



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



Facultad de Biología

Coordinación de Estudios de Posgrado

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

Ecología y Conservación

Filogenia, biogeografía y filogeografía sugieren especiación crítica en *Scorpaenodes xyris* (Scorpaenidae: Teleostei)

TESIS

Para obtener el grado de

Maestro en Ciencias Biológicas

Que presenta:

Biol. Moises Emanuel Bernal Hernández

TUTOR:

DR. OMAR DOMÍNGUEZ DOMÍNGUEZ

Morelia Michoacán, Agosto de 2017

Resumen

Objetivo. La historia evolutiva de los peces marinos con fuerte asociación a sustratos rocosos y hábitos ecológicos crípticos, está fuertemente asociada a las discontinuidades de hábitat así como a los procesos oceanográficos regionales. Por lo que el objetivo de la presente investigación es elucidar las relaciones evolutivas, filogeográficas y biogeográficas en las poblaciones de la especie *Scorpaenodes xyris* en todo su rango de distribución.

Localidad. Las regiones biogeográficas del Pacífico Oriental Tropical: Provincia de Cortés, provincia Mexicana, provincia Panámica, provincia de Galápagos e islas oceánicas (Revillagigedo y Clipperton).

Métodos. Se utilizaron el gen mitocondrial *cox1* y el gen nuclear *rho* para obtener las hipótesis filogenéticas por medio de inferencia bayesiana (IB) y máxima verosimilitud (MV). Se estimaron índices de diversidad genética y se realizaron pruebas de neutralidad D de Tajima y F de Fu. Se realizaron análisis de varianza molecular para evaluar la variación genética de grupos y poblaciones. Se realizaron arboles de especies mediante un modelo bayesiano jerárquico (*STARBEAST). Se estimaron tiempos de divergencias y las historia biogeográfica del grupo a partir de un análisis de dispersión – extinción – cladogénesis.

Resultados. Las hipótesis filogenéticas evidenciaron a la especie *S. tredecimspinosus* como grupo hermano de *S. xyris*, así como 3 clados dentro de *S. xyris*. Uno que agrupa a la especie del caribe *Scorpaenodes tredecimspinosus* (Clado A), otro que agrupa a los organismos de las provincias Mexicana y Panámica (Clado B) y un clado isleño, que agrupa organismos recolectados en las provincia de Galápagos, Cortes, Isla Clipperton y Archipiélago de Revillagigedo (Clado C). El árbol de especies evidencio la presencia de 4 posibles especies

dentro de *S. xyris*. Por último se encontró una estrecha relación en la conformación de *S. xyris* y sus poblaciones altamente divergentes con la formación paulatina del Istmo de Panamá, y la formación de las islas oceánicas.

Conclusiones principales. La amplia distribución de la especie *S. xyris* se vio reflejada en proceso de dispersión y vicarianza relacionados con eventos geológicos complejos, como lo es la formación del Istmo de Panamá, formación de islas (Galápagos, Revillagigedo y Clipperton) así como la formación paulatina del Golfo de California. Las relaciones entre *S. xyris* y *S. tredecimspinosus* están fuertemente ligadas a un Istmo en formación así como a eventos oceanográficos históricos que moldearon la distribución del complejo de especies en *S. xyris*.

Palabras clave.

Pacífico Oriental Tropical, huella evolutiva, relaciones evolutivas, especie hermana, complejo de especies, Istmo de Panamá, eventos oceanográficos.

Abstract

Objective. The evolutionary history of marine fishes with strong association to rocky substrates and cryptic ecological habits is strongly associated with habitat discontinuities as well as regional oceanographic processes. Therefore, the objective of the present research is to elucidate the evolutionary, phylogeographic and biogeographic relationships in the populations of the species *Scorpaenodes xyris* throughout its range of distribution.

Location. The biogeographic regions of the Tropical Eastern Pacific: Cortés Province, Mexican province, Panamanian province, Galapagos province and oceanic islands (Revillagigedo and Clipperton).

Methods. The mitochondrial gene *coxI* and the nuclear gene *rho* were used to obtain the phylogenetic hypotheses by Bayesian inference (IB) and maximum likelihood (MV). Rates of genetic diversity were estimated and neutrality tests of Tajima and Fu F were performed. Molecular variance analyzes were performed to evaluate the genetic variation of groups and populations. Species trees were made using a hierarchical Bayesian model (* STARBEAST). Divergence times and biogeographic history of the group were estimated from analysis of dispersion-extinction-cladogenesis.

Results. The phylogenetic hypotheses evidenced the species *S. tredecimspinosus* as a sister group of *S. xyris*, as well as 3 clades within *S. xyris*. One that groups to the species of the Caribbean *Scorpaenodes tredecimspinosus* (Clado A), another one that groups to the organisms of the Mexican and Panamic provinces (Clado B) and an island clade that groups organisms collected in the province of Galápagos, Cortes, Clipperton Island And Revillagigedo Archipelago (Clado C). The species tree evidenced the presence of 4 possible species within

S. xyris. Finally, a close relationship was found in the conformation of *S. xyris* and its highly divergent populations with the gradual formation of the Isthmus of Panama, and the formation of the oceanic islands.

Main conclusions. The wide distribution of the *S. xyris* species was reflected in a dispersal and vicarious process related to complex geological events, such as the formation of the Isthmus of Panama, formation of islands (Galapagos, Revillagigedo and Clipperton) as well as the gradual formation of the Gulf of California. The relationships between *S. xyris* and *S. tredecimspinosus* are strongly linked to a forming Isthmus as well as historical oceanographic events that shaped the distribution of the species complex in *S. xyris*.

Índice.

Introducción	7
Materiales y métodos	11
Recolección de muestras	11
Extracción, amplificación y alineamiento	12
Inferencia filogenética y redes de haplotipos.....	12
Índices de diversidad, pruebas de neutralidad y AMOVA.....	13
Árbol de especies	14
Tiempos de divergencia.....	15
Análisis de áreas ancestrales.....	16
Resultados.....	16
Inferencia filogenética.....	17
Red de haplotipos	17
Índices de diversidad, pruebas de neutralidad y AMOVA	19
Arboles de especies	20
Tiempos de divergencia y áreas ancestrales	20
Discusión	21
Historia evolutiva y biogeográfica entre el Atlántico y Pacífico	22
Evolución y biogeográfica de <i>S. xyris</i>	24
Eventos de dispersión	27
Implicaciones taxonómicas.....	29
Conclusiones	30
Literatura citada.....	31
Contenido.....	45
Anexos.....	58

Introducción

Entender los patrones y procesos que han moldeado la diversidad y riqueza de especies en los océanos es crucial para conocer la evolución de la biota en zonas con altos niveles de endemismo, ya que suponen la inclusión de historias evolutivas únicas (Briggs y Bowen 2012). Áreas que presentan biotas con distintas afinidades evolutivas son catalogadas como provincias biogeográficas, las cuales presentan cierto grado de endemismo, por lo que, mientras mayor sea el porcentaje de endemismos en un área, mayor será la significancia evolutiva. (Briggs 1974). La regionalización biogeográfica en las áreas costeras es basada en el reconocimiento de especies válidas (Randall 2007, Briggs y Bowen 2012), sin embargo, estudios genéticos han revelado la presencia de especies taxonómicamente cripticas, por lo que la descripción de nuevos taxones ha ido en aumento en las últimas décadas (Craig *et al.* 2006, Poss *et al.* 2010, Motomura y Kanade 2015, Henriques *et al.* 2016, Baldwin *et al.* 2016) lo que sugiere que la riqueza de especies en una región biogeográfica determinada podría estar subestimada. Por lo que la falta de conocimiento de la diversidad genética dentro de una especie implica la subestimación de procesos evolutivos.

Las especies taxonómicamente cripticas son consideradas como especies con bajas diferencias morfológicas, pero, altas diferencias genéticas, las cuales son clasificadas como una única unidad evolutiva (Sáez y Lozano 2005, Bickford *et al.* 2007, Zúniga-Reinoso y Benítez 2015). Esto se debe a que históricamente la clasificación de las especies se basa en estudios morfológicos, lo que puede llevar a errores de identificación, y por consecuencia, subestimar la diversidad de especies con sus inherentes implicaciones para la conservación de la biota. En especial, las regiones tropicales han sido catalogadas como zonas con alta

especiación críptica, debido principalmente a que las especies que habitan estas zonas están implicadas en interacciones intraespecíficas especializadas (Bickford *et al.* 2007). En general, la especiación ocurre cuando existe un aislamiento reproductivo parcial o completo de las poblaciones (Palumbi 1994, Frankham *et al.* 2002). El aislamiento de las poblaciones puede estar dado por la presencia de barreras que impidan el flujo genético entre ellas. La especiación alopátrica ha sido considerada como la principal vía de especiación en organismos tanto marinos como terrestres (Pulay y Meyer 2002).

En este sentido, el océano ha sido considerado como un medio continuo sin barreras biogeográficas que puedan interrumpir el flujo genético, lo cual, aunado a que la mayoría de los peces marinos presentan una etapa larvaria de tipo pelágica, con una alta capacidad de dispersión, resultaría en poblaciones genéticamente homogéneas (Palumbi 1994, Muss *et al.* 2001). Por otra parte, las condiciones ambientales pueden jugar un papel determinante en posibles eventos de colonización y asentamiento de las larvas que han sido capaces de dispersarse, ya sea en zonas núcleo o nuevas zonas de asentamiento (Bergenius *et al.* 2005). Sin embargo, en estudios tanto a gran escala como a escalas regionales, se han descubierto especies estructuradas geográficamente, lo que evidencia la presencia de barreras al flujo genético (Nosil y Crespi 2006), explicando dicha estructura mediante aislamiento por distancia (Duncan 2006), corrientes (Craig *et al.* 2006), temperatura (Stepien *et al.* 2001, Henriques *et al.* 2016), eventos geológicos históricos (Terry *et al.* 2000), procesos oceanográficos locales (Browan 1994), disponibilidad de hábitat (Hastings 2000, Szabó *et al.* 2006), la duración de la larva pelágica (Cowen *et al.* 2005), comportamiento de las larvas (Lecchini 2005) y estrategias reproductivas (Brogan 1994, Victor y Wellington 2000, Riginos y Victor 2001).

Esto es especialmente importante en regiones como el Pacífico Oriental Tropical (POT), el cual presenta una alta heterogeneidad de hábitats y fuerte inestabilidad oceanográfica, permitiendo el desarrollo de procesos evolutivos únicos, los cuales han generado diversos patrones de riqueza y abundancia de la comunidad íctica que pueden verse reflejados en diferencias genéticas entre especies que allí habitan (Terry *et al.* 2000, Mora y Robertson 2005, Duncan 2006, Craig *et al.* 2006, Henriques *et al.* 2016), por otro lado, la evolución entre las especies hermanas del POT y del Atlántico Occidental (Aoc), pueden aportar información importante de las interacciones evolutivas entre ambos linajes en espacio y tiempo (Galván-Quesada *et al.* 2016). La región biogeográfica del POT está delimitada al norte desde Bahía Magdalena en la península de Baja California, incluye todo el Mar de Cortés, México y hacia el sur hasta Cabo Blanco, al norte de Perú, incluyendo todas las islas oceánicas (Allen y Robertson 1998, Zapata y Robertson 2009). La zona costera del POT está caracterizada por la existencia de un hábitat rocoso continuo, el cual es interrumpido por dos zonas importantes de arena, fango y manglares, denominadas brecha de Sinaloa (370 Km) y brecha centroamericana (750 km), así como la extensión de mar abierto, y profundo que comprende la distancia existente entre el continente y las islas oceánicas, teniendo la distancia más grande para la Isla Clipperon (1300 Km) con respecto a Acapulco, Guerrero y la más pequeña para el Archipiélago de Revillagigedo (382.7 Km) con respecto a Cabo San Lucas, Baja California (Glynn *et al.* 1996, Glynn y Ault, 2000, Anónimo 2004).

A su vez el POT ha sido dividido en provincias biogeográficas de acuerdo al nivel de endemismos de cada región, así como la distribución de peces, invertebrados y algas tropicales, sin embargo, el número y límite de dichas provincias son aún motivo de controversias. Utilizando como criterio el endemismo de peces costeros y arrecifales, Hubbs

(1952) y Springer (1959) han reconocido la existencia de tres provincias biogeográficas, Mexicana, Panámica y de Cortés, mientras Hastings (2000) incluyen una cuarta provincia, la de Galápagos. Por su parte, Walker (1960) propone la existencia de dos provincias, la de Cortés y Mexicana, mientras que Briggs (1974) no reconoce a la provincia de Cortés como parte del POT, por lo que reconoce tres provincias, la Mexicana, Panámica y la de Galápagos. Spalding *et al.* (2007) propone la existencia de dos provincias, la de Galápagos y la Panámica. Por último, Robertson y Cramer (2009) proponen la existencia de la provincia de Cortés, la Panámica y una denominada Islas Oceánicas, que incluye a los cinco grupos principales de islas Oceánicas del POT.

En estas regionalizaciones se usaron a los peces como grupo central para su establecimiento, siendo los peces arrecifales con fuerte asociación al sustrato, los que han evidenciado de manera más clara los límites entre dichas provincias. En este sentido, los peces escorpión del género *Scorpaenodes* son un grupo que reúnen estas características, ya que se encuentran fuertemente asociados a arrecifes tropicales, además de presentar una baja movilidad en su estadio adulto (Eschmeyer 1969). Son conocidos como peces roca o peces escorpión. En América se encuentran cinco especies descritas, tres para el Atlántico Occidental (AOc), *S. caribbaeus*, *S. tredecimspinosus* y *S. barrybrowni* y dos para el POT, *S. xyris* y *S. rubrivinctus*, el primero es de aguas someras y el segundo un pez de profundidad (160 – 400 mts) (Jordan y Gilbert 1883, Nichols y Murphy 1922, Poss *et al.* 2010, Baldwin *et al.* 2016). *Scorpaenodes xyris* es considerada una especie ecológicamente críptica y de talla pequeña (>14 cm) (Grove y Lavenberg 1997, Allen y Robertson 1998), con amplia distribución en el POT (Allen y Robertson 2015).

Por lo que, en el presente estudio se analizaron secuencias del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa Sub unidad I (*coxI*), el gen nuclear rodopsina (*rho*) y Melanocortin receptor tipo I (*MC1R*) en diferentes poblaciones distribuidas en todo el rango de distribución de *S. xyris*, además se incluyen las especies de aguas someras del Atlántico con el fin de 1) Elucidar las relaciones evolutivas entre las poblaciones de *S. xyris* a lo largo de su distribución, 2) elucidar las relaciones evolutivas entre las poblaciones de *S. xyris* y las especies del Atlántico 3) describir los procesos biogeográficos históricos que han contribuido a la distribución actual de los linajes genealógicos y 4) realizar las recomendaciones taxonómicas pertinentes.

Materiales y métodos

Recolección de muestras

Se recolectaron un total de 284 organismos en todo el rango de distribución de *S. xyris*. La captura de los organismos se realizó con ayuda de equipo autónomo SCUBA y con esencia de clavo como anestésico (Robertson y Smith-Vaniz 2010). Para los análisis genéticos se obtuvo un trozo de aleta pectoral derecha de cada organismo, las cuales fueron preservadas en alcohol absoluto grado analítico a -75°C. Los individuos fueron etiquetados y fijados en formol al 5%, para posteriormente ser identificados, preservados en etanol al 70% e incorporados a la colección de peces de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (MICH.-PEC-227-07-09). Se incluyeron 24 muestras procedentes de la Isla Clipperton, 6 muestras de la especie *Scorpaenodes tredecimspinosus* y una muestra de *Scorpaenodes caribbaeus* proporcionadas por el Smithsonian Institution, Washington D.C.,

así como 2 muestras de las Islas Marías - Jalisco proporcionadas por el Scripps Institution of Oceanography, San Diego, California (Tabla 1).

Extracción, amplificación y alineamiento

La extracción de ADN se llevó a cabo mediante el método convencional de extracción proteinasa K/fenol/cloroformo (Hills *et al.* 1996). El protocolo de amplificación de los tres marcadores se encuentra en el Anexo 1. Con el apoyo de los cromatogramas se corroboró la secuencia, con el objeto de descartar posibles errores de secuenciación. El alineamiento de las secuencias se realizó manualmente utilizando el programa MEGA 7.0 (Kumar *et al.* 2015). El gen nuclear *rho* presentó heterocigotos por base puntuada, por lo que se obtuvieron los dos alelos correspondientes con el algoritmo PHASE v. 2.0 (Stephens y Donnelly 2003) con el programa DNAsp v.5.10 (Librado y Rozas 2009). Para evaluar si los marcadores nucleares estaban bajo efecto de recombinación se realizaron las pruebas de recombinación bajo el programa Splitstree v.4.14.4 (Huson y Bryant 2006). Para el gen *MC1R* se encontró evidencia de recombinación ($p=0.0021$), por lo que este gen fue excluido de los análisis.

Inferencia filogenética y redes de haplotipos

Los modelos evolutivos para cada uno de los genes se obtuvieron mediante el programa PartitionFinder v. 1.1.0 (Lanfear *et al.* 2012) mediante el criterio de información de Akaike (AIC). Para la obtención de las hipótesis filogenéticas se utilizó el método de inferencia bayesiana (IB) y de Máxima Verosimilitud (MV), con una matriz concatenada (*cox1*, *rho*) usando como grupo interno a todas las especies de *Scorpaenodes xyris*, *S. tredecimspinosus*

y *S. caribeus* obtenidas en el presente estudio, además de las secuencias de *S. minor*, *S. corallinus* y *S. guamensis* obtenidas de GenBank (Anexo 2). Como grupo externo se incluyó a *Pterois volitans* de acuerdo a lo presentado por Lautredou *et al.* (2013). El modelo utilizado para el análisis de MV fue GTRGAMMA mientras que los modelos seleccionados para el análisis de IB fueron TN93+I+G para el gen *coxI* y GTR+I+G para el gen *rho*. El soporte de los nodos se evaluó utilizando 1000 réplicas de bootstrap en MV. En el análisis de IB se hicieron 2 simulaciones con 5,000,000 de generaciones y 4 cadenas de Markov, muestreando cada 1000 árboles en el portal CIPRES (www.phylo.org) mediante la herramienta MrBayes en XSEDE (Huelsenbeck *et al.* 2011). Los valores de SSE fueron corroborados (>200) en el programa TRACER v.1.6. (Rambaut 2014). De los arboles resultantes se descartó el 10% (500) mediante el programa TREEANOTATOR V.1.8.3 (Rambaut y Drummond 2010), y el árbol consenso fue visualizado en FIGTREE v.1.4.2. (Rambaut 2014).

Se realizó una red de haplotipos de cada uno de los genes mediante el método Median Joining (Bandelt *et al.* 1999) en el programa Popart 1.7 (Leigh y Bryant 2015). Para las redes de haplotipos se utilizaron 284 secuencias del gen *coxI* y para *rho* se utilizaron los dos alelos obtenidos, haciendo un total de 274 secuencias pertenecientes a 137 individuos. Debido a la cercanía filogenética y los resultados de los análisis filogenéticos se incluyeron organismos de las especies *S. xyris* y *S. tredecimspinosus*.

Índices de diversidad, pruebas de neutralidad y AMOVA

Se obtuvieron los índices de diversidad genética, número de haplotipos (H_n), diversidad haplotídica (H_d), diversidad nucleotídica (π ; Nei, 1987) y el número de sitios polimórficos (S), mediante el programa DNAsp v. 5.10 (Librado y Rozas 2009). Se obtuvieron los análisis de neutralidad D de Tajima (Tajima, 1989) y F_s de Fu (Fu 1996) con el programa Arlequin 3.5.2.2

(Excoffier y Lische, 2010). Estos análisis se realizaron para los dos genes y todas las muestras de *S. xyris*, así como para cada una de las provincias biogeográficas de acuerdo a Hastings (2000) (Mexicana, Panámica, de Cortés y de Galápagos). Aunado a lo anterior, y dado que en esta regionalización del POT el Archipiélago de Revillagigedo y la Isla de Clipperton no están representadas, se tomaron cada una como grupos independientes (Tabla 1).

Con el objetivo de encontrar el arreglo que maximice la variación genética entre y dentro de las poblaciones, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) para cada uno de los marcadores moleculares. Se realizaron tres agrupamientos, el primero tomando en cuenta las provincias Mexicana, Panámica, de Cortés y de Galápagos, además de las islas del Archipiélago de Revillagigedo y la Isla de Clipperton. El segundo arreglo está basado en la propuesta de Robertson y Cramer (2009), donde reconoce en la parte continental a las provincias de Cortés y la Panámica, además de una provincia llamada islas oceánicas, donde se incluyen a Revillagigedo, Clipperton y Galápagos. Por último se realizó un tercer agrupamiento el cual se basó en los clados recuperados en los análisis filogenéticos (Tabla 2).

Se calcularon las distancias genéticas medias no corregidas (ρ -distance) para los dos marcadores (*cox1* y *rho*) mediante el software MEGA 7.0, para evaluar el grado de divergencia entre las provincias biogeográficas e islas, así como entre *Scorpaenodes xyris* y *Scorpaenodes tredecimspinosus* (Tabla 3).

Árbol de especies

Se utilizó el modelo bayesiano jerárquico implementado en Beast v.1.8.0 (Heled y Drummond 2010), con la finalidad de establecer si cada uno de los clados recuperados en las inferencias

filogenéticas podrían representar entidades taxonómicas independientes. Se utilizaron ocho secuencias por provincias biogeográficas continentales (de Cortés, Mexicana y Panámica) y de cada una de las islas oceánicas. Se utilizaron los dos alelos del gen nuclear *rho*, reconstruidos por DNAsp v. 5.10. Con el objetivo de poner a prueba a todos los grupos genéticos encontrados en los análisis previos se realizaron cuatro análisis independientes, 1) Provincia de Galápagos/ Cortés / Revillagigedo-Clipperton/ Mexicana-Panámica; 2) Provincia de Galápagos/ Cortés-Revillagigedo-Clipperton/ Mexicana-Panámica; 3) Provincia de Galápagos/ Cortés/ Revillagigedo/ Clipperton/ Provincias Mexicana – Provincia Panámica y 4) Provincia de Galápagos/ Cortés-Revillagigedo/ Clipperton/ Provincias Mexicana – Panámica. Para ello se utilizaron 90 millones de generaciones muestreando cada 1000 árboles. Se evaluó la convergencia de las cadenas de Markov mediante el programa TRACER V.1.6. (Rambaut 2014), y se descartó el 10% de las topologías mediante el programa TREEANOTATOR V.1.8.3 (Rambaut y Drummond 2010).

Tiempos de divergencia

Los tiempos de divergencia se estimaron bajo un modelo de especiación Birth – Death Process (Gernhard 2008), utilizando especies del género *Scorpaenodes* de las cuales se tenían secuencias así como especies del género *Scorpaena* y *Pterois* (Tabla 1 y Anexo 2). Se utilizó un reloj molecular relajado no correlacionado y los modelos de evolución nucleotídica obtenidos por PartitionFinder v. 1.1.0 (TrN93+I+G para el gen *cox1* y GTR+I+G para *rho*). Como punto de calibración se utilizaron dos fósiles; uno ubicado en la base del género *Scorpaenodes* (33.9 – 28.4 Ma, Pauca, 1931) y otro en la base del género *Scorpaena* (66.0 – 61.6 Ma, Bernecker y Weidlich 1990), utilizando una distribución lognormal, la cual es utilizada generalmente para información paleontológica, ya que puede asignar un punto alto de

probabilidad para la edad nodal, la cual puede ser mayor al fósil más antiguo (Ho y Phillips 2009). Se utilizaron 10 millones de generaciones, muestreando cada 1000 topologías, se descartó el 10% de las topologías mediante el programa TreeAnnotator v.1.8.3 para construir un árbol consenso. Se utilizó el valor de probabilidades posteriores bajo intervalos de confianza del 95% (Highest Posterior Density-HPD) para evaluar el soporte de los nodos.

Análisis de áreas ancestrales

Se utilizó el árbol fechado previamente obtenido en el software Beast v.1.8.3 (Drummod *et al.* 2007). En el programa Rasp v.3.1 se realizó un análisis de dispersión – extinción – cladogenesis (DEC) (Yu *et al.* 2014). Las áreas se definieron basados en la regionalización del POT propuesta por Hastings (2000) incluyéndose el Archipiélago de Revillagigedo y la Isla de Clipperton como unidades independientes, además del Atlántico para *S. tredecimspinosus* y *S. caribbaeus*. La áreas se codificaron de la manera siguiente (A) provincia Mexicana – Panámica, (B) Clipperton, (C) provincia de Cortés, (D) provincia de Galápagos, (E) Revillagigedo, y (F) Atlántico.

Resultados

Se obtuvieron 284 secuencias para la especie *Scorpaenodes xyris*, seis para *S. tredecimspinosus* y una para *S. caribeus* con una longitud de 592 pares de bases (pb) para el gen mitocondrial *coxI*. Las secuencias del gen nuclear *rho* resultantes de PHASE fueron 272 con una longitud de 694 pb y para el gen *MC1R* fueron 256 con un tamaño de 722 pb, mientras que para *S. tredecimspinosus* se obtuvieron 12 secuencias y dos para *S. caribbaeus* resultantes de los alelos obtenidos por DNAsp v. 5.10. Los análisis de recombinación no

mostraron evidencia de recombinación para el gen *rho* ($p=0.4691$), por el contrario, en el gen *MC1R* se encontró evidencia de recombinación ($p=0.0021$), por lo que este gen fue excluido de los análisis.

Inferencia filogenética

Las relaciones filogenéticas con la matriz concatenada para ambos métodos (IB y MV) mostraron a la especie *Scorpaenodes caribbeus* como el grupo hermano de las especies *S. xyris* y *S. tredecimspinosus* (Figura 1). Entre estas últimas, se muestra la formación de tres clados independientes, el clado A congrega a los organismos de *S. tredecimspinosus*, el clado B agrupa a los organismos de *S. xyris* de las provincias Mexicana y Panámica y el clado C agrupa a los individuos de *S. xyris* de las Islas Oceánicas y de la provincia de Cortés, sin embargo las relaciones entre estos clados no fueron resueltas. El clado de las Islas Oceánicas y de la provincia de Cortés a su vez se subdivide en dos subclados, uno que agrupa los organismos del Archipiélago de las Galápagos (ScI) y otro que agrupa a los organismos de la provincia de Cortés, el Archipiélago de Revillagigedo y Clipperton (ScII), en este último se observa cierto grado de segregación de los especímenes por región.

Red de haplotipos

Para el gen mitocondrial se muestran cinco haplogrupos separados por 10 a 42 pasos mutacionales. El haplogrupo I (HgI) está representado por los organismos recolectados en las islas del Archipiélago de Galápagos, el cual está separado del HgII por 13 pasos mutacionales. El haplogrupo HgII está representado por organismos recolectados en las islas del Archipiélago de Revillagigedo y la provincia de Cortes, más dos organismos de las Islas Clipperton y dos de la provincia Panámica, además, aunque se observa una marcada

segregación entre los organismos recolectados en el Archipiélago de Revillagigedo y la provincia de Cortés, existe algunos individuos recolectados en la provincia de Cortés que comparten los haplotipos centrales de los organismos recolectados en el Archipiélago de Revillagigedo. El HgII se separa por 10 pasos mutacionales del HgIII, que agrupa la mayoría de las muestras recolectadas en la isla Clipperton. A su vez, el HgII se separa por 42 pasos mutacionales del HgIV el cual agrupa a los individuos procedentes de las provincias Mexicana y Panámica, además de 2 de Revillagigedo y 3 de la provincia de Cortés. El HgIV a su vez está separado por 37 pasos mutacionales del HgV, dicho haplogrupo agrupa a los individuos de la especie hermana del Atlántico *Scorpaenodes tredecimspinosus* (Figura 2).

Para el gen nuclear *rho* los organismos de la Isla Clipperton forma un grupo genético con un único haplotipo (HgIII), el cual incluye un organismo de Galápagos y uno de Revillagigedo, este está separado por dos pasos mutacionales de dos haplotipos que incluye a los organismos recolectados en las Islas Revillagigedo y dos haplotipos de la provincia de Cortés, que forman parte del HgII en la red de *coxI*. Este se separa por cinco pasos mutacionales de un haplogrupo que contienen a los organismos recolectados en el Archipiélago de las Galápagos (Hgl) y la provincia de Cortés (HgII), en este haplogrupo se muestra la separación de Cortés con respecto a Galápagos por dos pasos mutacionales. Este último está separado por cuatro pasos mutacionales del HgV, conformado por los organismos de la especie *Scorpaenodes tredecimspinosus*, el cual no comparte haplotipos con ningún otro. De igual forma se separa por dos pasos mutacionales del HgIV, que incluye organismos de la provincia de Mexicana y Panámica, además de incluir organismos de las Islas Revillagigedo y provincia de Cortés (Fig. 3).

Índices de diversidad, pruebas de neutralidad y AMOVA

Las diversidades globales para *coxI* / *rho* fue una diversidad haplotípica alta ($Hd=0.095/0.912$) y una diversidad nucleotídica baja ($\pi =0.0471/0.5432$). La prueba de neutralidad de F_s de F_u arrojó valores negativos y significativos para *coxI* y *rho* respectivamente (-23.4053^* / -24.8336^*). La prueba de D^* Tajima arrojó un valor positivo y no significativo para *coxI* (1.6396), contrario a *rho* donde se obtuvo un valor negativo y no significativo (-0.5432).

En las diversidades genéticas para *coxI*, la menor diversidad haplotípica y nucleotídica se obtuvo para los organismos recolectados en la provincia de Cortés (0.335 – 0.0008) y las más altas para la provincia Mexicana (0.955 – 0.0058). Para *rho* se encontró la menor diversidad haplotípica y nucleotídica para Revillagigedo ($Hd=0.312$ y $\pi=0.0009$) mientras que la mayor diversidad haplotípica se encontró en la provincia de Galápagos (0.814) y la mayor diversidad nucleotídica para la provincia Panámica (0.0024). Para la isla Clipperton no se calcularon los índices de diversidad genética debido a la presencia de un único haplotipo. La D de Tajima y F de F_u para los dos marcadores mostraron en su mayoría valores negativos y significativos (Tabla 1).

Para cada marcador se encontró el mayor porcentaje de varianza molecular entre grupos para todos los agrupamientos analizados, sin embargo, el agrupamiento basado en Hastings (2000) y modificado en el presente trabajo al incluir las dos Islas oceánicas no incluidas por este autor (Cortés/ Revillagigedo/ Mexicana/ Panámica/ Galápagos/ Clipperton) fue en donde se encontró el mayor porcentaje de la variación ($\phi_{ct_{coxI}}=93.74$, y $\phi_{ct_{rho}}=81.18$) (Tabla 2).

La distancia genética más alta con *coxI* fue para Clado A (*S. tredecimspinosus*) vs Clado C (Provincias de Galápagos, Cortés, e islas Revillagigedo y Clipperton) (9.0%) y la más baja

entre el clado A (Provincias Mexicana y Panámica) y B (*S. tredecimspinosus*) (7.0%). En *rho* la distancia genética más alta para Clado A vs Clado C (1.1%) y la más baja entre los clados A y B la distancia fue de 0.9%.

Las distancias genéticas más altas para *coxI* en la comparación entre las regiones analizadas fueron, la más alta de 9.4% en la comparación de *S. tredecimspinosus* respecto a Galápagos y la más baja de 0.3% entre la provincia de Cortés respecto a Revillagigedo. En *rho* la distancia más alta fue de 1.4% para las provincias Panámica – Mexicana respecto a Revillagigedo así como para Clipperton, y la más baja fue de 0.2% en la comparación entre provincia Panámica y Mexicana. Las comparaciones entre *S. tredecimspinosus* y la mayoría de las poblaciones de *S. xyris* mostraron valores más bajos o iguales que en muchas de las comparaciones entre grupos dentro de *X. xyris* (Tabla 3).

Árbol de especies

De los cuatro análisis realizados, el análisis que maximizó el número de especies con probabilidades posteriores superiores a ≥ 95 fue el agrupamiento número 4 (pp ≥ 95 en todos los nodos), siendo la hipótesis de que *S. xyris* representara cuatro posibles especies (Galápagos₁/ Cortés-Revillagigedo₂/ Clipperton₃/ Mexicana – Panámica₄) (Figura 4; los agrupamientos I, II y III se muestran en el Anexo 3).

Tiempos de divergencia y áreas ancestrales

El análisis biogeográfico DEC para la especie *S. tredecimspinosus* sugiere como áreas ancestrales (AF) a la provincia Mexicana – Atlántico (57.09%; nodo 406). Se sugiere un evento de dispersión hacía la provincia de Galápagos y posterior, un evento vicariante que

separo a la especie *S. tredecimspinosus* de las provincias Mexicana – Panámica y Galápagos (pp= 0.28) hace 11.95 Ma (PHD 95% 7.64 – 16.62). En el nodo 394 las áreas ancestrales de la especie *S. xyris* fueron (AD) provincias Mexicana – Panámica y Galápagos (49.98%). Se sugiere un evento de dispersión y uno de vicarianza (pp= 0.24); el evento de dispersión fue hacia la provincia de Cortés, y por último un evento vicariante que separo a las provincias Mexicana – Panámica de Cortés y Galápagos hace 8.9 Ma (PHD 95% 5.49 – 12.91). Para el nodo 393 las áreas ancestrales fueron (CD) las provincias de Cortés – Galápagos (49.99%), se sugieren un evento de dispersión hacia Clipperton y uno de vicarianza (pp=0.25) hace 5.0 Ma (PHD 95% 2.78 – 7.99) el cual separó a la provincia de Galápagos de la provincia de Cortés y Clipperton. En la separación de la provincia de Cortés hace 2.60 Ma (95% PHD 1.31 – 4.37) el análisis biogeográfico sugiere un evento de dispersión hacia Revillagigedo (pp= 0.50) a partir de las áreas ancestrales (BC) Clipperton – provincia de Cortés (50.00%) y un evento vicariante que separó a la provincia de Cortés respecto a Revillagigedo – Clipperton; esto se puede apreciar en el nodo 363. Por último, en el nodo 362 ocurrió un evento de vicarianza que separo a Clipperton de Revillagigedo hace 1.8 Ma (95 % PHD 0.94 – 3.00). Los resultados del análisis biogeográficos pueden apreciarse en las Figuras 5 y 6.

Discusión

Conocer la historia evolutiva de las especies es un paso fundamental para entender los eventos biogeográficos que han conformado la diversidad biológica de una región y con ello los patrones de especiación (Bernatchez 2001). La trayectoria evolutiva de las especies puede ser influida por características bióticas (e.g. ecológicas) y abióticas (e.g. geológicas), las cuales ejercen una presión diferencial que pueden influir de manera particular a cada especie, dando lugar a procesos evolutivos únicos, o bien, influir de la misma manera a varias

especies, lo cual generaría patrones en la historia biogeográfica de una región y su biota (Paz *et al.* 2015, Galván-Quesada *et al.* 2016).

En este sentido, la compleja historia evolutiva encontrada en las poblaciones de *Scorpaenodes xyris* y su relación con la especie *Scorpaenodes tredecimspinosus*, denotan la complejidad oceanográfica del POT y el Atlántico, lo cual, aunado a las características biológicas y ecológicas de las especies bajo estudio, ha promovido diferentes eventos de dispersión y vicarianza mediados por procesos bióticos y abióticos.

Historia evolutiva y biogeografía entre Atlántico – Pacífico

La relación entre las especies hermanas del POT y AOc sigue siendo un tema de debate, ya que se han reportado diferentes tiempos de divergencia entre especies hermana influidas por un mismo evento biogeográfico, la formación del istmo de Panamá (Lessios, 2008). Para el grupo de estudio, a pesar de que los árboles filogenéticos no mostraron una resolución en la parte basal y las relaciones de las poblaciones de *S. xyris* y *S. tredecimspinosus* no se resuelven, el árbol filogenético y el árbol obtenido a partir del reloj molecular muestran la formación de tres clados principales (Figuras 1 y 5), uno correspondiente a la especie *S. tredecimspinosus*, otro que agrupa a las poblaciones de las provincias continentales Panámica y Mexicana y el resto que agrupa a los organismos de las Islas Galápagos, Clipperton y Revillagigedo además de las poblaciones del Golfo de California. Estas diferencias pueden atribuirse a la aparente radiación simultánea ocurrida en el origen de los grupos, lo cual es soportado por las distancias genéticas y pasos mutacionales similares obtenidos entre los tres grupos (Fig. 2), así como la ubicación del haplogrupo de *S. tredecimspinosus* obtenida en el gen nuclear (Fig.3).

Por su parte, el análisis biogeográfico DEC sugiere que las áreas de distribución para el ancestro de *Scorpaenodes tredecimspinosus* y *S. xyris* fueron provincia Mexicana-Panámica y Atlántico (AF). A partir de esta área ancestral (AF) ocurrió un evento de dispersión hacia la provincia de Galápagos y posteriormente, este ancestro experimentó un evento vicariante fechado en aproximadamente 11.95 Ma (PHD 95% 7.64 – 16.62 Figuras 5 y 6). El evento de dispersión hacia Galápagos fue posiblemente influenciado por la Contracorriente Norecuatorial (Kamikuri *et al.* 2009), dicha corriente fluye de oeste a este y se considera fue favorecida e intensificada hace 10.6 Ma por la influencia del cierre parcial de la vía marítima de indonesia (Kamikuri *et al.* 2009), por lo que, dicha corriente pudo trasladar individuos hacia Galápagos. El cierre del Istmo de Panamá parece haber influido en la separación de la especie *S. tredecimspinosus* en el Atlántico y al ancestro de las poblaciones de *S. xyris* en el POT. El levantamiento gradual del istmo de Panamá se ha calculado ocurrió durante los últimos 24Ma, el inicio del cierre final del Istmo se calcula hace 12 a 10 Ma, mientras que el intercambio masivo de agua interoceánica entre el POT y el AOc parece haber cesado hace 9.2 a 4 Ma (Shneider y Schmittner, 2003; Lear *et al.*, 2003; Lessios 2008; Bacon *et al.*, 2015; Montes *et al.*, 2015; O’Dea *et al.*, 2016). Las distancias genéticas encontradas para especies geminadas de gasterópodos, equinodermos y peces van de 1.3% a 27.5% en el gen *coxI*. Sin embargo, para las especies asociadas a arrecifes, las divergencias genéticas generalmente varían de 3 a 12% (Lessios 2008). Por su parte la separación entre especies arrecifales geminadas ha sido fechada entre 10 y 6 Ma (Cunningham y Collins 1994, Marko 2002, Marko y Moran 2009 y Lessios 2015; Bacon *et al.*, 2015). Por lo que, las distancias genéticas con *coxI/rho* (7.0% / 0.9%) y tiempos de divergencia encontrados para la separación de *S. tredecimspinosus* y *S. xyris* (media: 12Ma; PHD 95% 7.6 – 16.6), caen dentro de los rangos

de otras especies geminadas (Bacon *et al.*, 2015) y dentro de lo que se sabe para el cierre del estrecho de Panamá.

Evolución y biogeografía de S. xyris

La heterogeneidad de hábitat y la inestable dinámica oceanográfica dentro del POT ha permitido el desarrollo de procesos evolutivos únicos en la biota, los cuales incluyen procesos de dispersión y vicarianza en diferentes grupos de organismos (Hurtado *et al.* 2007, Duda y Lessios 2009), incluyendo peces (Stepien *et al.* 2001, Szabó *et al.* 2014, Henriques *et al.* 2016), procesos que han sido poco estudiados y comprendidos.

En el caso de *S. xyris*, una vez aislado el ancestro de los diferentes grupos genéticos dentro del POT, el análisis biogeográfico sugiere en el nodo 394 una área ancestral compuesta por las provincias Mexicana - Panámica y Galápagos (AD), en dicho nodo se sugiere un evento de dispersión hacia la provincia de Cortés para posteriormente suceder un evento vicariante que separaría al ancestro de las provincias de Cortés – Galápagos (CD) de las provincias Mexicana - Panámica hace 8.9 Ma (PHD 95% 5.54 – 12.91 Figuras 5 y 6). Este evento de dispersión y posterior vicarianza pudo estar influido por el cambio de corrientes dentro del POT una vez que se interrumpió el paso de grandes masas de agua entre el AOc y el POT hace aproximadamente 9 a 4 MA (Shneider y Schmittner, 2003; Lear *et al.*, 2003; Montes *et al.*, 2015; O’Dea *et al.*, 2016). La dispersión ocurrida hacia la provincia de Cortés parece haber ocurrido durante la formación del Protogolfo de California, el cual inicio su formación en ca. 11.2 Ma (Helenes 2009) y a la influencia de una Contracorriente Norecuatorial fortalecida y a condiciones similares al evento del Niño moderno calculados en 9.8 – 4.2 Ma (Kamikuri *et al.* 2009). Tiempos de divergencia entre 16 – 10 Ma han sido registrado para gobios que habitan el Golfo de California (Ellingson 2014), asociándolos a una costa del pacifico con

condiciones cálidas y que incursionaron al abrirse el golfo a través de una vía marítima que conectaba al Pacífico con el Golfo de California; de esta misma manera pudo haber ocurrido con el evento de dispersión de la especie *S. xyris* en el nodo 394. El evento vicariante fechado en hace 8.9 Ma (PHD 95% 5.54 – 12.91) exceden los datos geológicos para la formación de las islas Galapagos actualmente emergidas, calculados entre 3 y 6 Ma (Geist *et al.*, 1985; Hickman y Lipps, 1985; *et al.*, 1993; Geist, 1996), sin embargo concuerdan con los tiempos de divergencia obtenidos con datos moleculares para especies endémicas de insectos y reptiles de las Galápagos (Wright, 1983; Lopez *et al.*, 1992; Rassmann, 1997; Caccone *et al.* 1999; Sequeira *et al.*, 2000). Estas discrepancias entre los datos moleculares y los fechamientos de las islas emergidas ha sido explicado mediante la existencia de islas más antiguas que desaparecieron bajo las aguas oceánicas, formando actualmente montes subacuáticos con edades que superan los 11 Ma (Christie *et al.* 1992, Werner *et al.* 1999, Neall y Trewick 2008), estas islas antiguas o montes subacuáticos pudieron servir como zonas de colonización por el ancestro del clado C de *S. xyris*.

Posterior al aislamiento del ancestro del clado C, en Galápagos y Cortés, el análisis DEC sugiere un evento de dispersión hacia Clipperton el cual concuerda con la formación de la isla en el Mioceno (Fairbridge 1975), y un posterior evento de vicarianza que separaría a Galápagos del ancestro Clipperton – Cortés (BC nodo 393), dicho eventos fue fechado en 5.07 Ma (PHD 95% 2.78 – 7.99 Figs. 5 y 6). Este evento de dispersión y posterior vicarianza pudo deberse a la aparición de condiciones similares al evento del Niño actual, el cual permaneció en un estado “permanente” durante el Mioceno tardío al Plioceno (9.8 – 4.2 Ma Kamikiri *et al.* 2009). Fenómenos del Niño han sido asociados a la expansión del rango de distribución de peces, lo cual provoca eventos de colonización en zonas fuera de su rango de

distribución (Chirichigno y Velez 1998, Love *et al.* 2005, Robertson y Cramer 2009). El evento de vicarianza que separó a Galápagos de Cortés - Clipperton pudo estar influido por la desaparición de este fenómeno “permanente del niño hace ca. 4.2 Ma y el establecimiento de las condiciones actuales de circulación oceánica dentro del POT (Kamikuri *et al.* 2009), así como por una reducción en los fenómenos de surgencia en el Océano Pacífico, inestabilidades en las corrientes marinas, en conjunto al progresivo cambio de las temperaturas cálidas oceánicas a aguas frías, lo cual pudo provocar el aislamiento entre poblaciones (Filippelli *et al.* 2009, Dowsett *et al.* 2009).

Las glaciaciones ocurridas durante el Plioceno en conjunto con variables zonales, pueden ser consideradas como factores que impulsen la divergencia de linajes. El evento de vicarianza post dispersión que separaría a Cortés del ancestro de las islas Clipperton y Revillagigedo hace 2.60 Ma (95% HDP: 1.31 – 4.37 Ma) en el nodo 363 (Figuras 5 y 6), concuerda con el cambio de temperaturas del agua superficial y la presencia de las corrientes marinas que se encuentran actualmente, como lo es la corriente de California. Primeramente, debido a que ya se habían establecido las condiciones oceanográficas modernas en el POT hace 4.2 Ma (Kamikuri *et al.* 2009), el evento de dispersión hacía las islas Revillagigedo debió deberse al posible transporte de individuos a través de la corriente de California. El evento de vicarianza estaría relacionado con el cambio abrupto en las temperaturas superficiales de cálidas a frías (Dolby *et al.* 2015) que posteriormente produciría eventos de Glaciación (Lawrence *et al.* 2006, Dolby *et al.* 2015), en conjunto con las condiciones propias del Golfo de California (8 – 6 Ma) consolidado, así como una barrera térmica presente en la boca del Golfo (Terry *et al.* 2000). Un trabajo previo donde se ha reportado la hipótesis sobre barreras térmicas es el realizado por Stepien *et al.* (2001) con las especies *Paralabrax maculatofasciatus* y

Paralabrax nebulifer, donde la separación entre ambas especies fue producto de diferencias en las temperaturas dentro y fuera del Golfo de California, de la misma manera que se sugiere ocurrió con el grupo genético del Golfo de California respecto a Clipperton – Revillagigedo.

Un último proceso biogeográfico fue un evento de vicarianza entre Clipperton y Revillagigedo, fechado hace 1.83 Ma (95% HDP: 0.94 – 3.00 Ma Figuras 5 y 6). La formación de las Islas Revillagigedo están ubicadas en el Plioceno para Isla Clarión y el Pleistoceno para la Isla Socorro (Brattstrom 1990). Por lo que los rangos en el que fue fechado el evento se ubican dentro del rango de formación del archipiélago. Este mismo patrón lo presentan las especies hermanas *Epinephelus clippertonensis* y *Epinephelus labriformis*, en donde se sugiere que los patrones de corrientes marinas locales mantienen aisladas a las poblaciones de *E. clippertonensis* (Craig et al. 2006).

Eventos recientes de dispersión

Los resultados negativos para D de Tajima en las pruebas de neutralidad en los dos marcadores es indicio de un exceso de polimorfismos de baja frecuencia, lo que sugieren eventos de expansión poblacional posteriores a cuellos de botellas históricos, esto es congruente con los valores altos de diversidad haplotípica y bajos de diversidad nucleotídica (Tabla 2), así como la forma de estrella en la mayoría de los haplogrupos en la red con el gen *cytb* (Fig 2). Estos eventos de expansión poblacional pueden deberse a dos causas, 1) el carácter oceánico de las Islas, lo cual determinan que su colonización se debió a un efecto fundador y su posible expansión poblacional posterior y 2) el efecto de las glaciaciones en las variaciones en el nivel del mar, lo que ha provocado que la gran mayoría de las especies arrecifales muestren estos fenómenos de cuellos de botella con expansión poblacional (Fauvelot et al., 2003, Craig et al., 2007; Klanten et al., 2007).

Por otro lado, la mezcla de organismos entre grupos genéticos y provincias puede deberse a la dispersión e incorporación de migrantes entre haplogrupos (Figuras 2 y 3), salvo con las Islas Galápagos, poblaciones que no presentan mezcla entre provincias. Esto puede explicarse por la influencia que el fenómeno del Niño tiene en la distribución de peces costeros, ya que estos pueden expandir considerablemente sus rangos de distribución, esto debido a inestabilidades en las corrientes marinas y al aumento de la temperatura durante este fenómeno (Chirichigno y Velez 1998, Love *et al.* 2005, Robertson y Cramer 2009). Incluso se ha documentado la presencia de *Scorpaenodes xyris* durante eventos Niño en las islas que se encuentran del lado del pacífico en la península de Baja California, al norte de su distribución natural (Pondella *et al.* 2005, Reyes-Bonilla *et al.* 2010). En este sentido, todos los organismos que fueron colectados en regiones diferentes a las que está asociado genéticamente fueron recolectados en el 2015, año en el que se presentó un intenso fenómeno del Niño, por lo que la idea de que un evento del Niño pudiera influir en la dispersión hacia diferentes provincias se soporta con los datos aquí presentados.

Por otro lado, tanto *rho* como *coxI* muestran la formación de un único haplogrupo en las poblaciones de la provincia Panámica y Mexicana, con una mezcla de haplotipos entre los individuos, este tipo de patrón es similar al que presentan las especies *Ophioblennius steindachneri* (Muss *et al.* 2001), *Holocanthus passer* y *Abudefduf troschelii* (Bernardi *et al.* 2014) en el cual encuentran que a lo largo de POT, estas especies no presentan una estructura filogeográfica, a pesar de la presencia de barreras físicas como lo son la discontinuidad de hábitat que representa las brechas Centroamericana y de Sinaloa, teniendo así un alto potencial de dispersión (Figuras 2 y 3). Por último, en las distancias genéticas

(Tabla 3) se puede apreciar la distancia más pequeña entre la provincia de Cortés con respecto a Revillagigedo (0.3% *coxI* y 0.02% *rho*).

Implicaciones taxonómicas

El reconocimiento de especies taxonómicamente crípticas ha sido de vital importancia para el conocimiento de la riqueza real de especies en una área o región biogeográfica, además de proveer información acerca de los posibles eventos evolutivos dentro de un especie (Craig *et al.* 2006, Poss *et al.* 2010, Henriques *et al.* 2016, Baldwin *et al.* 2016, Motomura y Kanade 2015).

El análisis de árbol de especie soporta la presencia de cuatro grupos genéticos bien diferenciados (Provincia de Galápagos₁/ Cortés-Revillagigedo₂ /Clipperton₃ /provincias Mexicana-Panámica₄; Fig. 4). En todos los análisis realizados estos cuatro grupos genéticos están bien diferenciados (Figs. 1 a 5), con divergencias genéticas por arriba del 2% para el marcador COI (Tabla 3), lo que superan el porcentaje de diferencias genéticas promedio entre especies hermanas de vertebrados reportado por Keith *et al.* (2011) para el gen *coxI*. Sin embargo el marcado nuclear no soporta algunas de estas relaciones, lo cual puede ser atribuido a la tasa de evolución más lenta de los marcadores nucleares con respecto a los mitocondriales.

Estos resultados sugieren que *Scorpaenodes xyris* representa un complejo de 4 linajes evolutivos independientes. La localidad tipo de *S. xyris* es Cabo San Lucas (Jordan y Gilbert 1882), por lo que Galápagos, provincias Mexicana – Panámica y Clipperton se puede

reconocer como un complejo de especies aun no descritas, por lo que se sugiere que eso se corrobore con datos morfológicos y merísticos (Bernal-Hernández en preparación).

Conclusiones

Este trabajo es el primero con un muestreo tan amplio y representativo para una especie distribuido a lo largo del POT. De igual forma es el primero en encontrar eventos de divergencia profundas en poblaciones de diferentes regiones dentro del POT (Bellwood *et al.* 2010, Frédérich *et al.* 2012, Santini *et al.* 2013, Hodge *et al.* 2014, Galván-Quesada *et al.* 2016). Los múltiples eventos de dispersión y vicarianza – cladogenésis que llevaron a la separación de los grupos genéticos encontrados concuerdan con eventos geológicos y oceanográficos históricos, como lo son la formación paulatina de un istmo de Panamá, la formación del Archipiélago de las Galápagos, la formación de las islas Revillagigedo y Clipperton, la consolidación del golfo de California y el cambio en los patrones de corrientes asociados el cierre del istmo de Panamá. Los diferentes análisis demuestran la presencia de cuatro linajes altamente divergentes en *Scorpaenodes xyris* y soportan la relación geminada con *S. tredecimspinosus* del Atlántico, por lo que se sugiere la presencia de un complejo de especies dentro de *S. xyris*.

Literatura citada

Allen, G. R. y R. Robertson. 1998. Peces del Pacífico Oriental Tropical. CONABIO-Agrupación Sierra Madre. México, 2ªed., 328pp.

Bacon, C. D., Silvestro, D., Jaramillo, C., Smith, B. T., Chakrabarty, P., y A. Antonelli. 2015. Biological evidence supports an early and complex emergence of the Isthmus of Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(19), 6110-6115.

Baldwin, C. C., Pitassy, D. E., y D. R. Robertson. 2016. A new deep-reef scorpionfish (Teleostei, Scorpaenidae, *Scorpaenodes*) from the southern Caribbean with comments on depth distributions and relationships of western Atlantic members of the genus. *ZooKeys*, (606), 141.

Bandelt, H, Forster, P. y A. Röhl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16(1):37–48.

Bellwood, D. R., Klanten, S., Cowman, P. F., Pratchett, M. S., Konow, N. y L. Van Herwerden. 2010. Evolutionary history of the butterflyfishes (f: Chaetodontidae) and the rise of coral feeding fishes. *Journal of evolutionary biology*, 23(2), 335-349.

Bergenius, M. A., McCormick, M. I., Meekan, M. G., & D. R. Robertson. 2005. Environmental influences on larval duration, growth and magnitude of settlement of a coral reef fish. *Marine Biology*, 147(2), 291-300.

Bernardi G., Marina L. R., Alva-Campbell Y., McCosker J. E., Bucciarelli G., Garske L. E., Benjamin C. V., y N. I. Crane. 2014. Darwin's fishes: phylogeography of Galápagos Islands reef fishes. *Bulletin of Marine Science*, 90(1), 533-549.

Bernatchez, L. 2001. The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, 55(2), 351-379.

Bernecker, M. y O. Weidlich. 1990. The Danian (Paleocene) coral limestone of Fakse, Denmark: a model for ancient aphotic, azooxanthellate coral mounds. *Facies* 22:103-138.

Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Peter K. L., Meier, R., Winker, K., y Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in ecology & evolution*, 22(3), 148-155.

Brattstrom, B. H. 1990. Biogeography of the Islas Revillagigedo, Mexico. *Journal of Biogeography*, 177-183.

Briggs J. C. 1974. *Marine zoogeography*. McGraw-Hill, New York.

Briggs, J. C. y B. W. Bowen. 2012. A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *Journal of Biogeography* 39: 12-30.

Brogan, M. W. 1994. Distribution and retention of larval fishes near reefs in the Gulf of California. *Marine ecology-progress series*, 115, 1-1.

Caccone, A., Gibbs, J. P., Ketmaier, V., Suatoni, E. y J. R. Powell. 1999. Origin and evolutionary relationships of giant Galápagos tortoises. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(23), 13223-13228.

Chen, W. J., Bonillo C., y G. Lecointre. 2003. Repeatability of clades as a criterion of reliability: a case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26: 262-288.

Chirichigno, F. N. y J.D. Vélez. 1998. Clave para identificar los peces marinos del Perú, 2nd edn. Instituto del Mar del Peru, Lima

Christie, D. M., Duncan, R. A., McBirney, R. A., Richards, M. A., White, W. M., Harpp, K. S. y C. G. Fox. 1992. Drowned islands downstream from the Galápagos hotspot imply extended speciation time. *Nature*. 1992;355:246–248.

Cowen, R. K., Paris, C. B. y A. Srinivasan. 2005. Scaling of population connectivity in marine populations. *Science* 311:522–527.

Craig, M. T., Eble, J. A., Bowen B. W. y D. R. Robertson. 2007. High genetic connectivity across the Indian and Pacific Oceans in the reef fish *Myripristis berndti* (Holocentridae). *Marine Ecology Progress Series* 334(3):245-254.

Craig, M. T., Hastings, P. A., Pondella, D. J., Ross Robertson, D. y J. A. Rosales-Casián. 2006. Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): implications for the biogeography of the Tropical Eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *Journal of Biogeography*, 33: 969–979. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01467.x.

Cunningham, C. W. y T. M. Collins. 1994. Developing model systems for molecular biogeography: vicariance and interchange in marine invertebrates. In *Molecular ecology and evolution: approaches and applications* (pp. 405-433). Birkhäuser Basel.

Dolby, G. A., Bennett, S. E., Lira-Noriega, A., Wilder, B. T. y A. Munguía-Vega. 2015. Assessing the geological and climatic forcing of biodiversity and evolution surrounding the Gulf of California. *Journal of the Southwest*, 57(2), 391-455.

Dowsett, H. J. y M. M. Robinson. 2009. Mid-Pliocene equatorial Pacific sea surface temperature reconstruction: a multi-proxy perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1886), 109-125.

Drummond, A. J., Ho, S. Y., Rawlence, N., y A. Rambaut. 2007. A rough guide to BEAST 1.4.

Duda, T. F. Jr., y H. A. Lessios. 2009. Connectivity of populations within and between major biogeographic regions of the tropical Pacific in *Conus ebraeus*, a widespread marine gastropod. *Coral Reefs* 28: 651-659.

Duncan, K. M., Martin, A. P., Bowen, B. W., y H. G. De Couet. 2006. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Molecular ecology*, 15(8), 2239-2251.

Eschmeyer W. N. 1969. A New Scorpionfish of the Genus *Scorpaenodes* and *S. muciparus* (Alock) from the Indian Ocean, with Comments on the limits of the Genus. *Occasional papers of the California Academy of Sciences*, San Francisco, California 94118. No. 76, 11 pages, 1 table, 1 figure. October 22, 1969.

Excoffier, L. y H. E. Lischer. 2010 Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.

Fairbridge, R. W. 1975. Clipperton Island. In *World Regional Geology* (pp. 244-245). Springer Berlin Heidelberg.

Fauvelot, C., Bernardi, G. y S. Planes. 2003. Reductions in the mitochondrial dna diversity of coral reef fish provide evidence of population bottlenecks resulting from holocene sea-level change. *Evolution* 57(7): 1571-1583.

Filippelli, G. M. y J. A. Flores. 2009. From the warm Pliocene to the cold Pleistocene: A tale of two oceans. *Geology*, 37(10), 959-960.

Frankham, R., Briscoe, D. A. y J. D. Ballou. 2002. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge university press.

Frédérich, B., Sorenson, L., Santini, F., Slater, G. J. y M. E. Alfaro. 2012. Iterative ecological radiation and convergence during the evolutionary history of damselfishes (Pomacentridae). *The American Naturalist*, 181(1), 94-113.

Fu, Y. X. 1996. New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics* 143:557–570.

Galván-Quesada, S., Doadrio, I., Alda, F., Perdices, A., Reina, R. G., Varela, M. G., y O. Domínguez-Domínguez. 2016. Molecular Phylogeny and Biogeography of the Amphidromous Fish Genus *Dormitator* Gill 1861 (Teleostei: Eleotridae). *PloS one*, 11(4), e0153538.

Geist, D. 1996. On the emergence and submergence of the Galápagos Islands. *Noticias de Galápagos*, 56, 5-9.

Geist, D. J., McBirney, A. R. y R. A. Duncan. 1985. Geology of Santa Fe island: The oldest galapagos volcano. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 26(3-4), 203-212.

Gernhard, T. 2008. Using birth-death model on tree. *J Theor Biol*, Volume 253, Issue 4, Pages 769-778 In press.

Glynn, P. W., Veron, J. E. N. y G. M. Wellington. 1996. Clipperton Atoll (eastern Pacific): oceanography, geomorphology, reef-building coral ecology and biogeography. *Coral Reefs*, 15(2), 71-99.

Glynn, P.W. y S.J. Ault. 2000. A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs* 19, 1–23.

Grove, J.S. y R.J. Lavenberg. 1997. *The fishes of the Galápagos Islands*. Stanford University Press, Stanford, 863 p.

Hastings, P. A. 2000. Biogeography of the Tropical Eastern Pacific: Distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society*, Vol.128, pp. 319-335.

- Henriques, R., Potts, W. M., Sauer, W. H., Santos, C. V., Kruger, J., Thomas, J. A., y P. W. Shaw.** 2016. Molecular genetic, life-history and morphological variation in a coastal warm-temperate sciaenid fish: evidence for an upwelling-driven speciation event. *Journal of Biogeography*, 43(9), 1820-1831.
- Hickman, C. S. y J. Lipps.** 1985. Geologic youth of Galápagos Islands confirmed by marine stratigraphy and paleontology. *Science*, 227, 1578-1581.
- Hills, D. M., C. Moritz y B. K. Mable.** 1996. *Molecular systematic*. 2^a ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 pp.
- Ho, S.Y.W. y M.J. Phillips.** 2009. Accounting for calibration uncertainty in phylogenetic estimation of evolutionary divergence times. *Systematic Biology*, 58:367-380.
- Hodge, J. R., Herwerden, L. y D. R. Bellwood.** 2014. Temporal evolution of coral reef fishes: global patterns and disparity in isolated locations. *Journal of Biogeography*, 41(11), 2115-2127.
- Hubbs, C.** 1952. A contribution to the classification of the blennioid fishes of the family Clinidae, with a partial revision of the eastern Pacific forms. Division of Systematic Biology, Stanford University.
- Hurtado, L. A., M. Frey, Gaube P., Pfeiler E. y T. A. Markow.** 2007. Geographical subdivision, demographic history and gene flow in two sympatric species of intertidal snails, *Nerita scabricosta* and *Nerita funiculata*, from the tropical Eastern Pacific. *Mar. Biol.* DOI 10.1007/s00227-007-0620-5.
- Huson D. H. y D. Bryant.** 2006. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Molecular Biology and Evolution*, 23(2):254-267, 2006.
- Jordan, D. S. y C.H. Gilbert.** 1882., Catalogue of the fishes collected by Mr. John Xantus at Cape San Lucas, which are now in the United States National Museum, with descriptions of eight new species., *Proc. U.S. Nat. Mus.*, 5(1882):353-371.

Jordan, D.S. y C. H. Gilbert. 1883. Catalogue of the fishes collected by Mr. John Xantus at Cape San Lucas, which are now in the United States National Museum, with descriptions of eight new species. , Source: Proc. U.S. Nat. Mus., Vol. 5, issue 1882, Page: 353-371.

Kamikuri, S. I., Motoyama, I., Nishi, H., y M. Iwai. 2009. Evolution of Eastern Pacific Warm Pool and upwelling processes since the middle Miocene based on analysis of radiolarian assemblages: Response to Indonesian and Central American Seaways. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 280(3), 469-479.

Keith, P., C. Lord, J. Lorion, S. Watanabe, K. Tsukamoto, A. Couloux y A. Dettai. 2011. Phylogeny and biogeography of Sicydiinae (Teleostei: Gobiidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Mar. Biol.* 158: 311-326.

Klanten, O. S., Choat, J. H. y L. van Herwerden. 2007. Extreme genetic diversity and temporal rather than spatial partitioning in a widely distributed coral reef fish. *Marine Biology* 150(4):659-670.

Kumar S., Stecher, G. y K. Tamura. 2015. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution* (submitted).

Lanfear R, Calcott B, Ho S. Y. y S. Guindon. 2012. PartitionFinder: Combined selection 693 of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Mol Biol Evol* 29: 1695–1701. PMID: 22319168.

Lautredou, A. C., Motomura, H., Gallut, C., Ozouf-Costaz, C., Cruaud, C., Lecointre, G., y A. Dettai. 2013. New nuclear markers and exploration of the relationships among Serraniformes (Acanthomorpha, Teleostei): The importance of working at multiple scales. *Molecular phylogenetics and evolution*, 67(1), 140-155.

Lawrence, K. T., Liu Z. y T. D. Herbert. 2006. Evolution of the Eastern Tropical Pacific Through Plio-Pleistocene Glaciation. *Science* 312: 79-83.

Lear, C. H., Rosenthal, Y. y J. D. Wright. 2003. The closing of a seaway: ocean water masses and global climate change. *Earth and Planetary Science Letters*, 210(3), 425-436.

Lecchini, D. 2005. Spatial and behavioural patterns of reef habitat settlement by fish larvae. *Marine Ecology Progress Series*, 301, 247-252.

Leigh, E. G., O'dea, A. y G. J. Vermeij. 2014. **Historical biogeography of the Isthmus of Panama.** *Biological Reviews*, 89(1), 148-172.

Leigh, J.W y D. Bryant. 2015. popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* 2015; 6:1110-6.

Lessios, H. A. 2008. The great American schism: divergence of marine organisms after the rise of the Central American Isthmus. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39, 63-91.

Lessios, H. A. 2008. The great American schism: divergence of marine organisms after the rise of the Central American Isthmus. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39, 63-91.

Lessios, H. A. 2015. Appearance of an early closure of the Isthmus of Panama is the product of biased inclusion of data in the metaanalysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(43), E5765-E5765.

Librado, P. y J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.

Lopez, T. J., Hauselman, E. D., Maxson, L. R. y J. W. Wright. 1992. Preliminary analysis of phylogenetic relationships among Galápagos Island lizards of the genus *Tropidurus*. *Amphibia-Reptilia*, 13(4), 327-339.

Love M. S., Mecklenburg C. W., Mecklenburg T. A. y L. K. Thorsteinson. 2005. *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

- Marko, P. B.** 2002. Fossil calibration of molecular clocks and the divergence times of geminate species pairs separated by the Isthmus of Panama. *Molecular Biology and Evolution*, 19(11), 2005-2021.
- Marko, P. B., y A. L. Moran.** 2009. Out of sight, out of mind: high cryptic diversity obscures the identities and histories of geminate species in the marine bivalve subgenus *Acar*. *Journal of Biogeography*, 36(10), 1861-1880.
- Montes, C., Cardona, A., Jaramillo, C., Pardo, A., Silva, J. C., Valencia, V. y H. Niño.** 2015. Middle Miocene closure of the Central American seaway. *Science*, 348(6231), 226-229.
- Montes, C., Cardona, A., Jaramillo, C., Pardo, A., Silva, J. C., Valencia, V., Ramirez V. y H. Niño.** 2015. Middle Miocene closure of the Central American seaway. *Science*, 348(6231), 226-229.
- Mora, C. y R. D. Robertson.** 2005. Factors shaping the range-size frequency distribution of the endemic fish fauna of the Tropical Eastern Pacific. *Journal of Biogeography*, 32(2), 277-286.
- Motomura, H. y Y. Kanade,** 2015. Review of the scorpionfish genus *Pteroidichthys* (Scorpaenidae), with descriptions of two new species. *Zootaxa*, 4057(4), 490-510.
- Muss, A., Ross Robertson, D., Stepien, C. A., Wirtz, P. y B. W. Bowen.** 2001. Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. *Evolution*, 55(3), 561-572.
- Neall, V. E., y S. A. Trewick.** 2008. The age and origin of the Pacific islands: a geological overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1508), 3293–3308.
- Nei, M.** 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York, USA: Columbia University Press.
- Nichols, J. T. y R. C. Murphy.** 1922. On a collection of marine fishes from Peru. order of the Trustees, American Museum of Natural History.

Nosil, P., y B. J. Crespi. 2006. Ecological divergence promotes the evolution of cryptic reproductive isolation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1589), 991-997. Sáez, A. G., & Lozano, E. (2005). Body doubles. *Nature*, 433(7022), 111-111.

Nosil, P., y B. J. Crespi. 2006. Ecological divergence promotes the evolution of cryptic reproductive isolation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1589), 991-997.

O'Dea A et al. 2016 Formation of the Isthmus of Panama. *Sci. Adv.* 2, 1–12. (doi:10.1126/sciadv.1600883).

Palumbi. S. R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annu Rev. Ecol. Syst.* 1994. 25:547-72.

Pauca, M. 1931. Die fossile fauna und flora aus dem Oligozan von Suslanesti-Muscel in Rumanien. *Anuarul Institutului Geologic al Romaniei* 16:577-663.

Paz, A., Ibáñez, R., Lips, K. R. y A. J. Crawford. 2015. Testing the role of ecology and life history in structuring genetic variation across a landscape: a trait-based phylogeographic approach. *Molecular ecology*, 24(14), 3723-3737.

Pondella, D. J., Gintert, B. E., Cobb, J. R. y L. G. Allen. 2005. Biogeography of the nearshore rocky-reef fishes at the southern and Baja California islands. *Journal of Biogeography*, 32(2), 187-201.

Posada, D. 2005. Modeltest v3. 7. Facultad de Biología, Universidad de Vigo, Vigo.(Software).

Poss, S. G., J. E., McCosker y C.C. Baldwin. 2010. A new species of *Scorpaenodes* (Pisces: Scorpaenidae) from the Galápagos and Cocos Islands with discussions of the limits of *Scorpaenodes* and *Thysanichthys*. *Proc. Calif. Acad. Sci.* 61(2):235-264.

Programa de Conservación y Manejo, Reserva de la Bios- fera Archipiélago de Revillagigedo.

Anónimo. 2004. México, D.F.: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas.

Pulay G. y C. Meyer. 2002. Diversification in the Tropical Pacific: Comparisons between marine and terrestrial systems and the importance of founder speciation. *Integr. Comp. Biol.*, 42:922-934 (2002).

Rambaut, A. 2014. FigTree v. 1.4. 2. ISO 690.

Rambaut, a. y A. Drummond. 2010. TreeAnnotator version 1.6. 1. University of Edinburgh, Edinburgh, UK. Available at <http://beast.bio.ed.ac.uk>.

Rambaut, A., Suchard, M., Xie, W., y A. Drummond. 2014. Tracer v. 1.6. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh.

Randall, J. E. 2007 Reef and shore fishes of the Hawaiian Islands. Sea Grant College Program, University of Hawaii, Honolulu.

Rassmann, K. 1997. Evolutionary age of the Galápagos iguanas predates the age of the present Galápagos Islands. *Molecular phylogenetics and evolution*, 7(2), 158-172.

Reyes-Bonilla, H., Ayala-Bocos, A., González-Romero, S., Sánchez-Alcántara, I., Walther-Mendoza, M., Bedolla-Guzman, Y. y N. C Olivares-Bañuelos. 2010. Checklist and biogeography of fishes from Guadalupe Island, Western México. *CalCOFI Reports*, 51, 1-15.

Riginos, C., y B. C. Victor. 2001. Larval spatial distributions and other early life–history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1479), 1931-1936.

Robertson D. R. y R. A. Gerald. 2015. Peces Costeros del Pacífico Oriental Tropical: sistema de Información en línea. Versión 2.0 Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Balboa, República de Panamá.

Robertson D. R. y R. A. Gerald. 2015. Peces Costeros del Pacífico Oriental Tropical: sistema de Información en línea. Versión 2.0 Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Balboa, República de Panamá.

Robertson, D. R., y K. L. Cramer. 2009. Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 380, 1-17.

Robertson, D. R., y W. F. Smith-Vaniz. 2010. Use of clove oil in collecting coral reef fishes for research. *Marine Ecology Progress Series*, 401, 295-302.

Ronquist, F., Huelsenbeck, J. y M. Teslenko. 2011. Draft MrBayes version 3.2 manual: tutorials and model summaries. Distributed with the software from <http://brahms.biology.rochester.edu/software.html>.

Ronquist, F., Huelsenbeck, J., y M. Teslenko. 2011. Draft MrBayes version 3.2 manual: tutorials and model summaries. Distributed with the software from <http://brahms.biology.rochester.edu/software.html>.

Sáez, A. G. y E. Lozano. 2005. Body doubles. *Nature*, 433(7022), 111-111.

Santini, F., Sorenson, L. y M. E. Alfaro. 2013. A new multi-locus timescale reveals the evolutionary basis of diversity patterns in triggerfishes and filefishes (Balistidae, Monacanthidae; Tetraodontiformes). *Molecular phylogenetics and evolution*, 69(1), 165-176.

Schneider, B. y A. Schmittner. 2006. Simulating the impact of the Panamanian seaway closure on ocean circulation, marine productivity and nutrient cycling. *Earth and Planetary Science Letters*, 246(3), 367-380.

Sequeira, A. S., Lanteri, A. A., Scataglini, M. A., Confalonieri, V. A. y B. D. Farrell. 2000. Are flightless Galapaganus weevils older than the Galápagos Islands they inhabit?. *Heredity*, 85(1), 20-29.

Spalding, M. D., Fox, H. E., Allen, G. R., Davidson N., Ferdaña, Z. A., Finlayson, M., Halpern, B. S., Jorge, M. A., Lombana A., Lourie, S. A., Martin, K. D., McManus, E., Molnar, J., Recchia Ch. A., y J. Robertson. 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57(7): 573-583.

Springer, V.G. 1959. Systematics and Zoogeography of the Clinid Fishes of the Subtribe Labrisomini Hubbs. Department of Zoology and Institute of Marine Science, University of Texas 5:417-492.

Stephens M. y P. Donnelly. 2003. A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Genet* 73: 1162–1169.

Stepien, C. A., Rosenblatt, R. H. y B. A. Bargmeyer. 2001. Phylogeography of the spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*: divergence of Gulf of California and Pacific coast populations. *Evolution*, 55(9), 1852-1862.

Szabó, Z., Snelgrove, B., Craig, M. T., Rocha, L. A. y B. W. Bowen. 2014. Phylogeography of the manybar goatfish, *Parupeneus multifasciatus*, reveals isolation of the Hawaiian Archipelago and a cryptic species in the Marquesas Islands. *Bulletin of Marine Science*, 90(1), 493-512.

Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585–595.

Terry, A., Bucciarelli, G., y G. Bernardi. 2000. Restricted gene flow and incipient speciation in disjunct Pacific Ocean and Sea of Cortez populations of a reef fish species, *Girella nigricans*. *Evolution*, 54(2), 652-659.

Victor, B. C., y G. M. Wellington. 2000. Endemism and the pelagic larval duration of reef fishes in the eastern Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 205, 241-248.

Walker BW. 1960. The distribution and affinities of the marine fish fauna of the Gulf of California. *Syst Zool* 9:123–133.

Ward, R. D., Zemlak, R. S., Innes, B. H., Last, P. R. y D. N. Hebert P. 2005. DNA Barcoding Australia's Fish Species. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 360: 1847–1857.

Werner R., Hoernle K., van der Boogaard P., Ranero C., von Huene R. y D. Korich. 1999. A drowned 14 m.y.-old Galápagos archipelago off the coast of Costa Rica: implications for tectonic and evolutionary models. *Geology*. 1999;27:499–502.

Wright, J. W. 1983. The evolution and biogeography of the lizards of the Galápagos archipelago: evolutionary genetics of *Phyllodactylus* and *Tropidurus* populations. *Patterns of evolution in Galápagos organisms*, 123-155.

www.phylo.org

Yu, Y., Harris, A. J., Blair, C. y X. He. 2014. A Rough Guide to RASP 3.1.

Zapata, F. A. y R. D. Robertson. 2007. How many species of shore fishes are there in the Tropical Eastern Pacific?. *Journal of Biogeography*, 34(1), 38-51.

Zúniga-Reinoso, Á. y H. A. Benítez. 2015. The overrated use of the morphological cryptic species concept: An example with *Nyctelia* darkbeetles (Coleoptera: Tenebrionidae) using geometric morphometrics. *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 255, 47-53.

Contenido

Tabla 1. Localidades de colecta y número de secuencias. Se muestran los nombres de las localidades de colecta, el lugar de su procedencia y sus coordenadas geográficas. Se muestran el número de secuencias obtenidas por gen, en el caso de *rho* se muestran los dos alelos obtenidos por el algoritmo PHASE.

<i>Especie</i>	<i>Dependencia</i>	<i>Localidad</i>	<i>País</i>	<i>coxI</i>	<i>rho</i>	<i>Latitud</i>	<i>Longitud</i>
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Punta Diablo, Baja California Sur	México	20	4	24.3126	-110.33
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Catalana, Baja California Sur	México	2	4	25.6631	-110.8072
<i>S. xyris</i>	UMSNH	San Francisquito, Baja California Sur	México	1	4	24.8214	-110.5736
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Gaviotas, Baja California Sur	México	4	6	24.2852	-110.3414
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Santa Inés, Baja California Sur	México	5	0	27.033	-111.9136
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Punta Pulpito, Baja California Sur	México	3	2	26.5145	-111.4431
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Tiburón, Sonora	México	9	10	28.7587	-112.3565
<i>S. xyris</i>	UMSNH	El Peruano, Sonora	México	3	2	27.9098	-110.9706
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Las Gringas, Sonora	México	8	4	27.8854	-110.9549
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Socorro, Colima	México	15	16	18.7254	-80.7885
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Clarión, Colima	México	27	30	18.3445	-114.7576
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Punta Carrizales, Colima	México	5	6	19.1057	-104.3962
<i>S. xyris</i>	UMSNH	La Privada, Michoacán	México	7	4	18.6041	-103.7079

<i>S. xyris</i>	UMSNH	Zapote de Madero, Michoacán	México	1	2	18.3524	-103.5218
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Barco Hundido, Michoacán	México	4	2	18.3526	-103.5219
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Cuilala, Michoacán	México	1	2	18.1891	-103.103
<i>Especie</i>	<i>Dependencia</i>	<i>Localidad</i>	<i>País</i>	<i>coxI</i>	<i>rho</i>	<i>Latitud</i>	<i>Longitud</i>
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Caleta de Chon, Guerrero	México	4	0	17.6147	-101.556
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Manzanillo, Guerrero	México	6	8	17.6202	-101.5248
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Bajos de Teolán, Guerrero	México	1	0	18.0594	-102.7408
<i>S. xyris</i>	UMSNH	La Virgen, Guerrero	México	1	0	17.6516	-101.6043
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Las Gatas, Guerrero	México	5	6	17.622	-101.5519
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Morros del Potosí Guerrero	México	4	6	17.5341	-101.4973
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Zacatoso, Guerrero	México	7	8	17.6539	-101.6223
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Tijera, Oaxaca	México	3	2	15.6871	-96.4411
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Estacahuite, Oaxaca	México	2	0	15.668	-96.4816
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Bahía San Agustín, Oaxaca	México	2	0	15.6883	-96.2365
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Riscalillo, Oaxaca	México	2	2	15.6959	-96.2239
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Blanca, Oaxaca	México	2	2	15.9404	-95.5736
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Punta Chahue, Oaxaca	México	2	0	15.7527	-96.1242
<i>S. xyris</i>	UMSNH	La Boquilla, Oaxaca	México	2	0	15.6819	-96.4654
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Punta Maguey, Oaxaca	México	1	0	15.7292	-96.1456
<i>S. xyris</i>	UMSNH	El Acuario los Cobanos, Acajutla	El Salvador	4	4	13.5308	-110.5736
<i>S. xyris</i>	UMSNH	La Pared, Acajutla	El Salvador	2	2	13.5386	-89.8466
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Las cruces, Acajutla	El Salvador	1	0	13.5407	-110.3374
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla del Caño, Reserva Biológica	Costa Rica	19	16	8.6984	-84.1657

		Isla del Caño					
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Parque Marino Ballena, Canton de Osa	Costa Rica	7	4	9.1116	-114.7102
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Larga, Parque Nacional Manuel Antonio	Costa Rica	4	2	9.3813	-114.7317
<i>Especie</i>	<i>Dependencia</i>	<i>Localidad</i>	<i>País</i>	<i>coxI</i>	<i>rho</i>	<i>Latitud</i>	<i>Longitud</i>
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Los Frailes, Provincia los Santos	Panamá	10	8	7.3476	-80.1365
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Los Longos, Provincia los Santos	Panamá	8	8	7.4779	-79.9928
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla de la Plata, Puerto López	Ecuador	5	4	-1.284	-81.05
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Salango, Puerto López	Ecuador	3	6	-1.592	-81.0723
<i>S. xyris</i>	UMSNH	El Pelado, Santa Elena	Ecuador	6	8	-1.9354	-80.8633
<i>S. xyris</i>	UMSNH	La pared del viejo, Santa Elena	Ecuador	3	2	-1.9344	-80.7889
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Española, Archipiélago de las Galápagos	Ecuador	4	6	-1.3475	-89.6352
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Isabela, Archipiélago de las Galápagos	Ecuador	9	12	-0.1925	-91.3872
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla San Cristóbal, Archipiélago de las Galápagos	Ecuador	7	6	-0.8924	-89.6136
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Santa Fe, Archipiélago de las Galápagos	Ecuador	3	6	-0.8062	-90.0335
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Islote Mosquera, Archipiélago de las Galápagos	Ecuador	4	2	-0.4047	-90.2756
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Santa Cruz, Archipiélago de las Galápagos	Ecuador	2	4	-0.7659	-90.4121
<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Fernandina, Archipiélago de las Galápagos	Ecuador	1	0	-0.2995	-91.4056

<i>S. xyris</i>	UMSNH	Isla Clipperton	Francia	18	36	10.304	-109.218
<i>S. xyris</i>	Scripps	Islas Mariás, Nayarit	México	2	0		
<i>S. tredecimspinosus</i>	Smithsonian	Blue bay, Antillas Leeward	Curaçao	1	2	12.1325	-68.985
<i>S. tredecimspinosus</i> Especie	Smithsonian Dependencia	Belize Localidad	Belize País	1 coxI	2 rho	16.7718 Latitud	-88.1117 Longitud
<i>S. caribbaeus</i>	Smithsonian	Whale Shoals, South Cut	Belize	1	2	16.7598	-88.0761
<i>Pterois volitans</i>	UMSNH	Puerto Morelos, Quintana Roo	México	1	2	20.8668	-86.8673

Tabla 2. Diversidades genéticas para los dos marcadores (*coxI* y *rho*) y pruebas de neutralidad. Numero de muestra (N), sitios segregantes (S), número de haplotipos (h), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π). Valores altos y bajos de diversidad haplotípica y nucleotídica se muestran en negritas, mientras que los valores que mostraron significancia en las pruebas de neutralidad se representan con un asterisco.

Provincias e Islas	N	S	h	Hd	π	D'Tajima	Fs de Fu
<i>CoxI</i>							
Cortés	51	7	9	0.335	0.0008	-1.7905*	-8.0106
Revillagigedo	45	14	13	0.739	0.0019	-1.9629*	-9.1572*
Mexicana	65	53	46	0.955	0.0058	-2.2672*	-26.1779*
Panamáica	71	41	34	0.893	0.0045	-2.2199*	-26.6479*
Galápagos	30	24	20	0.894	0.0042	-2.0920*	-17.8541*
Isla Clipperton	16	8	6	0.817	0.0035	-0.4649	-0.5579
Total	284	114	116	0.095	0.0471	1.6396	-23.4053*
<i>Rho</i>							
Cortés	25	8	8	0.677	0.0021	-0.1731	-2.8150*
Revillagigedo	44	10	3	0.312	0.0009	-2.0582*	0.9846
Mexicana	64	20	22	0.814	0.0022	-1.9420*	-20.1808*
Panamáica	66	19	21	0.809	0.0024	-1.7589*	-16.8336*
Galápagos	37	6	12	0.817	0.0019	-0.1282	-7.1648*
Isla Clipperton	36	0	1	0.000	0.0000	0.0000	0.0000
Total	274	42	56	0.912	0.0079	-0.5432	-24.8336*

Tabla 3. Análisis de AMOVA entre poblaciones de *Scorpaenodes xyris* con base en las propuestas de regionalización del POT. Se muestran con asterisco los valores que fueron significativos en los índices de fijación, mientras que en negritas se muestran los valores más altos de porcentaje de varianza molecular.

Provincias	ϕ_{ct}	ϕ_{sc}	ϕ_{st}	Entre grupos	Entre poblaciones dentro de los grupos	Entre poblaciones
Modificación de Hastings (2000)						
Cortés		<i>coxI</i>				
Revillagigedo	*0.93742	0.00328	*0.93763	93.74	0.02	6.24
Mexicana		<i>rho</i>				
Panamá	*0.81182	0.02365	*0.81627	81.18	0.45	18.37
Galápagos						
Clipperton						
Robertson y Cramer (2009)						
Islas oceánicas	*0.85464	*0.65081	*0.94924	85.46	9.46	5.08
Mexicana/Panamá	*0.62285	*0.58834	*0.84474	62.29	22.19	15.53
Grupos genéticos						
Cortés/Revillagigedo/Clipperton	*0.91964	*0.41546	*0.95303	91.96	3.34	4.70
Mexicana/Panamá		<i>rho</i>				
Galápagos	*0.64522	*0.55658	*0.84268	64.52	19.75	15.73

Tabla 4. Distancias ρ no corregidas con *coxI* y *rho* en porcentaje. Se muestran en negritas el valor más alto y el más bajo encontrados. Por arriba de la diagonal se muestran los errores standard.

Provincias e islas	Cortés	Revillagigedo	Mexicana	Panámica	Galápagos	Clipperton	S. <i>tredecimspinosus</i>
<i>coxI</i>							
Cortés		0.2	1.1	1.1	0.7	0.6	1.1
Revillagigedo	0.3		1.1	1.1	0.7	0.5	1.1
Mexicana	8.9	8.7		0.1	1.1	1.1	1.0
Panámica	8.9	8.7	0.5		1.1	1.1	1.0
Galápagos	3.3	3.1	8.2	8.2		0.8	1.1
Clipperton	2.1	2.0	8.7	8.7	4.0		1.0
S.	8.9	8.9	7.0	7.0	9.4	8.7	
<i>tredecimspinosus</i>							
<i>rho</i>							
Cortés		0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.3
Revillagigedo	1.0		0.4	0.4	0.3	0.2	0.4
Mexicana	0.7	1.4		0.1	0.3	0.4	0.3
Panámica	0.7	1.4	0.2		0.3	0.4	0.3
Galápagos	0.5	1.0	0.9	0.9		0.3	0.3
Clipperton	1.0	0.3	1.4	1.4	1.0		0.4
S.	0.8	1.3	0.9	0.9	0.7	1.3	
<i>tredecimspinosus</i>							

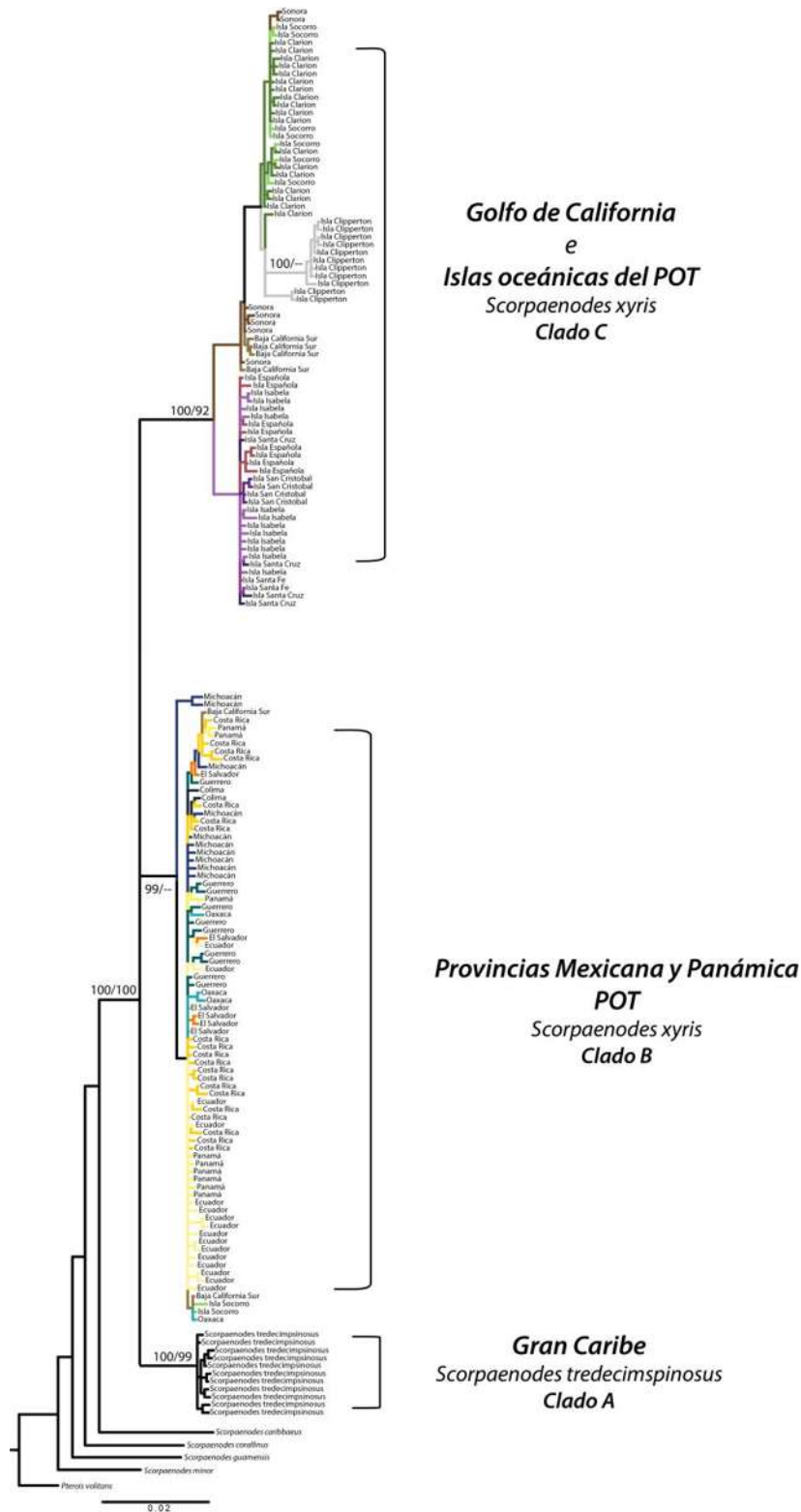


Figura 1. Hipotesis filogenética obtenida con *cox1* y *rho*. Se muestran los valores de probabilidad posterior (pp) proporcionados por IB (Izquierda) y los valores de soporte de bootstrap (sb) proporcionados por MV (Derecha). Se muestran los Clados A, B y C con corchetes. El clado A consta de individuos procedentes de las provincias Mexicana y Panámica; el clado B incluye a la especie *Scorpaenodes tredecimspinosus* y el clado C, el cual agrupa a los individuos de las provincias de Galápagos, Cortés y las islas Revillagigedo y Clipperton.

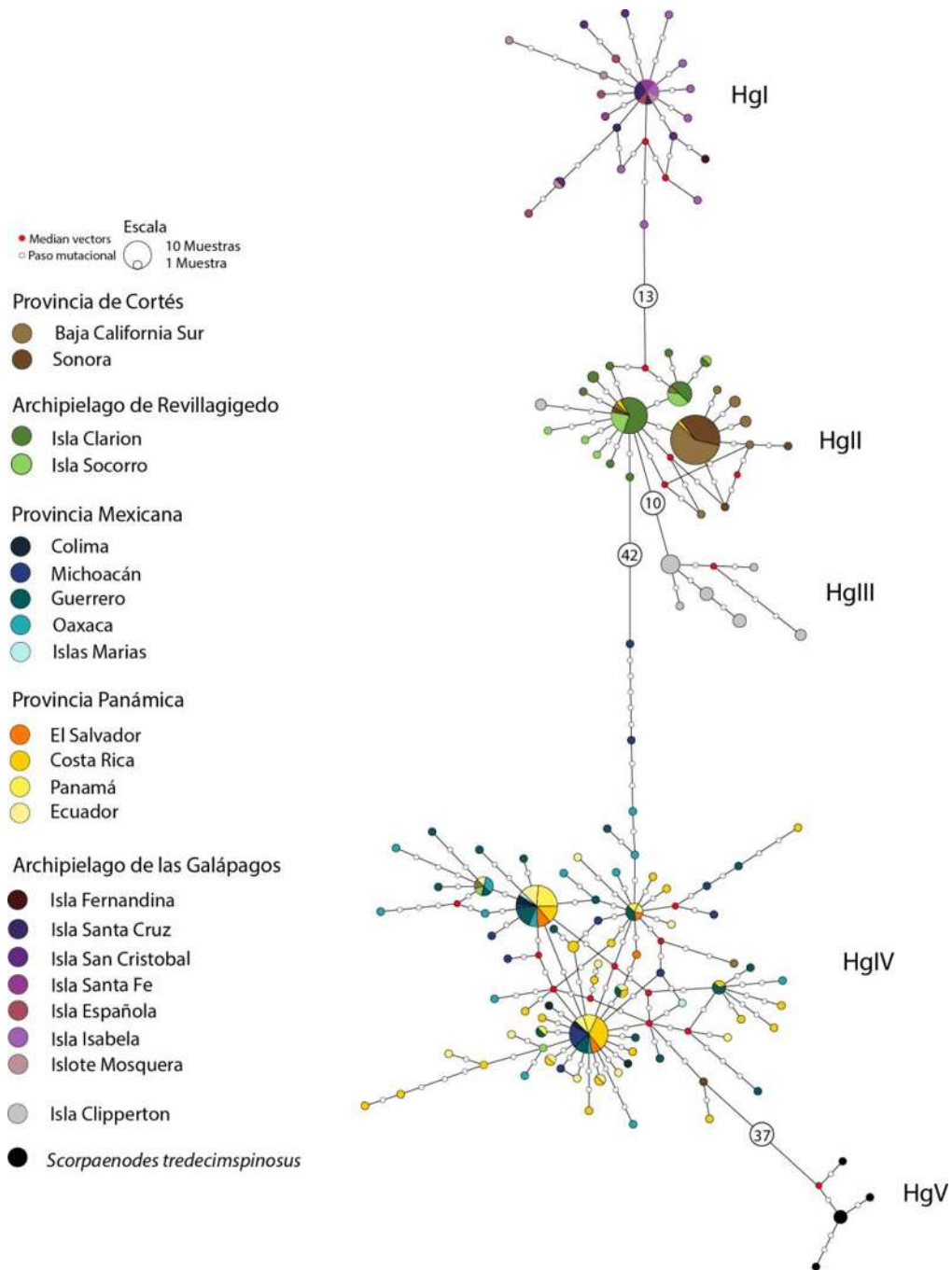


Figura 2. Red de haplotipos obtenida para el gen mitocondrial *coxI*. Se muestra una paleta de colores en la cual cada color hace referencia a las localidades geográficas, cada gama de colores representa una provincia biogeográfica o una Isla o Archipiélago. Se muestra una escala con la cual comparar el tamaño de los haplotipos y el número de secuencias en cada uno de ellos. Los pasos mutacionales se muestran en círculos blancos y el número máximo de pasos mutacionales entre grupos en un círculo con su número correspondiente. Con puntos rojos se muestran los median vectors. Se muestran los haplogrupos con la abreviación Hg.

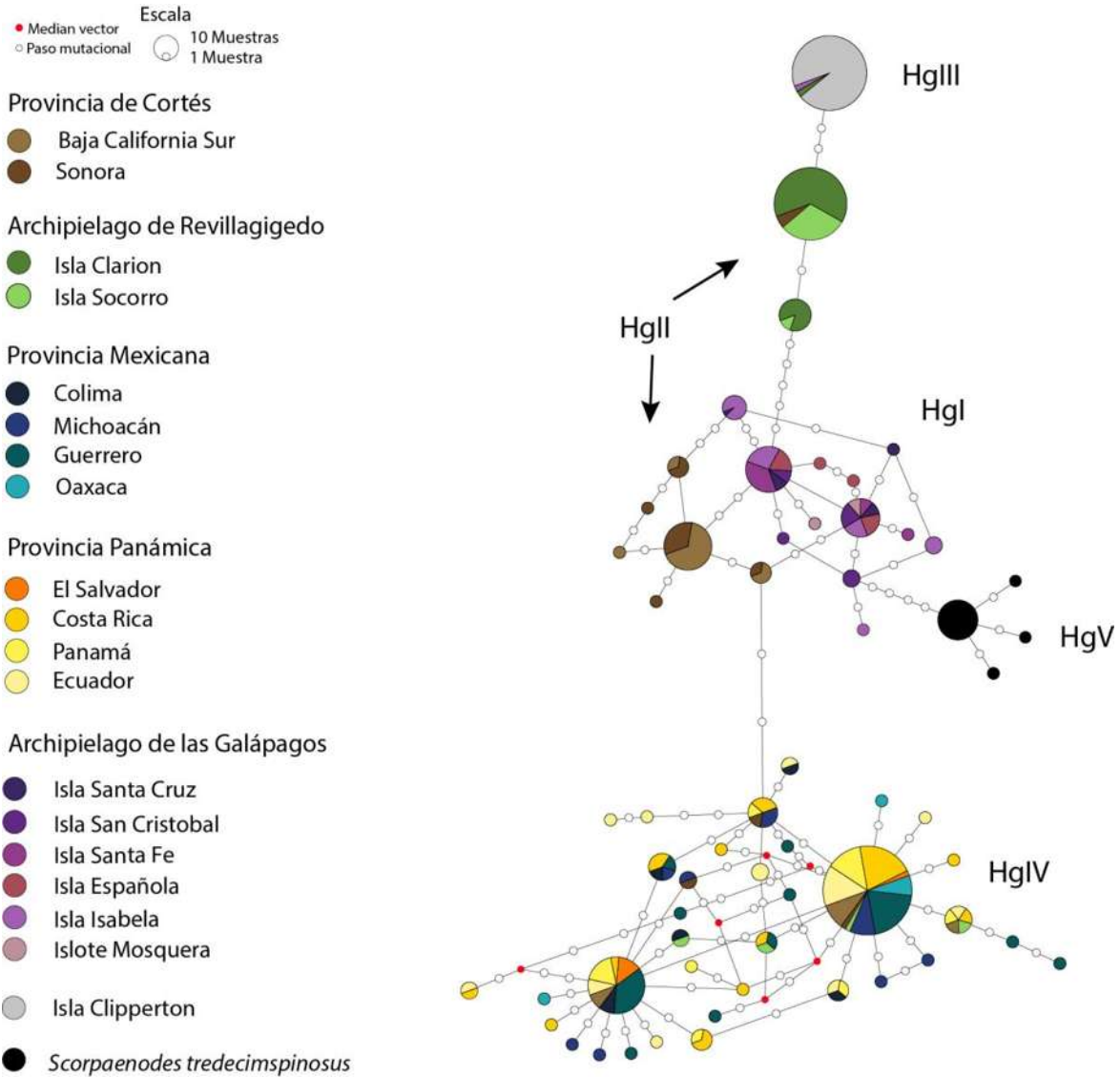


Figura 3. Red de haplotipos *rho*. Se muestra una paleta de colores en la cual cada color hace referencia a las localidades geográficas, cada gama de colores representa una provincia biogeográfica o una Isla o Archipiélago. Se muestra una escala con la cual comparar el tamaño de los haplotipos y el número de secuencias en cada uno de ellos. Los pasos mutacionales se muestran en círculos blancos y el número máximo de pasos mutacionales entre grupos en un círculo con su número correspondiente. Con puntos negros se muestran los haplotipos ancestrales y con un punto rojo los median vectors. Con la abreviación “Hg” se señalan la identidad de los haplotipos encontrados en la red de *coxI*.

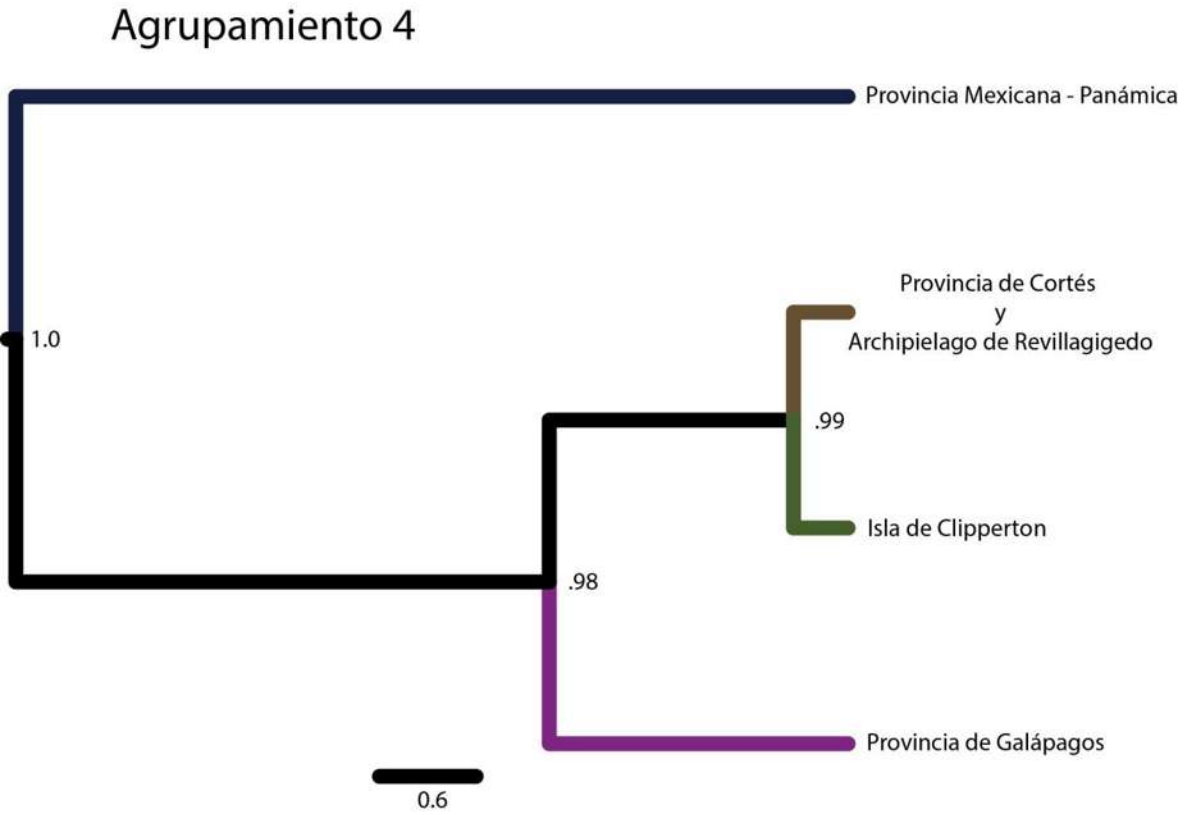


Figura 4. Species Tree. Agrupamiento número 4. Se pueden observar los valores de probabilidad en la base del nodo.

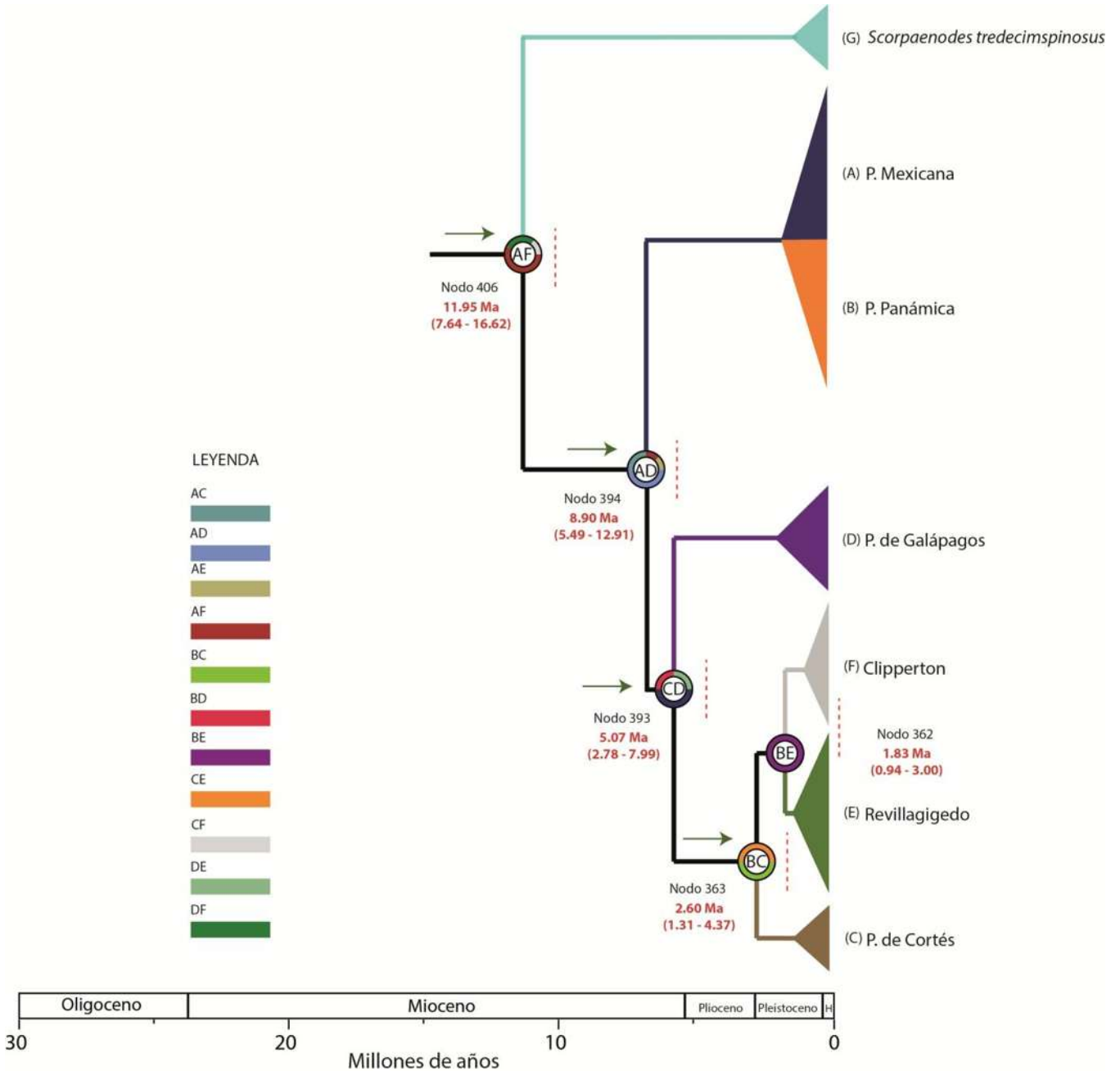


Figura 5. Tiempos de divergencia y Áreas ancestrales. Se muestran los tiempos de divergencia para la especie *Scorpaenodes xyris*. En letras rojas se muestra la media y el rango (95% PHD) del ancestro común más reciente. Se muestran los nodos Las barras de color muestran cada una de las áreas propuestas. Las flechas naranjas punteadas representan eventos de vicarianza post dispersión, las flechas rojas representan eventos de vicarianza y las flechas verdes representan eventos de dispersión.

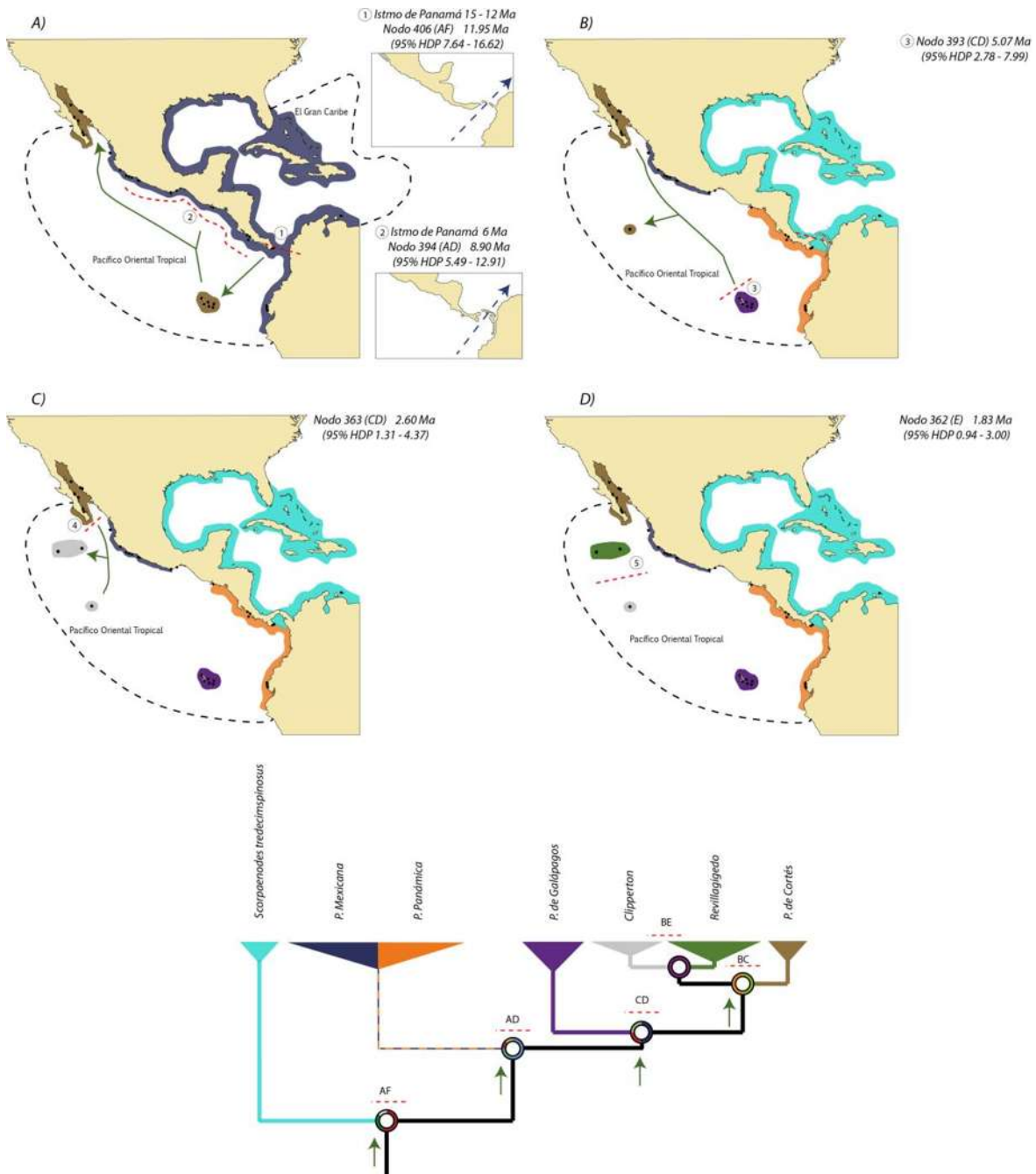


Figura 6. Eventos biogeográficos. Se muestra un árbol basado en los análisis de áreas ancestrales. Se representa la distribución del POT, así como la distribución del Gran Caribe. Los puntos negros representan las localidades muestreadas, las líneas punteadas representan los límites de ambas regiones biogeográficas. Las flechas naranjas punteadas representan eventos de vicarianza post dispersión, las flechas rojas representan eventos de vicarianza, las flechas verdes representan eventos de dispersión y por último las líneas azules representan las paleocorrientes que existieron durante la progresiva formación del Istmo de Panamá así como su dirección.

Anexos

Anexo 1. Amplificación de los marcadores genéticos.

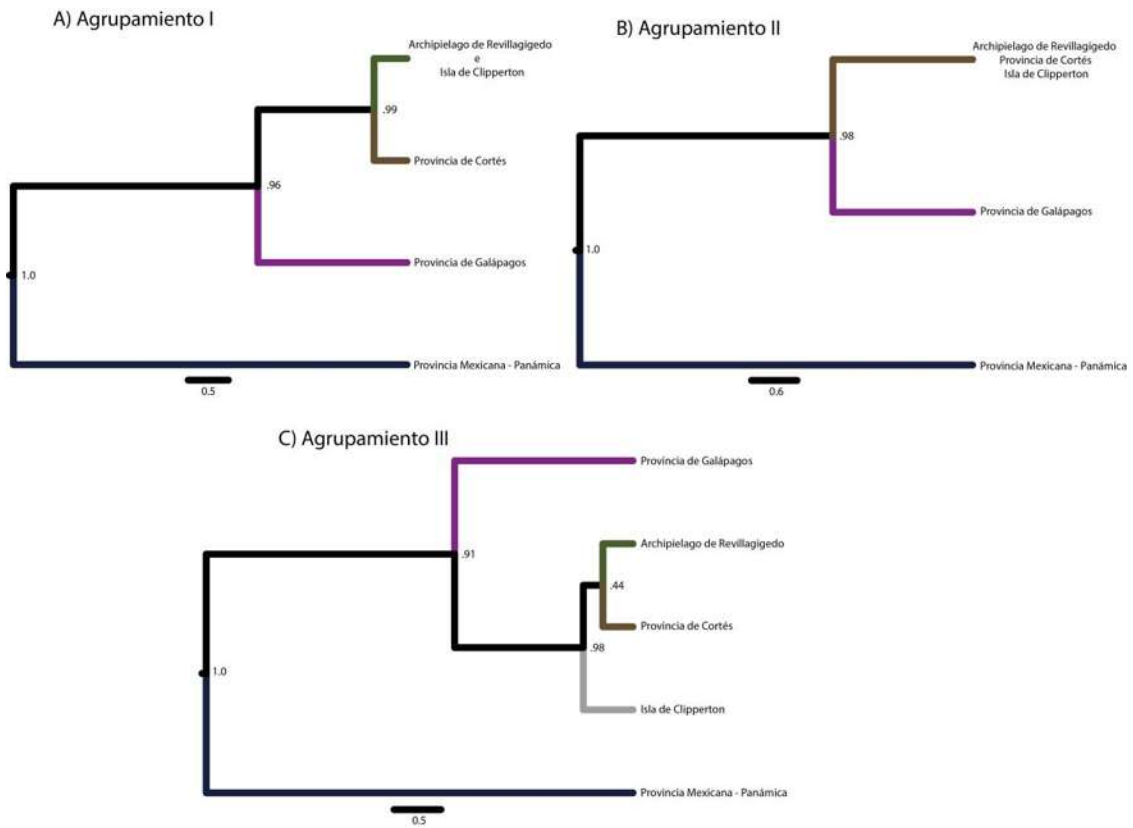
La amplificación del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa Subunidad I (*coxI*) y los marcadores nucleares Rodopsina (*rho*) y receptor de melanocortina tipo 1 (*MC1R*), se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el volumen final de la reacción fue de 12.5 µl. Utilizando las siguientes concentraciones; 0.46 mM de MgCl₂, 0.5 mM de dNTP'S, 0.5 mM de cada primer y 0.06U de Taq polimerasa (Invitrogen). Para el gen *coxI* se emplearon los primers FISH 1F (5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3') y FISH 1R (5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3') (Ward *et al.* 2005) bajo las siguientes condiciones: temperatura de desnaturalización de 94°C por 5:00 minutos, 35 ciclos a una temperatura de 94°C por 1:00 min (Desnaturalización), 50°C para la provincia de Cortés y Galápagos y la Isla Clipperton, y por ultimo 55°C para las provincias Mexicana y Panámica, por 30 segundos (Alineamiento), 72°C por 1:00 minuto (Extensión) y una extensión final a 72°C por 10:00 minutos.

Para *rho* se emplearon los primers RH193 (forward) (5'-CNTATGAATAYCCTCAGTACTACC-3') y RH1073 (reverse) (5'-CCRCGCACARCGTGGTGATCATG-3') (Chen *et al.*, 2003). Se realizó una *pre PCR* con las siguientes condiciones: temperatura de desnaturalización de 94°C por 4:00 minutos, 5 ciclos a una temperatura de 94°C por 30 segundos (Desnaturalización), 50°C durante 45 segundos (alineamiento) y 72°C durante 72°C (Extensión). Posteriormente se continuo la PCR bajo las condiciones: 94°C durante 30 segundos, 50°C para la provincia de Cortés, Galápagos 52.2°C, para la provincia Mexicana y

Panámica 55°C y para Clipperton 56.7°C por 45 segundos, 72°C por 45 segundos (Extensión) y una extensión final a 72°C por 7 minutos.

Anexo 2. Secuencias utilizadas como grupos externos las cuales fueron obtenidas de GenBank. Se anexa el número de acceso.

Especie	Numero de acceso <i>coxI</i>	numero de accesos <i>rho</i>
<i>S. minor</i>	JQ432129	KC222247
<i>S. corallinus</i>	JQ432121	KC222249
<i>S. guamensis</i>	JQ432125	KC222248
<i>S. scrofa</i>	JF494463	EF427510
<i>S. onaria</i>	KU943362	EF427508
<i>S. notata</i>	KX926431	DQ197899



Anexo 3. Arboles de especies. Se muestran los agrupamientos I, II y III con sus valores de probabilidad.