

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS



**Filogeografía del pez loro *Sparisoma viride* (Bonnaterre, 1788)  
(Perciformes: Scaridae) en el Gran Caribe**

Que presenta:

**BIÓL. FRANCISCO JAVIER LOERA PADILLA**

Como requisito parcial para obtener el título de

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(ECOLOGÍA Y CONSERVACIÓN)**

Director de tesis:

**DR. OMAR DOMÍNGUEZ DOMÍNGUEZ**

Morelia, Mich. Marzo 2018



*Francisco Javier Loera Padilla es egresado del Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Este trabajo fue realizado como parte de su proyecto de maestría y será sometido a la revista coral reefs para su publicación.*



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
*Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas*

---

DRA. LILIANA MÁRQUEZ BENAVIDES  
COORDINADORA GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
P R E S E N T E


Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: "Filogeografía del pez loro *Sparisoma viride* (Bonnaterre,1788) (Perciformes:Scaridae) en el Gran Caribe" presentado por el BIOL. FRANCISCO JAVIER LOERA PADILLA con Número de Matrícula 0677210J, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestro en Ciencias.


Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Morelia, Michoacán, a 27 de febrero de 2018


MIEMBROS DE LA COMISIÓN REVISORA

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Omar Domínguez Domínguez

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Sabina Irene Lara Cabrera

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Juan Carlos Motero Castro

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Rodolfo Pérez Rodríguez

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Antonio González Rodríguez

## Índice

<b>Resumen</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	3
<b>Introducción</b> .....	5
<b>Materiales y métodos</b> .....	7
Toma de muestras .....	7
Métodos de laboratorio .....	8
Diversidad genética y redes de haplotipos.....	8
Estructura genética.....	9
Demografía histórica.....	9
<b>Resultados</b> .....	10
Diversidad genética.....	10
Redes de haplotipos .....	11
Estructura poblacional .....	11
Pruebas de neutralidad y demografía histórica.....	12
<b>Discusión</b> .....	12
Variación genética e historia demográfica .....	12
Estructura poblacional y provincias biogeográficas .....	14
Diferencias genéticas a escala local.....	16
Implicaciones para la conservación .....	17
<b>Conclusiones</b> .....	18
<b>Agradecimientos</b> .....	19
<b>Referencias</b> .....	20
<b>Cuadros y Figuras</b> .....	25
<b>Material complementario</b> .....	33

## **Filogeografía del pez loro *Sparisoma viride* (Bonnaterre, 1788) (Perciformes: Scaridae) en el Gran Caribe**

### **Resumen**

El Gran Caribe (GC) ha sido dividido en tres provincias biogeográficas (norte, centro y sur) delimitadas por las diferencias en salinidad, transparencia y cantidad de nutrientes. Se ha planteado que estas diferencias ambientales juegan un papel importante en la configuración de la distribución y evolución de los peces arrecifales dentro de esta región costera, ya que pueden fungir como barreras al flujo de genes. Se realizaron análisis filogeográficos, de genética de poblaciones y métodos coalescentes para examinar la historia evolutiva del pez loro *Sparisoma viride* y el papel de las posibles barreras ambientales en la estructura genética y conectividad de sus poblaciones en el Gran Caribe. Se utilizaron dos marcadores de ADN mitocondrial (*d-loop* y *coxI*) y uno nuclear (*RHO*). Los valores de la  $D'$  de Tajima y  $F'$  de Fu fueron negativos y significativos, lo que se asocia con eventos de cuellos de botella seguidos de una expansión poblacional. Este incremento demográfico fue fechado por el análisis BSP durante un período interglaciar del pleistoceno. *Sparisoma viride* presentó alta diversidad haplotípica ( $H_d$ ) y baja diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) en el *d-loop*, mientras que *coxI* y *RHO* exhibieron valores bajos de diversidad genética. Las redes construidas con los tres marcadores no mostraron evidencia de estructura genética en la población, ya que se encontraron haplotipos compartidos entre las regiones y las poblaciones. El AMOVA encontró el mayor porcentaje de la variación dentro de las poblaciones y no entre las provincias del GC, indicando una población panmíctica de la especie a lo largo del Gran Caribe. Las  $F_{ST}$  pareadas revelaron diferencias genéticas sutiles a escala local entre algunas de las poblaciones de la costa mexicana y sudamericana respecto a Belice, lo que podría ser impulsado por la retención larval ocasionada por el giro de Belice. La

alta conectividad genética y falta de divergencia entre las poblaciones indica que las condiciones ambientales contrastantes de las provincias del GC no son una barrera al flujo de genes para *S. viride*. Los patrones filogeográficos y demográficos de *S. viride* podrían estar asociada con las características biológicas de la especie, eventos demográficos históricos y condiciones físicas del GC, promoviendo la homogeneidad genética de la especie en la región.

**Palabras clave:** Gran Caribe, provincias biogeográficas, barreras ambientales, conectividad genética, población panmítica.

## Abstract

The Greater Caribbean (GC) has been divided into three biogeographic provinces (north, center and south) bounded by differences in salinity, transparency and quantity of nutrients. It has been suggested that these environmental differences play an important role in shaping the distribution and evolution of reef fish within this coastal region, as they can act as barriers to gene flow. Phylogeographic analyzes, population genetics and coalescent methods were performed to examine the evolutionary history of stoplight parrotfish *Sparisoma viride* and the role of possible environmental barriers in the genetic structure and connectivity of their populations in the Greater Caribbean. Two mitochondrial (*d-loop* and *coxI*) and one nuclear (*RHO*) markers were used. The values of Tajima and Fu F tests were negative and significant, which is associated with events of bottlenecks followed by a population expansion. This demographic increase was dated by the BSP analysis during an interglacial period of the Pleistocene. The stoplight parrotfish presented high haplotypic diversity ( $H_d$ ) and low nucleotide diversity ( $\pi$ ) in the *d-loop*, while *coxI* and *RHO* exhibited low values of genetic diversity. The networks constructed with the three markers did not show evidence of genetic structure in the population, since haplotypes shared between regions and populations were found. The AMOVA found the highest percentage of the variation within the populations and not between the provinces of the GC, indicating a panmictic population of the species throughout the Greater Caribbean. The paired  $F_{ST}$ s revealed subtle genetic differences at local scale between some of the populations of the Mexican and South American coasts with respect to Belize, which could be driven by the larval retention caused by the Belize turn. The high genetic connectivity and absence of divergence between the populations indicates that the contrasting environmental conditions of the GC provinces are not a barrier to gene flow for *S. viride*. The phylogeographic and demographic patterns of stoplight parrotfish could be associated with the biological

characteristics of the species, historical demographic events and physical conditions of the GC, promoting the genetic homogeneity of the species in the region.

**Key words:** Greater Caribbean, biogeographical provinces, environmental barriers, genetic connectivity, panmictic population.



## **Introducción**

Los patrones de estructura y conectividad genética entre poblaciones de peces arrecifales y otros organismos marinos, han demostrado ser complejos. En algunos casos, se reportan poblaciones genéticamente homogéneas de peces arrecifales que habitan grandes rangos geográficos, a pesar de la discontinuidad de hábitat propicio que existe a lo largo de su distribución (Craig et al. 2006; Horne y Van Herwerden 2013; Souza et al. 2015). Mientras que otros estudios han demostrado que incluso en el medio marino, en donde aparentemente no existen barreras que impidan la conectividad de las poblaciones, el flujo de genes puede estar suficientemente restringido resultando en subestructuración de la población (Planes et al. 1998, Bay et al. 2004; Taylor y Hellberg 2003; Eytan y Hellberg 2010).

Se ha documentado que la estructura genética a gran escala en organismos marinos coincide con barreras biogeográficas, como las brechas arenosas y la gran extensión de océano abierto que puede llegar a separar los hábitats de arrecife (Muss et al. 2001; Rocha et al 2002; Floeter et al. 2008; Piñeros y Gutiérrez-Rodríguez 2017). En el Gran Caribe las barreras son menos evidentes, pero las discontinuidades genéticas de varios organismos arrecifales se han asociado con corrientes oceanográficas (Baums et al. 2006, Andras et al. 2013, Jackson et al. 2014) y/o con condiciones ambientales diferenciales entre sus hábitats (Rocha et al. 2002, 2005).

Robertson y Cramer (2014) proponen tres subdivisiones biogeográficas dentro del Caribe basados en la fauna de peces costeros, las cuales además se caracterizan por presentar diferentes condiciones ambientales, tales como temperatura, disponibilidad de nutrientes y transparencia del agua. Esta regionalización corresponden a la provincia Norte, abarcando la totalidad del Golfo de México y la costa sureste de los EE.UU. hasta la latitud 35°N; la provincia Centro, formada por la costa centroamericana desde México hasta Panamá, así como por todas las islas y atolones del Caribe occidental incluyendo las Bermudas, las Bahamas y las Antillas; y la

provincia Sur que comprende toda la costa continental del norte de América del Sur desde Colombia hasta la latitud 7°N en Guyana (Fig. 1). Esta subdivisión provincial coincide con las discontinuidades genéticas encontradas previamente en organismos arrecifales como *Epinephelus striatus* (Jackson et al. 2014), *Stegastes partitus* (Villegas Sánchez et al. 2014) y *Halichoeres bivittatus* (Rocha et al. 2005) las cuales han sido principalmente asociadas a corrientes oceanográficas. Sin embargo, la estructura genética de otras especies de peces arrecifales como *Abudefduf saxatilis*, *Acanthemblemaria aspera* y *Acanthemblemaria spinosa* no coinciden con los límites de dichas provincias (Eytan y Hellberg 2010, Piñeros y Gutiérrez-Rodríguez 2017). En otros casos la divergencia genética entre las poblaciones de peces arrecifales puede ser promovida por la especialización ecológica, la cual puede ocurrir incluso en presencia de flujo genético y por lo tanto no requiere la presencia de una barrera física (Pelc et al. 2009; Limborg et al. 2012).

Por lo anterior, la estructura genética de los organismos marinos puede ser el resultado de complejas interacciones actuales e históricas entre factores tales como la conectividad del hábitat, la ecología, la demografía de los adultos, el comportamiento de las larvas y el potencial de dispersión (Bay et al. 2004).

El pez loro *Sparisoma viride* es un herbívoro distintivo y conspicuo de los arrecifes coralinos del Gran Caribe (Bernardi et al. 2000), en donde desempeña un papel clave en la trofodinámica del ecosistema (Mumby 2006). Esta especie se caracteriza por ser hermafrodita protógina con dos fases diferenciales de coloración en los adultos (Reinboth 1968). Presenta huevo y larva pelágicos, aunque se desconoce la duración de estas fases (Robertson et al. 2015). Los adultos de *S. viride* raramente se alejan de los arrecifes de coral, aunque los juveniles pueden encontrarse cerca de los pastos marinos (Böhlke y Chaplin 1993, Geertjes et al. 2004, Robertson et al. 2015). La especie muestra un amplio repertorio de estrategias reproductivas y los sistemas

reproductivos difieren entre sitios (Paddack et al. 2009). Un estudio previo utilizando aloenzimas y RAPDs detectó alto flujo genético y reducida sub-estructuración genética entre las poblaciones de *S. viride* de cinco islas del centro y sur del Caribe (Geertjes et al. 2004). Sin embargo, ningún estudio ha analizado la variación y conectividad genética a una escala geográfica más amplia en *S. viride*. En el presente estudio se utilizaron marcadores moleculares de ADNmt y ADNn para reconstruir la historia filogeográfica del pez loro *S. viride* a lo largo de su rango de distribución abordando las siguientes preguntas: 1) ¿existe evidencia de estructuración genética a lo largo de la distribución de la especie o se comporta como una población panmíctica?, y 2) ¿es el patrón encontrado congruente con los límites de las provincias biogeográficas o podría ser resultado de eventos demográficos históricos, características intrínsecas de la especie o de múltiples factores?

## **Materiales y métodos**

### ***Toma de muestras***

Se capturaron organismos a través de todo el rango de distribución de la especie (Fig. 1, Cuadro 1) utilizando un arpón de liga tipo “hawaiana” y el equipo de buceo SCUBA (número de permiso de colecta CONAPESCA-PPF/DGOPA-262/17). A cada individuo se le tomo una muestra de tejido de la aleta pectoral izquierda, la cual fue conservada en etanol absoluto para la extracción de ADN. Los ejemplares y el tejido fueron depositados en la colección de peces de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México (número de registro SEMARNAT MICH-PEC-227-07-09). Las muestras complementarias del resto de la distribución de la especie, fueron donadas por el Museo Nacional Smithsoniano de Historia Natural y la Universidad de Puerto Rico (Ver cuadro 1).

### ***Métodos de laboratorio***

Se aisló el ADN genómico total utilizando el método estándar de fenol-cloroformo (Sambrook et al.1989). Posteriormente se amplificó un fragmento de los marcadores mitocondriales región control (*d-loop*) para 243 individuos y citocromo oxidasa subunidad I (*coxI*) para 71 individuos. El gen nuclear que codifica la proteína Rhodopsina (*RHO*), fue amplificado para un subconjunto de 43 individuos con el fin de representar la variación mostrada por los datos mitocondriales dentro de las provincias biogeográficas. Las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) se llevaron a cabo en un volumen final de 12,5 µl (información sobre los primers y las condiciones de PCR en el material complementario, Cuadro S1). Los productos de PCR se purificaron usando ExoSAP-IT (USB Corp.) y se enviaron a Macrogen Inc. (Seoul, Corea del Sur) para la secuenciación. Las secuencias de nucleótidos fueron corregidas y alineadas visualmente en MEGA 7.0.20 (Tamura et al. 2013), y examinadas con el cromatograma. Los genes utilizados fueron codificados en aminoácidos para verificar el correcto alineamiento y la ausencia de codones de parada. Para resolver la fase de genotipos heterocigotos en el gen nuclear *RHO* se utilizó el algoritmo proporcionado por PHASE v.2.0 (Stephens y Donnelly 2003), el cual se incluye dentro del software DNAsp v.5.10 (Librado y Rozas 2009). Las secuencias obtenidas fueron depositadas en GenBank, con los números de acceso xxxx-xxxx (material complementario, Cuadro S2). Adicionalmente se incluyeron secuencias del BOLD Systems para el marcador *coxI* de las localidades Brewers Bay y Soufriere (Cuadro 1), con los números de acceso LIDM110-07 y LIDMA849-11 respectivamente.

### ***Diversidad genética y redes de haplotipos***

Se calculó la diversidad genética de los marcadores de ADNmt y ADNn para cada población dentro de cada una de las provincias biogeográficas y para la población total. Se obtuvo el

número de haplotipos ( $H_n$ ), la diversidad haplotípica ( $H_d$ ), la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y el número de sitios polimórficos ( $S$ ) utilizando ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005). Se analizó la correspondencia geográfica con la estructura genética, para lo cual se construyó una red de haplotipos para cada marcador utilizando el programa HaploView v. 4.2 (Barrett et al. 2005).

### ***Estructura genética***

Para determinar la diferenciación genética a distintos niveles jerárquicos, así como el patrón geográfico de subdivisión poblacional, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA), como componentes del índice de fijación  $\Phi_{CT}$ ,  $\Phi_{ST}$  y  $\Phi_{SC}$ . Se realizaron dos agrupamientos separados por 1) provincias biogeográficas (Robertson y Cramer 2014) y 2) considerando a todos los individuos como una población panmíctica. También se estimó la diferenciación genética de las poblaciones mediante el cálculo de comparaciones por pares de  $F_{ST}$  entre las poblaciones de las provincias biogeográficas. Para los análisis anteriores se consideraron 1,000 permutaciones para la estimación de los valores de significancia utilizando ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005). Adicionalmente se calcularon las distancias genéticas no corregidas entre cada una de las poblaciones del Gran Caribe en MEGA 7.0.20 (Tamura et al. 2013). Los análisis anteriores solo fueron realizados con el *d-loop* de la región control, ya que fue el único marcador que mostró suficiente variación.

### ***Demografía histórica***

Se realizaron las pruebas de neutralidad  $D$  de Tajima (1993) y  $F$  de Fu y Li (1993) con el objetivo de examinar si las muestras analizadas están en equilibrio con respecto al ADN mitocondrial. La dinámica poblacional a través del tiempo fue analizada por medio del modelo Bayesian Skyline Plot (BSP) utilizando el programa BEAST v.1.47 (Bayesian Evolutionary Analysis by

Sampling Trees) (Drummond et al. 2005; Drummond y Rambaut, 2007). Se utilizó una tasa de mutación para el *d-loop* de la región control de  $2 \times 10^{-8}$  (límite inferior) a  $5 \times 10^{-9}$  (límite superior) sustituciones por sitio por millón de años (Bowen et al. 2006). Se estableció *a priori* un modelo de reloj relajado no correlacionado y se ejecutaron 120 millones de generaciones. La convergencia de los parámetros fue visualizada con Tracer v.1.5 (Rambaut y Drummond 2007).

## Resultados

Se obtuvieron muestras de 243 individuos de *Sparisoma viride* pertenecientes a 14 poblaciones y 34 localidades a través de todo su rango de distribución en el Gran Caribe, abarcando las tres provincias biogeográficas propuestas por Robertson y Cramer (2014) (Fig. 1, Cuadro 1).

### *Diversidad genética*

Para los marcadores mitocondriales se obtuvieron 307 pares de bases para la región control (*d-loop*), 559 pares de bases para el citocromo oxidasa subunidad I (*coxI*) y 822 pares de bases para el marcador nuclear Rodopsina (*RHO*). Los tres marcadores exhibieron patrones contrastantes de diversidad genética. El *d-loop* presentó 48 sitios polimórficos y 73 haplotipos mostrando diversidad haplotípica alta ( $0.876 \pm 0.016$ ) y diversidad nucleotídica baja ( $0.0103 \pm 0.0003$ ), *coxI* presentó 8 sitios polimórficos y 8 haplotipos con una diversidad genética baja ( $Hd=0.214 \pm 0.065$ ,  $\pi=0.0004 \pm 0.0001$ ), por su parte *RHO* presentó 5 sitios polimórficos y 6 haplotipos con una diversidad genética baja ( $Hd=0.177 \pm 0.055$ ,  $\pi=0.0002 \pm 0.00008$ ).

Al analizar la diversidad genética por provincia para cada marcador, el *d-loop* presentó niveles similares de diversidad genética para las tres subdivisiones del Gran Caribe, con valores altos de diversidad haplotípica ( $Hd= 0.862-0.881$ ) y valores bajos de diversidad nucleotídica ( $\pi = 0.0106-0.0116$ ). Para *coxI* los niveles más altos de diversidad haplotípica se encontraron en la provincia Sur ( $Hd= 0.395$ ), mientras que *RHO* presentó la mayor diversidad haplotípica en la

provincia Norte ( $H_d=0.308$ ). Ambos marcadores obtuvieron valores bajos de diversidad nucleotídica para las tres provincias ( $\pi < 0.0008$ ) (Cuadro 2).

### ***Redes de haplotipos***

Las redes de haplotipos construidas con los marcadores de ADNmt y ADNn no mostraron estructura filogeográfica (Fig. 2). La red de haplotipos del *d-loop* presenta una mezcla de haplotipos entre organismos de las tres provincias biogeográficas, además, se observa la presencia de cuatro haplotipos muy frecuentes en la población unidos por pocos pasos mutacionales a una gran cantidad de haplotipos de baja frecuencia o únicos. (Fig. 2a). Las redes de haplotipos de *cox1* y *RHO* exhibieron una topología general en forma de estrella, con un haplotipo central muy común y ampliamente distribuido en la población, conectado a varios haplotipos representados por organismos de las tres provincias (Fig. 2b, 2c).

### ***Estructura poblacional***

El resultado del AMOVA para el *d-loop* cuando se evaluó la regionalización propuesta por Robertson y Cramer (2014) (tres grupos genéticos) mostró el mayor porcentaje de variación dentro de las poblaciones (98.09%) y no entre los grupos establecidos (1.62%) (Cuadro 3). Al realizar el análisis de la varianza molecular sin grupos *a priori* (población panmíctica) se obtuvo nuevamente el mayor porcentaje de variación dentro de las poblaciones (97.27%) y no entre las poblaciones (2.73%) (Cuadro 3). La mayoría de las poblaciones de *S. viride* no presentaron diferencias genéticas significativas entre las provincias biogeográficas al comprar las  $F_{ST}$  por pares, sin embargo la población de Belice presentó valores altos y significativos de diferenciación genética al compararla con las poblaciones del Golfo de México, el Caribe Mexicano, Colombia y Venezuela (Cuadro 4). Las distancias genéticas medias no corregidas calculadas para las poblaciones fueron similares entre sí oscilando entre 0.7-1.5% (Cuadro 4).

La distancia genética mínima se encontró entre Florida y Belice (0.7%) y la máxima entre Florida y Jamaica (Cuadro 4), sin embargo sólo se analizó una muestra de Florida. Por otra parte, las distancias genéticas calculadas entre provincias variaron entre 1-1.1% (datos no mostrados).

### ***Pruebas de neutralidad y demografía histórica***

Los valores de las D de Tajima para el *d-loop* fueron negativos para las tres regiones, sólo presentaron valores significativos las provincia Norte y centro, así como la población total, mientras que para las F de Fu sólo fueron significativas para la provincia centro y la población total. Para *cox1* sólo se encontraron probabilidades significativas para la provincia central y la población total en ambos índices. En contraste, el marcador *RHO* presentó valores negativos pero no significativos (Cuadro 5). Estos valores negativos y significativos no se ajustan al modelo de una población de tamaño constante.

El análisis BSP para el *d-loop* de la población de *S. viride* en el Gran Caribe mostró un importante incremento del tamaño efectivo poblacional hace aproximadamente 150 mil años, alcanzado la estabilidad en un período relativamente recientemente.

## **Discusión**

### ***Variación genética e historia demográfica***

Todas las poblaciones de *S. viride* en el Gran Caribe presentaron altos niveles de diversidad haplotípica y bajos niveles de diversidad nucleotídica con el marcador mitocondrial *d-loop* de la región control (Cuadro 2). Muchas especies de peces arrecifales, incluyendo algunos escáridos, exhiben este patrón de diversidad genética presentando valores altos de diversidad haplotípica y diversidades nucleotídicas generalmente medias a bajas (Bay et al. 2004; D'Arcy et al. 2013; Horne y Herwerden 2013; Souza et al. 2015).



El resultado anterior ha sido asociado con tamaños poblacionales grandes, lo que podría representar la condición general de este escárido en el Gran Caribe, siendo una de las especies más conspicuas de los arrecifes coralinos de la región (Bernardi et al. 2000; Muss et al. 2001). Las regiones *coxI* y *RHO* presentaron valores bajos de diversidad genética para la mayoría de las poblaciones (Cuadro 2). Estas variaciones entre los marcadores utilizados han sido atribuidas a las diferencias en el tamaño efectivo poblacional y a la tasa de sustitución de los marcadores nucleares y mitocondriales (Eytan y Hellberg 2010). Sin embargo, los tres marcadores mostraron haplotipos compartidos entre las poblaciones, unidos entre sí a haplotipos únicos (Fig. 2), esto, en conjunto con los valores negativos y significativos de las  $F$  de  $F_u$  y las  $D$  de Tajima (ver cuadro 5), son consistentes con un evento de cuello de botella seguido de una expansión demográfica reciente (Winters et al. 2010; Gaither et al. 2011; D'Arcy et al. 2013). El análisis BSP fechó un evento de expansión poblacional hace 150,000 años (Fig. 3), coincidiendo con el incremento demográfico reportado para algunas especies de peces arrecifales y otros organismos marinos como moluscos y algas (Hoarau et al. 2007; Marko et al. 2010; Souza et al. 2015; Delrieu-Trottin et al. 2017). Lo cual se ha asociado con períodos interglaciares del Pleistoceno, cuando las variaciones del nivel del mar afectaron profundamente la distribución del hábitat ocasionando eventos de expansión y contracción del tamaño poblacional de varios organismos (Bellwood y Wainwright 2003; Delrieu-Trottin et al. 2017). Durante este período, el aumento del nivel del mar incrementó significativamente la cobertura de los arrecifes coralinos, ampliando la disponibilidad de hábitat y de recursos para organismos asociados a estos ecosistemas (Waelbroeck et al. 2002; Siddall et al. 2003; Bellwood y Wainwright 2003), lo que promovió expansiones demográficas en especies como *S. viride*. Sin embargo, es necesario tomar con precaución estos resultados ya que el uso diferencial de tasas

de mutación puede introducir error en la estimación del tiempo de expansión (Eytan y Hellberg 2010; Delrieu-Trottin et al. 2017).

### ***Estructura poblacional y provincias biogeográficas***

Los resultados de los análisis filogeográficos revelaron alta conectividad entre las provincias biogeográficas del Gran Caribe. La ausencia de diferenciación genética entre las tres subdivisiones del caribe (norte, centro y sur) ha sido reportada para el pez arrecifal *Abudefduf saxatilis* (Piñeros y Gutiérrez-Rodríguez 2017), lo que sugiere que las condiciones ambientales diferenciales entre las provincias no son una barrera eficaz para algunas especies de peces, incluyendo a *S. viride*.

A pesar de la hipótesis de que las rupturas biogeográficas impulsan la diferenciación poblacional (Muss et al. 2001; Rocha et al. 2002; Piñeros y Gutiérrez-Rodríguez 2017), diversos estudios filogeográficos han demostrado que algunos organismos marinos, entre ellos varias especies de peces de arrecife, carecen de estructura poblacional espacial a escalas oceánicas amplias (Muss et al. 2001; Craig et al. 2006; Horne y Van Herwerden 2013). Lo anterior generalmente es atribuido al efecto homogeneizador de la dispersión de la larva pelágica (Shulman y Bermingham 1995; Mora y Sale 2002; Weersing y Toonen 2009), ya que juega un papel crítico en la configuración de la distribución de las especies y el grado de conectividad entre las poblaciones (Wellington y Victor 1989; Bonhomme y Planes 2000, Craig et al. 2006; Horne y Van Herwerden 2013).

En especies de arrecife con estadios larvales de larga duración, se esperaría que atravesasen los límites de las barreras biogeográficas con mayor facilidad, y por lo tanto, deberían estar presentes en más de una provincia faunística y/o exhibir poca o nula estructura poblacional, dando origen a una población panmíctica (Awise 2000; Riginos y Victor 2001; Horne y Van Herwerden 2013). En contraste, especies con un periodo de duración larval corta, deberían

experimental flujo genético limitado entre las provincias, mostrando alta estructuración genética en relación con la geografía (Awise 2000, Muss et al. 2001; Riginos y Victor 2001; Cowen y Srinivasan 2006). Para el pez loro *S. viride*, no hay antecedentes sobre la duración de la larva pelágica, sin embargo, se ha reportado para otros integrantes de la familia Scaridae, que esta etapa puede durar entre 28 y 30 días, aunque algunas especies pueden llegar a pasar hasta 40 días en el ambiente pelágico (Chen 2002; Bay et al. 2004). Sin embargo, la posible duración de la etapa larvaria para *S. viride* es similar a la de otras especies de peces arrecifales co-distribuidas en el Gran Caribe, como *Halichoeres bivittatus* y las especies de los géneros *Elacatinus* y *Acanthemblemaria*, las cuales presenta una fuerte estructura genética atribuida a corrientes oceánicas y condiciones ecológicas divergentes (Taylor y Hellberg 2003; Rocha et al. 2005; Taylor y Hellberg 2006; Eytan y Hellberg 2010).

En este caso la duración del periodo larval parece no ser un buen predictor de la capacidad de dispersión de las especies. Esto es apoyado por estudios anteriores en los que se ha demostrado que algunas especies con rangos de distribución restringida presentan largos periodos de duración de la larva pelágica en relación con congéneres con rangos geográficos más grandes (Swearer et al., 1999; Leis y Carson-Ewart, 2000; Taylor & Hellberg, 2003). Por lo tanto, a pesar de que estas especies de peces arrecifales se encuentran sometidas a periodos de duración de la larva pelágica similares y a las mismas condiciones ambientales, geológicas y oceanográficas que *S. viride*, la divergencia genética entre las poblaciones parece ser promovida por sus rasgos biológicos, ya que la mayoría de las especies mencionadas se caracterizan por ser de tallas pequeñas, con altas tasas de mortalidad y recambio de individuos y por tener una fuerte asociación con el sustrato (Munday y Jones 1998; Galván-Villa 2011).

En contraste *S. viride* es considerado un pez de talla mediana llegando a alcanzar los 64 cm de longitud, con una longevidad máxima registrada de 30 años, y a pesar de que se encuentra asociado a los arrecifes coralinos, puede ocupar una gran variedad de hábitats incluyendo pastos marinos y arrecifes rocosos (Choat et al. 2003; Robertson et al. 2015). Por lo que estas características biológicas podrían ser una ventaja para *S. viride* al aumentado su capacidad de dispersión y colonización en todo el Gran Caribe.

Además de lo anterior, el efecto combinado del flujo genético histórico y los ciclos de contracciones y expansiones de la población podrían ser responsables de los patrones de homogeneidad genética observados para *S. viride*. Ya que se ha demostrado que los cambios repentinos en el tamaño de la población enmascaran la señal filogeográfica asociada con las barreras al flujo de genes en especies marinas (Pelc et al. 2009). Estos rasgos de la historia de vida, en conjunto con los patrones locales y regionales de las corrientes oceánicas en el Gran Caribe (Cowen et al. 2003; Salas-Perez et al. 2012), podrían contribuir a la homogeneidad genética de la población de *S. viride* al promover su dispersión. Además, el uso de marcadores genómicos de alta resolución, como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), sería útil para evaluar a una escala más fina los patrones de estructura y conectividad poblacional a través de las provincias del Gran Caribe.

### ***Diferencias genéticas a escala local***

No existe evidencia de estructura genética a escala geográfica amplia entre las provincias biogeográficas del Gran Caribe, sin embargo los valores de las  $F_{ST}$  pareadas sugieren que puede haber diferenciación genética moderada entre Belice y algunas poblaciones de las costa mexicana y sudamericana. Esto podría ser el resultado de la retención local de larvas causada por la formación del “Giro de Belice” (alimentado por la corriente del Caribe) lo que limita la dispersión y aísla a los organismos (Shulman y Bermingham 1995). Resultados similares han

sido reportados para las poblaciones de *Epinephelus striatus* de Belice (Jackson et al. 2014). Al parecer, a escala geográfica local, este fenómeno es suficiente para promover pequeñas diferencias genéticas en algunas poblaciones de peces arrecifales. Por esta razón, el estudio de la retención local de larvas ha adquirido importancia en la última década ya que podría jugar un papel incluso más importante que la duración de la larva pelágica en el asentamiento y estructuración de las poblaciones (Leis y Carson-Ewart 2000; Taylor y Hellberg 2003). Sin embargo, el tamaño de muestra en este estudio (seis individuos) podría influir en los valores obtenidos de diferenciación genética para Belice, ya que se ha observado que a medida que aumenta el muestreo las diferencias entre las poblaciones tienden a disminuir (Kalinowski 2005).

### ***Implicaciones para la conservación***

Durante los últimos años ha aumentado exponencialmente la pesca comercial dirigida hacia los peces loro en la región del Gran Caribe, lo que ha ocasionado una fuerte presión sobre sus poblaciones (Comeros-Raynal et al. 2012; Mumby 2014). A pesar de que los impactos antropogénicos se dan en un rango de tiempo relativamente corto, puede tener efectos importantes a una escala de tiempo evolutivo (Craig et al. 2006). Por lo que conocer los niveles de variación genética y conectividad histórica entre las poblaciones, proporciona un indicio sobre la capacidad de las especies para mantener su potencial evolutivo y responder a cambios ambientales futuros (Knowlton 2001; Begger et al. 2014).

Además, el grado de conectividad entre las poblaciones de organismos marinos tiene importantes implicaciones para el manejo de los recursos y la conservación; ya que teóricamente sería necesario un número menor de reservas marinas para lograr una protección adecuada de los suministros larvarios en poblaciones bien conectadas, como es el caso del pez loro *S. viride*,

en contraste con poblaciones altamente estructuradas se requerirían un mayor número de reservas (Baums et al. 2005, Cowen et al. 2006). En este sentido, parece ser que las áreas marinas protegidas del Gran Caribe son suficientes para garantizar la protección y recuperación de las poblaciones del pez loro *S. viride*, ya que se encontró alta conectividad genética y valores altos de diversidad genética en todas sus poblaciones, lo que es un indicador de su elevada capacidad de dispersión y colonización, por lo que estas áreas podrían funcionar como reservorios larvales y fuente de propágulos para regiones con sobreexplotación pesquera.

## **Conclusiones**

La alta conectividad genética y la falta de divergencia entre las poblaciones de *S. viride*, indican que las condiciones ambientales contrastantes de las provincias biogeográficas propuestas por Robertson y Cramer (2014) para el Gran Caribe no son una barrera al flujo de genes, lo que sugiere la presencia de una población panmíctica a lo largo de su distribución. Sin embargo, se encontraron diferencias genéticas sutiles a escala local en la población de Belice, posiblemente impulsadas por el “giro de Belice”. Al parecer la duración de la larva pelágica no es un buen predictor de la capacidad de dispersión de *S. viride*, ya que la ausencia de estructura de la población parece responder a las características intrínsecas de la especie, eventos demográficos históricos así como a los patrones locales y regionales de las corrientes oceánicas en el Gran Caribe, lo que en conjunto ha contribuido a la homogeneidad genética de la población de *S. viride* al promover su dispersión y colonización en toda la región.

## **Agradecimientos**

Gracias a la Dra. Sabina I. Lara, al Dr. Juan C. Montero, al Dr. Rodolfo Pérez y al Dr. Antonio Gonzáles por sus valiosos comentarios y sugerencias para mejorar este trabajo. A mi asesor el Dr. Omar Domínguez Domínguez por todo su apoyo durante mi proceso de formación académica. Al Dr. Isaí Betancourt por sus consejos en el análisis de datos. Al Dr. Nuno Simoes, a la Dra. Carol Baldwin y al Dr. Ricardo Betancourt por la donación de material biológico y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para mis estudios de maestría.

## Referencias

- Andras JP, Rypien KL, Harvell CD (2013) Range-wide population genetic structure of the Caribbean sea fan coral, *Gorgonia ventalina*. *Mol Ecol* 22:56–73.
- Avice JC (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge
- Barret JC, Fry B, Maller J, Daly MJ (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotypes maps. *Bioinformatics* 21:263–265.
- Baums IB, Miller MW, Hellberg ME (2005) Regionally isolated populations of an imperiled Caribbean coral, *Acropora palmata*. *Mol Ecol* 14:1377–1390.
- Baums IB, Paris CB, Cherubin L (2006) A bio-oceanographic filter to larval dispersal in a reef building coral. *Limnol Oceanogr* 51:1969–1981.
- Bay LK, Choat JH, Van Herwerden L, Robertson DR (2004) High genetic diversities and complex genetic structure in an Indo-Pacific tropical reef fish (*Chlorurus sordidus*): evidence of an unstable evolutionary past? *Marine Biology* 144:757–767.
- Beger M, Selkoe KA, Treml EA, Barber PH, von der Heyden S, Crandall ED, Toonen RJ, Riginos C (2014) Evolving coral reef conservation with genetic information. *B Mar Scien* 90:159–185.
- Bellwood DR, Wainwright PC (2003) The history and biogeography of fishes on coral reefs. In: Sale PF (ed) *Coral reef fishes: dynamics and diversity on a complex ecosystem*. Academic Press, New York, pp 5–32.
- Bernardi G, Robertson DR, Clifton KE, Azzurro E (2000) Molecular systematics, zoogeography, and evolutionary ecology of the Atlantic parrotfish genus *Sparisoma*. *Molec Phyl Evol* 15:292–300.
- Böhlke JE, Chaplin CCG (1993) *Fishes of the Bahamas and adjacent tropical waters*, 2nd edn. University of Texas Press, Austin.
- Bonhomme F, Planes S (2000) Some evolutionary arguments about what maintains the pelagic interval in reef fishes. *Environ Biol Fish* 59:365–383.
- Bowen BW, Muss A, Rocha LA, Grant WS (2006) Shallow mtDNA coalescence in Atlantic Pygmy Angelfishes (Genus *Centropyge*) indicates a recent invasión from the Indian Ocean. *J Hered* 97:1–12.
- Comeros-Raynal MT, Choat JH, Polidoro BA, Clements KD, Abesamis R, Craig MT, Lazuardi ME, McIlwain J, Muljadi A, Myers RF, Nañola Jr CL, Pardede S, Rocha LA, Russell B, Sanciangco JC, Stockwell B, Harwell H, Carpenter KE (2012) The likelihood of extinción of iconic and dominat herbivores andreitivores of coral reefs: the parrotfishes and surgeonfishes. *PLoS ONE* 7:e39825.
- Chen L (2002) Post-settlement diet shift of *Chlorurus sordidus* and *Scarus schlegeli* (Pisces: Scaridae). *Zool. Stud.* 41:47–58.



- Choat JH, Robertson DR, Ackerman JL y Posada JM (2003) An age-based demographic analysis of the Caribbean stoplight parrotfish *Sparisoma viride*. Marine Ecology Progress Series, 246:265-277.
- Cowen RK, Paris CB, Olso DB, Fortuna JL (2003) The role of long distance dispersal versus local retention in replenishing marine populations. Gulf Caribb Res 14:129–137.
- Cowen RK, Paris CB, Srinivasan A (2006) Scaling of connectivity in marine populations. Science 231:522–527
- Craig, MT, Hastings PA, Pondella DJ, Ross Robertson D, Rosales-Casián 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.
- D'arcy J, Mirimin, L, FitzGerald R (2013). Phylogeographic structure of a protogynous hermaphrodite species, the ballan wrasse *Labrus bergylta*, in Ireland, Scotland, and Norway, using mitochondrial DNA sequence data. ICES J Mar Scien 70:685-693.
- 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. Scientific reports 7:40519.
- Drummond, AJ, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG (2005) Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. Molecular Biol Evol 22: 1185-1192.
- Drummond, AJ, Rambaut A (2007) BEAST v1.4.7. Disponible en: <http://evolve.zoo.ox.ac.uk/>.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. Evolut Bioinform 1:47–50.
- Eytan RI, Hellberg ME (2010) Nuclear and mitochondria sequence data reveal and conceal different demographic histories and population genetic processes in Caribbean reef fishes. Evolution 64:3380–3397.
- Floeter, SR, Rocha LA, Robertson DR, Joyeux JC, Smith-Vaniz WF, Wirtz P, Brito A (2008). Atlantic reef fish biogeography and evolution. J Biogeogr 35:22-47.
- Fu YX, Li WH (1993) Statistical tests of neutrality of mutations. Genetics. 133: 693-709.
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics. 147:915-925.
- Gaither, MR, Bowen BW, Bordenave TR, Rocha LA, Newman SJ, Gomez JA, Craig MT (2011) Phylogeography of the reef fish *Cephalopholis argus* (Epinephelidae) indicates Pleistocene isolation across the Indo-Pacific Barrier with contemporary overlap in the Coral Triangle. BMC Evol Biol 11:189.
- Galván-Villa CM (2011). Peces crípticos: componente importante de los sistemas arrecifales. CONABIO. Biodiversitas, 97:1-5.

- Geertjes GJ, Postema J, Kamping A, Van Delden W, Videler JJ, Van de Zande L (2014) Allozymes and RAPDs detect little genetic population substructuring in the Caribbean stoplight parrotfish *Sparisoma viride*. *Mar Ecol Progr Ser.* 279:225–235.
- Hoarau G, Coyer JA, Veldsink JH., Stam WT, Olsen JL (2007) Glacial refugia and recolonization pathways in the brown seaweed *Fucus serratus*. *Mol Ecol* 16:3606-3616.
- Horne, JB, Herwerden, L (2013) Long-term panmixia in a cosmopolitan Indo-Pacific coral reef fish and a nebulous genetic boundary with its broadly sympatric sister species. *J Evol Biol* 26:783-799.
- Jackson AM, Semmens BX, de Mitcheson YS, Nemeth RS, Heppell SA, Bush PG, Aguilar-Perera A, Claydon JAB, Calosso MC, Sealey KS, Schärer MT, Bernardi G (2014) Population structure and phylogeography in Nassau grouper (*Epinephelus striatus*), a mass-aggregating marine fish. *PLoS ONE* 9:e97508.
- Kalinowski ST (2005) Do polymorphic loci require large sample size to estimate genetic distances? *Heredity* 94:33–36.
- Knowlton N (2001) The future of coral reefs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98:5419-5425.
- Leis JM y Carson-Ewart BM (Eds.) (2000) *The larvae of Indo-Pacific coastal fishes: an identification guide to marine fish larvae (Vol. 2)*. Brill.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25: 1451–1452.
- Limborg MT, Helyar SJ, de Bruyn M, Taylor MI, Nielsen EE, Ogden R, Carvlaho GR, Bekkevold D, FPT Consortium (2012) Environmental selection on transcriptome derived SNPs in a high gene flow marine fish, the Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Mol Ecol* 21:3686–3703.
- Marko PB, Hoffman JM, Emme SA, McGovern TM, Keever CC, Nicole Cox L (2010) The ‘Expansion–Contraction’ model of Pleistocene biogeography: rocky shores suffer a sea change?. *Mol Ecol* 19:146-169.
- Mora C, Sale PF (2002) Are populations of coral reef fish open or closed?. *T Ecol Evol* 17:422-428.
- Mumby PJ (2006) The impact of exploiting grazers (Scaridae) on the dynamics of caribbean coral reefs. *Ecol Applicat* 16:747–769.
- Mumby PJ, Flower J, Chollett I, Box SJ, Yves-Marie B, Fitzsimmons C, Forster J, Gill D, Griffith-Mumby R, Oxenford HA, Peterson AM y 33 más (2014) *Hacia la resiliencia del arrecife y medios de vida sustentables: Un manual para los administradores de arrecifes de coral del Caribe*. University of Exeter, Exeter. 172 paginas.
- Munday PL y Jones GP (1998). The ecological implications of small body size among coral-reef fishes. *Oceanogr Mar Biol*, 36:373-411.

- Muss A, Ross Robertson D, 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.
- Paddack MJ, Sponaugle S, Cowen RK (2009) Small-scale demographic variation in the stoplight parrotfish *Sparisoma viride*. *J fish biol*, 75:2509-2526.
- Pelc RA, Warner RR, Gaines SD (2009) Geographical patterns of genetic structure in marine species with contrasting life histories. *J Biogeogr* 36:1881–1890.
- Piñeros VJ, Gutiérrez-Rodríguez C (2017) Population genetic structure and connectivity in the widespread coral-reef fish *Abudefduf saxatilis*: the role of historic and contemporary factors. *Coral Reefs*, 36: 877-890.
- Planes S, Parroni M, Chauvet C (1998) Evidence of limited gene flow in three species of coral reef fishes in the lagoon of New Caledonia. *Mar Biol* 130:361–368.
- Reinboth R (1968) Protogynie bei Papageifischen (Scaridae). *Z Naturforsch* 23:852–855.
- Riginos C, Victor BC 2001 Larval spatial distributions and other early life–history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proc R Soc Lond B* 268:1931-1936.
- Robertson DR, Cramer KL (2014) Defining and dividing the Great Caribbean; insights from the biogeography of shorefishes. *PLoS ONE* 9:e102918.
- Robertson DR, Peña EA, Posada JM, Claro R (2015) Peces Costeros del Gran Caribe: Sistema de información en línea. Version 1.0. Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Balboa, República de Panamá. Disponible en: <http://biogeodb.stri.si.edu/caribbean/es/pages>.
- Rocha LA, Bass AL, Robertson DR, Bowen BW (2002) Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae). *Mol Ecol* 11:243-251.
- Rocha LA, Robertson DR, Roman J, Bowen BW (2005) Ecological speciation in tropical reef fishes. *Proc. R Soc B: Biol Sci* 272:573-579.
- Salas-Pérez JJ, Salas-Monreal D, Monreal-Gómez MA, Riverón- Enzástiga ML, Llasat C (2012) Seasonal absolute acoustic intensity, atmospheric forcing and currents in a tropical coral reef system. *Estuar Coast Shelf Sci* 100:102–112.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis TJ (1989) *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor, N. Y. Cold Spring Harbor Laboratory. Press.
- Shulman MJ, Bermingham E (1995) Early life histories, ocean currents, and population genetics of Caribbean reef fishes. *Evolution* 49:897–910.
- Siddall M, Rohling EJ, Almogi-Labin A, Hemleben C, Meischner D, Schmelzer I, Smeed DA (2003) Sea-level fluctuations during the last glacial cycle. *Nature*, 423:853-858.

- Souza, AS, Dias Júnior EA, Galetti Jr PM, Machado EG, Pichorim M, Molina WF (2015) Wide-range genetic connectivity of Coney, *Cephalopholis fulva* (Epinephelidae), through oceanic islands and continental Brazilian coast. *A Acad Bras Ciên* 87:121-136.
- Stephens M, Donnelly PA (2003) Comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am. J. Hum Genet* 73:1162–1169.
- Swearer SE, Caselle JE, Lea DW y Warner RR (1999) Larval retention and recruitment in an island population of a coral-reef fish. *Nature*, 402: 799.
- Tajima F. 1983. Evolutionary Relationship of DNA-Sequences in Finite Populations. *Genetics* 105:437-460.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2013) MEGA7. Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol* 28:2731–2739.
- Taylor MS, Hellberg ME (2003) Genetic evidence for local retention of pelagic larvae in a Caribbean reef fish. *Science* 299:107–109.
- Taylor MS, Hellberg ME (2006) Comparative phylogeography in a genus of coral reef fishes: biogeographic and genetic concordance in the Caribbean. *Mol Ecol* 15:695–707.
- Villegas-Sánchez CA, Pérez-España H, Rivera-Madrid R, Salas-Monreal D, Arias-González JE (2014) Subtle genetic connectivity between Mexican Caribbean and south-western Gulf of Mexico reefs: the case of the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*. *Coral Reefs* 33:241–251.
- Waelbroeck C, Labeyrie L, Michel E, Duplessy JC, McManus J, Lambeck K, Balbon E, Labracherie M, 2002. Sea-level and deep water temperature changes derived from benthic foraminifera isotopic records. *Quat Sci Rev* 21:295e305.
- 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* 101:557–567.
- Winters KL, van Herwerden L, Choat JH, Robertson DR (2010) Phylogeography of the Indo-Pacific parrotfish *Scarus psittacus*: isolation generates distinctive peripheral populations in two oceans. *Mar Biol* 157:1679-1691.

## Cuadros y Figuras

**Cuadro 1.** Localidades de muestreo de *Sparisoma viride* en el Gran Caribe, incluye datos del número de secuencias amplificadas para cada marcador.

Provincia	Población	Localidad	Número de secuencias por marcador			Coordenadas		Fuente
			<i>d-loop</i>	<i>coxI</i>	<i>RHO</i>	Latitud (N)	Longitud (O)	
Norte	Florida (EUA)	Phil Foster Park	1	1	1	26°47'5.28"	80° 2'35.52"	Smithsonian
	Sistema arrecifal veracruzano	Isla Lobos	9	4	4	21°27'57.44"	97°13'36.64"	UMSNH
		Antón Lizardo	20	7	3	19° 5'22.23"	95°56'34.77"	UMSNH
	Banco Campeche	Cayos Sumergidos del Oeste	9	2	3	20°57'38.63"	92°18'27.04"	UMSNH
		Arrecife Alacranes	4	4	4	22°29'29.60"	89°41'59.49"	UMSNH
Centro	Caribe Mexicano Norte	Isla Mujeres	17	2	–	21°19'33.90"	86°46'23.00"	UMSNH
		El Faro	11	2	1	21°16'1.20"	86°44'56.60"	UMSNH
		Tanchacte	11	3	–	20°57'42.50"	86°48'51.50"	UMSNH
		Puerto Morelos	13	3	–	20°52'6.20"	86°50'50.20"	UMSNH
		Cozumel	14	2	–	20°28'58.50"	86°45'48.60"	UMSNH
		Punta Allen	17	3	1	19°47'59.00"	87°28'35.00"	UMSNH
	Caribe Mexicano Sur	Mahauai	13	2	1	18°39'8.00"	87°43'22.62"	UMSNH
		Xcalak	33	3	–	18°25'31.96"	87°45'35.48"	UMSNH
		Banco Chinchorro	9	1	1	18°37'22.05"	87°17'32.93"	UMSNH
	Belice	Carrie Bow Cay	5	5	5	16°48'3.59"	88°4'59.97"	Smithsonian
		Curlew Cay	1	1	1	16°41'35.67"	88°3'51.15"	Smithsonian
	Jamaica	Pedro Bank	10	2	2	17° 2'53.21"	78°30'17.17"	Smithsonian
		Old Harbor	4	1	2	17°56'21.65"	77°6'28.06"	Smithsonian
		Hunts Bay	5	2	1	17°58'41.08"	76°51'37.85"	Smithsonian
	Bahamas	Hoffman Cay	1	1	1	25°45'5.40"	77°40'5.16"	Smithsonian
	Puerto Rico	Playa la Jungla	1	–	–	17°56'39.55"	67° 1'12.70"	UPR
		Playa Sails	2	1	–	17°53'20.70"	66°57'15.12"	UPR
		La parguera	5	2	1	17°57'10.15"	67°3'23.22"	UPR
		Old Busy	1	–	–	17°53'17.92"	66°59'52.91"	UPR
		Magueyes	1	1	1	17°57'57.46"	67° 2'55.20"	UPR
Islas vírgenes de EUA	Brewers Bay	–	1	–	18°20'24.00"	64°58'48.00"	Bold-Systems	
Dominica	Soufriere	–	1	–	15°12'0.00"	61°23'60.00"	Bold-Systems	
Sur	Colombia	El Morro	1	–	1	11°14'57.30"	74°13'52.08"	UPR
		Taganga	17	4	3	11°15'49.44"	74°12'2.68"	UMSNH
	Venezuela	Isla Margarita	3	4	2	10°57'2.30"	63°51'14.80"	UMSNH
		Trinidad y Tobago	Arnos Vale beach	1	1	1	11°13'36.12"	60°45'50.04"
	Stor Bay		1	2	1	11° 9'20.88"	60°50'31.92"	Smithsonian
	Buccoo Reef		2	2	2	11°11'17.16"	60°50'44.88"	Smithsonian
	Mount Irvine fish market		1	1	–	11° 7'26.27"	60°47'59.56"	Smithsonian

**Cuadro 2.** Índices de diversidad genética para las poblaciones de *Sparisoma viride* en el Gran Caribe utilizando datos de ADNmt y ADNn.

Población	<i>d-loop</i>					<i>coxI</i>					<i>RHO</i>				
	n	Hn	S	Hd ± SD	π ± SD	n	Hn	S	Hd ± SD	π ± SD	n	Hn	S	Hd ± SD	π ± SD
<b>Provincia Norte</b>															
Florida	1	–	–	–	–	1	–	–	–	–	2	1	0	0	0
S. A. veracruzano	29	14	15	0.842 ± 0.059	0.0094 ± 0.0057	11	2	1	0.181 ± 0.143	0.0003 ± 0.0005	14	3	2	0.274 ± 0.148	0.0003 ± 0.0004
Banco Campeche	13	8	12	0.897 ± 0.066	0.0128 ± 0.0077	6	1	0	0	0	14	3	2	0.384 ± 0.149	0.0004 ± 0.0005
Total	43	19	20	0.862 ± 0.044	0.0106 ± 0.0062	18	2	1	0.111 ± 0.096	0.0001 ± 0.0003	30	5	4	0.308 ± 0.107	0.0004 ± 0.0004
<b>Provincia Centro</b>															
C. mexicano norte	83	34	31	0.873 ± 0.028	0.0110 ± 0.0063	15	3	3	0.257 ± 0.141	0.0007 ± 0.0007	4	1	0	0	0
C. mexicano sur	55	24	33	0.880 ± 0.031	0.0105 ± 0.0061	6	1	0	0	0	4	1	0	0	0
Belice	6	5	4	0.933 ± 0.121	0.0052 ± 0.0041	6	3	2	0.600 ± 0.215	0.0011 ± 0.0012	12	3	2	0.318 ± 0.163	0.0005 ± 0.0006
Jamaica	19	11	26	0.865 ± 0.071	0.0177 ± 0.0100	5	1	0	0	0	10	1	0	0	0
Bahamas	1	–	–	–	–	1	–	–	–	–	2	1	0	0	0
Puerto Rico	10	8	8	0.955 ± 0.059	0.0108 ± 0.0068	4	1	0	0	0	4	1	0	0	0
Islas vírgenes	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Dominica	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Total	174	60	61	0.881 ± 0.017	0.0115 ± 0.0065	39	5	5	0.197 ± 0.084	0.0004 ± 0.0005	36	3	2	0.109 ± 0.070	0.0001 ± 0.0003
<b>Provincia Sur</b>															
Colombia	18	9	11	0.836 ± 0.075	0.0102 ± 0.0062	4	2	1	0.500 ± 0.265	0.0008 ± 0.0011	8	2	1	0.250 ± 0.180	0.0003 ± 0.0004
Venezuela	3	3	9	1.000 ± 0.272	0.0198 ± 0.0161	4	2	1	0.500 ± 0.265	0.0008 ± 0.0011	4	1	0	0	0
Trinidad y Tobago	5	5	10	1.000 ± 0.126	0.0151 ± 0.0104	6	2	1	0.333 ± 0.215	0.0005 ± 0.0007	8	1	0	0	0
Total	26	15	17	0.876 ± 0.057	0.0116 ± 0.0068	14	4	3	0.395 ± 0.158	0.0007 ± 0.0008	20	2	1	0.100 ± 0.088	0.0001 ± 0.0002

**n:** tamaño de muestra, **Hn:** número de haplotipos, **S:** número de sitios polimórficos, **Hd:** diversidad haplotípica, **π:** diversidad

nucleotídica, **SD:** desviación estándar. (–) indica casos en los que no fue posible estimar los índices de diversidad genética debido al

tamaño de muestra reducido.

**Cuadro 3.** Análisis de varianza molecular (AMOVA) utilizando el *d-loop* de la región control.

<b>Grupos</b>	<b>Fuente de variación</b>	<b>% de variación</b>	<b>Índice de fijación</b>	<b>P- valor</b>
Provincias Biogeográficas (Robertson y Cramer 2014) (Tres grupos genéticos)	Entre grupos	-1.62	$\Phi_{CT}$ : -0.0161	0.9799
	Entre poblaciones dentro de los grupos	3.52	$\Phi_{SC}$ : 0.0346	0.0531
	Dentro de las poblaciones	98.09	$\Phi_{ST}$ : 0.0190	0.0782
	Total	100		
Población panmictica (Un grupo genético)	Entre poblaciones	2.73	$\Phi_{ST}$ : 0.0273	0.0800
	Dentro de las poblaciones	97.27		
	Total	100		

**Cuadro 4.** Comparaciones en pares de  $F_{ST}$  y distancias genéticas no corregidas para cada población de *Sparisoma viride* del Gran Cribre utilizando el d-loop de la región control. Los valores calculados para la frecuencia de haplotipos se encuentran bajo la diagonal y los valores de las distancias genéticas no corregidas están dados sobre la diagonal.

	PROVINCIA NORTE			PROVINCIA CENTRO						PROVINCIA SUR		
	FLO	SAV	BCAM	CMXN	CMXS	BLZ	JAM	BAH	PRC	COL	VNZ	TOB
FLO	—	0.014	0.012	0.014	0.014	0.007	0.015	0.004	0.012	0.013	0.014	0.014
SAV	0.2820	—	0.010	0.010	0.010	0.011	0.010	0.010	0.011	0.010	0.012	0.011
BCAM	-0.0100	0.0022	—	0.011	0.011	0.010	0.011	0.009	0.011	0.011	0.012	0.011
CMXN	0.1965	-0.0152	0.0030	—	0.010	0.011	0.010	0.011	0.011	0.010	0.013	0.012
CMXS	0.1982	-0.0196	-0.0034	-0.0067	—	0.011	0.010	0.010	0.011	0.010	0.012	0.011
BLZ	0.2000	<b>0.2256</b>	0.0726	<b>0.1801</b>	<b>0.1670</b>	—	0.011	0.004	0.010	0.011	0.012	0.011
JAM	0.0075	0.0029	-0.0015	0.0150	0.0135	0.1483	—	0.011	0.011	0.010	0.012	0.011
BAH	1.0000	0.0426	-0.3648	-0.0570	-0.0673	-0.6000	-0.2169	—	0.008	0.010	0.011	0.010
PRC	0.0101	0.0146	-0.0279	0.0086	0.0099	0.0929	0.0259	-0.4202	—	0.011	0.013	0.012
COL	0.1833	-0.0155	-0.0157	-0.0086	-0.0142	<b>0.1857</b>	0.0022	-0.1105	-0.0123	—	0.012	0.011
VNZ	-0.2857	0.0222	-0.0612	0.0154	0.0068	<b>0.1780</b>	-0.0477	-0.6363	-0.0140	-0.0126	—	0.013
TOB	-0.0952	-0.0306	-0.1078	-0.0217	-0.0415	0.1081	-0.0546	-0.4375	-0.0341	-0.0465	-0.1668	—

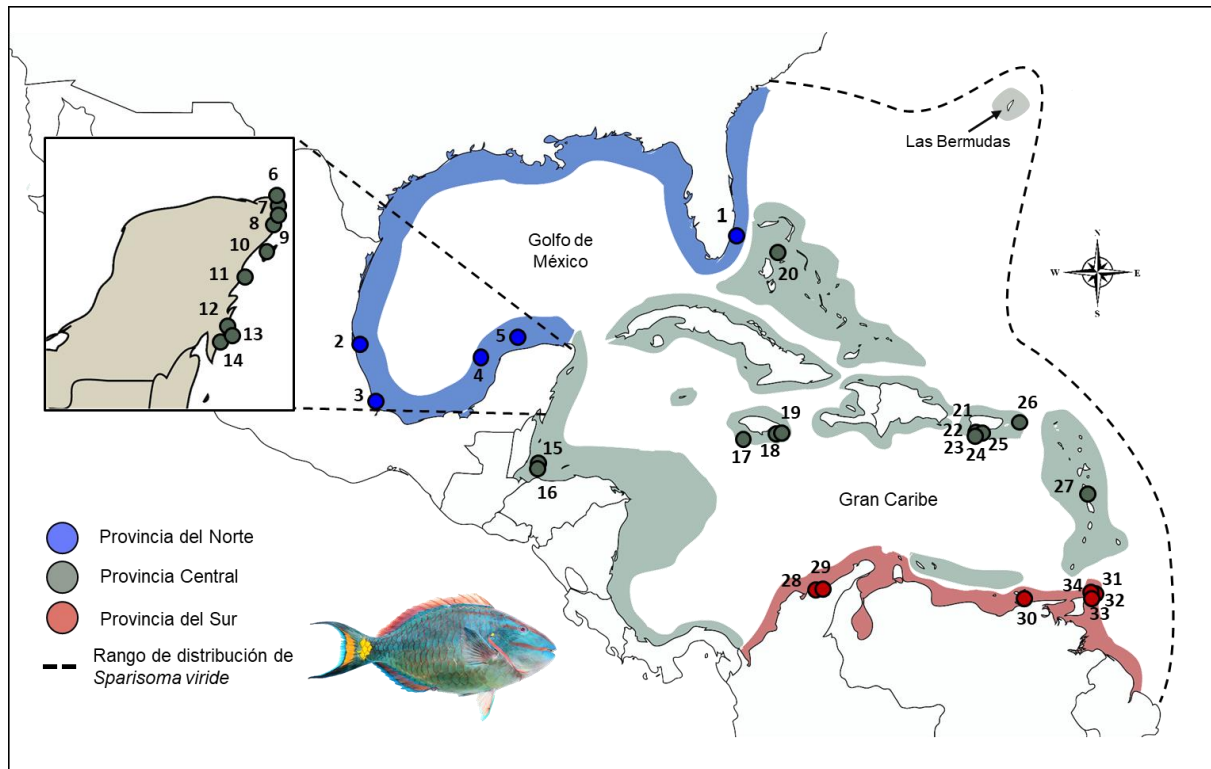
FLO: Florida, SAV: Sistema arrecifal veracruzano, BCAM: Banco Campeche, CMXN: Caribe mexicano norte, CMXS: Caribe mexicano sur, BLZ: Belice, JAM: Jamaica, BAH: Bahamas, PRC: Puerto Rico, COL: Colombia, VNZ: Venezuela, TOB: Trinidad y Tobago. Los números en negritas indican valores estadísticamente significativos  $p < 0.05$ .



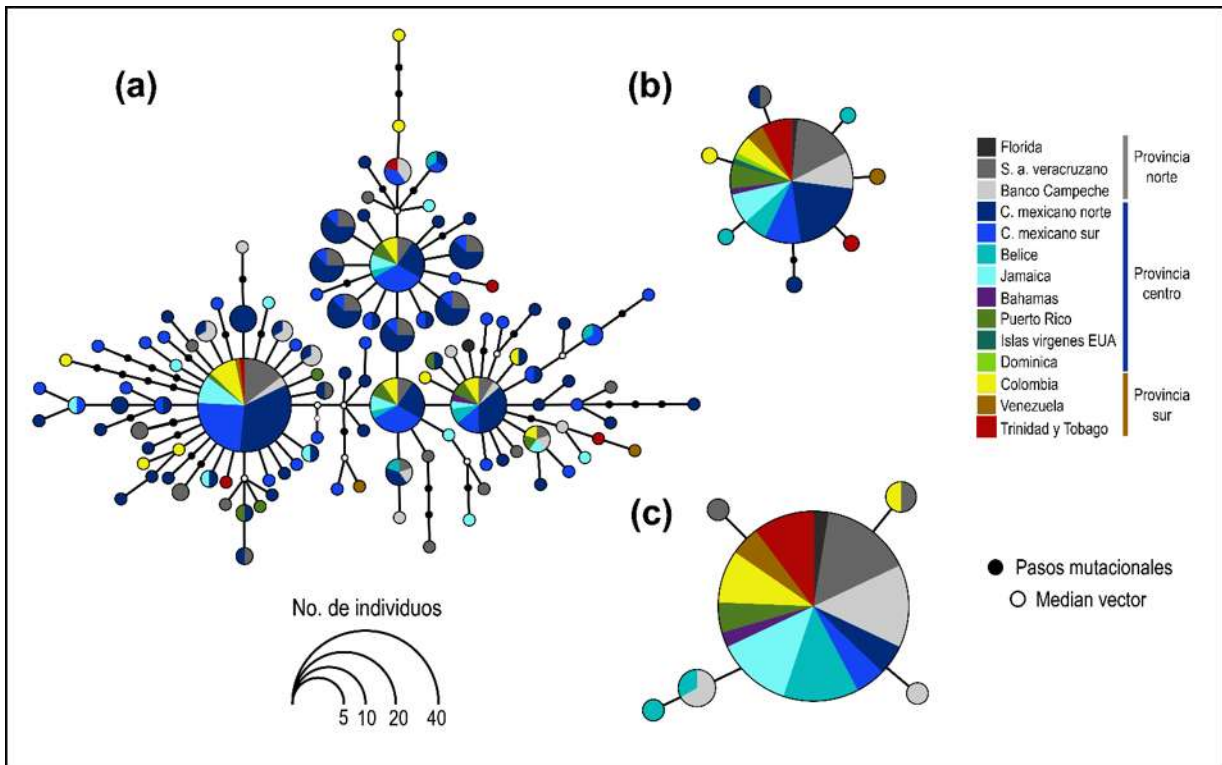
**Cuadro 5.** Estimación de la demografía histórica utilizando las D de Tajima y las F de Fu.

<b>Marcador</b>		<b>D de Tajima</b>	<b>P valor</b>	<b>F de Fu</b>	<b>P valor</b>	<b>r</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>d-loop</b>	Provincia del Norte	-1.9123	< 0.05*	-1.4765	> 0.10	0.0446	0.0812
	Provincia Central	-1.9073	< 0.05*	-5.0784	< 0.02**	0.0159	0.0305
	Provincia del Sur	-0.6873	> 0.10	-0.7200	> 0.10	0.0245	0.1009
	<b>Total</b>	-1.9123	< 0.05*	-4.6808	< 0.02**	0.0186	0.0288
<b>coxI</b>	Provincia del Norte	-1.1646	> 0.10	-1.6117	> 0.10	0.6173	0.2291
	Provincia Central	-2.0045	< 0.05*	-3.54629	< 0.02**	0.4477	0.0808
	Provincia del Sur	-1.6705	> 0.10	-2.2546	> 0.10	0.1682	0.1368
	<b>Total</b>	-2.1713	< 0.01**	-4.0488	< 0.02**	0.3924	0.0429
<b>RHO</b>	Provincia del Norte	-1.7316	> 0.10	-2.2145	> 0.10	0.2352	0.0767
	Provincia Central	-1.2844	> 0.10	-1.0833	> 0.10	0.7000	0.0865
	Provincia del Sur	-1.1643	> 0.10	-1.6476	> 0.10	0.6500	0.2179
	<b>Total</b>	-1.7335	> 0.10	-2.3142	> 0.10	0.4683	0.0391

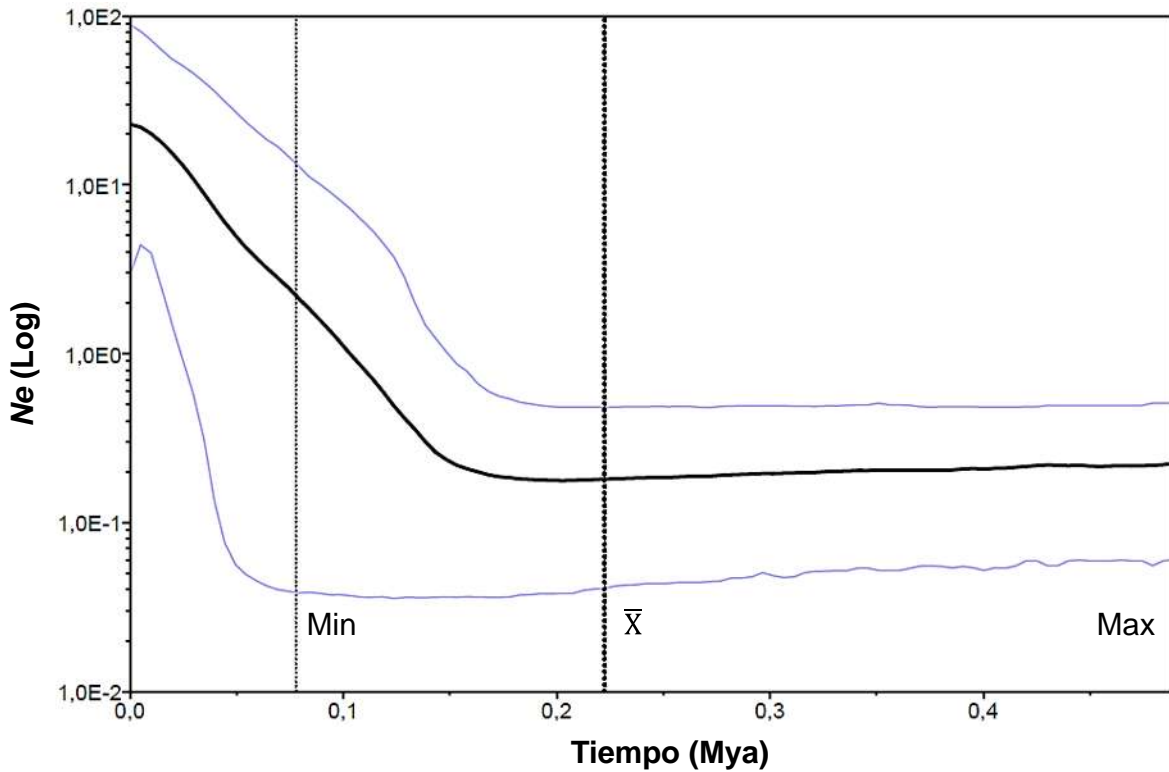
\*p &lt; 0.01, \*\*p &lt; 0.001

**Figura 1**

**Figura 1.** Sitios de muestreo de *Sparisoma viride* a través de su rango de distribución en el Gran Caribe. Las provincias biogeográficas y los sitios de colecta por provincia se encuentran representadas por colores distintos de acuerdo a la leyenda. Localidades de la Provincia Norte: 1. Phil Foster Park, 2. Isla Lobos, 3. Antón Lizardo, 4. Cayos Sumergidos del Oeste, 5. Arrecife Alacranes. Localidades de la Provincia Centro: 6. Isla Mujeres, 7. El Faro, 8. Tanchacte, 9. Puerto Morelos, 10. Cozumel, 11. Punta Allen, 12. Mahaual, 13. Xcalak, 14. Banco Chinchorro, 15. Carrie Bow Cay, 16. Curlew Cay, 17. Pedro Bank, 18. Old Harbor, 19. Hunts Bay, 20. Hoffman Cay, 21. Playa la Jungla, 22. Playa Saila, 23. La parguera, 24. Old Busy, 25. Magueyes, 26. Brewers Bay, 27. Soufriere. Localidades de la Provincia Sur: 28. El Morro, 29. Taganga, 30. Isla Margarita, 31. Arnos Vale beach, 32. Stor Bay, 33. Buccoo Reef, 34. Mount Irvine fish market.

**Figura 2**

**Figura 2.** Redes de haplotipos para los marcadores de ADNmt *d-loop* (a) y *coxI* (b) y el marcador de ADNn *RHO* (c). Los colores representan las poblaciones de cada provincia biogeográfica de acuerdo a la leyenda. El área de los círculos es proporcional a la frecuencia del haplotipo.

**Figura 3**

**Figura 3.** Historia demográfica de las poblaciones de *Sparisoma viride* en el Gran Caribe usando Bayesian Skyline Plots (BSP) para las secuencias del *d-loop*. Las líneas punteadas representan la ubicación del límite de confianza superior (Máx), la media ( $\bar{X}$ ) y el límite inferior (Mín) del HPD = 95%.

## Material complementario

**Cuadro S1.** Protocolo de PCR para cada marcador, primers y referencias.

		<i>d-loop</i>	<i>cox1</i>	<i>RHO</i>
	Templado de ADN	1 µl (10-100 ng)	1 µl (10-100 ng)	1 µl (10-100 ng)
Volumen y concentración de reactivos utilizados para la PCR	Agua ultrapura	8.25 µl	8.75 µl	7.75 µl
	Buffer	1.25 µl (1x)	1.25 µl (1x)	1.25 µl (1x)
	dNTP	0.25 µl (0.20 mM)	0.25 µl (0.20 mM)	0.25 µl (0.20 mM)
	MgCl <sub>2</sub>	0.63 µl (2.50 mM)	0.38 µl (1.50 mM)	0.63 µl (2.50 mM)
	BSA	—	0.50 µl (1.25 mg/ml)	0.50 µl (1.25 mg/ml)
	Primer	0.50 µl por cada primer (0.40 µM)	0.13 µl por cada primer (0.10 µM)	0.50 µl por cada primer (0.40 µM)
	Taq DNA polimerasa (Invitrogen)	0.25 µl (0.05 U)	0.13 µl (0.05 U)	0.13 µl (0.05 U)
Condiciones de PCR	Primer	RCA RCE	FISH 1F FISH 1R	RH193 RH1073
	Secuencia (F)	5'-TTCCACCTCTAAC TCCCAAAGCTAG-3'	5'-TCAACCAACCACA AAGACATTGGCAC-3'	5'-CNTATGAATAYC CTCAGTACTACC-3'
	Secuencia (R)	5'-CCTGAAGTAGGA ACCAGATG-3'	5'-TAGACTTCTGGGT GGCAAAGAATCA-3'	5'-CCRCAGCACARC GTGGTGATCATG-3'
	Referencia	Lee et al. 1995	Ward et al. 2005	Chen et al. 2003
	Desnaturalización (paso 1)	94°C, 2 min	94°C, 5 min	94°C, 3 min
	Ciclos (paso 2)	35	30	32
	Desnaturalización	94°C, 30 seg	94°C, 1 min	94°C, 45 seg
	Alineamiento	55°C, 1 min	52°C, 1 min	55°C, 45 seg
	Extensión	72°C, 2 min	72°C, 1 min	72°C, 1 min 30 seg
	Extensión final (paso 3)	72°C, 10 min	72°C, 10 min	72°C, 7 min