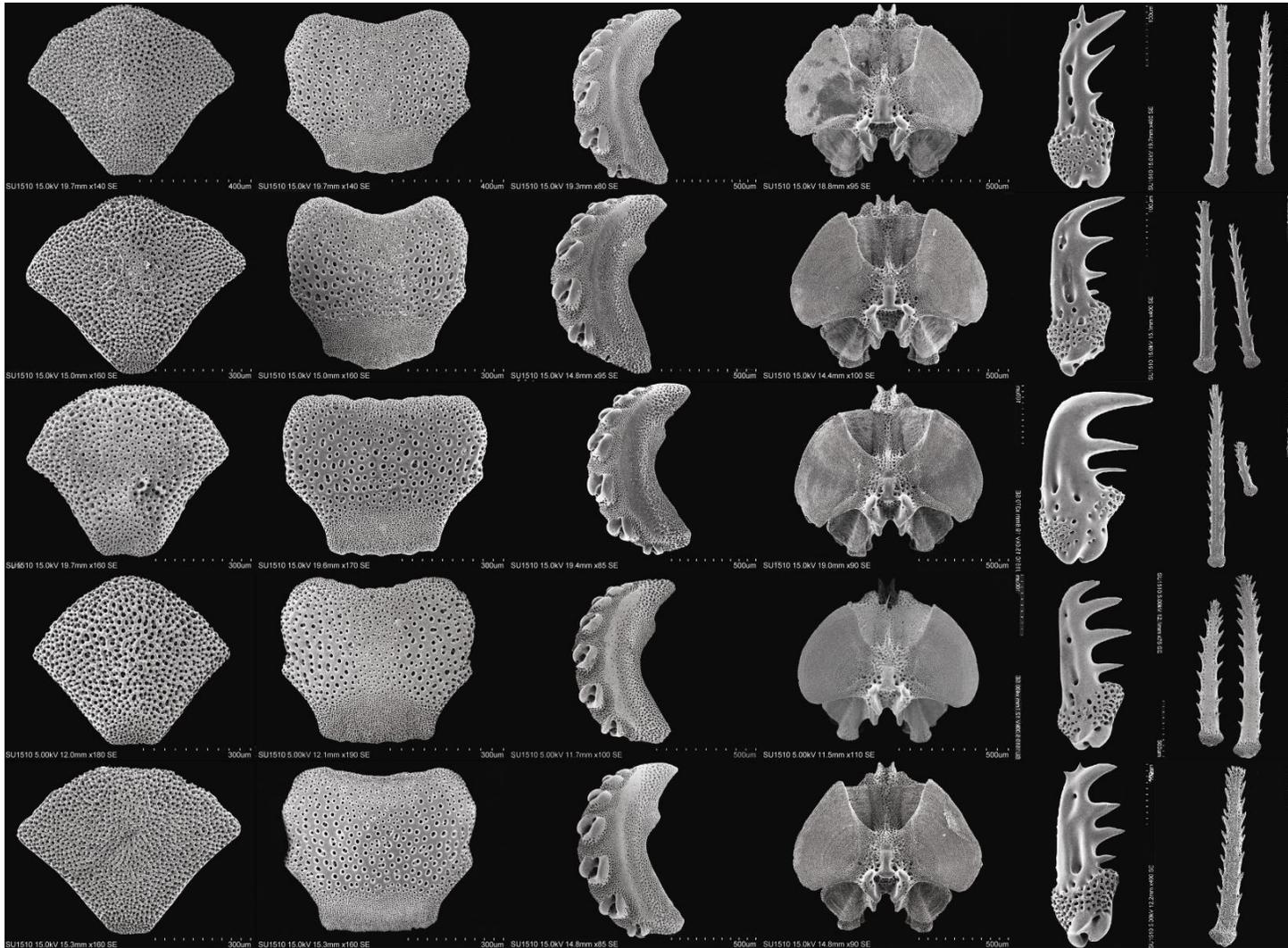


Figura 3.4. Subclado 2A. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB. De izquierda a derecha: placa dorsal, placa ventral, placa lateral, vista distal de vértebra, hook y espina más larga.

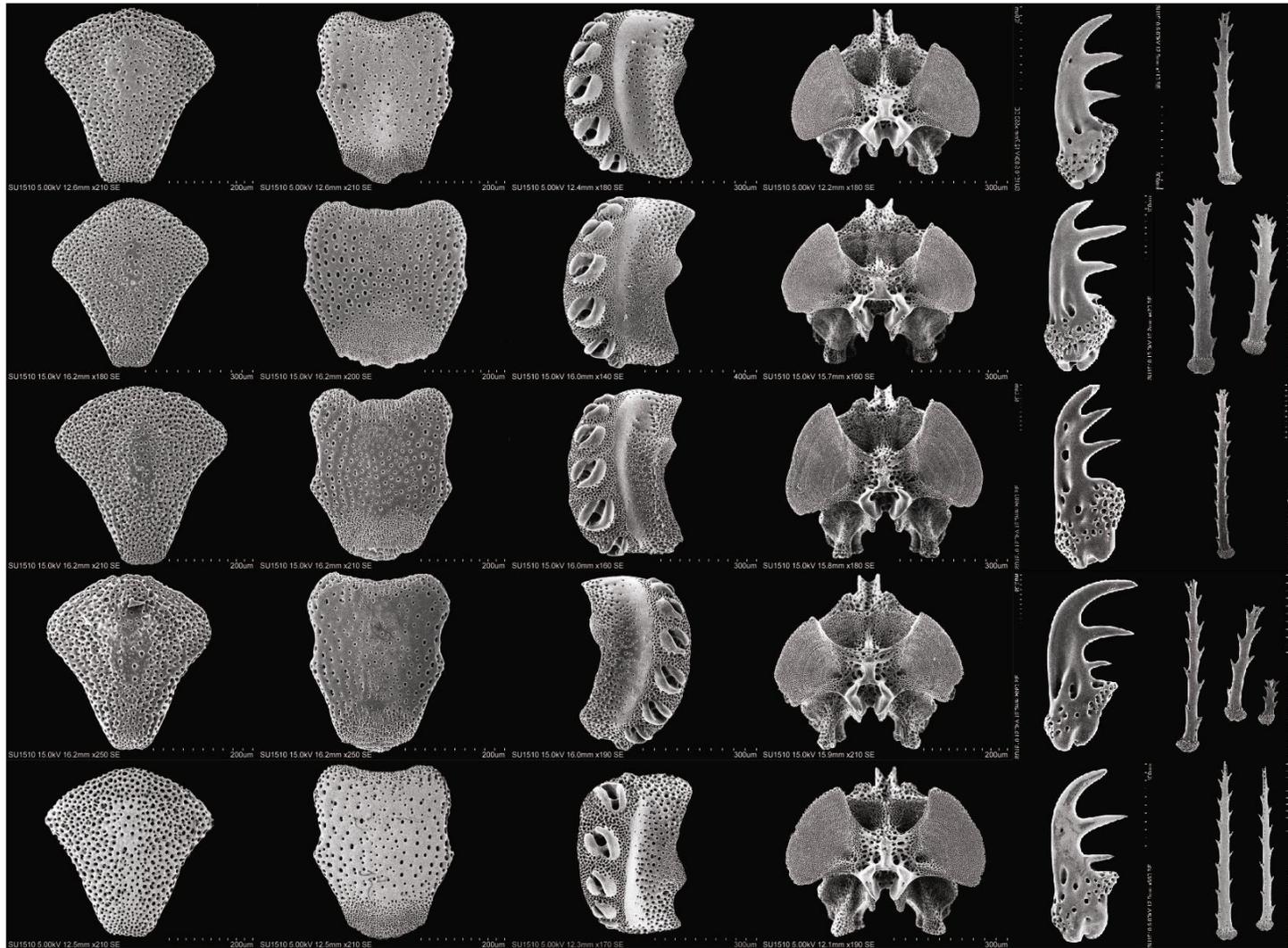


Figura 3.5. Subclado 3. Muestras de las 6 microestructuras calcáreas del brazo escaneadas con MEB. De izquierda a derecha: placa dorsal, placa ventral, placa lateral, vista distal de vértebra, hook y espina más larga.

Selección de *landmarks* y *semilandmarks*

Las imágenes de las microestructuras se evaluaron con intención de determinar su nivel de utilidad para los análisis de morfometría geométrica en 2D. Únicamente DAP y VAP fueron consideradas en los posteriores análisis con MG. Para organizar los datos para el análisis, se generaron archivos TPS usando tpsUtil v.1.58, se utilizaron 44 imágenes en formato .tiff para DAP y 43 imágenes en formato .tiff para VAP. La forma de DAP se digitalizó utilizando tpsDig2 v.2.17 (Rohlf, 2013), mediante 5 curvas a lo largo del margen externo que conectan 5 *landmarks* homólogos tipo II en los puntos de mayor curvatura, a lo largo del margen externo de cada placa (Figura 3.6A). A lo largo de estas curvas se colocaron un total de 68 *semilandmarks* uniformemente distribuidos con las herramientas “Draw background curves” y “resample curve” de tpsDig2. Se siguió el mismo procedimiento para VAP, pero utilizando 4 *landmarks* homólogos tipo II y 4 curvas, para un total de 66 *semilandmarks* uniformemente espaciados (Figura 3.6B).

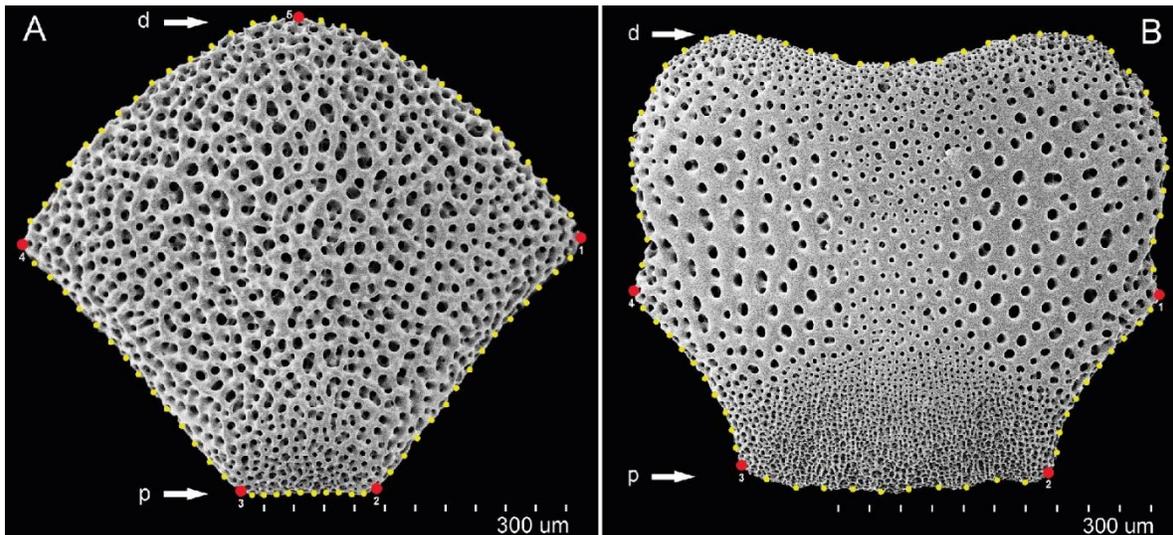


Figura 3.6. Landmarks tipo II (rojo) y semilandmarks (amarillo) usados en los análisis de morfometría geométrica para investigar la variación en las placas de los brazos del complejo de especies de *O. angulata*. Los números indican la posición en la que fueron digitalizados los *landmarks*. (A) Placa dorsal del brazo (DAP). (B) Placa ventral del brazo (VAP). p: Borde proximal. d: Borde distal.

Análisis de Morfometría Geométrica

La variación de la forma de DAP y VAP se examinó mediante análisis de morfometría geométrica, realizados con la librería *geomorph* v.3.2.1 (Adams & Otárola-Castillo, 2013) disponible en R Project. Los conjuntos de datos de las coordenadas de DAP y VAP se analizaron por separado. Los análisis compararon 4 grupos de datos delineados por los datos de secuencia COI (Apéndice 3): Clados 1A, 1A', 2A y 3 (Figura 2.2, Capítulo 2). Se compararon dos sub-grupos del Clado 1A, debido a que se contaba con el número suficiente de muestras y por la posibilidad de realizar una comparación control. Se realizaron análisis de Procrustes generalizados en estos conjuntos de datos para superponer las coordenadas de la muestra minimizando las diferencias entre la configuración de los puntos de referencia y para extraer datos de forma relevantes para comparar. Durante la superposición de Procrustes, todos los conjuntos de datos de los puntos de referencia seleccionados se traducen, escalan y rotan (Rohlf & Slice, 1990). Los *semilandmarks* digitalizados para cada placa de brazo se optimizaron para reducir la energía de flexión utilizando la función `ProcD = FALSE` en *geomorph*, lo que proporciona el mejor ajuste durante la optimización. La variación de la forma se analizó a través del Análisis de Componentes Principales (PCA, *principal component analysis*) utilizando la matriz de covarianza del individuo basándose en los *landmarks* alineados con Procrustes y utilizando la función "plotTargetSpace" en *geomorph*. Para cada análisis se generaron gráficos de dispersión de los dos componentes principales que acumulan la máxima variación de los datos (PC1 vs PC2). Para ilustrar la modificación general de la forma a lo largo de cada eje del PCA, se calcularon las gradillas de deformación "thin-plate spline" tanto positivas como negativas a partir de la variación de la forma media a lo largo de cada eje PC con el paquete *shapes* v.1.2.5 (Dryden, 2018) disponible en R Project, lo que representa la modificación general de la forma. Para mejorar la visualización de la dispersión de los datos, se construyeron dos gráficos de dispersión en 3D basados en los 3 primeros componentes principales utilizando el paquete *car* v.3.0-6 (Fox *et al.*, 2018; Masonick & Weirauch, 2019) disponible en R project. Para todos los análisis, se realizó un análisis de varianza Procrustes (ANOVA) utilizando la función

"procD.lm" en *geomorph*. Las distancias Procrustes resultantes se compararon por pares para evaluar la significancia de las diferencias en la forma media de la placa del brazo entre los grupos. La significancia de la variación observada se evaluó mediante una prueba de permutación de los residuos del modelo aleatorizado aplicando 999 iteraciones con un valor α de 0.05.

Medición de error y Prueba de alometría

Para evaluar el efecto del error de medición sobre la diferencia morfométrica observada, la misma observadora digitalizó dos veces los *landmarks* tipo II seleccionados (DAP y VAP) en cada imagen y en días diferentes (Viscosi & Cardini, 2011). El error de medición (%EM) se calculó como el porcentaje de las diferencias entre la primera y la segunda medida, comparando la variación entre mediciones basado en una fórmula desarrollada por Bailey & Byrnes (1990) y Yezerinac *et al.* (1992). Se utilizó un ANOVA de distancias Procrustes sobre los residuales para comparar los componentes de la variación de la forma dentro y entre individuos. La alometría se evaluó mediante la regresión de las coordenadas de la forma Procrustes en el tamaño del centroide en una escala log₁₀. La interacción entre el tamaño del centroide y el factor "clado" (DAP o VAP agrupadas por clado) se estimó con un ANOVA Procrustes en *geomorph* v.3.2.1 (Klingenberg, 2016).

Análisis de patrón de coloración del brazo dorsal

Sitios de muestreo y colecciones científicas

Debido a que el material biológico analizado durante la presente investigación fue obtenido de material depositado en colecciones científicas, para el análisis del patrón de coloración se utilizaron todos los ejemplares que contaron con fotografías *in vivo* en los repositorios digitales de las colecciones científicas que capturan este tipo de registro. Las fotografías fueron tomadas a ejemplares antes del proceso de fijación en etanol, cuando se encontraban anestesiados en charolas. Debido a lo anterior, con los resultados de la secuenciación del gen COI de 146 especímenes (Capítulo 2), pudieron obtenerse fotografías de 46 individuos. Las imágenes se

usaron para examinar los patrones de coloración dorsal de los brazos y se obtuvieron de las colecciones fotográficas digitales de la Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida y de la Colección Regional de Equinodermos de la Península de Yucatán, UMDI-Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM (Apéndice 2). Las fotografías corresponden a ejemplares provenientes de 12 localidades diferentes, distribuidas a lo largo de 6 ecorregiones biogeográficas: Carolina, Floridana, Norte del Golfo de México, Sur del Golfo de México, Caribe suroccidental y Guyana (Figura 3.7). El conteo de especímenes por clado fue el siguiente: Clado 1 = 31 individuos; Clado 2 = 7 individuos; Clado 3 = 8 individuos (Apéndice 2).

Análisis de Parsimonia

Para realizar el análisis se seleccionaron 25 caracteres de coloración a partir de la vista dorsal del brazo (Figuras 3.8 - 3.10), que reúnen un total de 61 estados de carácter (Apéndice 5). Todos los caracteres fueron tratados como discretos y desordenados. Los caracteres de coloración del disco en su vista dorsal no fueron seleccionados debido a que mostraron una enorme cantidad de variación individual. La especie de ofiuero *Ophiactis savignyi* fue usada como grupo externo (Figura 3.11).

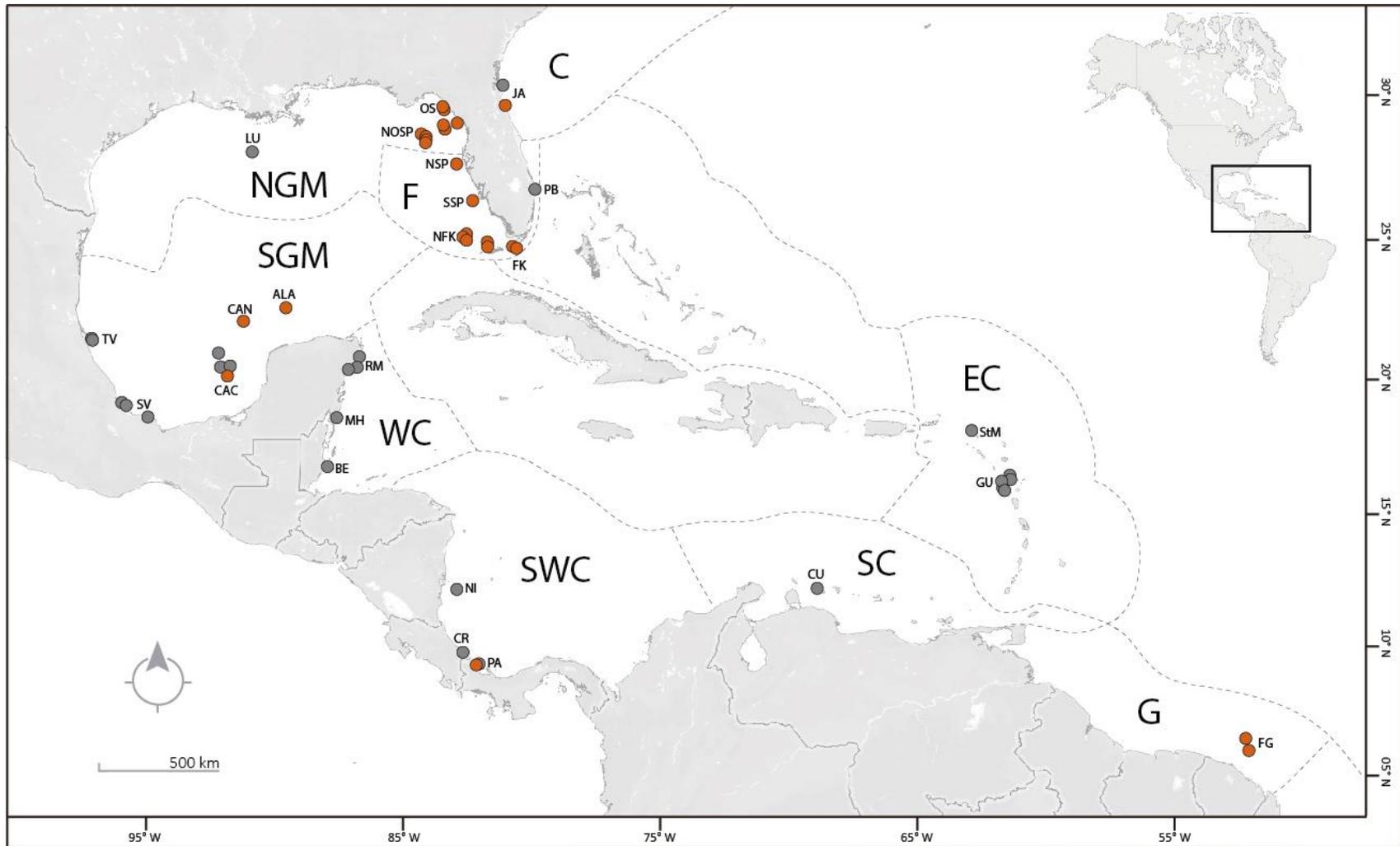


Figura 3.7. ● Localidades que cuentan con organismos fotografiados *in vivo* y con secuencias del gen COI moleculares. ● Localidades que cuentan únicamente con datos moleculares. Biorregiones marinas muestreadas: C: Carolina; F: Florida; NGM: Norte del Golfo de México; SGM: Sur del Golfo de México; WC: Caribe occidental; SWC: Caribe suroccidental; SC: Caribe sur; EC: Caribe oriental; G: Guyana (Spalding *et al.*, 2007). Detalles de localidades en Apéndice 2.

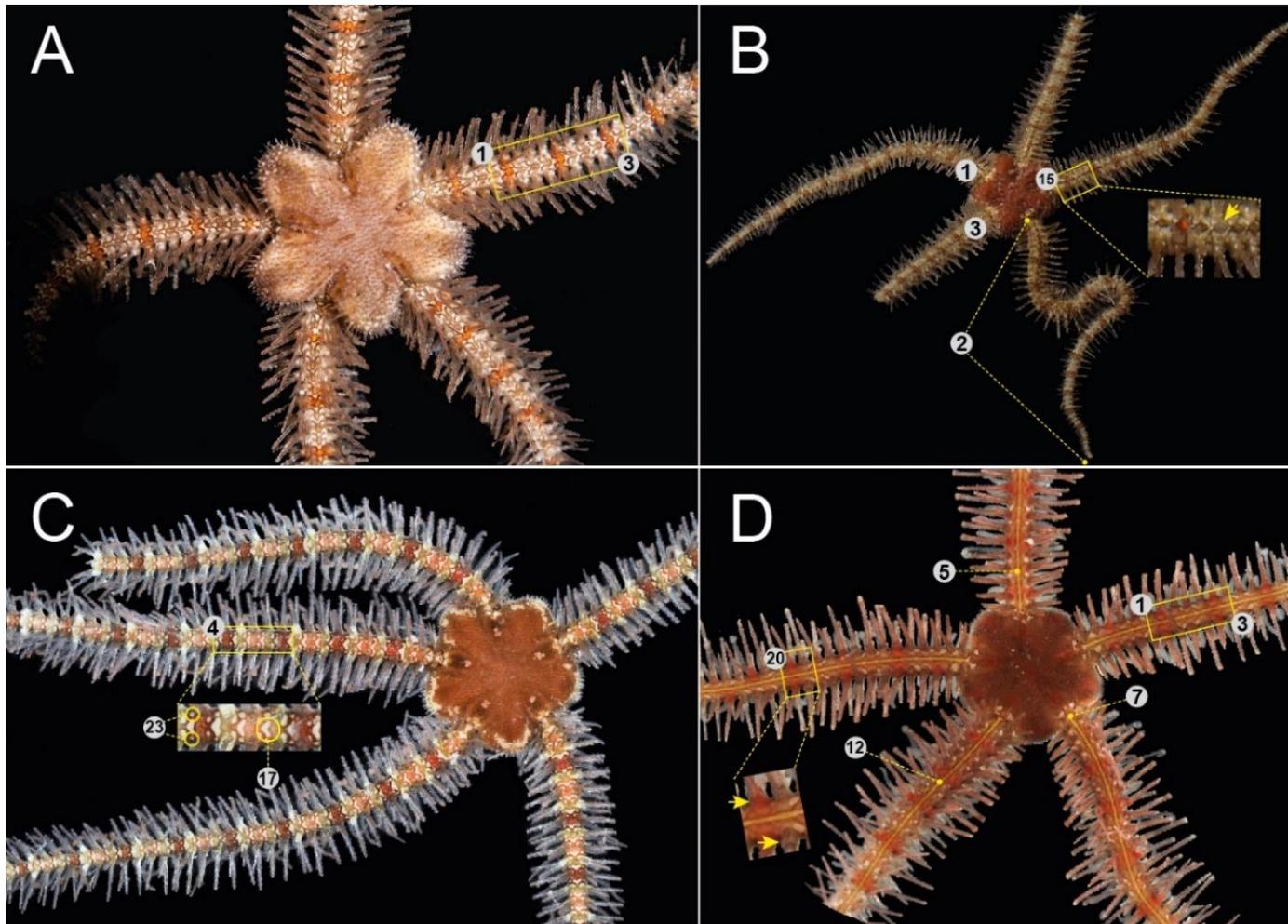


Figura 3.8. *In vivo*, se utilizaron 25 caracteres en el análisis de parsimonia de los patrones dorsal de color del brazo. Los caracteres son: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 12, 15, 17, 20 y 23 (Apéndice 5). Los caracteres del grupo externo están disponibles en la Figura 3.11. (A) UF7631. (B) UF13163. (C) UF10250. (D) UF10825. Crédito de la foto: Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida.

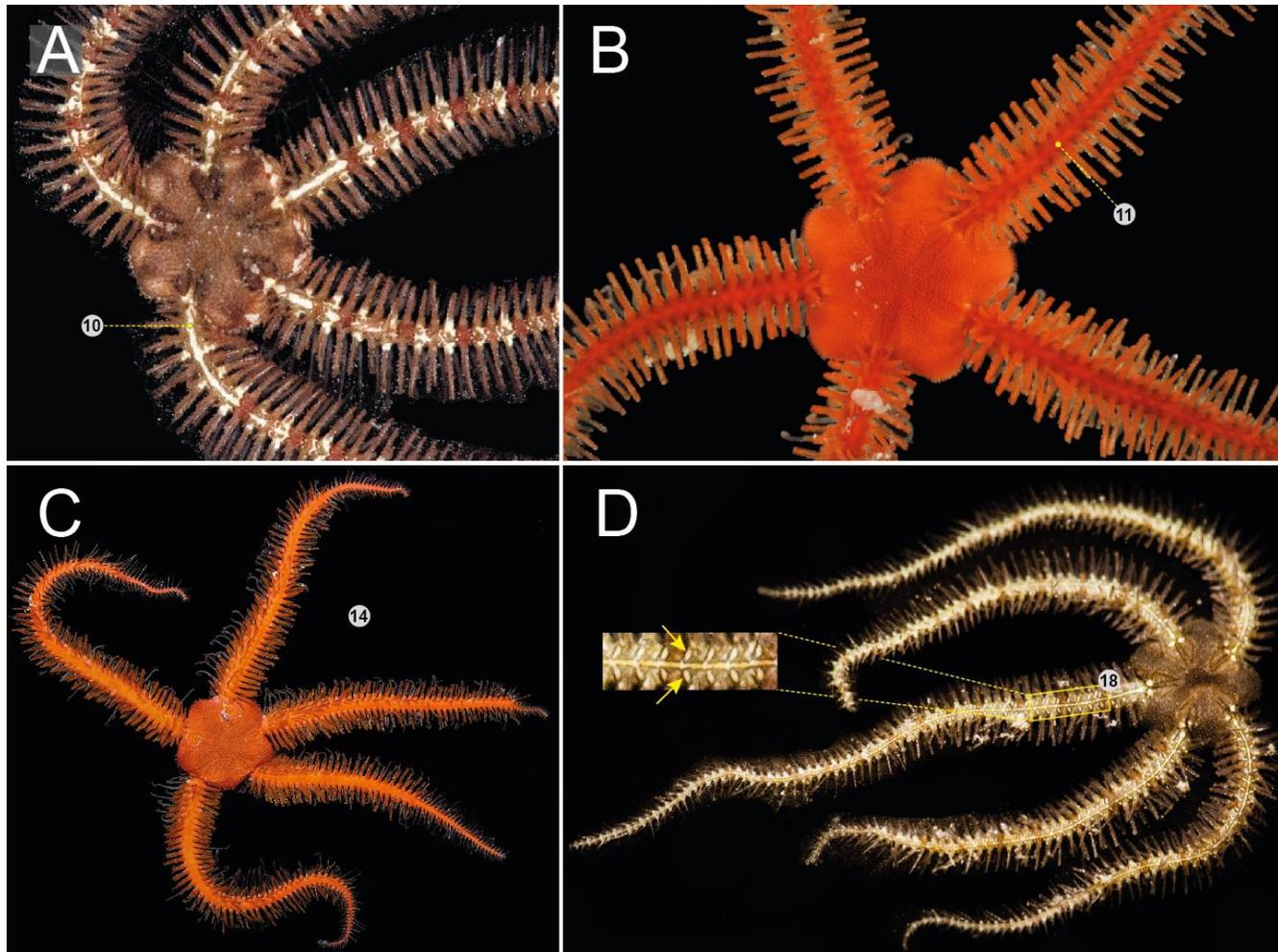


Figura 3.9. *In vivo*, se utilizaron 25 caracteres en el análisis de parsimonia de los patrones dorsales de color del brazo. Los caracteres son: 10, 11, 14 y 18 (Apéndice 5). Los caracteres del grupo externo están disponibles en la Figura 3.11. (A) COREP Y25a. (B) UF10823. (C) UF9013. (D) COREPY207. Crédito de la foto: Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida.

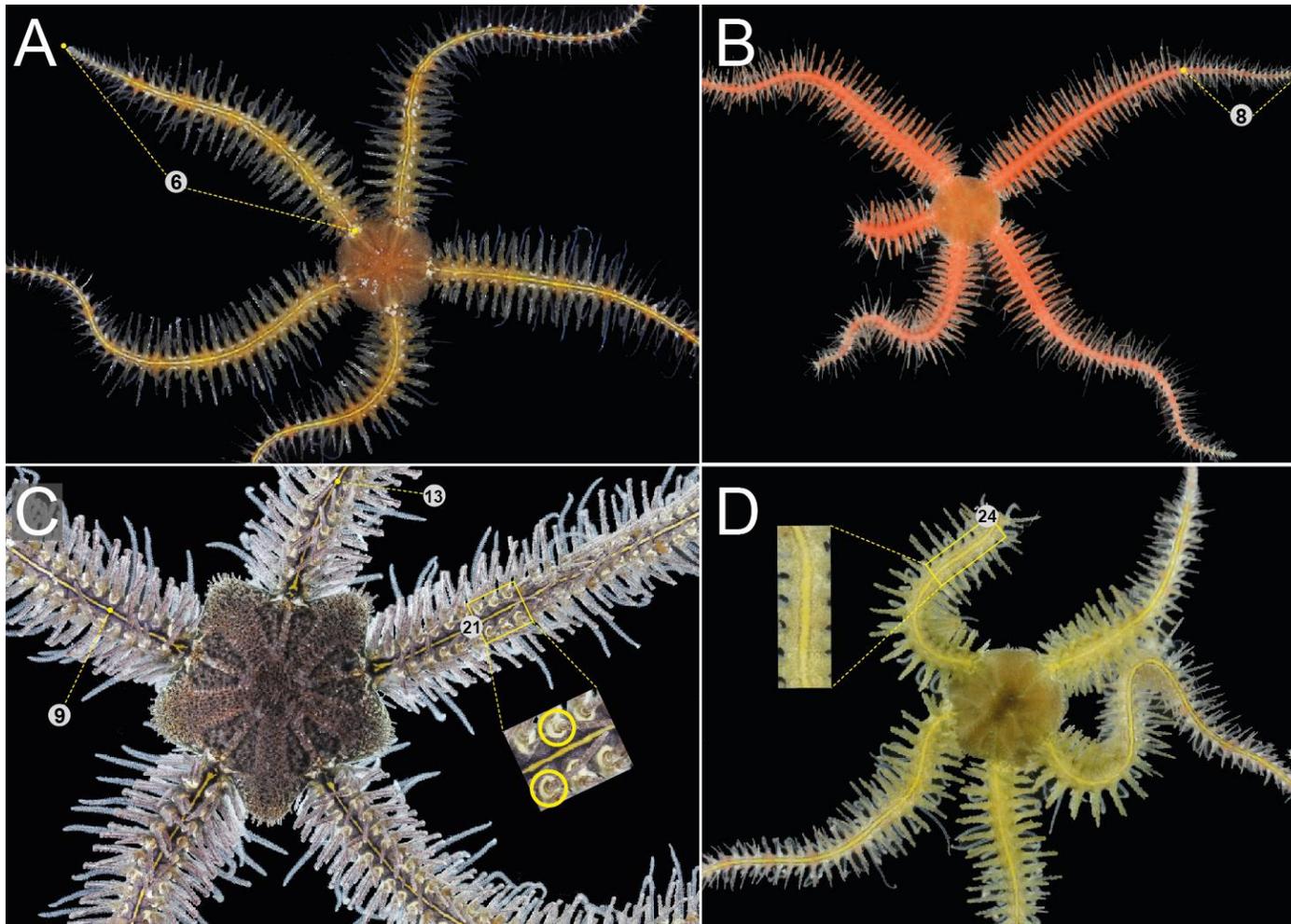


Figura 3.10. *In vivo*, se utilizaron 25 caracteres en el análisis de parsimonia de los patrones dorsales de color del brazo. Los caracteres son: 6, 8, 9, 13, 21 y 24 (Apéndice 5). Los caracteres del grupo externo están disponibles en la Figura 3.11. (A) UF11605. (B) UF11953. (C) UF10248. (D) UF13948. Crédito de la foto: Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida.



Figura 3.11. *In vivo*, se utilizaron 25 caracteres en el análisis de parsimonia de los patrones dorsales de color del brazo. *Ophiactis savignyi* ICML-UNAM 18084 usado como grupo externo en el cladograma de máxima parsimonia. Los caracteres son: 16, 19, 22 y 25 (Apéndice 5). Crédito de la foto: Hernández-Díaz, YQ.

La matriz de caracteres se editó en Mesquite v.3.51 (Maddison & Maddison, 2018), donde los datos inaplicables se registraron con un “-” (Apéndice 6). Se realizó un análisis de parsimonia utilizando TNT v.1.5 (Goloboff & Catalano, 2016). Se buscaron árboles óptimos utilizando secuencias de adición aleatoria de Wagner trees, seguidas del algoritmo TBR, utilizando 500 réplicas y guardando 10 árboles por réplica. Los árboles resultantes se utilizaron como puntos de partida para una ronda de TBR branch swapping. Los valores de soporte de Bootstrap para el árbol de consenso estricto se determinaron a través de 1,000 iteraciones, utilizándose las configuraciones predeterminadas. La visualización, interpretación y etiquetado del cladograma resultante se realizaron en FigTree (Rambaut, 2018), TNT (Goloboff & Catalano, 2016) e Illustrator CC v.2017-22.0.1, respectivamente.

Resultados

Morfometría geométrica

El ANOVA Procrustes mostró diferencias significativas de la forma entre clados tanto para DAP como para VAP ($p < 0.05$). En los PCA, los sub-clados 1A y 2A se agruparon, mientras que en el morfo-espacio el Clado 3 se separó y fue significativamente diferente en las comparaciones pareadas entre clados para ambas placas del brazo (Tabla 3.1). Las delimitaciones basadas en las formas significativamente diferentes de DAP y VAP probadas en el análisis de morfometría geométrica se muestran en la Figura 3.12. los resultados del análisis de DAP y VAP muestran una correlación con la evidencia molecular que respalda la relación entre los 3 clados.

Tabla 3.1. Valores de p asociados con las comparaciones pareadas de las distancias Procrustes entre las formas medias de la placa dorsal (arriba) y ventral del brazo (abajo) de los sub-clados 1A, 1A', 2A y Clado 3. Niveles de significancia: * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$.

Placa Dorsal del Brazo	Clado 1A	Clado 1A'	Clado 2A	Clado 3
Clado 1A				
Clado 1A'	0.894			
Clado 2A	0.745	0.507		
Clado 3	*	*	**	

Placa Ventral del Brazo	Clado 1A	Clado 1A'	Clado 2A	Clado 3
Clado 1A				
Clado 1A'	0.563			
Clado 2A	0.349	0.309		
Clado 3	**	**	**	

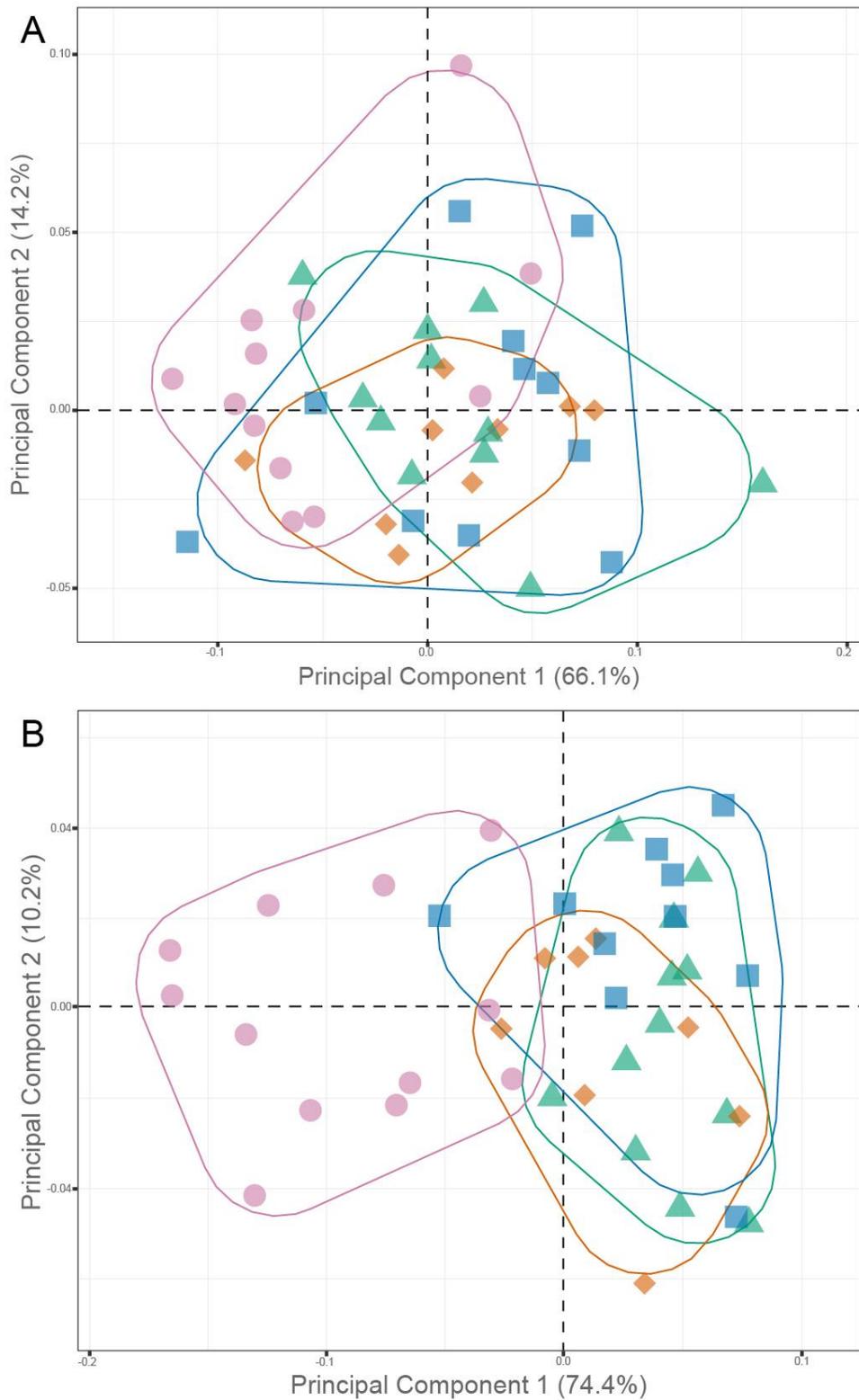


Figura 3.12. Gráficas de dispersión que muestran la variación de la forma a lo largo de los ejes de los dos componentes principales que acumulan la máxima varianza de los datos (PC1 vs PC2; Apéndice 4). (A) Placa Dorsal del brazo. (B) Placa ventral del brazo. Clado 1A (verde), Clado 1A' (anaranjado), 2A (azul) y Clado 3 (rosa).

Las gradillas de deformación “thin-plate spline” (TPS) correspondientes para el PC1 en el análisis DAP ilustran los extremos de variación con la extensión/acortamiento de los bordes proximales y laterales, mientras que el PC2 muestra la extensión/acortamiento del borde distal (Figura 3.13). Las gradillas de deformación TPS en VAP indican que una parte considerable de la varianza en PC1 se atribuye a la extensión/acortamiento de los bordes proximal, distal y lateral. En contraste, PC2 muestra la extensión/acortamiento de los bordes proximal y distal (Figura 3.14).

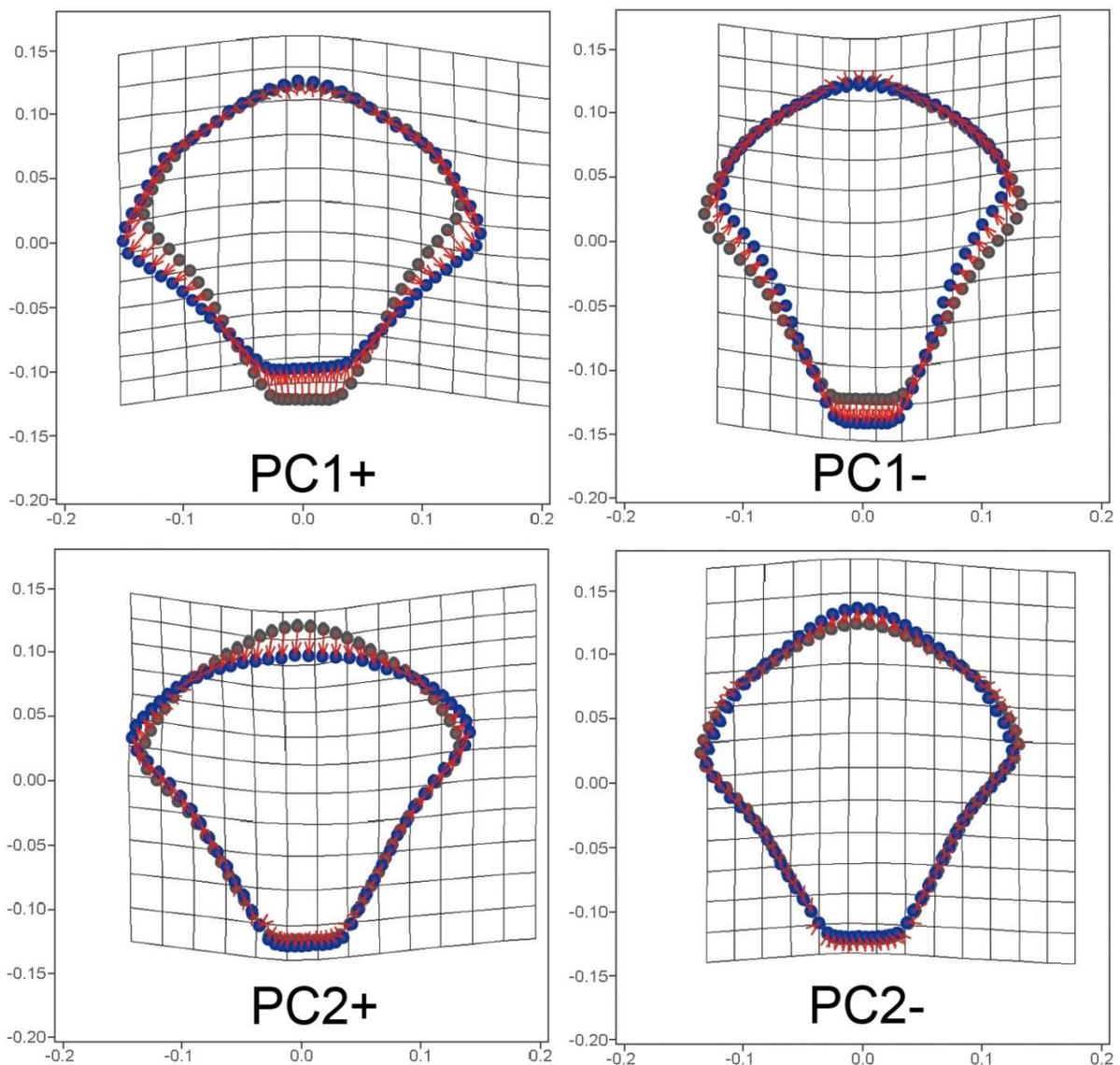


Figura 3.13. Placa Dorsal del Brazo. Gradillas de deformación “thin-plate spline” que muestran la forma de la placa en sus extremos positivos y negativos; la forma media de DAP es de color gris.

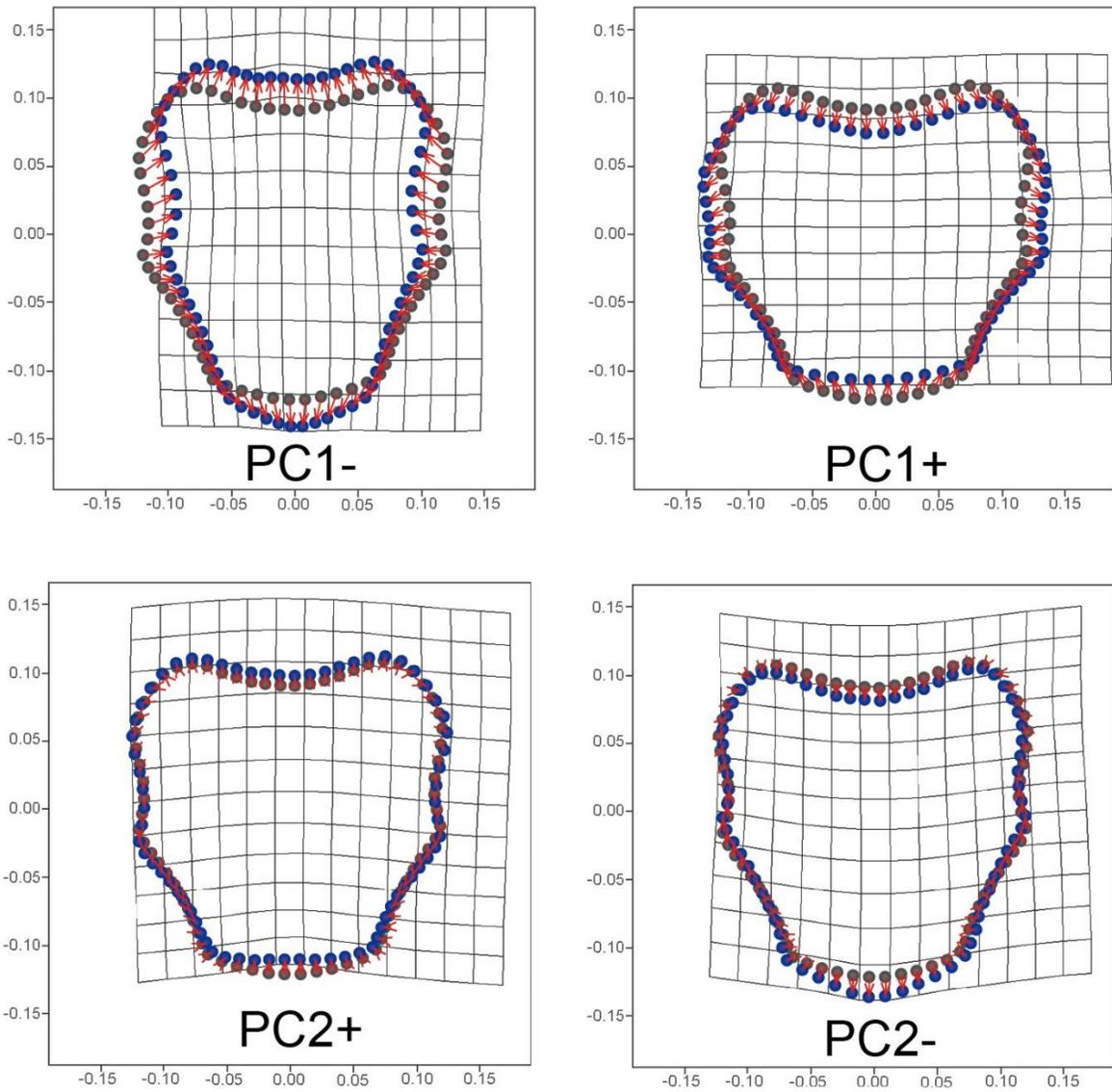


Figura 3.14. Placa Ventral del Brazo. Gradillas de deformación “*thin-plate spline*” que muestran la forma de la placa en sus extremos positivos y negativos; la forma media de VAP es de color gris.

Para ilustrar aún más cómo se agrupan los clados en el morfo-espacio, se proporcionan gráficas de dispersión tridimensional de los 3 componentes principales para los análisis de DAP y VAP (Figura 3.15 A-B).

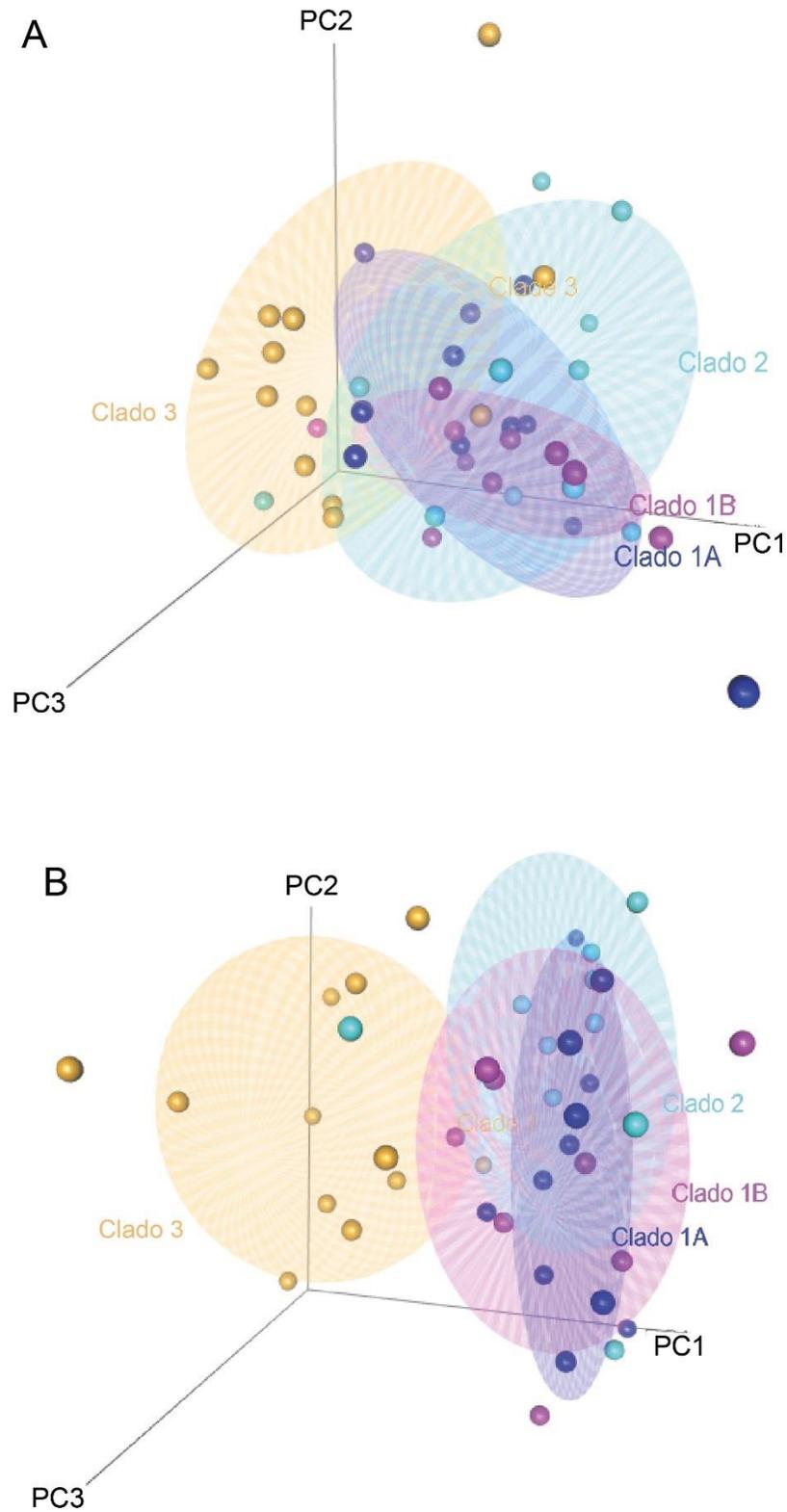


Figura 3.15. Gráfica de dispersión tridimensional de los primeros 3 componentes principales de las placas del brazo. (A) Placa Dorsal del Brazo y (B) Placa Ventral del Brazo.

En la Figura 3.16 se muestra el porcentaje de varianza explicado para los primeros ejes del componente principal de DAP y VAP. La Regresión Multivariante mostró que el 16.7% de la variación para DAP y el 9.0% para VAP se debió a la variación alométrica en la forma; esta variación en Procrustes ANOVA no mostró una interacción significativa para ninguna placa entre el tamaño del centroide y el factor "Clado" (valor $p > 0,05$). Los errores de medición fueron bajos, del 1.53% para DAP y 3.05% para VAP.

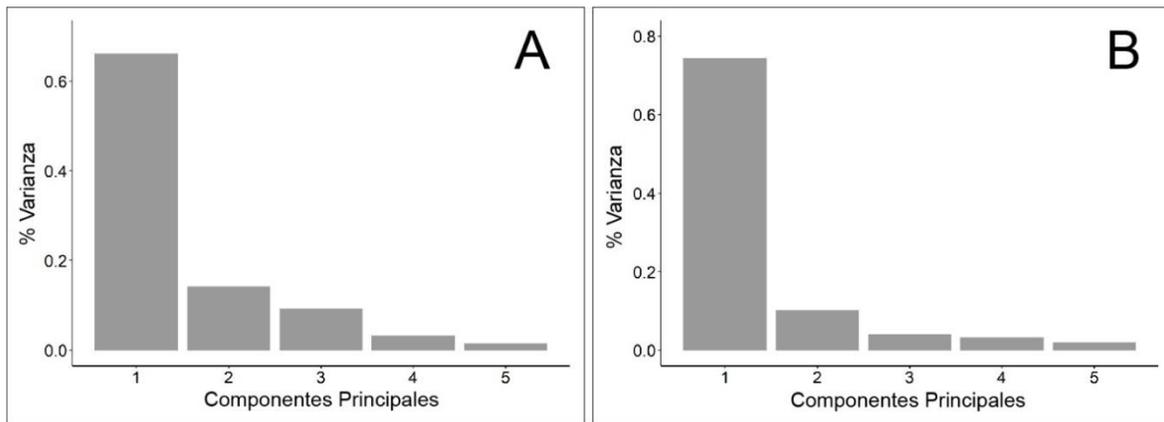


Figura 3.16. Gráficos de barras que muestran el porcentaje de varianza explicado por los ejes de los Componentes Principales. (A) Placa Dorsal del Brazo y (B) Placa Ventral del Brazo.

Análisis de patrones de coloración dorsal del brazo

De los 25 caracteres de color seleccionados, todos menos 4 caracteres (16, 19, 22 y 25) fueron parsimoniosamente informativos. La longitud del árbol consenso fue de 170 pasos, con un índice de consistencia de $CI=0.201$ y un índice de retención de $RI=0.479$ (Figura 3.17). No hubo un patrón de agrupamiento claro entre los especímenes asignados a los diferentes clados genéticos basado en sus características de coloración dorsal del brazo. Los especímenes de todos los clados se agruparon juntos.

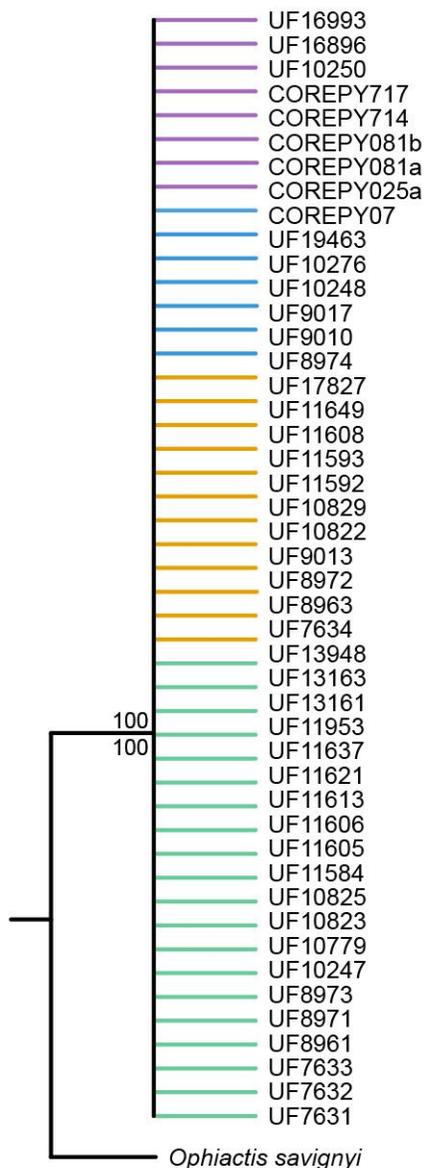


Figura 3.17. Cladograma de máxima parsimonia basado en la matriz de coloración morfológica, seguido de valores de bootstrap de 1,000 réplicas. Clado 1A (verde), Clado 1A' (anaranjado), 2A (azul) y Clado 3 (rosa). $IC=0.201$, $IR=0.479$. Longitud de 170 pasos.

Discusión

Forma de las Placas Dorsales y Ventrales del brazo

Los resultados del análisis de morfometría geométrica permitieron extraer información biológicamente significativa de los individuos analizados, como cambios en la morfología de las placas dorsal y ventral de los brazos (DAP y VAP). Las formas de DAP y VAP resultaron ser caracteres útiles para medir la variabilidad morfológica en relación con la divergencia genética al ayudar a separar el Clado 3 de los Clados 1 y 2. Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas en las comparaciones realizadas entre los grupos 1A y 1A' como se esperaba, pero tampoco entre los Clados 1 y 2. La morfometría geométrica se ha utilizado en estudios de equinodermos para investigar diferentes enfoques para comprender la biología y clasificación de diferentes órdenes y familias, incluyendo variaciones en la ontogenia, como cambios de tamaño y forma en las placas (Swisher, 2021). Sin embargo, este estudio incorporó el concepto de alometría, que considera el efecto del tamaño sobre la variación de la forma debido a la ontogenia y a otros factores ecológicos que influyen en la morfología (Benítez *et al.*, 2013a; Klingenberg, 2022), como la disponibilidad de sus recursos alimenticios, estrategias de alimentación utilizadas en hábitats específicos, heterogeneidad ambiental (características del hábitat o micro-hábitat que habitan), distribución batimétrica óptima, diversidad de interacciones ecológicas (depredación, competencia y cooperación), y cualquier otra característica del entorno físico que pueda generar presión selectiva sobre la forma de los organismos (Vamosi, 2003; Recknagel *et al.*, 2017). La alometría tuvo una influencia limitada, por lo tanto, la forma en que crecen los individuos en cuanto a volumen y talla no fue un carácter que influyera en la variación entre los clados analizados, tal como se ha documentado para otros invertebrados artrópodos (Benítez *et al.*, 2013a; Benítez *et al.*, 2013b; Lemic *et al.*, 2014).

Los hallazgos de este estudio difieren de lo reportado por Goharimanish *et al.* (2022), el único otro estudio que utiliza morfometría geométrica considerando alometría en ofiuros. Ellos incluyeron la relación alométrica entre la variación tridimensional de las vértebras y el tamaño a lo largo del brazo de diferentes

especies de ofiuros. Sin embargo, por un lado, se esperaba esta discrepancia, ya que el presente estudio controló la variación de tamaño analizando DAP y VAP provenientes de los mismos segmentos a lo largo del brazo; por otro lado, las diferencias entre un estudio 3D interespecífico y un análisis 2D intraespecífico de dos placas estructuralmente diferentes dificultan la comparación directa y justifican la necesidad de realizar estudios alométricos usando métodos comparables dentro del mismo grupo taxonómico.

Coloración dorsal de los brazos

El complejo de especies de *Ophiothrix angulata* muestra un alto polimorfismo en cuanto a los patrones de coloración (Figuras 3.9 - 3.11), y se ha sugerido que estas diferencias de color pueden ser potencialmente informativas taxonómicamente (Clark HL, 1918; Tommasi, 1970). Por lo tanto, se esperaba que los patrones de la coloración dorsal del brazo pudieran correlacionarse con los clados genéticos del complejo de especies de *O. angulata*. La ausencia de correlación entre los patrones de coloración y los clados genéticos en este estudio sugiere que la variación de color es una característica intraespecífica. Este hallazgo es consistente con estudios previos realizados sobre el complejo de especies de *Ophiothrix fragilis*, una especie ampliamente distribuida en el Océano Atlántico Nororiental, en los cuales se intentó correlacionar linajes genéticos (Baric & Sturmbauer, 1999; Muths *et al.*, 2009; Taboada & Pérez-Portela, 2016, para los linajes 1 y 2) con alguna de las 4 variantes de color identificadas por Koehler (1921), sin éxito.

Según Cuthill *et al.* (2017), la convergencia de fenotipos de color a menudo resulta de cambios independientes en mecanismos genéticos similares, lo que crea similitudes fenotípicas entre especies. Al parecer, existe un sesgo evolutivo hacia la reutilización de genes, posiblemente porque representa mutaciones con efectos pleiotrópicos más pequeños (fenómeno, en el que un solo gen o alelo, afecta a múltiples características fenotípicas diferentes). Esta convergencia también influye en procesos genéticos y de desarrollo que limitan o facilitan la diversificación

evolutiva, relacionada con diferencias en rasgos morfológicos, fisiológicos y de comportamiento. Cuando la selección favorece combinaciones específicas de rasgos, puede generar correlaciones genéticas que representen picos adaptativos alternativos. Por lo tanto, los mecanismos genéticos de la variación del color pueden ofrecer ideas sobre la evolución adaptativa de la estructura del genoma y cómo los rasgos de color señalan la calidad individual, como en el caso de los adornos sexuales, que representan un desafío asociado al portar una característica visualmente colorida, pero son valiosos por la posibilidad que brindan al organismo de dejar descendencia. Dados los resultados del análisis de coloración, se sugiere que estudios epigenéticos a escala genómica podrían ayudar a esclarecer y comprender si las interacciones gen-ambiente causan la señalización dependiente de la coloración de *Ophiothrix angulata*.

Conclusiones

Las formas de las placas dorsales y ventrales del brazo resultaron ser indicadores útiles para caracterizar la variabilidad morfológica en relación con la divergencia genética al ayudar a separar el Clado 3 de los clados 1 y 2. Por otro lado, no se logró encontrar correlación entre los patrones de coloración dorsal del brazo con los clados genéticos, sugiriendo que en *O. angulata* la variación de color es una característica intraespecífica.

Literatura citada

- Adams DC, Otárola-Castillo E. 2013. Geomorph: An R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods in Ecology and Evolution* 4:393–399. DOI: 10.1111/2041-210X.12035.
- Alitto RAS, Zacagnini Amaral AC, Dias de Oliveira L, Serrano H, Seger KR, Borges Guilherme PD, Di Domenico M, Christensen AB, Bolsoni Lourenço L, Tavares M, Borges M. 2019. Atlantic west *Ophiothrix* spp. In the scope of integrative taxonomy: Confirming the existence of *Ophiothrix trinidadensis* Tommasi, 1970. *PLoS ONE* 14:1–28. DOI: 10.1371/journal.pone.0210331.
- Arlyza IS, Shen KN, Solihin DD, Soedharma D, Berrebi P, Borsa P. 2013. Species boundaries in the *Himantura uarnak* species complex (Myliobatiformes: Dasyatidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66:429–435. DOI: 10.1016/j.ympev.2012.09.023.
- Bailey RC, Byrnes J. 1990. A new, old method for assessing measurement error in both univariate and multivariate morphometric studies. *Systematic Zoology* 39:124–130.
- Baric S, Sturmbauer C. 1999. Ecological parallelism and cryptic species in the genus *Ophiothrix* derived from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11:157–162.
- Benítez HA, Avaria-Llautureo J, Canales-Aguirre CB, Jerez V, Parra LE, Hernández CE. 2013a. Evolution of sexual size dimorphism and its relationship with sex ratio in carabid beetles of Genus *Ceroglossus* Solier. *Current Zoology* 59:769–777. DOI: 10.1093/czoolo/59.6.769.
- Benítez HA, Sanzana MJ, Jerez V, Parra LE, Hernández CE, Canales-Aguirre CB. 2013b. Sexual shape and size dimorphism in carabid beetles of the genus *Ceroglossus*: Is geometric body size similar between sexes due to sex ratio? *Zoological Science* 30:289–295. DOI: 10.2108/zsj.30.289.
- Clark HL. 1901. The Echinoderms of Porto Rico. *U. S. Fish Commission Bulletin for 1900* 2:231–263.
- Clark HL. 1918. Brittle-stars, new and old. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 62:265–338.
- Clark HL. 1933. *Scientific Survey of Porto Rico and the Virgin Islands*. New York: New York Academy of Sciences.
- Cuthill IC, Allen WL, Arbuckle K, Caspers B, Chaplin G, Hauber ME, Hill GE, Jablonski NG, Jiggins CD, Kelber A, Mappes J, Marshall J, Merrill R, Osorio D, Prum R, Roberts

- NW, Roulin A, Rowland HM, Sherratt TN, Skelhorn J, Speed MP, Stevens M, Stoddard MC, Stuart-Fox D, Talas L, Tibbetts E, Caro T. 2017. The biology of color. *Science* 357(6350):1-7. DOI: 10.1126/science.aan0221.
- Deline B. 2021. *Echinoderm morphological disparity: Methods, patterns, and possibilities*. Cambridge University Press. 39 pp.
 - De los Palos-Peña M, Solís-Marín FA, Laguarda-Figueras A, Durán-González A. 2021. Ontogenetic variation of the odontophore of *Luidia superba* (Asteroidea: Paxilloidea) and its taxonomic implications. *Revista de Biología Tropical* 69:89-100. DOI: 10.15517/rbt.v69iSuppl.1.46330.
 - Dryden IL. 2018. Shapes package. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Contributed package, version 1.2.4.
 - Endler JA. 1990. On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biological Journal of the Linnean Society* 41(4):315-352. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1990.tb00839.x.
 - Fox J, Weisberg S, Price B. 2018. Car: Companion to Applied Regression. R Package version 3.0-2. Available online at: <https://CRAN.R-project.org/package=car> (2020).
 - Fujita MK, Leaché AD, Burbrink FT, McGuire JA, Moritz C. 2012. Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy. *Trends in ecology & evolution* 27:480-488.
 - Goharimanesh M, Ghassemzadeh F, De Kegel B, Van Hoorebeke L, Stöhr S, Mirshamsi O, Adriaens D. 2022. The evolutionary relationship between arm vertebrae shape and ecological lifestyle in brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea). *Journal of anatomy* 240:1034-1047. DOI: 10.1111/joa.13617.
 - Goloboff PA, Catalano SA. 2016. TNT version 1.5, including a full implementation of phylogenetic morphometrics. *Cladistics* 32:221–238.
 - Hendler G, Miller JE, Pawson DL, Kier PM. 1995. *Echinoderms of Florida and the Caribbean: Sea stars, sea urchins, and allies*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press.
 - Hendler G, Baldwin CC, Smith DG, Thacker CE. 1999. Planktonic dispersal of juvenile brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) on a Caribbean reef. *Bulletin of Marine Science* 65:283–288.
 - Hendler G. 2005. Two new brittle star species of the genus *Ophiothrix* (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophiotrichidae) from coral reefs in the Southern Caribbean Sea, with notes on their biology. *Caribbean Journal of Science* 41:583–599.

- Klingenberg CP. 2016. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution* 226:113–137. DOI: 10.1007/s00427-016-0539-2.
- Klingenberg CP. 2022. Methods for studying allometry in geometric morphometrics: a comparison of performance. *Evolutionary Ecology* 36:439-470. DOI: 10.1007/s10682-022-10170-z.
- Koehler R. 1921. *Faune de France. 1. Echinodermes*. Librairie de la Faculte des Sciences. Paris.
- Leiva C, Pérez-Sorribes L, González-Delgado S, Ortiz S, Wangensteen OS, Pérez-Portela R. 2023. Exceptional population genomic homogeneity in the black brittle star *Ophiocomina nigra* (Ophiuroidea, Echinodermata) along the Atlantic-Mediterranean coast. *Scientific Reports* 13(1):12349. DOI: 10.1038/s41598-023-39584-7.
- Lemic D, Benítez HA, Bažok R. 2014. Intercontinental effect on sexual shape dimorphism and allometric relationships in the beetle pest *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae). *Zoologischer Anzeiger* 253:203–206. DOI: 10.1016/j.jcz.2014.01.001.
- Lyman T. 1865. *Ophiothrix angulata*. In: *Ophiuridae and Astrophytidae*. University Press, Cambridge, Welch, Bigelow & Co. 162–164.
- MacLeod N. 2015. Use of *landmark* and outline morphometrics to investigate thecal form variation in crushed godiid echinoderms. *Palaeoworld* 24(4):408–429.
- Maddison WP, Maddison DR. 2018. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.51.
- Márquez-Borrás F, Solís-Marín FA, Mejía-Ortiz LM. 2020. Troglomorphism in the brittle star *Ophionereis commutabilis* Bribiesca-Contreras *et al.*, 2019 (Echinodermata, Ophiuroidea, Ophionereididae). *Subterranean Biology* 33:87-108.
- Martínez-Melo A, De Luna E, Buitrón-Sánchez BE. 2017. Morfometría de los equinoideos de la Familia Cassidulidae (Echinoidea: Cassiduloidea). *Revista de Biología Tropical* 65:S233-S243.
- Martynov A. 2010. Reassessment of the classification of the Ophiuroidea (Echinodermata), based on morphological characters. I. General character evaluation and delineation of the families Ophiomyxidae and Ophiacanthidae. Moscow. *Zootaxa* 2697:1–154.
- Masonick P, Weirauch C. 2019. Integrative species delimitation in Nearctic ambush bugs (Heteroptera: Reduviidae: Phymatinae): insights from molecules, geometric

morphometrics and ecological associations. *Systematic Entomology* 45:205–223. DOI: 10.1111/syen.12388.

- Morgan R, Jangoux M. 2004. Juvenile-adult relationship in the gregarious ophiuroid *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata): a behavioral and morphological study. *Marine Biology* 145:265-276. DOI: 10.1007/s00227-004-1327-5.
- Muths D, Jollivet D, Gentil F, Davoult D. 2009. Large-scale genetic patchiness among NE Atlantic populations of the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *Aquatic Biology* 5:117–132. DOI: 10.3354/ab00138.
- O’Hara TD, Hugall AF, Thuy B, Moussalli A. 2014. Phylogenomic resolution of the Class Ophiuroidea unlocks a global microfossil record. *Current Biology* 24:1874-1879. DOI: 10.1016/j.cub.2014.06.060.
- O’Hara TD, Hugall AF, Thuy B, Stöhr S, Martynov AV. 2017. Restructuring higher taxonomy using broad-scale phylogenomics: The living Ophiuroidea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 107:415-430. DOI: 10.1016/j.ympev.2016.12.006.
- Rambaut A. 2018. FigTree version 1.4.4. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh, U.K.
- Recknagel H, Hooker OE, Adams CE, Elmer KR. 2017. Ecosystem size predicts eco-morphological variability in a postglacial diversification. *Ecology and evolution* 7(15):5560-5570. DOI: 10.1002/ece3.3013.
- Rohlf FJ, Slice D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of *landmarks*. *Systematic Zoology* 39:40–59. DOI: 10.2307/2992207.
- Rohlf FJ. 2013. *tpsDIG, digitize landmarks and outlines, version 2.17*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Santana A, Manso CLC, Almeida ACS, Alves OFS. 2017. Redescription and designation of a neotype for *Ophiothrix angulata* (Say, 1825) (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophiotrichidae). *Zootaxa* 4344:291–307. DOI: 10.11646/zootaxa.4344.2.5.
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A, Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CA, Robertson J. 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57:573–583. DOI: 10.1641/B570707.
- Stöhr S. 2005. Who’s who among baby brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea): Postmetamorphic development of some North Atlantic forms. *Zoological Journal of the Linnean Society* 143:543–576. DOI: 10.1111/j.1096-3642.2005.00155.x.

- Stöhr S, Weber AAT, Boissin E, Chenuil A. 2020. Resolving the *Ophioderma longicauda* (Echinodermata: Ophiuroidea) cryptic species complex: five sisters, three of them new. *European Journal of Taxonomy* 600:1-37. DOI: 10.5852/ejt.2020.600.
- Swisher RE. 2021. Convergent discoidal sand dollars from isolated regions: A geometric morphometric analyses of *Dendraster* and *Arachnoides*. *Terrestrial Atmospheric and Oceanic Sciences* 32:1117-1130.
- Taboada S, Pérez-Portela R. 2016. Contrasted phylogeographic patterns on mitochondrial DNA of shallow and deep brittle stars across the Atlantic-Mediterranean area. *Scientific Reports* 6:32425. DOI: 10.1038/srep32425.
- Thuy B, Stöhr S. 2011. Lateral arm plate morphology in brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea): new perspectives for ophiuroid micropalaeontology and classification. *Zootaxa* 3013:1-47.
- Thuy B, Stöhr S. 2016. A new morphological phylogeny of the Ophiuroidea (Echinodermata) accords with molecular evidence and renders microfossils accessible for cladistics. *PLoS ONE* 11: e0156140. DOI:10.1371/journal.
- Tommasi LR. 1970. *Os ofiuróides recentes do Brasil e de regiões vizinhas*. Universidade de São Paulo. Instituto oceanográfico.
- Vamosi SM. 2003. The presence of other fish species affects speciation in threespine sticklebacks. *Evolutionary Ecology Research* 5:717–730.
- Verrill AE. 1899. Report on the Ophiuroidea collected by the Bahama Expedition in 1893. *Bulletin from the Laboratories of Natural History of the State University of Iowa*. 5:1-86. pls. I-VIII.
- Viscosi V, Cardini A. 2011. Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: A simplified protocol for beginners. *PLoS ONE* 6. DOI: 10.1371/journal.pone.0025630.
- Webster M, Sheets HD. 2010. A practical introduction to *landmark*-based geometric morphometrics. *The Paleontology Society Papers* 16:163–188. DOI: 10.1017/S1089332600001868.
- Yezerinac SM, Loughheed SC, Handford P. 1992. Measurement error and morphometric studies: Statistical power and observer experience. *Systematic Biology* 41: 471–482. DOI: 10.1093/sysbio/41.4.471.

CAPÍTULO 4. Delimitación integrativa de especies en *Ophiothrix angulata*

Introducción

La delimitación de especies en ofiuros tradicionalmente se ha abordado mediante métodos morfológicos. Sin embargo, en las últimas décadas, los enfoques integrativos que combinan datos morfológicos, genéticos y en algunas ocasiones ecológicos han surgido como una herramienta robusta para entender la diversidad de especies de manera más completa y precisa. En el continente americano, Alitto *et al.* (2019) llevaron a cabo un estudio de taxonomía integrativa en el que se combinaron datos morfológicos externos, morfología de las microestructuras calcáreas del brazo, morfometría lineal y secuencias de ADN (16S y COI), con lo cual realizaron un análisis integrativo de delimitación de especies. Con los resultados obtenidos fueron capaces de re-describir y confirmar la validez taxonómica de la especie *Ophiothrix trinidadensis*, especie nativa de Brasil que carecía de una serie tipo en colecciones científicas y que, previamente a su trabajo, se encontraba sinonimizada con *O. angulata*. Este enfoque multidisciplinario e integrativo fue necesario para lograr una taxonomía detallada y más completa dentro del género *Ophiothrix* en su distribución brasileña. Además, enfatizó la importancia de integrar diferentes tipos de datos para realizar clasificaciones taxonómicas de especies crípticas dentro del género *Ophiothrix*, incluyendo taxones que históricamente habían sido clasificados como *O. angulata*.

En los resultados del Capítulo 2 de este trabajo, se encontró que los clados genéticos identificados presentan distancias genéticas K2P que van desde 17.0% hasta 27.9% para los 3 clados principales del gen mitocondrial COI, las más altas registradas entre especies congénicas en *Ophiothrix*, lo que demuestra la formación de linajes evolutivos independientes. Por lo tanto, los resultados del Capítulo 2 soportan que los 3 clados descubiertos en este trabajo pueden considerarse como “Especies Candidatas no Confirmadas”, debido a que

presentaron grandes distancias genéticas, pero sin presentar más información hasta ese capítulo del presente trabajo.

Por otra parte, los resultados de los análisis de las delimitaciones moleculares realizadas a los clados divergentes con el gen COI separaron consistentemente a los 3 clados principales, mientras que la filogenia resultante del gen nuclear ITS2 únicamente separó al Clado 3 de los Clados 1 y 2. Además, en los registros de los 146 organismos analizados con el gen COI, destacaron los organismos del Clado 3, ya que presentaron la mayor distribución batimétrica reportada, llegando hasta los 135 m de profundidad, en comparación con los 45 m de los organismos de los clados restantes. Estas especies candidatas se distribuyen a lo largo del Atlántico Noroccidental, incluso en algunas localidades donde se registraron individuos de diferentes clados en un mismo día, sitio y profundidad. Por lo tanto, para intentar descifrar el estatus taxonómico de estos clados genéticos, se requería un estudio adicional.

Tomando como base la información genética obtenida, en el Capítulo 3 del presente trabajo se prosiguió a realizar dos análisis morfológicos para intentar establecer congruencia entre los clados genéticos del gen COI y algunas características morfológicas. El primer análisis se centró en intentar encontrar diferencias entre clados considerando la forma de las microestructuras calcáreas de las placas dorsales y ventrales del brazo, utilizando un enfoque de morfometría geométrica. El segundo análisis se realizó considerando los patrones de coloración de la vista dorsal de los brazos.

Los resultados del análisis de morfometría geométrica demostraron que tanto las placas dorsales como ventrales del Clado 3 fueron significativamente diferentes a las placas de los organismos de los demás clados genéticos, mientras que los resultados del análisis de coloración mostraron una ausencia de correlación entre los patrones de coloración y la información genética. Esta información morfológica, adicional al estudio genético, sugiere que se puede considerar a los Clados 1 y 2 como “Linajes Conespecíficos Profundos” (DCL, *deep conspecific lineages*; Padial *et al.*, 2010), ya que la información sugiere que estas unidades genealógicas no

están diferenciadas a nivel de especie. Mientras que, el Clado 3 parece perfilarse como una unidad evolutiva separada.

Por lo tanto, en este cuarto y último capítulo, se buscó esclarecer las distintas hipótesis sobre si los Clados 1, 2 y 3 de *Ophiothrix angulata* pueden considerarse entidades evolutivas separadas en su distribución en el Atlántico Noroccidental. Para ello, se utilizó un enfoque taxonómico integrativo que combinó los resultados de las evaluaciones genéticas a través de datos de secuencias de ADN mitocondrial (COI) (Capítulo 2), y morfológicas (Capítulo 3). Se emplearon los resultados de morfometría geométrica de las placas dorsales y ventrales del brazo, así como los patrones de coloración de la vista dorsal del brazo para delimitar especies mediante el programa “Filogenética y Filogeografía Bayesiana Integrada” (iBPP, integrated Bayesian Phylogenetics and Phylogeography; Solís-Lemus *et al.*, 2015).

Los métodos bayesianos aplicados a las multiespecies coalescentes representan una herramienta robusta para la delimitación de especies y la reconstrucción filogenética (Rannala, 2015; Yang, 2015; Rannala & Yang, 2017; Weber *et al.*, 2019). El desarrollo del método iBPP, con su capacidad de integrar datos morfológicos y genéticos de manera simultánea, permite abordar de forma más completa y precisa la diversidad de especies (Solís-Lemus *et al.*, 2015). En este trabajo, se busca aprovechar estas herramientas para esclarecer la diversidad y la evolución de los clados genéticos de *Ophiothrix angulata* en el Atlántico Noroccidental.

Objetivo

- Realizar una delimitación de especies mediante un enfoque taxonómico integrativo considerando los clados mitocondriales 1, 2 y 3 de *Ophiothrix angulata*, utilizando conjuntos de datos moleculares y morfológicos.

Materiales y Métodos

De los 146 especímenes secuenciados con el gen mitocondrial COI (Capítulo 2), se utilizaron los 46 individuos empleados en los análisis de Morfometría Geométrica (MG; Capítulo 3) y los 46 ejemplares utilizados en los análisis de coloración dorsal del brazo (Capítulo 3). Entre los ejemplares analizados en ambos tipos de análisis morfológicos, solo ocho coincidieron. Se extrajo la información de los PC scores de DAP y VAP obtenidos en los análisis de MG y se utilizó la codificación de 25 caracteres de coloración asociados a 61 estados de carácter (Apéndices 4 y 6). Las metodologías específicas para cada análisis genético y morfológico por separado se detallan en los capítulos previos.

Delimitación integrativa de especies

Se analizaron los datos morfológicos y de ADN mitocondrial del gen COI en un marco bayesiano coalescente común utilizando el programa iBPP v.2.1.3 (Solís-Lemus *et al.*, 2015). Este método ha demostrado mejorar la precisión de la delimitación de especies al incorporar datos moleculares y fenotípicos cuantitativos en la evaluación de asignaciones de especies *a priori* utilizando un árbol guía.

Los análisis de iBPP se realizaron utilizando la topología de RAxML-HPC2 como árbol guía (Capítulo 1). Se emplearon los mismos valores para los parámetros de gamma inversa de tauprior o los tiempos de divergencia de las especies, y de thetaprior o parámetro de tamaño de población, tanto para especies modernas como ancestrales, que los utilizados para el análisis BPP (Capítulo 2, sección “Delimitación molecular de especies”). Los análisis de evidencia total que se describen a continuación utilizaron dos conjuntos de datos:

- a) Valores de PC1 + PC2 (PCscores) de la forma de la Placa Dorsal y de la Placa Ventral del Brazo extraídos de los análisis de morfometría geométrica y los datos de secuencia del gen COI.
- b) Matriz de caracteres multiestado con los 25 caracteres de coloración dorsal del brazo extraídos de la matriz de máxima parsimonia como datos de rasgo

registrados a través del análisis de patrones de coloración y los datos de secuencia del gen COI.

Para determinar si diferentes tipos de datos dan como resultado delimitaciones congruentes con los resultados obtenidos en los capítulos anteriores, se realizaron las siguientes comparaciones de datos:

- a) Solo datos de secuencia COI.
- b) Solo datos de morfometría geométrica.
- c) Solo datos de patrones de coloración.

Por último, se realizaron las delimitaciones integrativas ocupando los siguientes datos combinados:

- d) Datos de secuencia del gen COI y los PC scores del análisis de morfometría geométrica (iBPP_{Sec+MG}).
- e) Datos de secuencia del gen COI y caracteres multiestado de los patrones de coloración (iBPP_{Sec+COL}).

Las probabilidades posteriores (pp) en cada nodo se promediaron después de realizar cada análisis 3 veces para asegurar la congruencia de las corridas. Después de una fase de *burn-in* de 10,000 iteraciones, cada segundo árbol fue muestreado para un total de 100,000 árboles. Las delimitaciones solo se consideraron bien soportadas para los nodos del árbol guía cuando recuperaron valores de pp ≥ 0.95 de acuerdo con lo mencionado por Masonick & Weirauch (2019).

Resultados

Los análisis de iBPP recuperaron los clados 1A, 1A', 2 y 3 como distintos tanto para iBPP_{Sec+MG} como para iBPP_{Sec}, con un alto soporte en todas las corridas ($p \geq 0.95$; Figura 4.1). iBPP_{MG} separó al Clado 3 con un alto soporte, pero se encontró un soporte bajo entre los clados 1A, 1A' y 2. iBPP_{Sec+COL} e iBPP_{COL} no mostraron congruencia en las corridas, por lo que con estos datos los especímenes de los 3 clados se agruparon (Figuras 4.1 y 4.2).

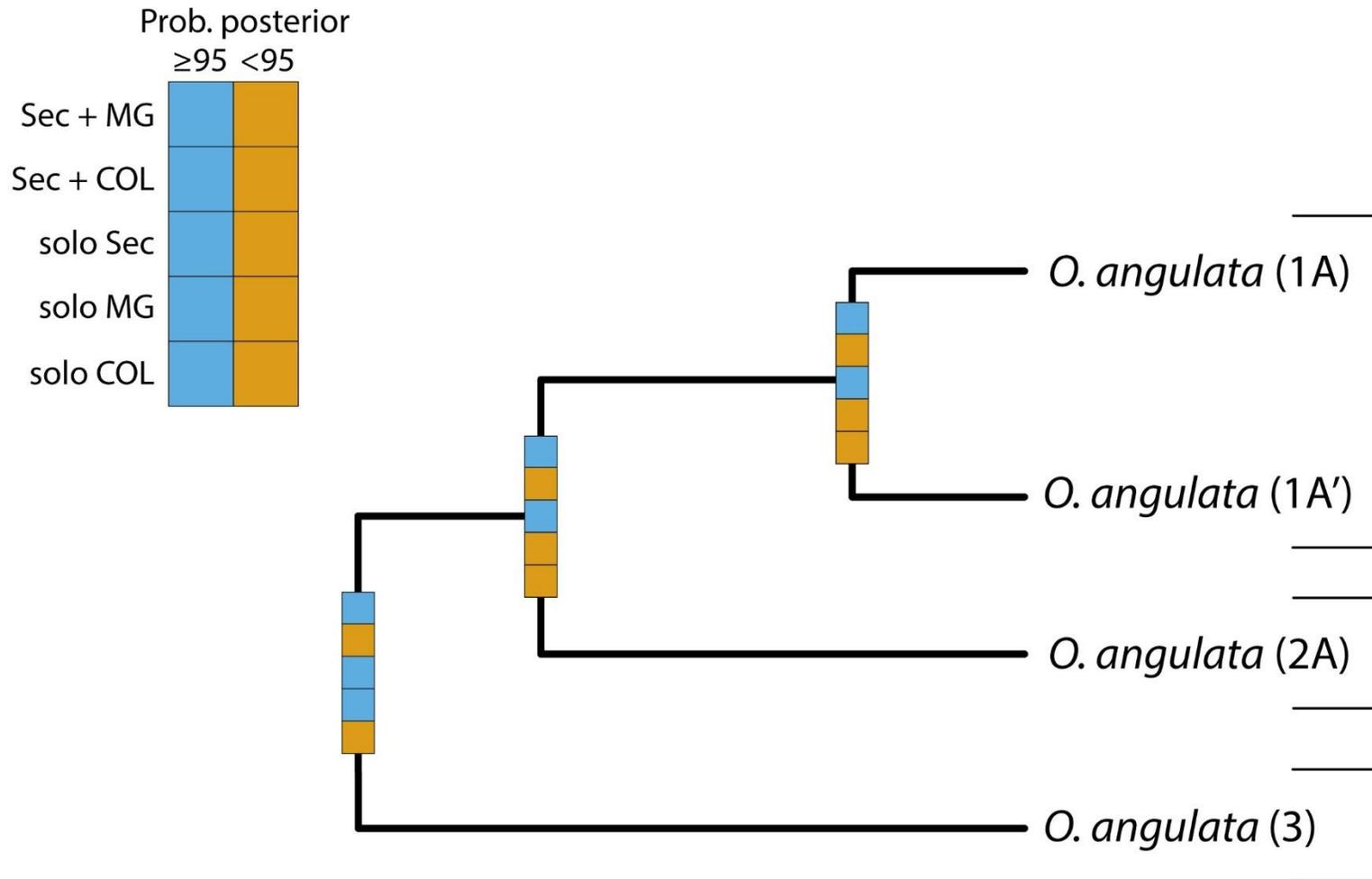


Figura 4.1. Resultados de la delimitación iBPP utilizando la topología RAxML-HPC2 como árbol guía. Los 5 cuadros individuales de las gráficas de caja corresponden a una combinación o tipo único de datos analizados. El azul indica que el nodo tuvo un soporte alto (≥ 95 de probabilidad posterior, pp). El naranja indica que el nodo tuvo una pp < 95 . (A) Sec + MG = ADN mitocondrial y datos de morfometría geométrica. (B) Sec + COL = ADN mitocondrial y datos del patrón de coloración dorsal de los brazos. (C) solo Sec = ADN mitocondrial. (D) solo MG = datos de morfometría geométrica. (E) solo COL = datos del patrón de coloración dorsal de los brazos.

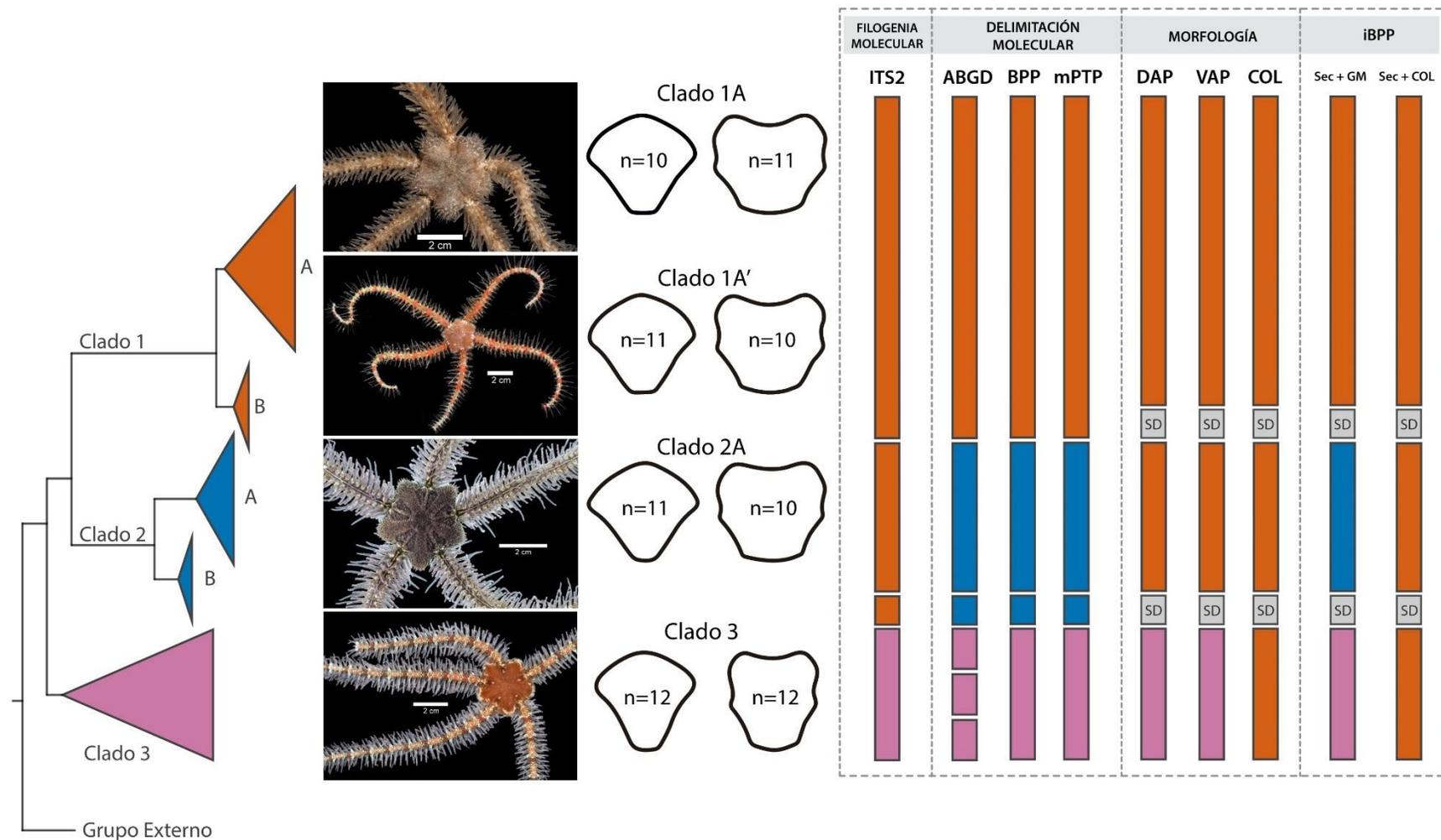


Figura 4.2. Delimitación integrativa de especies para los clados y subclados del complejo de especies de *Ophiothrix angulata* basada en enfoques moleculares, morfológicos e integrativos. Filogenia de COI a la izquierda, especímenes representativos: Clado 1A (UF7632), Clado 1A' (UF11608), Clado 2A (UF10248) y Clado 3 (UF10250), en medio se encuentra la forma consenso de DAP y VAP de los clados principales y delimitaciones de especies a la derecha. Las delimitaciones de especies se representan con colores separados. Los resultados de iBPP se basan en a) datos moleculares (COI) combinados con datos de morfometría geométrica (Sec+MG); y b) datos moleculares (COI) combinados con información del patrón de coloración dorsal de los brazos (Sec+COL). SD: sin datos. Crédito de las fotos: Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida.

Discusión

Los resultados del análisis integrativo (iBPP), que combinó datos de ADN mitocondrial (COI) y morfometría geométrica, mostraron una separación robusta de los organismos del Clado 3, con valores de probabilidad posterior superiores al 95% en todas las corridas (Figura 4.1). Un resumen general de la evidencia encontrada en todos los capítulos de este trabajo sobre la separación del Clado 3 de los Clados 1 y 2 (Figura 4.2), se presenta a continuación:

- El análisis genético utilizando ADNmt (COI), mostró una alta divergencia genética K2P del Clado 3 vs Clado 1 (27.9%) y Clado 2 (26.4%), lo que representa las mayores distancias genéticas interespecíficas reportadas para un complejo de especies en ofiuros.
- El análisis filogenético utilizando el gen ITS2, únicamente separó al Clado 3.
- Los algoritmos de delimitación molecular de especies ABGD, BPP y mPTP basados en datos de ADNmt (COI), confirmaron la separación del Clado 3.
- A pesar de la coexistencia de especímenes de los 3 clados en el mismo día, profundidad, sitio y ambiente, en el Clado 3 se observó una alta distancia genética K2P y la separación tanto con gen mitocondrial como con el gen ITS2.
- Las formas de las placas dorsales y ventrales del brazo separaron morfológicamente al Clado 3, sin que el factor alometría influyera significativamente en la diferencia encontrada.
- El Clado 3 se caracterizó por una amplia distribución batimétrica, que abarcó desde zonas de rompiente hasta los 135 metros de profundidad, siendo el único de los 3 clados que alcanzó dicho intervalo.
- El análisis integrativo, mediante la combinación de datos genéticos (COI) y morfológicos (morfometría geométrica), confirmó la separación del Clado 3 de los Clados 1 y 2.
- El análisis integrativo, mediante la combinación de datos genéticos (COI) y morfológicos (coloración dorsal del brazo), rechazó la separación del Clado

3 de los Clados 1 y 2. El análisis unió a todos los ejemplares en una sola especie.

Mientras que, a continuación, se menciona un resumen de la evidencia encontrada en todo este estudio acerca del estatus de separación del Clado 1 vs Clado 2 (Figura 4.2):

- El análisis genético utilizando ADNmt (COI), mostró lo que podría considerarse una divergencia genética mediana entre el Clado 1 vs Clado 2 (17%), esto tomando como referencia las distancias genéticas encontradas entre los Clados 1 y 2 vs el Clado 3.
- El análisis filogenético utilizando el gen ITS2, no separó a los Clados 1 y 2.
- Los algoritmos de delimitación molecular de especies ABGD, BPP y mPTP, basados en datos de ADNmt (COI), confirmaron la separación de los Clados 1 y 2, así como de los subclados 2A y 2B.
- Las formas de las placas dorsales y ventrales del brazo no separaron morfológicamente a los Clados 1 y 2 durante los análisis de Morfometría Geométrica.
- Los Clados 1 y 2 fueron registrados en los mismos rangos batimétricos (0 a aproximadamente 42 m de profundidad).
- El análisis integrativo, mediante la combinación de datos genéticos (COI) y morfológicos (morfometría geométrica), confirmó la separación de los Clados 1 y 2.
- El análisis integrativo, mediante la combinación de datos genéticos (COI) y morfológicos (coloración dorsal del brazo), rechazó la separación de los Clados 1 y 2. El análisis unió a todos los ejemplares en una sola especie.

Al analizar la escasa información disponible sobre la historia de vida de los especímenes identificados como *Ophiothrix angulata* (Capítulo 1), se destaca la información sobre las historias de vida de los organismos presentes en Cedar Key, Florida, dentro de la ecorregión del Norte del Golfo de México (Stancyk, 1974), y de los organismos de Barbados en la ecorregión del Caribe oriental (Mladenov, 1976). Considerando los resultados de distribución de los clados genéticos, que fueron

obtenidos en este trabajo, se puede sugerir que el estudio de Stancyk (1974) corresponde a organismos pertenecientes al Clado 1, mientras que Mladenov (1976) posiblemente trabajó con organismos pertenecientes al Clado 3.

Stancyk (1974) encontró que los organismos del Norte del Golfo de México (Clado 1) alcanzaron la madurez sexual a mayores tamaños de disco que los especímenes de Barbados en el Caribe oriental (Clado 3; Mladenov, 1976). Estos hallazgos concuerdan con los resultados de morfometría geométrica del presente estudio, donde se observó que los organismos del Clado 3 presentan placas dorsales y ventrales del brazo más alargadas que anchas en comparación con los Clados 1 y 2.

Lo anterior sugiere que los especímenes del Clado 3 podrían tener, en general, los brazos más alargados con respecto a los organismos de los clados 1-2. Se podría especular que dicho alargamiento podría deberse a las características del microambiente que habitan, ya que podría ofrecerles algún tipo de ventaja de movimiento, flexión o agarre; sin embargo, se requieren más estudios para ampliar la información en este tema.

Es importante destacar que, de forma general, existe la posibilidad de observar placas más alargadas que anchas en ofiuros. En general, este patrón se observa bajo dos escenarios: a) conforme las placas se acercan a la punta del brazo, o b) en placas cercanas al disco, pero en organismos juveniles. Sin embargo, para el análisis de morfometría geométrica de este trabajo, se seleccionaron organismos adultos con medidas estandarizadas de diámetro de disco, y se tomaron las placas del mismo intervalo de fragmento del brazo, cercano a la base del disco. Aun así, los organismos del Clado 3 presentaron placas frágiles y alargadas al inicio del brazo, mientras que los clados 1 y 2 presentaron placas robustas y redondeadas.

Por otro lado, Stancyk (1974) registró que los ejemplares de *O. angulata* del Norte del Golfo de México presentaron picos de desove en la primavera y al inicio del verano, con un número de huevos entre 19 y 91 mil. En cambio, los especímenes del Caribe oriental reportados por Mladenov (1976) tuvieron su pico de desove en

febrero, con un número de huevos significativamente menor de entre 7 y 8 mil. Además, la duración pelágica larval de los organismos del Norte del Golfo de México fue de entre 7 y 10 días, mientras que la de los especímenes del Caribe oriental fue de más de 19 días. Este valor promedio de duración pelágica larval sugiere que los organismos del Clado 1 presentan una reducida capacidad de dispersión en comparación con los organismos del Clado 3, lo que podría ser una explicación a la aparente distribución restringida en latitudes altas de los organismos del Clado 1, los cuales se encuentran aparentemente aislados de los organismos de los clados 2 y 3. Por otro lado, esta información también sugiere una explicación de la amplia distribución observada de los organismos del Clado 3, debido a su mayor duración pelágica larval, lo que incrementa sus posibilidades de desplazarse mayores distancias a través de la columna de agua. Estas diferencias sugieren que el Clado 3 podría enfrentar barreras fisiológicas y ecológicas que favorecen la divergencia e impiden su entrecruzamiento con los clados 1 y 2.

Por lo tanto, con base en la evidencia genética, morfológica, ecológica e integrativa, se considera que el Clado 3 cumple con los estándares de divergencia necesarios para postularlo como una “Especie Candidata Confirmada” (CCS, *confirmed candidate species*; Padial *et al.*, 2010). Se sugiere que, a pesar de que esta CCS no ha sido formalmente descrita ni nombrada, los datos respaldan su reconocimiento como una entidad separada dentro del complejo de *O. angulata*.

Por otro lado, los Clados 1 y 2, que se separaron tanto con el gen COI, como con los algoritmos de delimitación de especies moleculares y con los análisis integrativos al utilizar ADNmt + datos MG, pero que no lograron una diferenciación al analizar por separado tanto el gen ITS2, como los datos de morfometría geométrica, ni de coloración, pueden ser considerados como “Linajes conespecíficos profundos” (DCL, *deep conspecific lineages*; Padial *et al.*, 2010). A pesar del alto nivel de divergencia encontrado con el gen COI, los análisis con gen ITS2 y los análisis morfológicos realizados en este estudio no revelaron diferencias a nivel de especie entre ellos.

Conclusiones

El análisis integrativo, que combinó datos de ADN mitocondrial (COI) y PC scores resultantes del análisis de morfometría geométrica, mostró una separación robusta de los organismos del Clado 3, con valores de probabilidad superiores al 95% en todas las corridas. Este análisis confirmó la separación del Clado 3 de los Clados 1 y 2, como se había observado previamente en los análisis genéticos y morfológicos realizados de manera separada en los Capítulos 1 y 2.

En conclusión, con base en la evidencia genética, morfológica, ecológica e integrativa, se considera que el Clado 3 cumple con los estándares de divergencia necesarios para ser postulado como una “Especie Candidata Confirmada”. Por otro lado, los Clados 1 y 2, pueden ser considerados como “Linajes conespecíficos profundos”. Estos resultados resaltan la importancia de integrar diferentes tipos de datos en estudios de diversidad genética y morfológica para comprender la evolución y biogeografía de especies como *O. angulata*.

Literatura citada

- Alitto RAS, Zacagnini Amaral AC, Dias de Oliveira L, Serrano H, Seger KR, Borges Guilherme PD, Di Domenico M, Christensen AB, Bolsoni Lourenço L, Tavares M, Borges M. 2019. Atlantic west *Ophiothrix* spp. In the scope of integrative taxonomy: Confirming the existence of *Ophiothrix trinidadensis* Tommasi, 1970. *PLoS ONE* 14:1–28. DOI: 10.1371/journal.pone.0210331.
- Masonick P, Weirauch C. 2019. Integrative species delimitation in Nearctic ambush bugs (Heteroptera: Reduviidae: Phymatinae): insights from molecules, geometric morphometrics and ecological associations. *Systematic Entomology* 45:205–223. DOI: 10.1111/syen.12388.
- Mladenov PV. 1976. *Reproduction and Larval Development in Ophiuroids (Echinodermata) of Barbados, West Indies*. McGill University.
- Padial JM, Miralles A, De la Riva I, Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7:1–14. DOI: 10.1186/1742-9994-7-16.

- Rannala B. 2015. The art and science of species delimitation. *Current Zoology* 61:846–853. DOI:10.1093/czoolo/61.5.846.
- Rannala B, Yang Z. 2017. Efficient Bayesian Species Tree Inference under the Multispecies Coalescent. *Systematic Biology* 66(5):823–842. DOI: 10.1093/sysbio/syw119.
- Solís-Lemus C, Knowles LL, Ané C. 2015. Bayesian species delimitation combining multiple genes and traits in a unified framework. *Evolution* 69:492–507. DOI: 10.1111/evo.12582.
- Stancyk SE. 1974. *Life history patterns of three estuarine brittlestars (Ophiuroidea) at Cedar Key, Florida*. University of Florida. DOI: 10.5962/bhl.title.37098.
- Weber AAT, Stöhr S, Chenuil A. 2019. Species delimitation in the presence of strong incomplete lineage sorting and hybridization: Lessons from *Ophioderma* (Ophiuroidea: Echinodermata). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 131:138–148. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.11.014.
- Yang Z. 2015. The BPP program for species tree estimation and species delimitation. *Current Zoology* 61:854–865. DOI:10.1093/czoolo/61.5.854.

CONCLUSIONES GENERALES

La investigación realizada contribuye al conocimiento científico sobre la diversidad genética y morfológica del ofiuo *Ophiothrix angulata* en su distribución dentro del Atlántico Noroccidental, y proporciona una base sólida para futuros estudios sobre su evolución y biogeografía. La identificación de 3 clados mitocondriales (COI) divergentes dentro de *O. angulata*, así como la delimitación molecular de especies basada en datos del gen COI, proporcionan una visión de la estructura genética de lo que se sugiere es un complejo de especies taxonómicamente crípticas.

Con base en los resultados, se ha identificado una clara separación del Clado 3 de los Clados 1 y 2 del presente trabajo. Este clado mostró una alta divergencia genética del Clado 1 (27.9%) y del Clado 2 (26.4%), representando las mayores distancias interespecíficas reportadas para un complejo de especies en ofiuos. Los análisis filogenéticos (COI e ITS2) y los algoritmos de delimitación molecular de especies confirmaron la separación del Clado 3. Además, el Clado 3 se caracterizó por una sutil morfología distintiva en la forma de las placas dorsales (DAP) y ventrales (VAP) de los brazos de organismos adultos (>2cm de diámetro del disco, DD), la cual se hizo evidente a través de un protocolo detallado que permitió el análisis de las muestras mediante Morfometría Geométrica. Dicha diferencia morfológica sugiere que los organismos del Clado 3 tienen los brazos más alargados y delgados, lo que se traduce en placas y una estructura calcárea general más frágil (*obs. pers.*), que los organismos de los Clados 1 y 2. Este carácter podría servir como indicador de la variabilidad morfológica en relación con la divergencia genética. Sin embargo, es probable que los organismos juveniles (<2cm DD) de los Clados 1 y 2 presenten formas de DAP y VAP similares a las de los organismos adultos del Clado 3, lo que sugiere la necesidad de realizar más investigación al respecto.

La combinación de datos genéticos y morfológicos combinados mediante un análisis de delimitación integrativa confirmó la separación del Clado 3 con respecto a los Clados 1 y 2, fortaleciendo la evidencia encontrada en los Capítulos 2 y 3 de

este trabajo sobre la diferenciación del Clado 3. En contraste, los Clados 1 y 2, aunque mostraron divergencia genética con el gen mitocondrial COI, así como en la delimitación molecular con COI, no fueron claramente separados en los análisis utilizando el gen ITS2, ni en los análisis morfológicos o en los integrativos.

La información disponible sobre la historia de vida de los organismos, basada en los Clados 1 (Stancyk, 1974) y 3 (Mladenov, 1976), sugiere que los organismos del Clado 3 tienen una duración pelágica larval que es más del doble que la de los organismos del Clado 1. Esta diferencia en la duración larval podría explicar por qué los organismos del Clado 3 tienen una distribución más amplia, mientras que los del Clado 1 parecen estar restringidos a latitudes altas. Además, los organismos del Clado 3 fueron los únicos en presentar una amplia distribución batimétrica, lo que puede indicar ventajas adaptativas en cuanto al aprovechamiento de recursos y hábitats. Esto les podría permitir una variedad de respuestas a los cambios ambientales, lo que posiblemente contribuye a su amplia distribución geográfica.

En conjunto, estos hallazgos respaldan al Clado 3 como una "Especie Candidata Confirmada", mientras que los Clados 1 y 2 deben ser considerados como "Linajes conespecíficos profundos", debido a que, a pesar de toda la investigación realizada, no se evidenció una diferenciación clara entre ellos. Estos resultados contribuyen al entendimiento de la diversidad y evolución del complejo de especies de *Ophiothrix angulata* en el Atlántico Noroccidental, ampliando la comprensión de su diversidad genética y morfológica.

Una limitación en esta investigación ha sido la falta de información reciente y actualizada sobre la biología y ecología de *Ophiothrix angulata*, lo que limita la capacidad para interpretar completamente los patrones genéticos y morfológicos observados. Futuros estudios que integren datos genéticos multi-gen o de secuenciación de nueva generación, aunado a información sobre el comportamiento, la reproducción y la ecología de *O. angulata* podrían proporcionar una comprensión más completa de la diversidad y evolución de este complejo de especies, complementando la información obtenida en este estudio.

Apéndice 1

Números de catálogo del material revisado en la Colección Nacional de Equinodermos “Dra. María Elena Caso Muñoz” del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México:

Ophiothrix angulata (material no tipo), colecciones húmeda y seca: ICML-UNAM 10727, ICML-UNAM 10739, ICML-UNAM 10753, ICML-UNAM 10789, ICML-UNAM 10800, ICML-UNAM 10828, ICML-UNAM 10829, ICML-UNAM 10832, ICML-UNAM 10838, ICML-UNAM 10985, ICML-UNAM 10994, ICML-UNAM 11013, ICML-UNAM 11060, ICML-UNAM 11075, ICML-UNAM 11084, ICML-UNAM 11488, ICML-UNAM 11975, ICML-UNAM 11976, ICML-UNAM 11979, ICML-UNAM 11985, ICML-UNAM 11989, ICML-UNAM 11992, ICML-UNAM 12001, ICML-UNAM 12006, ICML-UNAM 12025, ICML-UNAM 12034, ICML-UNAM 12076, ICML-UNAM 12077, ICML-UNAM 12089, ICML-UNAM 12090, ICML-UNAM 12540, ICML-UNAM 12555, ICML-UNAM 12601, ICML-UNAM 12835, ICML-UNAM 12835, ICML-UNAM 18002, ICML-UNAM 18018, ICML-UNAM 18047, ICML-UNAM 18055, ICML-UNAM 18078, ICML-UNAM 18086, ICML-UNAM 18125, ICML-UNAM 18130, ICML-UNAM 18165, ICML-UNAM 18171, ICML-UNAM 18174, ICML-UNAM 18219, ICML-UNAM 18227, ICML-UNAM 18233, ICML-UNAM 114485, ICML-UNAM 3.33.01, ICML-UNAM 3.34.01, ICML-UNAM 3.34.02, ICML-UNAM 3.34.03, ICML-UNAM 3.34.04, ICML-UNAM 3.34.05, ICML-UNAM 3.34.06, ICML-UNAM 3.34.08, ICML-UNAM 3.34.09, ICML-UNAM 3.34.011, ICML-UNAM 3.34.012, ICML-UNAM 3.34.013, ICML-UNAM 3.34.014, ICML-UNAM 3.34.015, ICML-UNAM 3.34.016, ICML-UNAM 3.34.019, ICML-UNAM 3.34.20, ICML-UNAM 3.34.21, ICML-UNAM 3.34.22, ICML-UNAM 3.34.23, ICML-UNAM 3.34.24, ICML-UNAM 3.34.25, ICML-UNAM 3.34.26, ICML-UNAM 3.34.27, ICML-UNAM 3.34.28, ICML-UNAM 3.34.29, ICML-UNAM 3.34.30, ICML-UNAM 3.34.31, ICML-UNAM 3.34.32, ICML-UNAM 3.34.33, ICML-UNAM 3.34.34, ICML-UNAM 3.34.35, ICML-UNAM 3.34.36, ICML-UNAM 3.34.37, ICML-UNAM 3.34.38, ICML-UNAM 3.34.40, ICML-UNAM 3.34.41, ICML-UNAM 3.34.42, ICML-UNAM 3.34.43, ICML-UNAM 3.34.44, ICML-UNAM 3.34.45, ICML-UNAM 3.34.46, ICML-UNAM 3.34.47, ICML-UNAM 3.34.48, ICML-UNAM 3.34.49, ICML-UNAM 3.34.50, ICML-UNAM 3.34.51, ICML-UNAM 3.34.52, ICML-UNAM 3.34.53, ICML-UNAM 3.34.54, ICML-UNAM 3.34.55, ICML-UNAM 3.34.56, ICML-UNAM 3.34.57, ICML-UNAM 3.34.58, ICML-UNAM 3.34.60, ICML-UNAM 3.34.61, ICML-UNAM 3.34.62, ICML-UNAM 3.34.63, ICML-UNAM 3.34.64, ICML-UNAM 3.34.65, ICML-UNAM 3.34.66, ICML-UNAM 3.34.67, ICML-UNAM 3.34.69, ICML-UNAM 3.34.70, ICML-UNAM 3.34.71, ICML-UNAM 3.34.73, ICML-UNAM 3.34.74, ICML-UNAM 3.34.75, ICML-UNAM 3.34.76, ICML-UNAM 3.34.77, ICML-UNAM 3.34.78, ICML-UNAM 3.34.79, 3.34.82, ICML-UNAM 3.34.83, ICML-UNAM 3.34.84, ICML-UNAM 3.34.85, ICML-UNAM 3.34.86, ICML-UNAM 3.34.87, ICML-UNAM 3.34.88, ICML-UNAM 3.34.89, ICML-UNAM 3.34.90, ICML-UNAM 3.34.91, ICML-UNAM 3.34.92, ICML-UNAM 3.34.93, ICML-UNAM 3.34.94, ICML-UNAM 3.34.95, ICML-UNAM 3.34.96, ICML-UNAM 3.34.97, ICML-UNAM 3.34.98, ICML-UNAM 3.34.99, ICML-UNAM 3.34.100, ICML-UNAM 3.34.101, ICML-UNAM 3.34.104, ICML-UNAM 3.34.105, ICML-UNAM 3.34.107, ICML-UNAM 3.34.108, ICML-UNAM 3.34.109, ICML-UNAM 3.34.110, ICML-UNAM 3.34.111, ICML-UNAM 3.34.112, ICML-UNAM 3.34.113, ICML-UNAM 3.34.114, ICML-UNAM 3.34.115, ICML-UNAM 3.34.116, ICML-UNAM 3.34.117, ICML-UNAM 3.34.119, ICML-UNAM 3.34.120, ICML-UNAM 3.34.121.

Números de catálogo del material revisado en la Invertebrate Zoology Collection, Florida Museum of Natural History, University of Florida (UF), Florida, USA:

Ophiothrix angulata (material no tipo), colección húmeda: UF 97, UF 100, UF 101, UF 102, UF 103, 107, UF 129, UF 272, UF 274, UF 275, UF 763, UF 1257, UF 1269, UF 2120, UF 2121, UF 3120, UF 3358, UF 3440, UF 3501, UF 3502, UF 3509, UF 3511, UF 3580, UF 3797, UF 4352, UF 4383, UF 4396, UF 4949, UF 5066, UF 5068, UF 5069, UF 5071, UF 5072, UF 5073, UF 5081, UF 5083, UF 5084, 5 UF 086, UF 5087, UF 5088, UF 5089, UF 5090, UF 5091, UF 5092, UF 5093, UF 5095, UF 5096, UF 5097, UF 5098, UF 5099, UF 5100, UF 5101, UF 5743, UF 5747, UF 6690, UF 6691, UF 6692, UF 6695, UF 6706, UF 7631, UF 7633, UF 7634, UF 7874, UF 7876, UF 8497, UF 8961, UF

8963, UF 8964, UF 8965, UF 8971, UF 8972, UF 8973, UF 8974, UF 9013, UF 9017, UF 10242, UF 10244, UF 10247, UF 10248, UF 10249, UF 10250, UF 10251, UF 10276, UF 10278, UF 10759, UF 10776, UF 10801, UF 10804, UF 10825, UF 10832, UF 10867, UF 11590, UF 11593, UF 11594, UF 11598, UF 11600, UF 11605, UF 11613, UF 11637, UF 11649, UF 11653, UF 11656, UF 11658, UF 11659, UF 11660, UF 11663, UF 11665, UF 11670, UF 11852, UF 11953, UF 12720, UF 12721, UF 12771, UF 12782, UF 13134, UF 13137, UF 13161, UF 13163, UF 13751, UF 13754, UF 13780, UF 13781, UF 13782, UF 13783, UF 13784, UF 13785, UF 13786, UF 13787, UF 13788, UF 13789, UF 13790, UF 13791, UF 13792, UF 13793, UF 13794, UF 13795, UF 13796, UF 13797, UF 13798, UF 13799, UF 13800, UF 13801, UF 13802, UF 13803, UF 13804, UF 13805, UF 13806, UF 13807, UF 13808, UF 13948, UF 13954, UF 13955, UF 13984, UF 16258, UF 16263, UF 16340, UF 16813, UF 16826, UF 16896, UF 16901, UF 16986, UF 16993, UF 17371, UF 17827, UF 17902, UF 17903, UF 17904, UF 17907, UF 17910, UF 17939, UF 17940, UF 17941, UF 18010, UF 18159, UF 18160, UF 18163, UF 18165.

Números de catálogo del material revisado en el Natural History Museum of Los Angeles County, California, USA:

Ophiothrix angulata (material no tipo), colección húmeda: LACM 93-81.1, LACM 93-81.2, LACM 85-238.11, LACM 84-226.17, LACM 1983-Belize, LACM 89-114.4, LACM 89-115.7, LACM 89-116.2, LACM 89-118.4, LACM 89-119.8, LACM 89-121.7, LACM 93-82.1, LACM 93-82.4, LACM 93-81.4, LACM 93-82.5, LACM 93-84.3, LACM 93-87.11, LACM 572.9, LACM 572.16, LACM 572.17, LACM 1972-359.1, LACM 1977-305.2, LACM 2002-95.2, LACM 2008-7.2, LACM 67-331.1, LACM 85-286.2, LACM 85-359.1, LACM 2002-95.3, LACM 2008-9.2, LACM 2010-32.3.

Números de catálogo del material revisado en el Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Massachusetts, USA:

Colección seca: *Ophiothrix angulata* var. *albodiscus* MCZ OPH-5487 (erroneous citation); *Ophiothrix angulata* var. *albodiscus* MCZ OPH-5488 (erroneous citation); *Ophiothrix angulata* var. *poecila* MCZ OPH-4222 (Holotipo); *Ophiothrix angulata* var. *poecila* MCZ OPH-4153 (Patipos); *Ophiothrix angulata* var. *atrolineata* MCZ OPH-4154 (Holotipo); *Ophiothrix angulata* var. *phlogina* MCZ OPH-4220 (Holotipo); *Ophiothrix angulata* var. *phlogina* MCZ OPH-4221 (Paratipo); *Ophiothrix angulata* var. *phoinissa* MCZ OPH-4224 (Holotipo); *Ophiothrix angulata* var. *phoinissa* MCZ OPH-4225 (Paratipo). Colección húmeda: *Ophiothrix angulata* (serie no tipo): MCZ OPH-4560, MCZ OPH-5418, MCZ OPH-2534, MCZ OPH-4838, MCZ OPH-2595, MCZ OPH-2533, MCZ OPH-4287, MCZ OPH-2551, MCZ OPH-2577, MCZ OPH-4290, MCZ OPH-4199, MCZ OPH-2575, MCZ OPH-2549, MCZ OPH-2576, MCZ OPH-2558, MCZ OPH-2561, MCZ OPH-2573, MCZ OPH-2552, MCZ OPH-2554, MCZ OPH-2550, MCZ OPH-2555, MCZ OPH-4058, MCZ OPH-2545, MCZ OPH-3607, MCZ OPH-2560, MCZ OPH-2574, MCZ OPH-3606, MCZ OPH-2559, MCZ OPH-2542, MCZ OPH-4200, MCZ OPH-2557, MCZ OPH-2553, MCZ OPH-2541, MCZ OPH-2535, MCZ OPH-4548, MCZ OPH-4291, MCZ OPH-2544, MCZ OPH-2556, MCZ OPH-2546, MCZ OPH-3605, MCZ OPH-2548, MCZ OPH-2543, MCZ OPH-2547. Colección seca: *Ophiothrix angulata* (serie no tipo): MCZ OPH-7098, MCZ OPH-6640, MCZ OPH-3887, MCZ OPH-4882, MCZ OPH-5489, MCZ OPH-2307, MCZ OPH-4430, MCZ OPH-5353, MCZ OPH-6754, MCZ OPH-5926, MCZ OPH-4246, MCZ 31634, MCZ OPH-5491, MCZ 31635, MCZ OPH-5583, MCZ 30910, MCZ 31647, MCZ 30906, MCZ 30911, MCZ OPH-2325, MCZ OPH-2317, MCZ OPH-5486, MCZ OPH-2327, MCZ OPH-3883, MCZ OPH-2329, MCZ OPH-2463, MCZ OPH-2326, MCZ OPH-2324, MCZ OPH-2464, MCZ OPH-3587, MCZ OPH-3588, MCZ OPH-3588, MCZ OPH-7397, MCZ OPH-2462, MCZ OPH-4558, MCZ OPH-4064, MCZ OPH-6813, MCZ OPH-2295, MCZ OPH-6685, MCZ OPH-6684, MCZ OPH-6785, MCZ OPH-4151, MCZ OPH-4839, MCZ OPH-2298, MCZ OPH-6710, MCZ OPH-6244, MCZ OPH-6658, MCZ OPH-3572, MCZ OPH-2328, MCZ OPH-7391, MCZ OPH-6400, MCZ OPH-4244, MCZ OPH-6770, MCZ OPH-2465, MCZ OPH-4840, MCZ OPH-4559, MCZ OPH-4152, MCZ OPH-2303, MCZ OPH-2302, MCZ OPH-2301, MCZ OPH-2297, MCZ OPH-2305, MCZ OPH-2306, MCZ OPH-2309, MCZ OPH-2316, MCZ OPH-2308, MCZ OPH-2320, MCZ OPH-2319, MCZ OPH-2311, MCZ OPH-2310, MCZ OPH-2312,

MCZ OPH-2322, MCZ OPH-2313, MCZ OPH-2321, MCZ OPH-2314, MCZ OPH-2315, MCZ OPH-2323, MCZ OPH-2318, MCZ OPH-2293, MCZ OPH-2292, MCZ OPH-2299, MCZ OPH-5925, MCZ OPH-2296, MCZ OPH-2294, MCZ 31654, MCZ OPH-2300, MCZ OPH-4534, MCZ OPH-5490, MCZ OPH-4877, MCZ OPH-6662, MCZ OPH-4226, MCZ OPH-5566.

Números de catálogo del material revisado en el National Museum of Natural History, Smithsonian, Washington D.C., USA:

Ophiothrix angulata (material no tipo), colección seca: USNM E0026344, USNM 39726, USNM E25472, USNM E04609, USNM E07850, USNM E26737, USNM E40194, USNM E0024077, USNM E0024085, USNM E0024118, USNM E0024116, USNM E0025513, USNM E26863, USNM E0024142, USNM E0024140, USNM E0024087, USNM E52969, USNM E47532, USNM E17809, USNM E0024166, USNM E04627, USNM E0024129, USNM E0024084, USNM E0024086, USNM E30182, USNM E0024156, USNM 39258, USNM 34759, USNM E05396, USNM E24138, USNM E30633, USNM E31604, USNM E52970, USNM E43509, USNM E43510, USNM E5407, USNM 34755, USNM E53074, USNM E27763, USNM E29867, USNM E53073, USNM E17805, USNM E47936, USNM E25335, USNM E23197, USNM E47957, USNM E47952, USNM E07854, USNM E07852, USNM E04630, USNM E24283, USNM 32616, USNM E05404, USNM E05397, USNM E32203, USNM 1017299, USNM E23787, USNM E34454, USNM E23755, USNM 1088, USNM 34754. Colección húmeda: *Ophiothrix angulata* (serie no tipo): USNM 6441, USNM 7527, USNM 7573, USNM 7599, USNM 10295, USNM 10306, USNM 10313, USNM 15313, USNM 15349, USNM 15458, USNM 16381, USNM 17536, USNM 21377, USNM 21378, USNM 21382, USNM 21383, USNM 21393, USNM 21396, USNM 33709, USNM 33710, USNM 33764, USNM 33769, USNM 33771, USNM 33772, USNM 33773, USNM 34732, USNM 33959, USNM 34736, USNM 39087, USNM 39319, USNM 39256, USNM 39725, USNM 39707, USNM E00602, USNM E10300, USNM E10301, USNM E04590, USNM E17846, USNM E24338, USNM E27717, USNM E27716, USNM E27221, USNM E27727, USNM E27728, USNM E27732, USNM E27737, USNM E28205, USNM E29414, USNM E29454, USNM E29713, USNM E30243, USNM E39185, USNM E37766, USNM E31557, USNM E30263, USNM E30264, USNM E30506, USNM E40193, USNM E37816, USNM E40190, USNM E39187, USNM E27724, USNM E29363, USNM E27715, USNM E28587, USNM E28306, USNM E27733, USNM E27719, USNM E27723, USNM 10303, USNM 1111, USNM E05406, USNM E23906, USNM 21391, USNM E05398, USNM 16390, USNM E05395, USNM E07851, USNM E07855, USNM E04958, USNM E05403, USNM 7305, USNM E07859, USNM E07853, USNM E29272, USNM 1159, USNM E04642, USNM E04625, USNM E23787, USNM E04647, USNM E05399, USNM E19625, USNM 34783, USNM 26680, USNM 21394, USNM E05416, USNM E24359, USNM E22768, USNM E22916, USNM 26662, USNM E05400, USNM E29269, USNM E23018, USNM E29271, USNM E25451, USNM E27764, USNM E27766, USNM E22976, USNM E25237, USNM E25238, USNM E29273, USNM E23739, USNM E23019, USNM E22965, USNM E23020, USNM E24242, USNM E22763, USNM E04634, USNM E34761, USNM E05401, USNM E23909, USNM E23016, USNM 26673, USNM 21380, USNM E07849, USNM 33962, USNM 21389, USNM E23761, USNM E05402, USNM E05405, USNM E25326, USNM E22928, USNM E19568, USNM E22986, USNM E27765, USNM E24355, USNM E22944, USNM E19448, USNM 34780, USNM E03733, USNM E47934, USNM 34762, USNM 34755, USNM 10484, USNM 15292, USNM E06729, USNM E24266, USNM E23746, USNM E24357, USNM E23974, USNM E25228, USNM E29283, USNM E19629, USNM E24358, USNM E23957, USNM E23910, USNM E24827, USNM E25089, USNM 15905, USNM E23976, USNM E23913, USNM E08906, USNM E23977, USNM E06753, USNM E17066, USNM E08906, USNM E23955, USNM E06752, USNM E22959, USNM E22833, USNM E22954.

Material revisado en la University of West Florida, Florida, USA:

Ophiothrix angulata, organismo en alcohol "UWF".

Números de catálogo del material revisado en el Museo de Zoología, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica:

Ophiothrix angulata (material no tipo), colección húmeda: UCR 968, UCR 056, UCR 967, UCR 930, UCR 927.

Números de catálogo del material revisado en la Colección Regional de Equinodermos de la Península de Yucatán, Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Unidad Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM, México:

Ophiothrix angulata (material no tipo), colección húmeda: COREPY 04, COREPY 07, COREPY 25, COREPY 68, COREPY 81, COREPY 87, COREPY 112, COREPY 158, COREPY 184, COREPY 207, COREPY 266, COREPY 268, COREPY 374, COREPY 412, COREPY 421, COREPY 446, COREPY 453, COREPY 455, COREPY 470, COREPY 475, COREPY 488, COREPY 711, COREPY 714, COREPY 717, COREPY 729, COREPY 740, COREPY 780, COREPY 787, COREPY 791, COREPY 823, COREPY 984, COREPY 1573, COREPY 1579, COREPY 1590, COREPY 1600, COREPY 1615, COREPY 1616, COREPY 1618, COREPY 1619, COREPY 1621, COREPY 1622, COREPY 1623, COREPY 1624, COREPY 1628, COREPY 1635.

Apéndice 2

Información voucher y números de acceso GenBank asociados a los especímenes utilizados en los análisis moleculares de *Ophiothrix angulata*. *Profundidades obtenidas con información de relieve en Google Earth. SD: Sin datos. ETIQ: Etiqueta.

Colecciones científicas: 1) UF: Invertebrate Zoology Collection, Florida University; 2) UWF: University of West Florida; 3) LACM: Natural History Museum of Los Angeles County; 4) ICML-UNAM: Colección Nacional de Equinodermos “Dra. María Elena Caso Muñoz”, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM; 5) COREPY: Colección Regional de la Península de Yucatán, UMDI-Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM; 6) MZ-UCR: Museo de Zoología, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica; 7) USNM: National Museum of Natural History, Smithsonian Institution.

Localidades: 1) ALA: Arrecife Alacranes; 2) BE: Belice; 3) CAC: Cayo Arcas; 4) CAN: Cayo Arenas; 5) CR: Costa Rica; 6) CU: Curaçao; 7) FG: French Guyana; 8) FK: Florida Keys; 9) GU: Guadalupe; 10) JA: Jacksonville; 11) LU: Louisiana; 12) MH: Mahahual; 13) RM: Riviera; 14) NFK: al norte Florida Keys; 15) NI: Nicaragua; 16) NSP: Noroeste de San Petersburgo; 17) NOSP: Nornoroeste de San Petersburgo; 18) OS: off Steinhatchee; 19) PA: Panamá; 20) PB: Palm Beach; 21) SSP: Norte de San Petersburgo; 22) StM: Saint Martin; 23) SV: Sistema Arrecifal Veracruzano; 24) TV: Tuxpan Veracruz.

Ecorregiones: C: Carolina; F: Floridana; NGM: Norte del Golfo de México; SGM: Sur del Golfo de México; WC: Caribe occidental (*Western Caribbean*); SWC: Caribe suroccidental (*Southwestern Caribbean*); SC: Caribe sur (*Southern Caribbean*); EC: Caribe oriental (*Eastern Caribbean*); G: Guiana.

ETIQ	ESPECIE	CLADO	SUB-CLADO	NÚMERO CATÁLOGO	No. Acceso COI GenBank	No. Acceso ITS2 GenBank	LATITUD	LONGITUD	Localidad / Ecorregión	PAÍS	PROF MAX (m)	FECHA DE RECOLECTA (dd/mm/yy)	FOTOS <i>in vivo</i>
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 10867	ON245096	OQ225482	30.32228	-81.28657	JA / Carolina	USA	20.9	30/03/2010	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 11852	ON245095	OQ225481	18.118	-63.056	StM / EC	FRENCH ANTILLES	9.1	18/04/2012	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 16340	ON245094	-	28.1	-91.0368	LU / NGM	USA	54	26/08/2012	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 16896	ON245093	OQ225480	6.4725	-52.4336	FG / GU	FRENCH ANTILLES	95	04/08/2014	SI
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 16993	ON245092	OQ225479	6.0235	-52.2561	FG / GU	FRENCH ANTILLES	67	08/08/2014	SI
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 17827	ON245091	OQ225478	29.669	-81.2148	JA / Carolina	USA	1	06/04/2016	SI
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 18970	ON245090	OQ225477	29.6701	-81.216	JA / Carolina	USA	4	19/06/2017	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 18971	ON245089	OQ225476	29.6701	-81.216	JA / Carolina	USA	5	20/06/2017	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 19463	ON245088	OQ225473	9.2958	-82.3463	PA / SWC	PANAMÁ	4*	30/05/2017	SI
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 19527	ON245087	OQ225475	9.3471	-82.2568	PA / SWC	PANAMÁ	2*	08/06/2017	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 19447A	ON245087	OQ225474	9.2958	-82.3463	PA / SWC	PANAMÁ	4*	30/05/2017	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 19447B	ON245086	OQ225473	9.2958	-82.3463	PA / SWC	PANAMÁ	4*	30/05/2017	-

-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 19447C	ON245085	OQ225473	9.2958	-82.3463	PA / SWC	PANAMÁ	4*	30/05/2017	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 19447D	ON245084	OQ225473	9.2958	-82.3463	PA / SWC	PANAMÁ	4*	30/05/2017	-
-	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 19447E	ON245087	OQ225473	9.2958	-82.3463	PA / SWC	PANAMÁ	4*	30/05/2017	-
QH001	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.110a	MT338294	-	21.46405	-97.22713	TV / SGM	MEXICO	6	16/03/2011	-
QH002	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.110b	MT338294	-	21.46405	-97.22713	TV / SGM	MEXICO	6	16/03/2011	-
QH003	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.110c	MT338362	-	21.46405	-97.22713	TV / SGM	MEXICO	6	16/03/2011	-
QH004	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM3.34.110d	MT338294	-	21.46405	-97.22713	TV / SGM	MEXICO	6	16/03/2011	-
QH005	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM3.34.108a	MT338294	-	20.8542056	-86.8651861	RM / WC	MEXICO	3	03/08/2009	-
QH007	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM3.34.108d	MT338294	-	20.8542056	-86.8651861	RM / WC	MEXICO	3	03/08/2009	-
QH008	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.114a	MT338294	-	21.48407	-97.22867	TV / SGM	MEXICO	14	18/03/2011	-
QH009	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 11060a	MT338378	-	20.3929722	-87.3112916	RM / WC	MEXICO	10	25/05/2012	-
QH010	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 11060b	MT338294	-	20.3929722	-87.3112916	RM / WC	MEXICO	10	25/05/2012	-
QH012	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 10250	MT338285	-	24.7651	NW	FK / Floridana	USA	6	03/05/2010	SI
QH014	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 7880	MT338323	-	29.1	-83.06	OS / NGM	USA	2*	19/09/2008	-
QH015	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13805	MT338322	-	16.1405	-61.782	GU / EC	GUADALUPE	29	07/05/2012	-
QH017	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 9010	MT338294	-	25.2255	-82.6807	NFK / Floridana	USA	35*	09/06/2009	SI
QH019	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 7874	MT338322	-	29.0978	-83.0645	OS / NGM	USA	2*	19/09/2008	-
QH039	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	MZ-UCR 930a	MT338294	-	9.7786111	-82.8093417	CR / SWC	COSTA RICA	18*	29/09/2012	-
QH044	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	MZ-UCR 930b	MT338382	-	9.7786111	-82.8093417	CR / SWC	COSTA RICA	18*	29/09/2012	-
QH050	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 10829	MT338317	-	28.9203	-83.5053	OS / NGM	USA	19.8	12/03/2011	SI
QH051	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.109a	MT338294	-	21.48187	-97.22797	TV / SGM	MEXICO	8	16/03/2011	-
QH055	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.114b	MT338363	-	21.48407	-97.22867	TV / SGM	MEXICO	14	18/03/2011	-
QH056	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.114c	MT338364	-	21.48407	-97.22867	TV / SGM	MEXICO	14	18/03/2011	-
QH057	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.120	MT338379	-	20.46583	-86.97826	RM / WC	MEXICO	9	29/07/2011	-
QH073	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 2	Clado 1	A	UF 10825	MT338316	-	29.028	-83.5887	OS / NGM	USA	19.8	12/03/2011	SI
QH074	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 2	Clado 1	A'	UF 11649	MT338309	-	28.603	-84.2658	NOSP / NGM	USA	27.4	25/05/2012	SI
QH075	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 1	Clado 1	A	UF 11637	MT338308	-	28.6811	-84.3928	NOSP / NGM	USA	30.5	25/05/2012	SI
QH076	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 1	Clado 1	A'	UF 11658	MT338311	-	28.6811	-84.3928	NOSP / NGM	USA	30.5	25/05/2012	-
QH108	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 10985	MT338365	-	19.10125	-95.9388333	SV / SGM	MEXICO	1	19/05/2012	-
QH111	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.109e	MT338294	-	21.48187	-97.22797	TV / SGM	MEXICO	8	16/03/2011	-

QH116	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 10994	MT338362	-	18.646161	-95.0959305	SV / SGM	MEXICO	0.5	21/05/2012	-
QH153	<i>Ophiothrix cf. angulata</i>	Clado 2	A	UWF	MT338313	-	28.4833333	-84.2666666	NOSP / NGM	USA	40	1985?	-
QH179	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13784	MT338386	-	16.4557	-61.5345	GU / EC	GUADALUPE	19	16/05/2012	-
QH181	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13799	MT338397	-	16.0992	-61.7917	GU / EC	GUADALUPE	8	11/05/2012	-
QH183	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11605	MT338303	-	28.4383	-84.2725	NOSP / NGM	USA	33.5	23/05/2012	SI
QH185	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13785	MT338387	-	16.4557	-61.5345	GU / EC	GUADALUPE	19	16/05/2012	-
QH186	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11653	MT338310	-	28.4383	-84.2725	NOSP / NGM	USA	33.5	23/05/2012	-
QH187	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 11660	MT338312	-	28.603	-84.2658	NOSP / NGM	USA	27.4	25/05/2012	-
QH188	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13794	MT338390	-	16.4331	-61.5487	GU / EC	GUADALUPE	45	17/05/2012	-
QH189	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 13948	MT338326	-	29.541	-83.546	OS / NGM	USA	12	06/12/2011	SI
QH190	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11953	MT338327	-	29.494	-83.581	OS / NGM	USA	12	06/12/2011	SI
QH192	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13798	MT338396	-	16.0396	-61.7618	GU / EC	GUADALUPE	17	10/05/2012	-
QH197	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13797	MT338391	-	16.4009	-61.5478	GU / EC	GUADALUPE	135	17/05/2012	-
QH203	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11606	MT338304	-	28.4383	-84.2725	NOSP / NGM	USA	33.5	23/05/2012	SI
QH205	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13793	MT338389	-	16.3644	-61.5297	GU / EC	GUADALUPE	5	20/05/2012	-
QH207	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13751	MT338394	-	16.0396	-61.7618	GU / EC	GUADALUPE	17	10/05/2012	-
QH208	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13800	MT338398	-	15.9833	-61.718	GU / EC	GUADALUPE	28	21/05/2012	-
QH210	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 13163	MT338325	-	29.0982	-83.0599	OS / NGM	USA	0.3	13/12/2012	SI
QH214	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 13789	MT338388	-	16.3544	-61.6298	GU / EC	GUADALUPE	2	23/05/2012	-
QH215	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13807	MT338392	-	16.4117	-61.5329	GU / EC	GUADALUPE	4	15/05/2012	-
QH216	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 12771	MT338393	-	16.2919	-61.816	GU / EC	GUADALUPE	27	12/05/2012	-
QH218	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	UF 13788	MT338395	-	16.0992	-61.7917	GU / EC	GUADALUPE	8	11/05/2012	-
QH222	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 10823	MT338315	-	28.9203	-83.5053	OS / NGM	USA	19.8	12/03/2011	SI
QH223	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 12782	MT338385	-	16.3046	-61.5448	GU / EC	GUADALUPE	1	14/05/2012	-
QH228	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 11608	MT338305	-	28.5362	-84.2737	NOSP / NGM	USA	27.4	23/05/2012	SI
QH230	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11584	MT338298	-	27.6813	-83.046	NSP / Floridana	USA	17.6	22/05/2012	SI
QH232	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 11592	MT338299	-	28.4383	-84.2725	NOSP / NGM	USA	30.5	23/05/2012	SI
QH233	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11595	MT338302	-	28.4383	-84.2725	NOSP / NGM	USA	30.5	23/05/2012	-
QH237	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 10779	MT338297	-	26.4102	-82.4034	SSP / Floridana	USA	18.3	05/03/2011	SI
QH238	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11621	MT338307	-	28.5567	-84.2745	NOSP / NGM	USA	30.5	24/05/2012	SI
QH241	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 10822	MT338314	-	28.9203	-83.5053	OS / NGM	USA	19.8	12/03/2011	SI

QH244	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18264	MT338328	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH245	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18265	MT338329	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH246	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18266	MT338330	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH247	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18267	MT338331	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH248	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	B	ICML-UNAM 18268	MT338332	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH249	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18269	MT338333	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH250	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18270	MT338334	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH251	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18271	MT338335	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH252	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18272	MT338336	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH253	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18273	MT338337	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH254	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18274	MT338338	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH255	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18275	MT338339	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH256	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18276	MT338340	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH257	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18277	MT338341	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH258	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18278	MT338342	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH259	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18279	MT338343	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH260	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18280	MT338344	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH261	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18281	MT338345	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH262	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18282	MT338346	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH263	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18283	MT338347	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH264	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18284	MT338348	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH265	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18285	MT338349	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH266	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18286	MT338350	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH267	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18287	MT338351	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH268	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18288	MT338352	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH269	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	B	ICML-UNAM 18289	MT338353	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH270	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18290	MT338354	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH271	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18291	MT338355	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH272	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18292	MT338356	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH273	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18293	MT338357	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH274	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18294	MT338358	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-

QH275	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18295	MT338359	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH276	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18296	MT338360	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH277	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	ICML-UNAM 18297	MT338361	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH278	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	ICML-UNAM 18298	MT338334	-	29.55564	-83.60423	OS / NGM	USA	10.4	28/04/2014	-
QH283	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 13161	MT338324	-	29.0982	-83.0599	OS / NGM	USA	0.3	13/12/2012	SI
QH284	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 10247	MT338287	-	24.7651	-80.7542	FK / Florida	USA	6	03/05/2010	SI
QH287	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A'	UF 11593	MT338200	-	28.4383	-84.2725	NOSP / NGM	USA	33.5	23/05/2012	SI
QH288	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11613	MT338306	-	28.5362	-84.2737	NOSP / NGM	USA	27.4	23/05/2012	SI
QH289	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 11594	MT338301	-	28.4383	-84.2725	NOSP / NGM	USA	33.5	23/05/2012	-
QH306	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	LACM 93-82.5	MT338294	-	16.8	-88.08334	BE / WC	BELICE	1	24/06/1993	-
QH309	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	LACM 93-87.11	MT338380	-	16.8	-88.08334	BE / WC	BELICE	1	28/07/1993	-
QH310	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	LACM 2010-32.3	MT338384	-	12.1985	-69.07917	CU / SC	CURACAO	1.5	03/07/2010	-
QH311	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	LACM 2008-7.2	MT338381	-	16.802	-88.07883	BE / WC	BELICE	1.2	01/03/2008	-
QH326	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 025a	MT338366	-	22.1206389	-91.4063611	CAN / SGM	MEXICO	11	22/05/2017	SI
QH328	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 081a	MT338367	-	22.11	-91.3783888	CAN / SGM	MEXICO	9	25/05/2017	SI
QH329	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 081b	MT338368	-	22.11	-91.3783888	CAN / SGM	MEXICO	9	25/05/2017	SI
QH330	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	COREPY 207	MT338369	-	20.95856	-92.30441	CAC / SGM	MEXICO	12	08/09/2017	-
QH331	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 455	MT338372	-	20.95528	-92.31086	CAC / SGM	MEXICO	16	09/09/2017	-
QH333	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 421	MT338370	-	20.49943	-92.20429	CAC / SGM	MEXICO	10	13/09/2017	-
QH335	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 453	MT338371	-	20.54561	-91.87944	CAC / SGM	MEXICO	22	15/09/2017	-
QH336	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 986	MT338377	-	18.623222	-87.72196	MH / WC	MEXICO	10	17/03/2018	-
QH338	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	COREPY 07	MT338294	-	20.2009444	-91.9679166	CAC / SGM	MEXICO	7.7	01/04/2017	SI
QH342	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 714	MT338373	-	22.5856389	-89.7428333	ALA / SGM	MEXICO	23	23/06/2016	SI
QH344	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 717	MT338374	-	20.19456	-91.96083	CAC / SGM	MEXICO	11	20/06/2018	SI
QH345	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 3	-	COREPY 984	MT338375	-	20.21922	-91.97275	CAC / SGM	MEXICO	1.6	19/08/2018	-
QH346	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	B	COREPY 985	MT338376	-	19.205861	-96.073055	SV / SGM	MEXICO	9	31/08/2018	-
QH403	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 12835a	MT338383	-	12.16528	-83.07625	NI / SWC	NICARAGUA	2.8	14/06/2016	-
QH404	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 12835b	MT338294	-	12.16528	-83.07625	NI / SWC	NICARAGUA	3	14/06/2016	-
UF_7631	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 3	Clado 1	A	UF 7631	MT338318	-	29.0996	-83.0597	OS / NGM	USA	1	19/09/2008	SI
UF_7632	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 7632	MT338319	-	29.0996	-83.0597	OS / NGM	USA	1	19/09/2008	SI
UF_7633	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 1	A	UF 7633	MT338320	-	29.0996	-83.0597	OS / NGM	USA	1	19/09/2008	SI

UF_7634	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 3	Clado 1	A'	UF 7634	MT338321	-	29.0996	-83.0597	OS / NGM	USA	1	19/09/2008	SI
UF_8961	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 3	Clado 1	A	UF 8961	MT338289	-	24.8926833	-81.8661167	NFK / Floridana	USA	15	07/06/2009	SI
UF_8963	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 2	Clado 1	A'	UF 8963	MT338290	-	24.8926833	-81.8661167	NFK / Floridana	USA	15	07/06/2009	SI
UF_8971	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 3	Clado 1	A	UF 8971	MT338291	-	24.789	-81.886	NFK / Floridana	USA	15.24	07/06/2009	SI
UF_8972	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 2	Clado 1	A'	UF 8972	MT338292	-	24.789	-81.886	NFK / Floridana	USA	15.24	07/06/2009	SI
UF_8973	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 2	Clado 1	A	UF 8973	MT338293	-	24.789	-81.886	NFK / Floridana	USA	15.24	07/06/2009	SI
UF_8974	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 8974	MT338294	-	24.789	-81.886	NFK / Floridana	USA	15.24	07/06/2009	SI
UF_9013	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 2	Clado 1	A'	UF 9013	MT338295	-	25.07995	-82.6745667	NFK / Floridana	USA	41.15	09/06/2009	SI
UF_9017	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	UF 9017	MT338296	-	25.14525	-82.81135	NFK / Floridana	USA	42.7	09/06/2009	SI
UF_10248	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 1	Clado 2	A	UF 10248	MT338288	-	24.8164	-80.8702	FK / Floridana	USA	1	02/05/2010	SI
UF_10276	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 1	Clado 2	A	UF 10276	MT338286	-	24.7651	-80.7542	FK / Floridana	USA	6	03/05/2010	SI
KC626245	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.117	KC626245	-	20.465	-86.978	RM / WC	MEXICO	11.1	26/07/2011	-
KC626246	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	-	KC626246	-	20.465	-86.978	RM / WC	MEXICO	12	30/07/2011	-
KC626247	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	-	KC626247	-	20.465	-86.978	RM / WC	MEXICO	12	30/07/2011	-
KC626248	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	-	KC626248	-	20.465	-86.978	RM / WC	MEXICO	9	29/07/2011	-
KC626249	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.117	KC626249	-	20.465	-86.978	RM / WC	MEXICO	11.1	26/07/2011	-
KC626250	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	-	KC626250	-	20.465	-86.978	RM / WC	MEXICO	12	30/07/2011	-
KC626251	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	-	KC626251	-	20.441	-86.997	RM / WC	MEXICO	3.9	29/07/2011	-
KC626252	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.119	KC626252	-	20.44128	-86.99662	RM / WC	MEXICO	11.1	26/07/2011	-
KC626253	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	ICML-UNAM 3.34.119	KC626253	-	20.44128	-86.99662	RM / WC	MEXICO	11.1	26/07/2011	-
KC626254	<i>Ophiothrix cf. angulata</i>	Clado 3	-	-	KC626254	-	20.465	-86.978	RM / WC	MEXICO	9	30/07/2011	-
KU895443	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	-	KU895443	-	26.783475	-80.047524	PB / Floridana	USA	1	-	-
KU895444	<i>Ophiothrix angulata</i>	Clado 2	A	-	KU895444	-	26.783475	-80.047524	PB / Floridana	USA	1	-	-
UCR928	<i>Ophiothrix cimar</i>	out-group	-	MZ-UCR928	MT344069	-	9.7786111	-82.809341	-	COSTA RICA	10	28/09/2012	-
UF7818	<i>Ophiothrix lineata</i>	out-group	-	UF7818	KU895447	-	SD	SD	-	-	2	06/09/2008	-
EF053424	<i>Ophiothrix lineata</i>	out-group	-	EF053424	EF053424	-	-	-	-	-	SD	-	-
EF053425	<i>Ophiothrix lineata</i>	out-group	-	EF053425	EF053425	-	-	-	-	-	SD	-	-
USNM 1073476	<i>Ophiothrix stri</i>	out-group	-	USNM 1073476	MT344068	-	9.3442	-82.1719	-	-	4.2	04/08/2003	-
UF13759	<i>Ophiothrix suensoni</i>	out-group	-	UF13759	MT344067	-	16.381722	-61.765611	-	-	23	08/05/2012	-

LK026603	<i>Ophiothrix suensoni</i>	out-group	-	LK026603	LK026603	-	-	-	-	-	SD	-	-
KU895446	<i>Ophiothrix suensoni</i>	out-group	-	KU895446	KU895446	-	-	-	-	-	SD	-	-
KU895148	<i>Ophiactis savignyi</i>	out-group	-	KU895148	KU895148	-	-	-	-	-	SD	-	-

Apéndice 3

Información voucher de los especímenes que fueron utilizados para el análisis de morfometría geométrica de las placas dorsales (DAP) y ventrales (VAP) del brazo.

R: removido del análisis.

No.	Clado	Identificación de colección	Número de catálogo	Nombre imagen TIFF	DAP	VAP
1.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 3	UF7631	UF7631_dx1a / vx1a	✓	✓
2.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF7633	UF7633_dx1a / vx1a	✓	✓
3.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF11605	UF11605_dx1a / vx1a	✓	✓
4.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF10823	UF10823_dx1a / vx1a	✓	✓
5.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF11621	UF11621_dx1a / vx1a	✓	✓
6.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18269	ICML18269_dx1a / vx1a	R	R
7.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18275	ICML18275_dx1a / vx1a	✓	✓
8.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18283	ICML18283_dx1a / vx1a	✓	✓
9.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18291	ICML18291_dx1a / vx1a	R	✓
10.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18292	ICML18292_dx1a / vx1a	✓	✓
11.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18293	ICML18293_dx1a / vx1a	✓	✓
12.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18296	ICML18296_dx1a / vx1a	✓	✓
13.	1A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18298	ICML18298_dx1a / vx1a	✓	✓
14.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 2	UF8963	UF8963_dx1b / vx1b	R	R
15.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18264	ICML18264_dx1b / vx1b	✓	✓
16.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18266	ICML18266_dx1b / vx1b	✓	✓
17.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18267	ICML18267_dx1b / vx1b	✓	R
18.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18272	ICML18272_dx1b / vx1b	✓	✓
19.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18276	ICML18276_dx1b / vx1b	✓	✓
20.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18279	ICML18279_dx1b / vx1b	✓	✓
21.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18280	ICML18280_dx1b / vx1b	✓	✓
22.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18281	ICML18281_dx1b / vx1b	✓	✓
23.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18285	ICML18285_dx1b / vx1b	✓	✓
24.	1A'	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM18297	ICML18297_dx1b / vx1bb	✓	✓
25.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF8974	UF8974_dx2 / vx2	✓	✓
26.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF9010	UF9010_dx2 / vx2	✓	✓
27.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i> TPE sp. 1	UF10248	UF10248_dx2 / vx2	✓	✓
28.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM10985	ICML10985_dx2 / vx2	✓	✓
29.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM10994	ICML10994_dx2 / vx2	✓	✓
30.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM11060a	ICML11060a_dx2 / vx2	✓	R
31.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM3.34.108d	ICML3.34.108d_dx2 / vx2	✓	✓

32.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM3.34.109e	ICML3.34.109e_dx2 / vx2	✓	✓
33.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM3.34.110b	ICML3.34.110b_dx2 / vx2	✓	✓
34.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM3.34.114b	ICML3.34.114b_dx2 / vx2	✓	✓
35.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM3.34.117	ICML3.34.117_dx2 / vx2	R	R
36.	2A	<i>Ophiothrix angulata</i>	ICML-UNAM3.34.120	ICML3.34.120_dx2 / vx2	✓	✓
37.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF7874	UF7874_dx3 / vx3	✓	✓
38.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF12771	UF12771_dx3 / vx3	R	✓
39.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13800	UF13800_dx3 / vx3	✓	✓
40.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13805	UF13805_dx3 / vx3	✓	✓
41.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13807	UF13807_dx3 / vx3	R	R
42.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13751	UF13751_dx3 / vx3	✓	✓
43.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13784	UF13784_dx3 / vx3	✓	✓
44.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13785	UF13785_dx3 / vx3	✓	✓
45.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13788	UF13788_dx3 / vx3	✓	✓
46.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13793	UF13793_dx3 / vx3	✓	R
47.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13794	UF13794_dx3 / vx3	✓	✓
48.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13797	UF13797_dx3 / vx3	✓	✓
49.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13798	UF13798_dx3 / vx3	✓	✓
50.	3	<i>Ophiothrix angulata</i>	UF13799	UF13799_dx3 / vx3	✓	✓

Apéndice 4

PC scores del análisis de morfometría geométrica de DAP y VAP. Datos crudos.

No. Catálogo	Clado	PC1_DAP	PC2_DAP	PC1_VAP	PC2_VAP
UF7874	Clado 3	-0.070114739	-0.016255768	-0.021756778	-0.01569557
UF12771	Clado 3	ND	ND	-0.075918413	0.027318994
UF13784	Clado 3	0.016002141	0.096832765	-0.031586474	-0.00041755
UF13785	Clado 3	-0.08259372	-0.00432562	-0.1650995975	0.002816452
UF13793	Clado 3	-0.064364605	-0.031302645	ND	ND
UF13794	Clado 3	-0.091859319	0.001760433	-0.07060324	-0.02151624
UF13797	Clado 3	-0.058893609	0.028173739	-0.134009528	-0.00583077
UF13751	Clado 3	-0.121637494	0.008848116	-0.166014742	0.0128405
UF13788	Clado 3	0.04921286	0.038422391	-0.030728017	0.039492439
UF13798	Clado 3	-0.054039247	-0.029894084	-0.106826709	-0.02267688
UF13799	Clado 3	-0.083858467	0.025340129	-0.124610631	0.022840062
UF13800	Clado 3	0.02511414	0.003964511	-0.064884388	-0.0165504
UF13805	Clado 3	-0.081738461	0.015918893	-0.130359548	-0.04157937
UF10248	Clado 2A	-0.00687332	-0.031067644	0.017179709	0.014318635
UF8974	Clado 2A	-0.114449471	-0.036938686	-0.052455525	0.020522471
UF9010	Clado 2A	0.040826072	0.019448624	0.077462536	0.007245916
ICML3_34_108d	Clado 2A	0.046146674	0.011599571	0.02197844	0.00229236
ICML3_34_109e	Clado 2A	0.015275614	0.055934677	0.067107888	0.045082774
ICML3_34_110b	Clado 2A	0.057408119	0.007707582	0.039053325	0.035318037
ICML3_34_114b	Clado 2A	0.087770278	-0.042686729	0.07266547	-0.0463173
ICML10985	Clado 2A	0.072296674	-0.011319652	0.046864784	0.020411652
ICML10994	Clado 2A	0.073726001	0.051823555	0.045838395	0.029609714
ICML11060a	Clado 2A	-0.053307253	0.00205118	ND	ND
ICML3_34_120	Clado 2A	0.019696121	-0.035140822	0.000365289	0.023195839
UF7631	Clado 1A	-0.022313262	-0.002737374	0.048955559	-0.04431269
UF7633	Clado 1A	-0.059626834	0.038025506	0.023152791	0.039061619
UF11605	Clado 1A	-0.007403282	-0.018127685	-0.004919308	-0.01978625
UF11621	Clado 1A	0.159762764	-0.020253318	0.046330315	0.0198698
UF10823	Clado 1A	0.049031527	-0.049416122	0.051997306	0.008352086
ICML18275	Clado 1A	0.000399529	0.022914377	0.040418736	-0.00348453
ICML18283	Clado 1A	0.026765024	0.030929172	0.068699517	-0.02357902
ICML18291	Clado 1A	ND	ND	0.056479994	0.030040842
ICML18292	Clado 1A	0.001717208	0.014749513	0.04544927	0.006988217
ICML18293	Clado 1A	0.026977464	-0.011921916	0.077970507	-0.04779654
ICML18296	Clado 1A	-0.030880982	0.003747334	0.030249146	-0.03179364
ICML18298	Clado 1A	0.028792315	-0.005855753	0.026307274	-0.01178924
ICML18264	Clado 1B	0.079542035	-0.000617469	0.074024506	-0.02398332
ICML18266	Clado 1B	-0.013739792	-0.041298074	0.00874138	-0.01929515
ICML18267	Clado 1B	-0.019847311	-0.03285422	ND	ND

ICML18276	Clado 1B	0.067831157	0.000449257	0.052348597	-0.00427252
ICML18279	Clado 1B	0.007747049	0.011448235	-0.008012765	0.011101821
ICML18280	Clado 1B	0.02124684	-0.021081887	0.033982129	-0.06109249
ICML18281	Clado 1B	0.00245013	-0.006323681	0.006014483	0.01141849
ICML18285	Clado 1B	0.03337891	-0.00601443	0.013464445	0.015477105
ICML18297	Clado 1B	-0.086983762	-0.014739308	-0.026385426	-0.00456915

Apéndice 5

Lista de caracteres de la coloración dorsal del brazo

Brazo dorsal

1. Se presenta un patrón de bandas transversales: no (0), sí (1).
2. Las bandas de color son visibles en todos los segmentos del brazo: no (0), sí (1), sin bandas (2).
3. Patrón de bandas con dos colores, se repite cada 4 segmentos: no (0), sí (1), sin bandas (2).
4. Patrón de bandas con 3 colores, se repite cada 4 segmentos: no (0), sí (1), sin bandas (2).
5. Línea longitudinal (LL) está presente: no (0), sí (1).
6. Línea longitudinal es visible en todos los segmentos del brazo: no (0), sí (1), sin LL (2).
7. Línea longitudinal comienza en el primer segmento dorsal: no (0), sí (1), sin LL (2).
8. Línea longitudinal comienza en la mitad del brazo o en segmentos distales: no (0), sí (1), sin LL (2).
9. Línea longitudinal es amarilla: no (0), sí (1), sin LL (2).
10. Línea longitudinal es blanca: no (0), sí (1), sin LL (2).
11. Línea longitudinal tiene el mismo color que el segmento, pero más claro: no (0), sí (1), sin LL (2).
12. Línea longitudinal está bordeada por líneas paralelas: no (0), sí (1), sin LL (2).
13. Líneas paralelas que bordean la línea longitudinal son oscuras: no (0), sí (1), sin LL (2).

Placas dorsales del brazo

14. El color base es uniforme en todos los brazos: no (0), sí (1).
15. Hay una mancha romboidal: no (0), sí (1).
16. Una mancha blanca puede cubrir una gran área de la placa: no (0), sí (1).
17. Hay una mancha blanca triangular en medio de la placa: no (0), sí (1).

18. Manchas blancas o manchas bordeando el borde distal: no (0), sí (1).

19. Hay una mezcla de patrones blancos y verdes: no (0), sí (1).

Base de la espina del brazo y placa lateral del brazo

20. El color de la base de la espina del brazo es el mismo que el de la placa dorsal del brazo: no (0), sí (1).

21. El color de la base de la espina del brazo es blanco o más claro: no (0), sí (1).

22. El color de la base de la espina del brazo presenta una mezcla de blanco y verde: no (0), sí (1).

23. La placa lateral del brazo presenta manchas circulares blancas en el borde proximal dorsal (al menos en algunos segmentos): no (0), sí (1).

24. La placa lateral del brazo presenta mini puntos oscuros: no (0), sí (1).

25. La placa lateral del brazo presenta una mezcla de blanco y verde: no (0), sí (1).

Apéndice 6

Matriz de caracteres de los 47 individuos y los 25 caracteres utilizados en el análisis de máxima parsimonia. Out = Grupo externo.

No.	Especímenes	Clado	Caracteres																										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5		
1	<i>O. savignyi</i>	Out	1	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
2	UF7631	1A	1	1	1	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
3	UF7632	1A	1	1	1	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
4	UF7633	1A	1	1	1	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
5	UF8961	1A	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
6	UF8971	1A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
7	UF8973	1A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
8	UF10247	1A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
9	UF10779	1A	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
10	UF10823	1A	0	2	2	2	1	1	0	0	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
11	UF10825	1A	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	
12	UF11584	1A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
13	UF11605	1A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
14	UF11606	1A	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
15	UF11613	1A	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
16	UF11621	1A	0	2	2	2	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	
17	UF11637	1A	0	2	2	2	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
18	UF11953	1A	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
19	UF13161	1A	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
20	UF13163	1A	1	1	1	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
21	UF13948	1A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
22	UF7634	1B	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
23	UF8963	1B	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
24	UF8972	1B	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
25	UF9013	1B	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
26	UF10822	1B	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
27	UF10829	1B	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
28	UF11592	1B	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
29	UF11593	1B	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	
30	UF11608	1B	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
31	UF11649	1B	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
32	UF17827	1B	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
33	UF8974	2A	0	2	2	2	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
34	UF9010	2A	0	2	2	2	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
35	UF9017	2A	0	2	2	2	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
36	UF10248	2A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
37	UF10276	2A	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
38	UF19463	2A	0	2	2	2	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
39	COREPY07	2A	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
40	COREPY025a	3	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
41	COREPY081a	3	1	0	0	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	
42	COREPY081b	3	1	0	0	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
43	COREPY714	3	1	1	0	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	
44	COREPY717	3	1	1	0	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	
45	UF10250	3	1	1	0	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	
46	UF16896	3	1	1	1	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	
47	UF16993	3	1	0	0	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	