

Diversidad y conectividad genética del pez damisela *Stegastes acapulcoensis* en el Pacífico Oriental Tropical: una evaluación para localidades de México, Panamá, Colombia y Galápagos

Valentina Marmolejo-Guzmán^{1,3}, Melina Rodríguez-Moreno² y Mateo López-Victoria¹

¹Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia,

valenmarmol5@gmail.com, malov@javerianacali.edu.co

²Universidad del Valle, Cali, Colombia, melinarodmo@gmail.com

³Autor para correspondencia. Facultad de Ingeniería y Ciencias, Departamento de Ciencias Naturales y Matemáticas, Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia.

Septiembre de 2021

Resumen

La conectividad genética tiene un papel fundamental en la persistencia de las poblaciones al promover el flujo de genes a partir del intercambio de individuos entre poblaciones. En la mayoría de organismos marinos, la conectividad está influenciada por características de historia de vida de las especies, como la duración de vida larvaria, y también por posibles barreras oceanográficas y geográficas. En este estudio se analizó la conectividad genética del pez damisela *Stegastes acapulcoensis* entre seis localidades del Pacífico Oriental Tropical (POT) separadas por una distancia geográfica máxima de ≈ 4.070 km. Se examinó la diversidad y estructura genética empleando secuencias de la región control de ADN mitocondrial, detectándose alta diversidad dentro de las localidades ($Hd = 0.966$) y ausencia de diferenciación genética entre ellas ($\Phi_{st} = 0.013$). Estos resultados sugieren que *S. acapulcoensis* tiene alta conectividad en el POT, lo cual puede ser explicado considerando la duración larvaria pelágica y los patrones de dirección de las corrientes, así como los cambios oceanográficos estacionales y eventos climáticos extremos. La información obtenida es relevante para comprender los patrones de dispersión de especies con historias de vida similares a *S. acapulcoensis* y para tomar decisiones informadas respecto a evaluación y mejoramiento de las redes de Áreas Marinas Protegidas (AMP's) del POT.

Palabras clave: ADN mitocondrial, Flujo genético, Genética de poblaciones, Peces de arrecife, Región control.

Abstract

Genetic connectivity plays a fundamental role in the persistence of populations by promoting gene flow from the exchange of individuals between populations. In most marine organisms, connectivity is influenced by life history characteristics of the species, such as larval life span, and also by possible oceanographic and geographic barriers. In this study, we analyzed the genetic connectivity of the damselfish *Stegastes acapulcoensis* among six localities in the Eastern Tropical Pacific (ETP) separated by a maximum geographic distance of ≈ 4.070 km. Genetic diversity and structure were examined using mitochondrial DNA control region sequences, detecting high diversity within localities ($Hd = 0.966$) and no genetic differentiation among localities ($\Phi_{st} = 0.013$). These results suggest that *S. acapulcoensis* has high

connectivity in the ETP, which can be explained by considering pelagic larval duration and current direction patterns, as well as seasonal oceanographic changes and extreme weather events. The information obtained is relevant for understanding dispersal patterns of species with similar life histories to *S. acapulcoensis* and for making informed decisions regarding evaluation and improvement of the ETP's Marine Protected Areas (MPA's) networks.

Key words: Control region, Gene flow, Mitochondrial DNA, Population genetics, Reef fish.

Introducción

La conectividad genética tiene un papel fundamental en la persistencia de las poblaciones al promover el flujo de genes a partir del intercambio de individuos entre poblaciones (Cowen et al. 2007). Además de las mutaciones espontáneas, el flujo genético es una fuente importante de diversidad genética, la cual permite que las poblaciones se mantengan en el tiempo al contribuir con su viabilidad (Martínez et al. 2018). Una alta diversidad genética les confiere a las poblaciones características ventajosas en relación a su capacidad de adaptación y resiliencia frente a cambios medio ambientales (Reed & Frankham 2003). Por el contrario, las poblaciones que presentan poca variabilidad genética, ya sea por presiones selectivas, endogamia o aislamiento, tienden a la extinción más fácilmente al ser más vulnerables a los efectos de deriva genética dada la pérdida de potencial adaptativo y su capacidad para sobrevivir (Reed & Frankham 2003).

El flujo genético de organismos marinos con fase larvaria se ve influenciado directamente por las corrientes marinas, las cuales actúan como un importante medio de dispersión durante esta etapa (Cowen et al. 2007, Cowen & Sponaugle 2009). Durante su etapa larval, los organismos marinos tienen el potencial para dispersarse largas distancias y en algunos casos se ha encontrado que la duración larval pelágica (PLD por sus siglas en inglés) está relacionada directamente con la distribución geográfica, flujo genético y conectividad entre las poblaciones (Doherty et al. 1995, Grantham et al. 2003,

Weersing & Toonen 2009). A pesar del alto potencial de dispersión de estos organismos, la conectividad puede ser interrumpida por barreras naturales que dificultan su dispersión (Robertson & Allen 2015), ya sea por cambios de hábitat, variación en los gradientes térmicos o direccionalidad de las corrientes (Walker 1960, Thomson 1979, Robertson & Allen 2015).

En el POT se presentan una serie de barreras oceanográficas y geográficas que potencialmente pueden restringir la dispersión de las especies y el flujo genético entre poblaciones de organismos marinos (Robertson & Allen 2015). Estas barreras están representadas por sistemas oceanográficos de surgencia y corrientes, y dos franjas continentales que carecen de costas rocosas e interrumpen la distribución de algunas especies asociadas a estos ambientes (Craig et al. 2006, Robertson & Cramer 2009, Robertson & Allen 2015). Estas franjas costeras están compuestas por fondos blandos (arena y lodo) y se conocen como la Brecha de Sinaloa y la Brecha Faunística del Pacífico de América Central (Robertson & Allen 2015, Figura 1). Por el contrario, los eventos durante la Oscilación de El Niño (ENSO) hacen que las aguas en esta región del Pacífico se calienten estacionalmente de forma considerable, ocasionando que los rangos de distribución de muchas especies se expandan (Love et al. 2005).

En el POT son pocos los estudios sobre conectividad en peces de arrecife, particularmente en especies con distribución predominantemente continental (Craig et al 2006, Saarman et al. 2010, Urbiola-Rangel & Chassin-

Noria 2013, León Pech 2015, Rodríguez-Moreno 2017). Los estudios existentes, han incluido mayormente especies transpacíficas y con poblaciones en las islas oceánicas (Muss et al. 2001, Craig et al. 2007, Lessios & Robertson 2006, Fitzpatrick et al. 2011).

Este estudio tiene como objetivo examinar el grado de conectividad y diversidad genética de *S. acapulcoensis* abarcando localidades distribuidas a lo largo de su rango geográfico, con el fin de complementar la información existente sobre conectividad de esta especie en el POT. Estos resultados podrían aportar información útil para la evaluación y manejo de redes de AMP's del POT, y apoyar iniciativas que promuevan la conservación de los ecosistemas marinos a través de la conectividad. Adicionalmente, podrían resultar útiles para futuros estudios de genética de poblaciones a gran escala, que integren marcadores genéticos con diferente resolución, con el fin de conocer fenómenos recientes que puedan ser de interés tanto en *S. acapulcoensis*, como en otras especies con rasgos de vida similares en el POT.

Metodología

Área de estudio

El POT se extiende desde la Bahía de Magdalena en la costa suroeste de la península de Baja California (24 °N) (México) hasta la parte norte de Perú en Cabo Blanco (4 °S) (Robertson & Allen 2015). Esta región incluye los archipiélagos de Galápagos y Revillagigedos, y las islas Malpelo, del Coco y Clipperton (Robertson & Allen 2015). El POT es la región biogeográfica marina más aislada del mundo, debido a las dos grandes barreras que la aíslan del Pacífico Central y del Gran Caribe (Robertson & Allen 2015). En esta región se presentan diversos sistemas de corrientes que varían estacionalmente y podrían actuar como barreras oceanográficas (Fiedler & Lavín 2017, Figura 1).

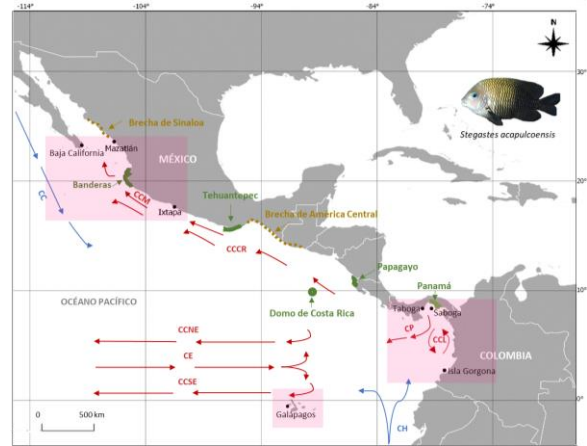


Figura 1. Mapa del área de estudio indicando las corrientes, brechas faunísticas (líneas punteadas color café), puntos de surgencia (en verde) y localidades de muestreo en el POT (dentro de recuadros color rosa). **CC:** Corriente de California, **CCM:** Corriente Costera Mexicana, **CCCR:** Corriente Costera de Costa Rica, **CP:** Corriente de Panamá, **CCL:** Corriente de Colombia, **CH:** Corriente de Humboldt, **CCNE:** Contracorriente Norecuatorial, **CE:** Corriente Ecuatorial y **CCSE:** Contracorriente Surecuatorial.

Especie de estudio

El pez damisela Acapulco, *Stegastes acapulcoensis* (Fowler 1944) (Pomacentridae), se distribuye ampliamente en la costa continental del POT, desde la Península de Baja California central (México) hasta Chile, incluyendo los archipiélagos de Revillagigedos y Galápagos, y las islas oceánicas de Malpelo e Isla del Coco (Allen & Woods 1980, Robertson & Allen 2015). Esta damisela endémica del POT, es común en arrecifes coralinos y rocosos. Dependiendo del lugar de colecta, la etapa larvaria pelágica puede durar entre 17 y 43 días (Wellington & Victor 1989, Rodríguez-Moreno, datos sin publicar). Los peces damisela tienen una PLD relativamente corta en comparación con otras familias de peces arrecifales, pero se considera que los géneros más extendidos del Pacífico oriental como *Stegastes* exhiben duraciones larvarias más largas y variables (Wellington & Victor 1989), periodo de tiempo que les permite dispersarse hacia nuevos hábitats que van más allá de su rango geográfico habitual (Grove et al. 1986). Incluso algunas

larvas logran desplazarse desde la costa del continente hasta las islas (Robertson & Allen 2015), y por esta razón, es que *S. acapulcoensis* puede encontrarse también en islas oceánicas de la región. Las estimaciones en relación con la tasa de dispersión del género *Stegastes* sugieren que las larvas se dispersan por corrientes a una velocidad máxima de 18 km/d (Victor 1987).

Muestras de tejido

Para este trabajo se contó con las muestras de tejido, por lo tanto, no fue necesario hacer trabajo de campo. Las muestras de Gorgona fueron colectadas por Melina Rodríguez Moreno entre los años 2010 y 2015 (Rodríguez-Moreno 2017). Los tejidos de las localidades de las islas Galápagos, México y Panamá fueron enviados por Giacomo Bernardi, Ph.D y Remy Gatins de la Universidad de California. Los 69 individuos de *Stegastes acapulcoensis* estudiados fueron colectados en las siguientes localidades del POT: Isla Rábida, Isla Genovesa e Isla Santa Cruz (agrupadas como Galápagos) (n=11); Isla Gorgona (n=15); Isla Contadora e Isla de Taboga (agrupadas como Panamá) (n=8); Ixtapa (n=17); Mazatlán (n=8) y Cabo San Lucas (nombrado Baja California) (n=10). Las localidades de México se dividieron en tres debido al elevado número de muestras disponibles en comparación con las otras localidades. A excepción de la localidad de muestreo en Mazatlán e Isla Contadora, todas las localidades de muestreo son AMP's del POT.

Extracción de ADN y amplificación

El ADN genómico fue extraído de las muestras de tejido de aleta o músculo con el kit de extracción DNeasy Blood and Tissue® de Qiagen™ siguiendo las instrucciones del fabricante. Se verificó su calidad y concentración en NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific™) y por medio de electroforesis en gel de agarosa al 0.8 %. Se amplificó el fragmento D-Loop de la región control mitocondrial con el

cebador universal CR-A (TTC CAC CTC TAA CTC CCA AAG CTA G) (Lee et al. 1995) y el cebador diseñado específicamente para *Stegastes* ST DLOOP H1 (CTG GAY AGA YRG CAC GGC ATG G) por Bernardi et al. (2014). Para el PCR se empleó el kit de amplificación GoTaq® Flexi DNA Polymerase 500u (M8295) de PROMEGA™, y se usó un termociclador Bio-Rad T100™. El Master Mix para la reacción de PCR contenía: 15.7 µl de ddH₂O, 5.0 µl 5X de buffer de PCR, 1.5 µl de MgCl₂ (25 mM), 0.5 µl de dNTP's (10 mM), 0.5 µl de cebador CR-A (10 µM), 0.5 µl de cebador STDLOOP (10 µM), 2.5 U de Taq Polimerasa y 1 µl de ADN, para un volumen total de reacción de 25 µl. Para descartar contaminaciones se incluyó un control negativo (sin ADN) en cada reacción.

Se realizó un PCR con el método touch-down para aumentar la especificidad de la reacción. El perfil térmico consistió en un primer ciclo de desnaturalización a 95 °C durante 2 minutos, seguido de 5 ciclos de desnaturalización durante 30 segundos a 95 °C, un alineamiento a 53 °C durante 30 segundos y una extensión a 72 °C durante 90 segundos. Se llevaron a cabo otros 5 ciclos con una temperatura de alineamiento de 51 °C por 30 segundos, seguidos de 25 ciclos con una temperatura de alineamiento de 49 °C por 30 segundos y un paso final de extensión a 72 °C durante 5 minutos.

Los productos de amplificación fueron evaluados por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % y aquellos productos con fragmentos de alrededor de 500 pb y una concentración entre 20 y 50ng/µL fueron enviados a Macrogen, Inc. (Seúl, Corea del Sur) donde fueron purificados con Sephadex™ (GE Healthcare Life Sciences) y posteriormente secuenciados con la técnica de secuenciación por capilaridad de Sanger.

Análisis de datos

Las secuencias obtenidas fueron alineadas por medio del algoritmo ClustalW en Geneious

v2021.1.1(Biomatters Ltd) y fueron editadas manualmente para descartar ambigüedades. El número de haplotipos (**K**), el número de sitios polimórficos (**S**) el número promedio de diferencias por nucleótidos (**k**) y el índice de neutralidad **R₂** (Ramos-Onsins & Rozas 2002) se calcularon con el programa DNAsp v6.0 (Librado & Rozas 2009). La historia demográfica fue examinada través de un análisis de distribución de diferencias (mismatch distribution) (Slatkin & Hudson 1991, Rogers & Harpending 1992) en DNAsp v6.0. Con el programa Arlequin v3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010), se estimaron la diversidad haplotípica (**H_d**) y nucleotídica (**π**), así como los índices de neutralidad demográfica **D_T** de Tajima, (Tajima 1989) **F_s** de Fu, (Fu 1997) y el estadístico demográfico de irregularidad de Harpending's (**r**) (Harpending et al. 1993). La distribución de la diversidad genética dentro y entre las localidades se cuantificó con un análisis de varianza molecular AMOVA (Excoffier et al. 1992) en Arlequin v3.5.2.2. Para determinar si las localidades estaban estructuradas genéticamente se calcularon las diferencias entre ellas por medio de un análisis pareado de los índices **Φ_{st}**. Para determinar la significancia de los valores p del análisis **Φ_{st}** se llevó a cabo una corrección de

Bonferroni (Rice 1989). Los índices estadísticos fueron interpretados con $\alpha = 0.05$. Se construyó una red de haplotipos que ilustra las relaciones entre los haplotipos muestreados, con el método de inferencia estadística TCS Network (Clement et al. 2002) en el programa PopART v1.7 (Leigh & Bryant 2015). En Excel se graficaron las tortas de haplotipos para cada localidad y se ubicaron en el mapa de acuerdo a su ubicación geográfica.

Resultados

Diversidad y estructura genética

Las 69 secuencias de la región control de ADNmt alineadas comprendían una longitud total de 431 pb, considerando 10 sitios con gaps. Se identificaron 50 sitios polimórficos (**S**), que incluían 23 sitios variables singleton (no informativos). Con base en los sitios variables se encontraron 50 haplotipos mitocondriales (**K**) de los cuales 44 fueron privados y 6 compartidos. En consecuencia, se encontraron altos niveles de diversidad haplotípica (**H_d** = 0.966). La diversidad nucleotídica (**π** = 0.071) evidencia la baja divergencia entre las secuencias debido a que los haplotipos difieren entre sí en un promedio de 3,6 sustituciones de nucleótidos (Tabla 1).

Tabla 1. Medidas de diversidad genética y estadísticos demográficos de *S. acapulcoensis* en las localidades del POT. **N** = número de individuos, **K** = número de haplotipos, **S** = número de sitios polimórficos **H_d** = diversidad haplotípica, **π** = diversidad nucleotídica, **D_T** = estadístico D de Tajima, **F_s** = estadístico Fs de Fu, **R₂** = estadístico Ramos-Onsins & Rozas y **r** = índice de irregularidad de Harpending.

Localidad	N	K	S	Diversidad genética		Estadísticos demográficos			
				H _d	π	Índices de neutralidad			
						D _T	F _s	R ₂	r
Baja California	10	8	14	0.956(± 0.059)	0.068 (± 0.043)	-1.454	-3.158*	0.172**	0.036
Mazatlán	8	7	13	0.964 (± 0.077)	0.088 (± 0.055)	-0.630	-2.221	0.186*	0.075
Ixtapa	17	14	20	0.948 (± 0.044)	0.073 (± 0.044)	-1.518*	-6.997***	0.142***	0.015
Panamá	8	7	9	0.964 (± 0.077)	0.049 (± 0.033)	-1.471	-3.894**	0.200**	0.068
Gorgona	15	13	21	0.981 (± 0.031)	0.076 (± 0.046)	-1.686*	-8.297***	0.148***	0.068
Galápagos	11	11	16	0.982 (± 0.046)	0.069 (± 0.043)	-1.638*	-6.124***	0.166***	0.054
Media			15.5	0.966	0.071	-1.399	-5.115*	0.100***	0.053
Total	69	50							

Nivel de significancia: * < 0.05, ** < 0.01, *** < 0.001

Gorgona y Galápagos mostraron los niveles más altos de diversidad genética (**H_d** = 0.981 y 0.982, respectivamente). Sin embargo, el número limitado

de muestras disponibles por localidad exige interpretar con cautela las estimaciones de

diversidad, debido a que estos valores pueden estar relacionados con el tamaño de la muestra.

Los valores Φ_{st} fueron bajos y no significativos en todas las localidades (Tabla 2). Se llevó a cabo una corrección de Bonferroni (Rice 1989) en la que ninguna de las pruebas arrojó resultados estadísticamente significativos obteniendo $q = 0.003$. Se descartó la significancia de los valores Φ_{st} que habían resultado significativos antes esta corrección. Debido a los valores Φ_{st} tan bajos se determinó que no existen diferencias genéticas entre las localidades.

Tabla 2. Valores de Φ_{st} pareados que indican si existe o no diferenciación genética entre las localidades de muestreo de *S. acapulcoensis*. En negrita se presentan los valores que resultaron significativos en primer nivel antes de la corrección de Bonferroni.

	Baja California	Mazatlán	Ixtapa	Panamá	Gorgona
Baja California					
Mazatlán	-0.019				
Ixtapa	-0.027	-0.020			
Panamá	0.003	0.067	0.033		
Gorgona	-0.008	0.046	0.034	-0.034	
Galápagos	0.016	0.077	0.050	-0.025	-0.014

Tabla 3. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de *S. acapulcoensis* en las localidades muestreadas del POT.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% variación	Índice de fijación	Valor p
AMOVA GLOBAL						
Entre localidades	5	10.258	0.024 Va	1.33		
Dentro de localidades	63	112.191	1.781 Vb	98.67	$\Phi_{st} = 0.013$	0.150 (± 0.001)
Total	68	122.449	1.805			

Índices demográficos

La prueba de neutralidad de Tajima (D_T) (Tajima 1989) fue negativa en todos los sitios y significativa ($p < 0.05$) para las localidades Ixtapa, Gorgona y Galápagos. Mientras que los valores de D_T para los individuos de Baja California, Mazatlán y Panamá resultaron no significativos ($p > 0.05$) (Tabla 1). Así mismo, la prueba F_s de Fu (Fu 1997) fue negativa en todos los casos y presentó distintos niveles de significancia. Mazatlán fue la única localidad que no presentó un F_s significativo (Tabla 1). Una señal de desviación

El análisis de varianza molecular AMOVA respalda la ausencia de estructura genética en las localidades (Tabla 3). Estos análisis estadísticos podrían mejorar y dar resultados más precisos con un tamaño de muestra mayor. De acuerdo con el análisis de varianza, el 96.5 % de la variación está explicada por las diferencias dentro de las localidades, es decir, que la variación genética al interior de las localidades fue mayor que la encontrada entre cada una de ellas y es la que contribuye con la variación total. El valor del estadístico $\Phi_{st} = 0.013$ del AMOVA, no fue significativamente diferente de cero ($p > 0.05$) respaldando la homogeneidad genética en *S. acapulcoensis*.

neutral negativa y significativa, indica expansión demográfica (Tajima 1989, Fu 1997). En ese mismo sentido, el índice R_2 (Ramos-Onsins & Rozas 2002) presentó valores significativos bajos y positivos en todas las localidades (Tabla 1), un indicativo de expansión demográfica (Ramos-Onsins & Rozas 2002). Este estadístico tiene mejor poder para detectar crecimiento en poblaciones pequeñas (Ramos-Onsins & Rozas 2002), lo que hace adecuada su interpretación para este estudio.

El gráfico de distribución de las diferencias pareadas entre las secuencias (mismatch

distribution) (Slatkin & Hudson 1991, Rogers & Harpending 1992) respalda la ocurrencia de eventos de crecimiento del tamaño poblacional, reflejados en la forma de distribución unimodal de las diferencias (Figura 2). El índice de irregularidad de Harpending r para cada una de las localidades resultó bajo y no significativo, respaldando el buen ajuste de las distribuciones observadas con las esperadas bajo el modelo de crecimiento (Harpending 1994, Tabla 1).

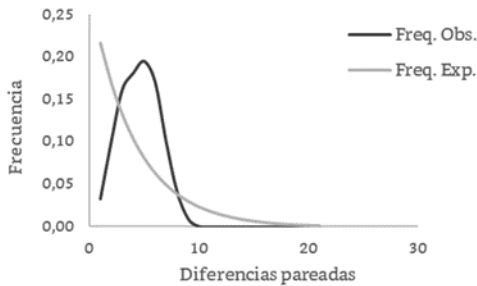


Figura 2. Patrón unimodal del análisis de distribución de desajustes (mismatch distribution) de *S. acapulcoensis* en las localidades de muestreo en el POT.

Red de haplotipos

La red de haplotipos mostró 50 haplotipos conectados según su similitud genética y cantidad de mutaciones (Figura 3). El haplotipo más abundante fue Hap_1 encontrado en 8 secuencias de 4 localidades de muestreo, seguido del haplotipo Hap_4 presente en 7 secuencias de 4 localidades. Estos haplotipos estarían representando los haplotipos ancestrales de la especie dada su considerable presencia en las localidades, así como su amplia distribución en el POT (Figura 4).

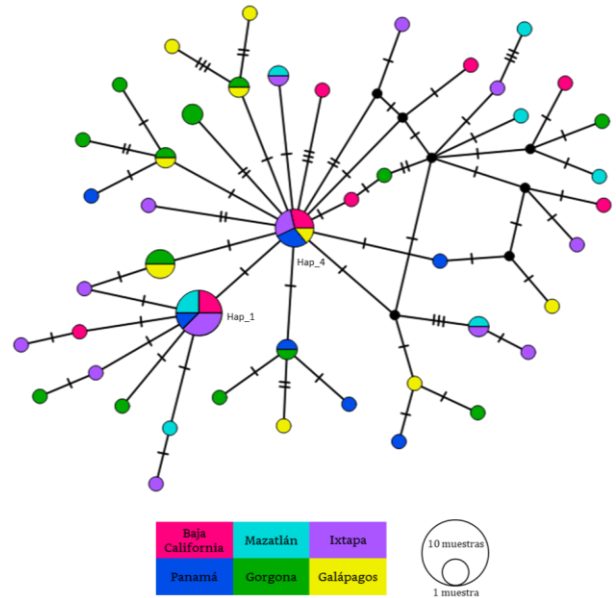


Figura 3. Red de haplotipos de 69 secuencias de la región control mitocondrial de *S. acapulcoensis* inferida bajo el método estadístico TCS Network. Cada círculo representa un haplotipo diferente y el tamaño de cada uno es proporcional al número de individuos con ese haplotipo. Las líneas cortas perpendiculares a las líneas de conexión representan el número de pasos mutacionales entre haplotipos. Los círculos negros corresponden a los haplotipos faltantes inferidos por el programa.

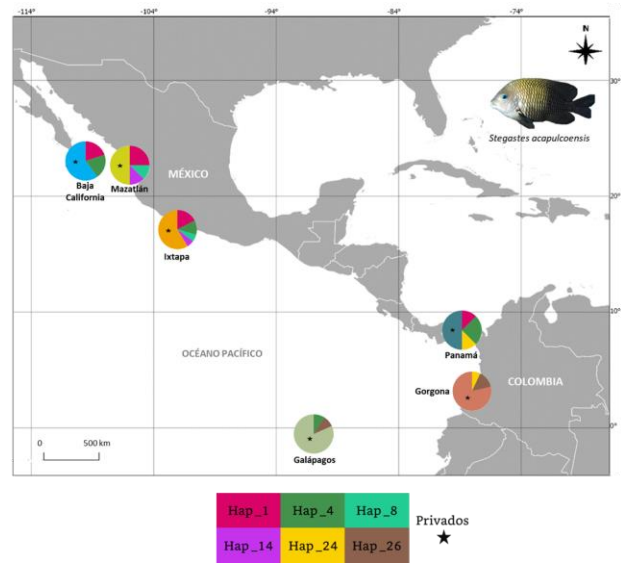


Figura 4. Mapa del área de estudio indicando la distribución de los haplotipos.

El haplotipo Hap_1 difiere del resto de haplotipos por 1 o 2 pasos mutacionales, mientras que el Hap_4 difiere de otros haplotipos por un número de mutaciones entre 1 hasta 8. Entre estos dos

haplotipos ocurrió un paso mutacional (Figura 3). En estos dos haplotipos considerados ancestrales no se encontraron secuencias de Gorgona y no se presentaron secuencias de Galápagos con el Hap_1 (Figura 4). Solo 2 haplotipos fueron compartidos con las otras localidades y uno de ellos Hap_26 se presentó exclusivamente en estos dos sitios (Figura 4).

Discusión

Este estudio examinó la diversidad y estructura genética del pez damisela *S. acapulcoensis* utilizando secuencias de la región control de ADN mitocondrial. Se evidenció que *S. acapulcoensis* tiene una alta conectividad genética a través del continente y las islas del POT. También se encontró alta diversidad genética en todas las localidades. Estos resultados muestran que, para esta damisela, las posibles barreras oceanográficas y geográficas presentes en esta región del Pacífico, no estarían interfiriendo con la dispersión larvaria de la especie, sino por el contrario, en el caso de las corrientes, la estarían facilitando. Resulta interesante examinar si este patrón de conectividad puede extrapolarse a otras especies arrecifales con duración larvaria, historia de vida y distribución similar a *S. acapulcoensis*.

Los valores Φ_{st} evidenciaron la alta conectividad y el flujo genético de *S. acapulcoensis* a lo largo de su rango geográfico de distribución. Si se asume el modelo de aislamiento por distancia, sería esperable que existiesen diferencias genéticas entre los puntos extremos de distribución de la especie, dada la distancia entre ellos e incluso entre localidades más cercanas debido a la gran escala geográfica de las localidades en este estudio. Sin embargo, esta homogeneidad genética podría ser el resultado de eventos de dispersión históricos, de incluso solo unos pocos individuos, los suficientes para homogeneizar genéticamente estas localidades, y, que no haya una señal de estructuración detectable por este marcador, el cual revela escenarios históricos de dispersión (Avice 1995, Shulman 1998).

En su mayoría, el flujo de genes aumenta la variabilidad genética en las poblaciones, contribuyendo así a su capacidad adaptativa (Reed & Frankham 2003, Martínez et al. 2018). Los valores de diversidad genética obtenidos para *S. acapulcoensis* son comparables con otros estudios de *Stegastes* en el POT (Urbiola-Rangel & Chassin-Noria 2013, León Pech 2015, Rodríguez-Moreno 2017) y en otras regiones biogeográficas (Ospina-Guerrero et al. 2008, Hepburn et al. 2009, Salas et al. 2010). *Stegastes acapulcoensis* se caracteriza por ser abundante en los arrecifes rocosos y coralinos del POT (Ceccarelli et al. 2006, Ramírez-Gutiérrez et al. 2007, Rodríguez-Moreno 2017) lo que podría explicar en parte la alta diversidad genética encontrada, mientras que especies con poblaciones pequeñas, suelen tener baja diversidad genética (Avice et al. 1984). Los índices demográficos y la red de expansión mínima entre haplotipos en forma de estrella evidenciaron una expansión poblacional de esta especie. La gran diversidad de haplotipos y la baja diversidad nucleotídica indican que hubo una rápida expansión (Avice et al. 1984). Muchos de estos haplotipos eran privados o únicos para ciertas localidades y se observaron en baja frecuencia. Estos estaban conectados a dos haplotipos ancestrales, los cuales eran compartidos por todas las localidades a excepción de Gorgona, donde no se presentó ninguno de los dos haplotipos, y Galápagos en donde solo se encontró uno de estos dos haplotipos. Los pocos pasos mutacionales entre los haplotipos ancestrales y el resto de haplotipos, evidencia la divergencia aparentemente reciente de estos haplotipos.

Los procesos de expansión poblacional a menudo están relacionados con fenómenos históricos y demográficos (Delrieu-Trottin et al. 2017). Algunos estudios en peces arrecifales del Pacífico también han encontrado evidencia de expansiones poblacionales, las cuales coinciden con el Último Máximo Glacial (LGM por sus siglas en inglés) ocurrido en el Pleistoceno, durante el cual la fluctuación de los niveles del mar impactó la distribución de especies (Delrieu-Trottin et al.

2017). Es presumible pensar que las expansiones reflejadas en los resultados de este estudio daten del Pleistoceno hace aproximadamente 26.500 – 19.000 años (Delrieu-Trottin et al. 2017).

Gorgona y Galápagos presentaron un alto número de haplotipos privados y bajo número de haplotipos compartidos con el resto de localidades. Además, solo estas dos localidades compartían el Hap_26. Estos datos nos llevan a pensar que hay una conexión entre Gorgona y Galápagos, así como entre el continente y estas islas. Es pertinente considerar la posibilidad de que estos mismos haplotipos se encuentren también en localidades no muestreadas entre Gorgona y Galápagos y entre el continente y las islas. Una evidencia de la conexión entre el continente y Galápagos es el haplotipo ancestral Hap_4, compartido con la mayoría de las localidades, entre ellas Panamá, desde donde podría haber llegado al archipiélago. Lo anterior podría ser propiciado por cambios en el patrón y velocidad de corrientes durante el ENSO (Grove 1984, Allen & Robertson 1994, Victor et al. 2001).

Aunque *Stegastes acapulcoensis* es una especie predominantemente continental (Allen & Woods 1980) y su presencia en Galápagos se considera rara, (Allen & Woods 1980, Grove et al. 1986) su distribución insular oceánica se atribuye a un evento de colonización reciente, provocado por los eventos extremos ENSO ocurridos entre 1982 – 1983 y 1997-1998 (Grove 1984, Robertson et al. 2004). Los eventos ENSO elevan la temperatura del mar, fenómeno que para algunos peces de las islas Galápagos resulta deletéreo ya que aumenta sus tasas de mortalidad, mientras que para algunos peces costeros del POT es una oportunidad para expandir su rango de distribución e incrementar su abundancia local (Grove 1984, Robertson et al. 2004). Este fue el caso para *S. acapulcoensis*, reportado como una de las especies costeras que más aumentó su abundancia en Galápagos por efecto del ENOS desde 1984 (Grove 1984, Allen & Robertson 1994, Victor et al. 2001). La continuidad en el reclutamiento y reproducción exitosa de esta especie en el archipiélago son un indicador de la

colonización ocurrida durante estas tres últimas décadas (Victor et al. 2001).

Durante el ENSO hay una acumulación masiva de agua que empuja las corrientes del POT hacia el norte en dirección a la CCCR hasta Baja California. La CCNE incrementa su velocidad, volumen y duración y la CE se desplaza entre 50 y 300 m de profundidad sobre el lado oeste de las islas Galápagos. Producto del debilitamiento de los vientos alisios que soplan desde el suroeste durante el ENSO, la CP fluye estacionalmente (enero - abril) llevando una gran masa de aguas superficiales en dirección suroeste hacia Galápagos, generando altas temperaturas en la humedad del aire y el agua (Wyrki 1985, Glynn & Ault 2000). Es probable que la CP durante el ENSO sea uno de los medios del transporte de larvas de *S. acapulcoensis* y de otras especies, desde las costas de Suramérica hacia las islas oceánicas.

Además del ENSO, los patrones comunes y los cambios estacionales de dirección de las corrientes también generan rutas de dispersión de organismos marinos (Lequeux et al. 2018). En el POT las principales rutas de transporte larvario se presentan a través de la costa de la región, producto del impacto de la CCNE en las costas de Centroamérica, formando la CCCR hacia el norte y la CP hacía el sur, y posteriormente incorporándose en la CE (Lequeux et al. 2018). Esto indica que hay un transporte e intercambio larval hacia el sur desde Panamá y hacia el norte desde Costa Rica, lo que podría explicar los resultados de conectividad encontrados a través de la costa del POT y entre el continente y las islas. Esta conexión estaría mediada también por la PLD, que propiciaría aún más el transporte entre las rutas a lo largo de la costa y entre el continente y las islas oceánicas (Lequeux et al. 2018). Adicionalmente, cabe resaltar que la conectividad en el POT puede ser también producto de las zonas intermedias “trampolines o stepping stones” como las islas (Lequeux et al. 2018). Por otra parte, se puede pensar que la conectividad encontrada a lo largo de la costa continental del POT a pesar de las dos

barreras geográficas de fondos blandos, es posible debido a que las larvas logran sobrepasar estas barreras por acción de las corrientes que fluyen sobre la costa y las transportan a ambientes idóneos para su asentamiento.

En general, los estudios realizados hasta ahora con diferentes marcadores genéticos sobre conectividad de especies congénicas de *S. acapulcoensis*, han reportado ausencia de diferenciación genética en distancias entre 300 y 1800 km, atribuyendo esta conectividad a los patrones de dirección de las corrientes marinas, que promueven el traslado de la especie a nuevos sitios (Shaklee 1984, Meekan et al. 2001, Ospina-Guerrero et al. 2008, Hepburn et al. 2009, Salas et al. 2010, Urbiola-Rangel & Chassin-Noria 2013, León-Pech 2015, Rodríguez-Moreno 2017). Los resultados de estos autores fueron consistentes con la homogeneidad genética encontrada en este estudio, la cual demuestra que existe conectividad entre las localidades estudiadas a pesar de que la distancia máxima entre ellas (≈ 4.070 km) es considerablemente mayor en comparación a las distancias en las investigaciones mencionadas. Estos resultados pueden considerarse esperables por la duración de la etapa larvaria pelágica de la especie y el patrón dinámico de las corrientes que estaría favoreciendo su dispersión en el POT (Doherty et al. 1995, Meekan et al. 2001).

Entender cómo funciona el flujo de genes entre las reservas, contribuye a establecer AMP's a distancias geográficas adecuadas, con el fin de promover la conectividad, considerando que el flujo genético es fuente importante de diversidad que puede otorgar características adaptativas a las especies (Botsford et al. 2001, Palumbi 2003, Balbar & Metaxas 2019). Este estudio es un aporte de información empírica sobre conectividad con gran utilidad para la validación de los modelos biofísicos de dispersión existentes para la región (Romero-Torres et al. 2017, Lequeux et al. 2018, Romero-Torres et al. 2018). Sin embargo, es necesario contrastar estos resultados con marcadores moleculares con diferente resolución

temporal (e.g. marcadores nucleares) y con capacidad de resolver diferenciación genética a escalas más finas (e.g. SNP's).

Este estudio logra examinar patrones de conectividad y estructura genética incluyendo localidades en gran parte del rango geográfico de un pez arrecifal cuya distribución abarca casi todo el Pacífico Oriental Tropical. Este esfuerzo fue posible gracias a la colaboración con investigadores internacionales, teniendo en cuenta que la distribución de muchas especies arrecifales abarca varios países. Colaboraciones de este tipo son urgentes para progresar en la investigación sobre conectividad en la región, ya que hay un déficit grande de información, y esta es necesaria para avanzar en los esfuerzos de conservación que se vienen dando en la región.

Agradecimientos

A la Dr. Melina Rodríguez Moreno de la Universidad del Valle por su apoyo en la escritura de este trabajo y en la parte práctica en el laboratorio. A ella gracias también por suministrarme sus muestras y reactivos. Agradezco especialmente a los colaboradores de la Universidad de California, el Dr. Giacomo Bernardi y Remy Gatins por proporcionarme muestras de tejido. Al Dr. Mateo López Victoria por conducirme a esta investigación. Al Dr. Jose Tavera por sus aportes y recomendaciones. Y finalmente, a la Pontificia Universidad Javeriana Cali por mi estancia en el Laboratorio de Biología Molecular.

Referencias

- Allen GR, Robertson DR (1994) Fishes of the tropical eastern Pacific. University of Hawaii Press, Honolulu. 332 p.
- Allen GR, Woods LP (1980) A review of the damselfish genus *Stegastes* from the Eastern Pacific with the description of a new species. Rec West Aust Mus. 8:171-198.
- Awise JC (1995) Mitochondrial DNA Polymorphism and a Connection Between Genetics and Demography of Relevance to Conservation. Biol Conserv. 9(3): 686-690.
- Awise JC, Neigel JE, Arnold J (1984) Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. J Mol Evol. 20(2):99-105.

- Balbar AC, Metaxas A (2019) The current application of ecological connectivity in the design of marine protected areas. *Glob Ecol Conserv.* 17: e00569.
- Bernardi G, Ramon ML, Alva-Campbell Y, McCosker JE, Bucciarelli G, et al. (2014) Darwin's fishes: phylogeography of Galápagos Islands reef fishes. *Bull Mar Sci.* 90(1):533-549.
- Botsford LW, Hastings A, Gaines SD (2001) Dependence of sustainability on the configuration of marine reserves and larval dispersal distance. *Ecol Lett.* 4:144-150.
- Ceccarelli DM, Jones GP, Laurence J (2001) Territorial damselfishes as determinants of the structure of benthic communities on coral reefs. *Oceanogr Mar Biol.* 39:355-389.
- Clement M, Snell Q, Walker P, Posada D, Crandall K (2002) TCS: Estimating gene genealogies. *IPDPS.* 2:184.
- Cowen RK, Gawarkiewicz G, Pineda J, Thorrold SR, Werner FE (2007) Population connectivity in marine systems an overview. *Oceanography.* 20:14-21.
- Cowen RK, Sponaugle S (2009) Larval dispersal and marine population connectivity. *Annu Rev Mar Sci.* 1:443-466.
- Craig MT, Eble JA, Bowen BW, Robertson DR (2007) High genetic connectivity across the Indian and Pacific Oceans in the reef fish *Myripristis berndti* (Holocentridae). *Mar Ecol Prog Ser.* 334:245-254.
- Craig MT, Hastings PA, Pondella DJ, Robertson DR, Rosales-Casian JA (2006) Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): implications for the biogeography of the Tropical Eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *J Biogeogr.* 33:969-979.
- Delrieu-Trottin E, Mona S, Maynard J, Neglia V, Veuille M, Planes S (2017) Population expansions dominate demographic histories of endemic and widespread Pacific reef fishes. *Sci Rep.* 7(1):1-13.
- Doherty PJ, Planes S, Mather P (1995) Gene flow and larval duration in seven species of fish from the Great Barrier Reef. *Ecology.* 76(8): 2373-2391.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Res.* 10:564-567.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics.* 131:479-491.
- Fiedler PC, Lavín MF (2017) Oceanographic conditions of the eastern tropical Pacific. In *Coral reefs of the eastern tropical Pacific.* Springer, Dordrecht. 59-83 pp.
- Fitzpatrick JM, Carlon DB, Lippe C, Robertson DR (2011) The west Pacific diversity hotspot as a source or sink for new species? Population genetic insights from the Indo-Pacific parrotfish *Scarus rubroviolaceus*. *Mol Ecol.* 20:219-234.
- Fowler HW (1944) Results of the fifth George Vanderbilt Expedition. *The fishes.* Monogr Acad nat Sci Philad. 6:57-529.
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics.* 147: 915-925.
- Glynn PW, Ault JS (2000) A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral reefs.* 19(1): 1-23.
- Grantham BA, Eckert GL, Shanks AL (2003) Dispersal potential of marine invertebrates in diverse habitats. *Ecol Appl.* 13(sp1):108-116.
- Graves JE, Ferris SD, Dizon AE (1984) Close genetic similarity of Atlantic and Pacific skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) demonstrated with restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. *Mar Biol.* 79(3):315-319.
- Grove JS (1984) Influence of the 1982-83 El Niño on the ichthyofauna on the Galápagos Archipelago. *Trop Ocean Atmos Newsl.* 28:18-19.
- Grove JS, Gerzon D, Saa MD, Strang C (1986) Distribución y ecología de la familia Pomacentridae (Pisces) en las Islas Galápagos. *Rev Biol Trop.* 34:127-140.
- Harpending HC (1994) Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Hum Biol.* 66:591-600.
- Harpending HC, Sherry ST, Rogers AR, Stoneking M (1993) Genetic structure of ancient human populations. *Curr Anthropol.* 34:483-496.
- Hepburn RI, Sale PF, Dixon B, Heath DD (2009) Genetic structure of juvenile cohorts of bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) along the Mesoamerican barrier reef: chaos through time. *Coral Reefs.* 28(1):277-288.
- Lee WJ, Conroy J, Howell WH, Kocher T (1995) Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *J Mol Evol.* 41(1):54-66.
- Leigh JW, Bryant D (2015) PopART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol.* 6(9):1110-1116.
- León-Pech MG (2015) Análisis comparativo de los patrones de conectividad genética de especies arrecifales del Pacífico mexicano. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 89 pp.
- Lequeux BD, Ahumada-Sempoal MA, López-Pérez A, Reyes-Hernández C (2018) Coral connectivity between equatorial eastern Pacific marine protected areas: A biophysical modeling approach. *PLOS ONE.* 13(8): e0202995.
- Lessios HA, Robertson DR (2006) Crossing the impassable: genetic connections in 20 reef fishes across the eastern Pacific barrier. *Proc R Soc B-Biol Sci.* 273:2201-2208.
- Librado P, Rozas J (2009) DNASP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics.* 25:1451-1452.
- Love MS, Mecklenburg CW, Mecklenburg TA, Thorsteinson LK (2005) Resource Inventory of Marine and Estuarine Fishes

- of the West Coast and Alaska: a checklist of North Pacific and Arctic Ocean species from Baja California to the Alaska-Yukon border. US Department of the Interior, USGS, Seattle, WA.
- Martinez AS, Willoughby JR, Christie MR (2018) Genetic diversity in fishes is influenced by habitat type and life-history variation. *Ecol Evol.* 8(23):12022-12031.
- Meekan MG, Ackerman JL, Wellington GM (2001) Demography and age structures of coral reef damselfishes in the tropical eastern Pacific Ocean. *Mar Ecol Prog Ser.* 212:223-232.
- Muss A, Robertson DR, Stepien CA, Wirtz P, Bowen BW (2001) Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. *Evolution.* 55:561-572.
- Ospina-Guerrero SP, Landinez-García RM, Rodríguez-Castro DJ, Arango R, Márquez E (2008) Genetic connectivity of *Stegastes partitus* in the South Caribbean evidenced by microsatellite analysis. *Ciencias Marinas.* 34(2):155-163.
- Palumbi SR (2003) Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecol Appl.* 13(sp1):146-158.
- Ramos-Onsins SE, Rozas J (2002) Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol Biol Evol.* 19(12):2092-2100.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conserv Biol.* 17:230-237.
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution.* 43(1):223-225.
- Robertson DR, Allen G (2015) Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific. In: Online Inf. Syst. Version 2.0 Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa. URL: <https://biogeodb.stri.si.edu/sfstep/es/pages/generalinfo#4.1>
- Robertson DR, Cramer KL (2009) Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Mar Ecol Prog Ser.* 380:1-17.
- Robertson DR, Grove JS, McCosker JE (2004) Tropical transpacific shore fishes. *Pac Sci.* 58(4):507-565.
- Rodríguez-Moreno M (2017) Biogeografía, patrones de conectividad y ecología de peces damisela del género *Stegastes* del Pacífico Oriental Tropical (Tesis Doctoral). Cali: Universidad del Valle, pp 140.
- Rogers AR, Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol Biol Evol.* 9(3):552-569.
- Romero-Torres M, Acosta A, Treml EA (2017) The regional structure of spawning phenology and the potential consequences for connectivity of coral assemblages across the Eastern Tropical Pacific. *ICES J Mar Sci.* 74(3):613-624.
- Romero-Torres M, Treml EA, Acosta A, Paz-García DA (2018) The Eastern Tropical Pacific coral population connectivity and the role of the Eastern Pacific Barrier. *Sci Rep.* 8(1): 1-13.
- Saarman NP, Louie KD, Hamilton H (2010) Genetic differentiation across eastern Pacific oceanographic barriers in the threatened seahorse *Hippocampus ingens*. *Conserv Genet.* 11:1989-2000.
- Salas E, Molina-Ureña H, Walter RP, Heath DD (2010) Local and regional genetic connectivity in a Caribbean coral reef fish. *Marine Biology.* 157(2):437-445.
- Shaklee JB, Samollow PB (1984) Genetic variation and population structure in a deepwater snapper, *Pristipomoides filamentosus*, in the Hawaiian archipelago. *US Fish Bull.* 82(4):703-713.
- Shulman MJ (1998) What can population genetics tell us about dispersal and biogeographic history of coral-reef fishes? *Aust J Ecol.* 23: 216-225.
- Slatkin M, Hudson RR (1991) Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics.* 129(2):555-562.
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics.* 123:585-595.
- Thomson DA, Findley LT, Kerstich A (1979) Reef fishes of the Sea of Cortez. Wiley, New York.
- Urbiola-Rangel E, Chassin-Noria O (2013) Genetic connectivity of *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) on Mexican Central Pacific. *Hidrobiológica.* 23(3): 415-419.
- Victor BC (1987) Growth, dispersal, and identification of planktonic labrid and pomacentrid reef-fish larvae in the eastern Pacific Ocean. *Mar Biol.* 95:145-152.
- Victor BC, Wellington GM, Robertson DR, Ruttenberg BI (2001) The effect of the El Niño-Southern Oscillation event on the distribution of reef-associated labrid fishes in the eastern Pacific Ocean. *Bull Mar Sci.* 69(1):279-288.
- Walker BW (1960) The distribution and affinities of the marine fish fauna of the Gulf of California. *Syst Zool.* 9(3,4):123-133.
- Weersing K, Toonen RJ (2009) Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Mar Ecol Prog Ser.* 393:1-12.
- Wellington GM, Victor BC (1989) Planktonic larval duration of one hundred species of Pacific and Atlantic damselfishes (Pomacentridae). *Mar Biol.* 101(4):557-567.
- Wyrki K (1965) Surface currents of the eastern tropical Pacific Ocean. *Bull Inter-American Trop Tuna Com.* 9(5):269-304.