UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Estructura genética de las poblaciones de dos especies de haemúlidos (*Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri*) en el Caribe colombiano.

Proyecto de tesis para optar al título de Magíster en Ciencias – Línea Biología Marina

Estudiante: Paula Estefanny Pabón Quintero, c.c. 1032440931

Director: Arturo Acero Pizarro, PhD, Universidad Nacional de Colombia

Codirector: José Julián Tavera Vargas, PhD, Universidad del Valle

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Estudios en Ciencias del Mar – CECIMAR, Sede Caribe
Convenio Universidad Nacional de Colombia – INVEMAR
Santa Marta, Colombia
Noviembre 2016

A los peces Roncos, A mis padres, a mi hermano, a Juan David y al pedacito de corazón de los dos que está latiendo y expandiéndose en mis entrañas y en mi espíritu.

A mi familia y a todos los seres a través de los cuales Dios me ama

Agradecimientos

Agradecimientos a entidades financiadoras, las cuales aportaron algunos de los fondos para la realización del presente proyecto de tesis:

- Colciencias- Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores- Convocatoria 645 de 2014.
- Fundación para promoción de la Investigación y la Tecnología- FPIT del Banco de la República de Colombia- Proyecto No. 3854
- Universidad Nacional de Colombia- Sede Caribe.

Quiero agradecer a mis directores Arturo Acero y José Julián Tavera por todo su apoyo intelectual, personal y por su gran amistad. Son los mejores directores que habría podido desear. A Ana María Millán por su apoyo en el Laboratorio de Ictiología de la Universidad del Valle, así como a los demás integrantes del laboratorio que me colaboraron de diversas maneras.

Gracias a Néstor Campos, por su apoyo con la beca de jóvenes investigadores de Colciencias, a Sven Zea, Edna Márquez y demás profesores y compañeros del Cecimar por todas sus sugerencias en torno al proceso de creación del proyecto de tesis.

Mi más profundo agradecimiento a Juan David González, por la compañía, por todos los peces, los besos, los consejos, las palabras de amor y ánimo que me brindó y me sigue brindando cada día. Y por este ser que está creciendo dentro de mí, al cual, también le agradezco porque además de ser una motivación, no me causó ninguna molestia o síntoma que me distrajera de terminar la tesis.

A mis padres, gracias por todo el apoyo siempre, sin su ayuda no habría podido terminar en el tiempo justo, gracias por sus consejos y palabras de amor. A mi tío Diego, mi abuelita y Nohora por acogerme y consentirme durante la pasantía en la U. del Valle y a Isabella y Mateo por ayudarme a encontrar los peces en el muelle.

Por último, agradezco a mi alma mater por ser mi motivo de orgullo y ser una motivación para construir país. ¡Qué viva La Nacho!

Contenido

1. RESUMEN: 5
2. ABSTRACT 6
3. INTRODUCCIÓN 7
4. ÁREA DE ESTUDIO: 11
5. MÉTODOS 15
5.1 Extracción 15
5.2 Amplificación cruzada en *Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri* 16
6. RESULTADOS 21
6.1 Amplificación cruzada en *Haemulon aurolineatum* 21
6.2 Diversidad genética *Haemulon aurolineatum*: 21
6.3 Estructura genética de *Haemulon aurolineatum*: 26
6.4 Amplificación cruzada en *Haemulon steindachneri* 28
6.5 Diversidad genética en *Haemulon steindachneri*: 29
6.6 Estructura genética de *Haemulon steindachneri* 32
7 DISCUSIÓN 34
7.1 Amplificación cruzada en *Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri* 34
7.2 Diversidad genética en *Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri* 36
7.3 Estructura genética en *Haemulon aurolineatum* 37
7.4 Estructura genética en *Haemulon steindachneri* 42
8 CONCLUSIONES: 45
9 BIBLIOGRAFÍA 46
10. ANEXO A 54
11. ANEXO B 65

1. RESUMEN:

Los estudios genéticos-poblacionales en peces marinos han permitido explorar sus modos de dispersión y la conectividad entre los hábitats. Dichos estudios se basan en que variantes alélicas en los mismos loci hacen diferir a las poblaciones y estas diferencias permiten inferir cuál es el grado de migración de individuos entre poblaciones. El flujo génico en peces marinos está determinado por procesos como la dispersión larval, la historia de vida de cada especie, factores oceanográficos y preferencias ecológicas. En el presente trabajo se determinó si existe un patrón similar de estructuración genética en las especies de *Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri* (Teleostei: Haemulidae) a lo largo del sur del Caribe (Isla Margarita, La Guajira, Santa Marta, Barú y Capurganá), empleando marcadores moleculares tipo microsatélite. Dado que ambas especies son desovadoras pelágicas de mediana talla co-distribuidas en aguas someras del Caribe colombiano, pero con preferencias ecológicas diferentes, el presente estudio investigó la posible influencia de la ecología en el flujo genético. Las poblaciones de ambas especies se hallaron desviadas significativamente del Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW). Tanto *H. aurolineatum*, como *H. steindachneri* presentaron una estructura genética significativa a lo largo del Caribe sur. Los patrones de estructuración genética de cada especie fueron notoriamente distintos. Al comparar dichos patrones se concluye que las diferencias se deben principalmente a las preferencias ecológicas, a las diferencias en temporadas de desove y a una historia evolutiva diferente en cada especie.

PALABRAS CLAVE: Microsatélites, Estructura genética, Flujo génico, EHW.

2. ABSTRACT

The studies about population genetics in marine fishes have enabled clarify their dispersal patterns and connectivity among habitats. These studies are based on that allelic variants in determined loci make differ populations. Genetic variability between populations is related to the influence of ontogeny, environmental forces, and life histories of the species. The principal aim of this research project was to examine if *Haemulon aurolineatum* and *Haemulon steindachneri* (Teleostei: Haemulidae) show genetic structure patterns in the southern Caribbean region [Isla Margarita (Venezuela) to Capurganá (Colombia-Panamá border)] using microsatellite molecular markers. Due to the fact that both species are medium size fishes with pelagic spawning that inhabit shallow waters, and that they share biological characteristics but have differences in their habitat preferences, it was researched if there is an influence of the species ecology in the genetic structure. Both species had significant deviations from Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) and significant genetic structure among populations and localities. It is hypothesized that differences in genetic structure patterns between both species are due to their evolutionary history, life history traits, and the differences in ecological preferences.

KEYWORDS: Microsatellites, genetic structure, Gene flow, HWE.

3. INTRODUCCIÓN

Los estudios de variación genética entre poblaciones de peces marinos han permitido dilucidar aspectos de su dispersión y de la conectividad entre los hábitats en los que se distribuyen. También han sido utilizados con fines prácticos en la preservación de diversidad genética y en la identificación y manejo de stocks pesqueros, entre otros (Márquez et al., 2013). Dichos estudios se basan en que variantes alélicas en los mismos loci hacen diferir las poblaciones. Esta variabilidad genética está determinada por el flujo génico, es decir, la transferencia de alelos entre poblaciones y responde a la influencia de fuerzas evolutivas, ambientales y a las historias de vida de las especies (Rocha et al., 2008). Determinar el grado de flujo génico entre poblaciones es importante porque éste determina hasta qué punto cada población local es una unidad evolutiva independiente. Si existe un alto flujo génico entre poblaciones locales estas evolucionan conjuntamente. Por el contrario, si el flujo génico es bajo se considera que cada población local evoluciona de manera independiente (Slatkin, 1987).

En peces marinos el flujo génico está determinado por procesos como la forma en que se dispersan las larvas, la historia de vida de cada especie y factores oceanográficos (Bradbury et al., 2008). Comprender cuáles de esos procesos son los que más influencian la estructura genética de las poblaciones es necesario para generar planes de manejo en especies de importancia pesquera, así como conocer los diferentes procesos evolutivos y de dispersión de las especies en un contexto filogeográfico. La diferencia en las frecuencias alélicas entre poblaciones

es denominada estructura genética. En ésta se refleja la cantidad y distribución de la variación genética, así como el grado de flujo génico de las especies. A mayor transferencia de alelos se observa menor estructuración genética. Por ello, al realizar una comparación entre las frecuencias de alelos se puede inferir cuál es el grado de migración de individuos y por ende de alelos entre la población analizada. Así mismo para determinar cuáles son los posibles factores que puedan estar influenciando la migración se hace necesario comparar la estructuración genética de especies que se encuentran co-distribuidas. Al realizar estas comparaciones se pueden encontrar congruencias o diferencias en los patrones filogeográficos, lo cual permite realizar aproximaciones a la comprensión de la relación entre las historias de vida y la estructura poblacional (Riginos et al., 2011). Además, la comparación de los patrones de estructuración genética entre especies permite identificar áreas con unidades evolutivas significativas que deben ser prioridad de conservación (Moritz, 1994; Avise, 2000).

Los estudios de genética de poblaciones en especies con relaciones filogenéticas cercanas son informativos porque permiten relacionar las características ecológicas o las historias de vida con la estructuración genética de las poblaciones, observando que en especies con estadios larvales de similar duración la diferencia en su estructuración genética se puede relacionar con hábitos en la vida adulta o la influencia de barreras físicas y no solo con el período de dispersión larval (Rocha et al., 2007). Teniendo en cuenta que los factores que influencian la estructura genética en peces marinos son principalmente las barreras biogeográficas, las corrientes oceánicas, la distancia geográfica y la

duración larval, se espera que los patrones de estructuración genética al comparar especies co-distribuidas, que tienen historias de vida similares y están sujetas a las mismas fuerzas geográficas, sean similares. Sin embargo, se han hallado notables diferencias en la estructura genética en especies que aparentemente están influenciadas por las mismas fuerzas por lo cual, se han atribuido estas diferencias en el flujo génico a las preferencias ecológicas y de hábitat de cada especie.

El género *Haemulon*, perteneciente a la familia Haemulidae, es de gran importancia ecológica y económica en los arrecifes del Nuevo Mundo (Rocha et al., 2008). Así mismo, ha sido empleado como modelo para analizar hipótesis evolutivas, de especiación y generación de diversidad en el Gran Caribe (Rocha et al., 2008; Tavera et al., 2012). Sus especies presentan una amplia distribución geográfica y habitan ambientes contrastantes (Tavera et al., 2012), que en el océano Atlántico se ven influenciados en gran medida por diferentes barreras (i.e la barrera amazónica) (Rocha et al., 2008). Entre los haemúlidos, dos especies representativas en el Gran Caribe son *Haemulon aurolineatum* (Cuvier, 1830) y *Haemulon steindachneri* (Jordan & Gilbert, 1882), las cuales son importantes en la pesca artesanal, se encuentran co-distribuidas, presentan historias de vida similares, pero varían en sus preferencias ecológicas. Tanto *H. aurolineatum* como *H. steindachneri* pueden ser halladas en distintos hábitats como arrecifes de coral, praderas de pastos marinos, raíces de manglar, entre otros (Manooch y Barans, 1982; Estrada,1983; Bravo et al., 2009; Jordan et al., 2012). Sin embargo, *H. steindachneri* presenta preferencias por los fondos blandos de mayor turbidez

(Morales y González, 2009), mientras que *H. aurolineatum* es comúnmente hallada en arrecifes de coral, usando como lugares de crianza aguas tranquilas, someras o estuarinas (Bravo et al., 2009; Jordan et al., 2012) y con una distribución menos fragmentada que la de *H. steindachneri*. Así mismo, la distribución geográfica de ambas especies presenta un patrón distinto (Fig. 1), pues, *H. steindachneri* se encuentra distribuida en el océano Atlántico, desde Panamá hasta Santa Catarina-Brasil (Cervigón et al., 1992), así como en el océano Pacífico desde México hasta Perú. Por su parte, *H. aurolineatum* se distribuye desde el Atlántico occidental en Massachusetts- EE.UU. y las Bermudas, pasando por el Golfo de México y el mar Caribe hasta Brasil (Darcy, 1983).

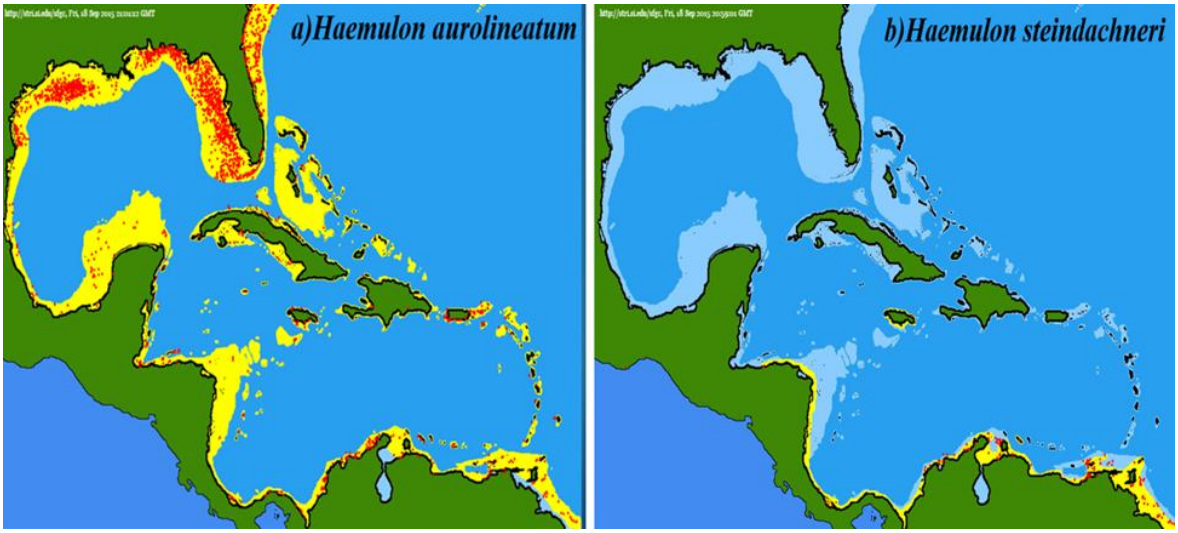


Figura 1. a) Distribución *Haemulon aurolineatum,* **b)** Distribución *Haemulon steindachneri.* Tomado de http://biogeodb.stri.si.edu/caribbean/es/thefishes/species/3718

La presente investigación tuvo como fin comprender la dinámica de flujo génico y los factores que determinan la distribución geográfica en dos especies de peces

desovadores pelágicos de aguas someras (*Haemulon aurolineatum* y *H. steindachneri*). Se rechazó la hipótesis de que existen patrones de estructuración genética similares entre ambas especies, considerando que presentan los mismos periodos larvales y de dispersión, pero varían en la continuidad de su distribución geográfica, en sus periodos reproductivos y en sus preferencias ecológicas (Estrada, 1983). Con lo que se exploraron los posibles factores históricos, oceanográficos, geográficos y ecológicos que determinan las diferencias halladas en la estructura genética.

4. ÁREA DE ESTUDIO:

El mar Caribe es un mar semicerrado, rodeado por las masas de tierra de América del Sur y Central y separado del océano Atlántico por las dorsales asociadas al arco de las islas Antillas. Con base en la topografía de su fondo marino se divide en cinco cuencas: Granada, Venezuela, Colombia, Caimán y Yucatán. Estas cuencas están separadas entre sí por cuatro elevaciones del fondo marino conocidas como dorsales. La Dorsal de Caimán separa las cuencas de Yucatán y Caimán; la Dorsal de América Central (también conocida como Dorsal de Jamaica) se sitúa entre las cuencas Caimán y Colombia; la Dorsal de Beata entre las cuencas Colombia y Venezuela; y la Dorsal de Aves entre Venezuela y Granada (Wüst, 1964; Gordon, 1967; Andrade-Amaya, 2000). La superficie del mar Caribe cubre un área aproximada de 2´640.000 km^2 y su profundidad media es de 2.560 m, siendo las planicies abisales hasta de 4.400 m. Una gran parte de

las aguas superficiales que entran al mar Caribe proceden del océano Atlántico a través de los pasos que separan las Antillas Menores (Vides y Sierra, 2003).

El Caribe Sur es una región geológicamente compleja que se encuentra ubicada dentro de un ambiente tectónico compresional con componentes direccionales producto de la interacción entre la placa continental suramericana y las placas oceánicas Caribe y Nazca (Taboada *et al*., 2000; Audemard y Audemard, 2002; Trenkamp *et al*., 2002; Cortés y Angelier, 2005). Estas particularidades determinan características ambientales complejas que favorecen la presencia de gran cantidad de especies y endemismos. Formó parte del Pacífico occidental hasta que fue separado de este por el istmo centroamericano hace aproximadamente 3 a 5 millones de años (Arias, 1998).

Para la presente investigación, es importante tener en cuenta – en lo concerniente al influjo que ejercen las corrientes en la dispersión de los peces marinos- que las aguas del Caribe, en general, se desplazan en sentido oriente-occidente, influenciadas principalmente por los vientos Alisios, que llevan la Corriente del Caribe, proveniente de la Antillas Menores, a bañar las costas de Venezuela, las islas de Sotavento y la península de La Guajira (Fig. 2). Esta corriente continua hacia el occidente donde, al aproximarse al archipiélago de San Andrés y Providencia, se bifurca y genera una corriente hacia el sur-occidente que llega a las costas de Costa Rica, Panamá y Colombia y da origen a la Contracorriente Panamá- Colombia (Díaz, 2014). Esta última hace parte del sistema de circulación cíclico Giro Panamá- Colombia y termina en la desembocadura del río Magdalena, donde se vuelve a unir a la Corriente del Caribe. Hacia la segunda mitad del año

los vientos Alisios pierden fuerza y la corriente del giro Panamá - Colombia puede prolongar su flujo hasta las costas de la península de La Guajira. Las aguas superficiales del Caribe tienden a tener temperaturas que oscilan entre 27 y 29°C, aunque en las zonas frente a la costa de La Guajira y de isla Margarita durante parte del año pueden llegar a ser menores de 23°C por el fenómeno de surgencia ocasionado por los vientos Alisios (Díaz, 2014). La intensidad de los vientos Alisios varía entre las épocas seca y lluviosa, lo que ocasiona que la temperatura del agua aumente cuando ésta disminuye y la dinámica de las corrientes varíe en determinados lugares (Díaz, 2014).

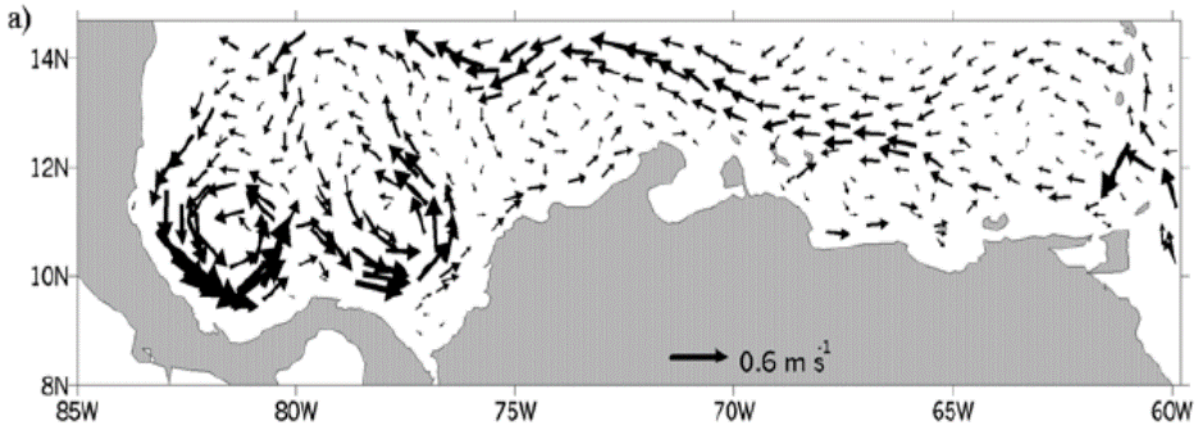


Figura 2. Corrientes del sur del Caribe hasta 50 m de profundidad (tomada de Andrade et al., 2003

Respecto a las características físicas de cada localidad de muestreo, es necesario mencionar que en la región nororiental de Venezuela se encuentra isla Margarita, la cual hace parte de una amplia plataforma continental que está influenciada principalmente por el fenómeno de surgencia y por las descargas del río Orinoco (Cervigón, 2005). Los fenómenos anteriores la hacen fértil y uno de los centros

pesqueros más importantes de Venezuela (Gómez, 1996). En lo concerniente al Caribe colombiano, la península de La Guajira se caracteriza por tener aguas con una fuerte surgencia (Díaz, 2014). Cuando la Corriente del Caribe choca con la plataforma de Nicaragua se genera la Contracorriente de Colombia que se desplaza en sentido oeste-este y en época de lluvias alcanza la costa del Cabo de la Vela. La plataforma continental de La Guajira es amplia desde el Cabo de la Vela hacia el occidente. Como La Guajira no tiene aportes fluviales significativos, en comparación con otras regiones del Caribe colombiano, la sedimentación terrígena es mínima; esto se relaciona con el gradiente de salinidad, que disminuye en sentido nororiente – suroccidente, cuando se acerca a otras regiones del Caribe continental colombiano, donde se reciben aportes fluviales de la Sierra Nevada de Santa Marta, el río Magdalena y el río Atrato (Díaz, 2014).

Desde La Guajira hasta la desembocadura del río Piedras predominan los fondos arenosos. En la plataforma estrecha y poco profunda de la Sierra Nevada de Santa Marta se encuentran litorales rocosos, praderas de pastos marinos y formaciones coralinas (Díaz y Acero, 2003). Esta región presenta fenómenos de surgencia y recibe las descargas de los ríos Manzanares y Gaira, además de las aguas servidas de la ciudad de Santa Marta, lo cual crea un gradiente de salinidad que se incrementa hacia el suroccidente (Molina, 1993); en la región central hay presencia de estuarios y lagunas costeras influenciadas por la desembocadura del río Magdalena y la Ciénaga Grande de Santa Marta. Por último, en la región que va desde Cartagena hasta Capurganá posee una plataforma continental amplia, hay influencia de la Contracorriente del Darién y predominan los arrecifes

coralinos de las islas del Rosario y San Bernardo y las lagunas costeras del golfo de Morrosquillo (IDEAM, 2007).

5. MÉTODOS

De junio de 2015 a abril de 2016 se colectaron especímenes de *H. aurolineatum* (135 individuos) y *H. steindachneri* (116 individuos) en los mercados y en las faenas de pesca realizadas por los pescadores artesanales, en cinco localidades del Caribe sur: Capurganá, Barú- Golfo de Morrosquillo, Santa Marta, La Guajira e isla Margarita (Fig. 3).

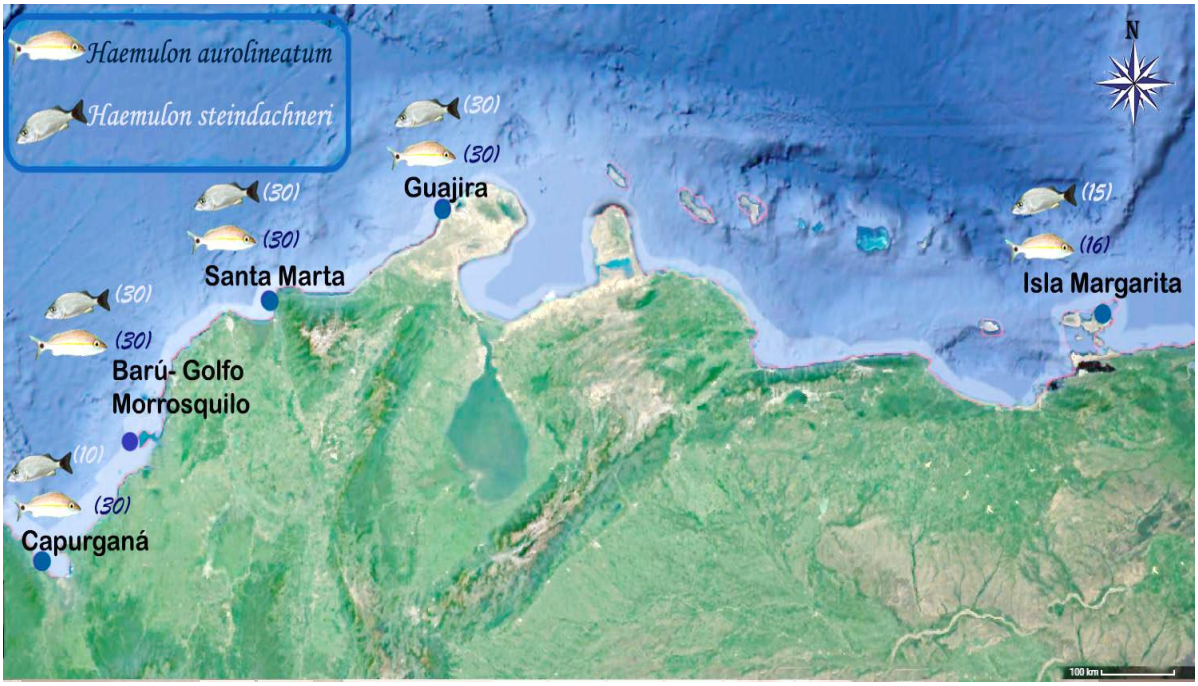


Figura 3. Localidades de muestreo en el Caribe. Entre paréntesis; número de individuos colectados por especie en cada localidad. Editado desde @Google maps 2016.

5.1 Extracción

Se tomaron muestras de tejido de la aleta pectoral de cada individuo, se depositaron en viales con etanol al 96% y se refrigeraron a -20°C. Se extrajo y

purificó el ADN de cada muestra, con algunas modificaciones del protocolo de extracción de Salt-extraction propuesto por Alhjanabi y Martínez (1997), a saber: la cantidad de proteinasa K de 20 mg/ml de concentración fue de 5µl y el ADN final fue re suspendido en 75 µl de buffer TE (10 mM Tris-Cl, pH 7.5 1 mM EDTA). El éxito de la extracción se evaluó por medio de electroforesis en gel de agarosa a 1% y se cuantificó el ADN por medio de Nanodrop 2000 (Termo Scientific, EE. UU.) a una longitud de onda de 260 nm, comparando con buffer TE como blanco.

5.2 Amplificación cruzada en *Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri*

Para realizar el procesamiento de muestras en laboratorio, en primer lugar se identificaron las secuencias de microsatélites que habían sido registradas para *H. aurolineatum* y para otras especies del género *Haemulon* en GenBank, de las cuales se diseñaron ocho cebadores *reverse* y ocho cebadores *forward*, de 20 pb en promedio cada uno en el programa Geneious 9.0 (Drummond et al., 2010) (Tabla 1) para las secuencias Hau034, Ha075, Hau183, Hau220, Hau315, Hau417, Hau462 y Hau474 de *H. aurolineatum* registradas por Turner et al. (2005). Los parámetros que se tuvieron en cuenta para el diseño fueron que: 1) los cebadores de cada microsatélite tuvieran una temperatura de fusión (Tm) cercana (< 0,6°C de diferencia); 2) Un porcentaje de %G-C de 40% a 60%; 3) todas las secuencias terminaran en G o C; y 4) los últimos tres nucleótidos del extremo 3’ de los cebadores no fueran complementarios entre sí. A los cebadores *forward* de cada microsatélite se les adhirió la secuencia universal M13 en el extremo 5’ para la optimización en el proceso de fluoromarcado para la genotipificación (Schuelke,

2000).

Además de éstas secuencias se seleccionaron seis cebadores diseñados por Williams et al. (2003) para *Haemulon flavolineatum*, teniendo en cuenta el nivel de polimorfismo y la simplicidad en la unidad de repetición. A las secuencias *forward* también se les agregó la secuencia M13 (Tabla 1).

Tabla 1. Cebadores evaluados. Para cada cebador hay dos secuencias: Arriba; Fluoromarca+M13+ Forward, abajo Reverse. **%G-C:** Porcentaje de Guanina-Citosina. **Tm:** Temperatura de fusión en °C (**NR**=No reportada). **TA**: Temperatura amplificación en °C. **Amp:** Amplificación. **Pol**: Polimorfismo. Los superíndices al lado de cada loci indican que fueron seleccionados para amplificar masivamente en cada especie; **A** *Haemulon aurolineatum*; **B** *Haemulon steindachneri*.

Autor	Nombre loci	Secuencias primer	%GC	Tm (°C)	TA (°C)	Pol.
El presente estudio (2016)	Hau034	FAM-M13-ACACTCATACATTTGCTGCAGG	45.5	59.2	56	No
		TGAGCTGTTCTGATGGACCG	55	59.8		
	Hau075	NED-M13-ATCTTGGACATGCACACGGG	55	60.7	56	Sí
		CTCTGAGCTCGTCTTCAGCC	60	60.2		
	Hau183[A, B]	NED-M13-TGGTTCACATGTGTATGTTGTGTC	41.7	59.7	56	Sí
		AACTCTGGTGCTGGGTTACC	55	59.6		
	Hau220[A, B]	NED-M13-CAGCACAACACCAGGGTTTATG	50	60	56	Sí
		TTCACTCTGCTCAGCTGCTC	55	60		
	Hau315[A, B]	FAM-M13-TGCAGAAAGACACTCTGAGGTG	50	60.2	56	Sí
		GACACAGCTGGTAGTCAGGG	60	59.8		
	Hau417[A, B]	VIC-M13-TGAGCTGACGAGATACACGC	55	59.9	56	Sí
		TGTGATGCTCGTCACCTCTG	55	59.8		
	Hau462[A, B]	PET-M13-GCGCTTGTCGACATTGTCTC	55	59.9	56	Sí
		TGCGTAGGTTAACTTTCCACATG	43.5	59.3		
	Hau474[A, B]	VIC-M13-TGGTAACATTTCCCTGGCTCTG	50	60.3	56	Sí
		CAGTGGGCAACTTCACCTTG	55	59.3		
Williams et al.. (2003)	*Hf*AAC3–B[A]	PET-M13-GCTCCATGCTGAATGTGAT	NR	NR	52	Sí
		ATGGTCTGTGTCTTGAGTCTGT	NR	NR		
	*Hf*AAC10–C[A]	FAM-M13-CACGGAGAAAGGAATAGCAT	NR	NR	52	Sí
		TGGCAGAGAGAGAGGTTTCA	NR	NR		
	*Hf*AAC37–C[B]	VIC-M13-CCAGCAGAGGAGGTGAGAC	NR	NR	52	Sí
		CCGCTGTTTCCAATTTATCT	NR	NR		
	*Hf*AAC41–A	PET-M13-TCTGCTGTTTACTTTTTCTCTGTC	NR	NR	49	Sí
		CAGCCCTCGATACAAGTTCA	NR	NR		
	*Hf*AAC43–C[A, B]	FAM-M13-CTGCCTTGTGTGGACAAAA	NR	NR	53	Sí
		CGTGAGTCAAAACATACACTGA	NR	NR		

	*Hf*AAC54–A[A, B]	NED-M13-GACGCAGCATGAATTAAAAC	NR	NR	49	Sí
		GCTGGTCTACGACGAGATG	NR	NR		

Una vez obtenidas las secuencias, se procedió a estandarizar las condiciones adecuadas de amplificación de fragmentos por PCR (Polymerase Chain Reaction) usando un termociclador Proflex, PCR system- Life Tecnologies, y haciendo distintos ensayos en los que se probaron diferentes volúmenes y concentraciones de dNTPs, MgCl2, cebadores, [ADN] y taq polimerasa, hasta obtener las condiciones óptimas de amplificación para cada microsatélite (Tabla 2). El programa de PCR estuvo basado en las condiciones requeridas para el uso del cebador universal M13: Un ciclo a 94°C por 2| min; 30 ciclos de 94°C por 15 s, TA:48- 60°C por 15 s, 72°C por 45 s, 94°C por 15 s; 8 ciclos de 53°C por 5 s, 72°C por 45 s; un ciclo de 72°C por 15 min y un ciclo a 15°C por 15 min. Para la estandarización se usaron muestras de dos individuos de cada localidad para un total de ocho muestras analizadas, más el control. La verificación de las amplificaciones se realizó por medio de electroforesis en gel de agarosa a 2.5% usando 3 µl de amplicón teñido con GelRedTM y una fuente de poder a 400 mA por 40 min. Se visualizaron los resultados en un documentador de geles con luz ultravioleta. El tamaño de los fragmentos amplificados se verificó con el marcador de peso molecular 100 pb DNA ladder de Solis BioDyne. Los fragmentos producto de PCR obtenidos de dichas pruebas fueron analizados por medio de electroforesis capilar en el secuenciador ABI3130 y el genotipado se realizó con el programa Geneious 9.0 (Drummond et al., 2010).

Tabla 2. Concentraciones de PCR ideales para la amplificación de cada loci microsatélite.

Concentraciones de PCR	Buffer BD	dNTP's	$MgCl_2$	Primer - M13	R-Primer	F-Primer-M13	Taq Polimerasa
Concentración inicial:	10x	10 mM	25 mM	10 µM	10 µM	10 µM	5U/µl
Loci Microsatélites	Concentración final						
HfAAC43	1X	0.3mM	1.5 mM	0.25 µl	0.25 µl	0.06 µl	1U
HfAAC10							
HfAAC54							
Hau183							
Hau315							
Hau220							
Hau474							
Hau462							
Hau417							
HfAAC37	1X	0.3 mM	2.5 mM	0.16 µM	0.16 µM	0.04 µM	0.5U
HfAAC3							

Análisis de resultados:

En primer lugar, para detectar posibles errores de genotipificación (presencia de alelos nulos) se usó el programa Micro Checker (Oosterhout et al., 2004) con 1000 simulaciones bootstrap con un nivel de confianza de 95%. Se estimó la diversidad genética con el paquete de Análisis de Genética de poblaciones “poppr” versión 2.2.0 en el software R. En dicho paquete se obtuvieron los valores de promedio de alelos por locus y por localidad, así como la heterocigosidad observada y esperada. Las frecuencias alélicas en cada población de cada locus fueron

calculadas con el programa GenAlEx V6.41 (Peakall y Smouse, 2006). Se estimaron las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg por medio de la prueba de probabilidad de Fisher (Raymond y Rousset, 1995) implementada en el paquete del software R “pegas”, Population and Evolutionary Genetics Analysis System Versión 0.9. por medio de 1000 permutaciones y el ajuste de los p-valores a la corrección de Bonferroni. Las medidas de desequilibrio de ligamiento para toda la población y por subploblaciones se estimaron por medio del Índice de Asociación de Agapow y Burt (2001) implementado en el paquete “poppr”, y por pares de loci por medio del test de Probabilidad de Fisher (Raymond y Rousset, 1995) del programa GENPOP-On-the-web V4.2 (Rousset, 2008) con 1000 interacciones de Monte Carlo- MCMC.

La contribución a la diferenciación de cada nivel en que se pudieron agrupar los datos, se determinó a partir del cálculo del estadístico ΦST con el Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) (Excoffier et al., 1992), con éste mismo estadístico se realizó el análisis por pares de localidades, así como la prueba de Mantel para evaluar si la diferenciación genética es debida al aislamiento por distancia geográfica. Cada prueba se ejecutó con 9999 permutaciones en el programa GenAlEx V6.41 (Peakall y Smouse, 2006).

Para tener un acercamiento a la comprensión del flujo génico actual de cada población se realizó un análisis Bayesiano de clústers por medio del paquete “adegenet” en R, el cual admite desvíos del EHW. También se usó el programa STRUCTURE versión 2.3.4. para inferir la estructura genética promedio de una

asignación probabilística de individuos a K grupos. Una serie de 20 simulaciones independientes por cada K (K= 1-10) fue realizada usando el modelo Admixture, con frecuencias alélicas correlacionadas, LOCPRIOR, con 50000 interacciones MCMC. Se seleccionó el número de grupos (K) determinando el *K* -(Δ*K*) (Evanno et al., 2005) para cada K en Excel.

6. RESULTADOS

6.1 Amplificación cruzada en *Haemulon aurolineatum*

De 14 microsatélites analizados en esta especie uno no fue polimórfico y 12 lograron ser amplificados masivamente, 10 no estaban desviados significativamente del equilibrio Hardy Weinberg en una población de prueba de 30 individuos. El locus Hau034 no amplificó masivamente y fue monomórfico, mientras Hau075 amplificó múltiples bandas y no fue posible estandarizar la amplificación de una única región (Tabla 1). Los loci HfAAC41-A y HfAA37-C se desviaron significativamente del equilibrio en una sub-muestra de 16 individuos, por lo que no fueron seleccionados para realizar todo el análisis. Al hacer el análisis para identificar problemas en la genotipificación en el programa MicroChecker (Oosterhout et al., 2004), no se halló evidencia de alelos nulos, ni de tartamudeo, con los que se pudiera aducir a un déficit de heterocigosidad por el diseño de los cebadores.

6.2 Diversidad genética *Haemulon aurolineatum*:

Los loci analizados mostraron un alto nivel de polimorfismo en las diferentes localidades, el locus con mayor cantidad de alelos fue Ha220 (39) mientras que el de menor número de alelos fue HfAAC54-A (23). El promedio de alelos en los loci estuvo en un ámbito de 13 a 20. El promedio de alelos por locus por población fue 15. La localidad con mayor promedio de alelos fue Santa Marta. El ámbito de

tamaño de los alelos fue de 76-208. Las frecuencias alélicas de *H. aurolineatum* (Anexo A) en la mayoría de los locus mostraron la predominancia de en promedio cuatro alelos a lo largo de todas las localidades. El alelo de mayor predominancia se halló en el locus Hau474, con un ámbito de predominancia de 8- 54%. El locus que mostró más uniformidad en la frecuencia de los alelos fue Hau462.

La menor heterocigosidad observada (Ho) la presentó el locus Ha417 y la localidad de isla Margarita, la mayor Ho el locus HfAAC43 y la localidad de La Guajira. El índice de diversidad de Simpson (IS) fue más alto en el locus Ha462. La localidad con menor IS fue isla Margarita. El locus con índice de Fijación (F) más alto fue Ha417, mientras que Ha183 fue el más bajo. La localidad de isla Margarita presentó el F más alto y La Guajira el más bajo (Tabla 3).

Tabla 3. Alelos por loci en cada localidad. Media: Promedio alelos por loci; Total: Total alelos por loci; Ra: Rango de tamaños alélicos; I. S.: Índice de diversidad de Simpson; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; A: Promedio de alelos por localidad; N: Individuos analizados en cada localidad.

Loci	Barú	Capurganá	La Guajira	Santa Marta	Isla Margarita	Media	Total	I. S	Ra (pb)	Ho	He
Ha315	13	13	18	20	12	15	35	0.87	76-170	0.83	0.87
Ha417	10	13	11	21	11	13	36	0.86	96-192	0.68	0.86
Ha220	22	24	16	19	11	18	39	0.92	82-212	0.9	0.92
HfAAC3	16	21	17	18	12	17	33	0.91	118-196	0.89	0.91
HfAAC43	12	11	16	15	13	13	21	0.90	160-206	0.92	0.9
HfAAC10	12	14	14	17	6	13	25	0.89	102-192	0.8	0.89
Ha474	13	14	18	9	9	13	24	0.87	126-208	0.8	0.87
Ha183	15	15	13	15	10	14	29	0.90	96-154	0.91	0.9
Ha462	21	19	20	25	14	20	31	0.95	98-164	0.91	0.95
HfAAC54	19	13	17	19	10	16	23	0.93	156-204	0.87	0.93
A	15	16	16	18	11	15	29.6				
N	30	30	30	30	15						
I. S.	0.967	0.967	0.967	0.967	0.933						

Ho	0.903	0.824	0.913	0.800	0.762						
He	0.858	0.861	0.870	0.870	0.837						

Todos los loci presentaron desvíos en el Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) en alguna de las localidades, a excepción de HfAAC43 que en ninguna localidad se aleja significativamente del equilibrio. El locus Ha315 se desvió del EHW en todas las localidades. En la localidad de Santa Marta todos los loci se encontraron fuera del EHW a excepción del locus HfAAC43. Barú e isla Margarita fueron las de menor cantidad de loci fuera del equilibrio, mientras que Capurganá y La Guajira tuvieron seis loci fuera del EHW (fig. 4). Pese a que no todos los loci estuvieron en desequilibrio en todas las localidades, al evaluar el desvío del equilibrio con todos los loci en cada localidad fue significativo.

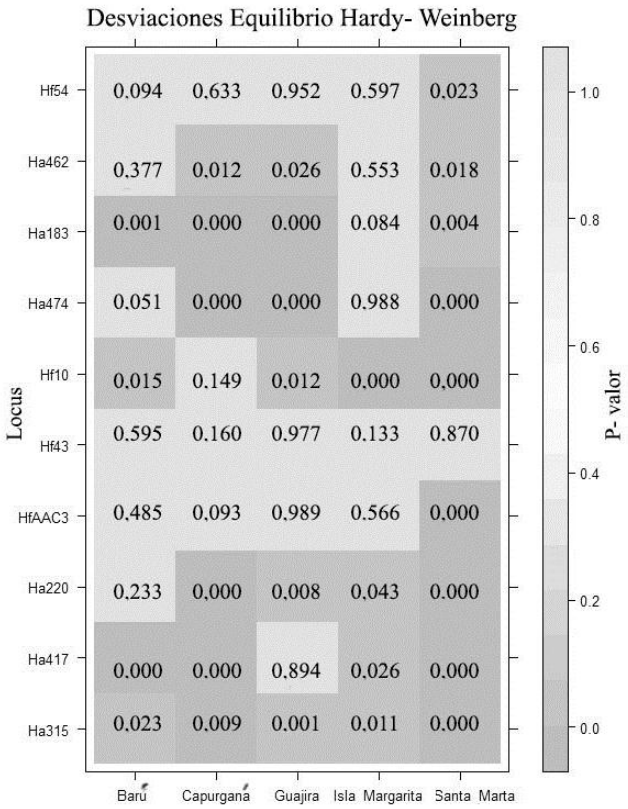


Figura 4. P-valores de prueba de Xi^2 para Equilibrio Hardy-Weinberg de cada loci microsatélite en cada localidad. P-value < 0.05 se considera por fuera del EHW. Los p-values fueron ajustados con la corrección de Bonferroni.

Se halló desequilibrio de ligamiento significativo a través de todas las localidades con excepción de Santa Marta donde el índice de asociación de Agapow y Burt (2001) fue 0.092 y el p- valor > 0.05. En las demás localidades el p-valor fue <0.05 (Tabla 4). Al hacer el análisis por pares de loci con el método de Fisher a través de todas las localidades se detectó que para cada una los pares de loci en desequilibrio fueron diferentes, el par de loci que se encontró en desequilibrio para más localidades fue: HfAAC43 y HfAAC54; sin embargo, ningún par de loci se encontró en desequilibrio en todas las localidades. Al hacer el análisis por cada localidad efectuando distintas permutaciones, los pares de loci que más aportaron al desequilibrio fueron distintos encontrando el locus HfAAC10 como el de mayor aporte. Al hacer las pruebas de diferenciación genética con y sin el locus HfAAC10 no se encontraron diferencias en los resultados (Tabla 5). El hecho de que para las distintas permutaciones hayan sido distintos pares de loci los que aportaron al desequilibrio indica que el desequilibrio no es debido a ligamiento físico entre los marcadores.

Tabla 4. Prueba de desequilibrio de ligamiento por localidad. Índice de asociación entre los loci. p-valor <0.05 denota desequilibrio de ligamiento significativo para las localidades.

	Índice de asociación de Agapow y Burt (2001)	p- valor
Población total	0.081	**0.000**
Barú	0.081	**0.001**
Capurganá	0.054	**0.001**
La Guajira	0.137	**0.001**

Santa Marta	0.092	0.308
Isla Margarita	0.141	**0.037**

Tabla 5. P-valores de prueba de desequilibrio de ligamiento de Fisher. entre pares de loci en cada localidad. En negrilla los p-valores significativos estadísticamente p-valor <0.05.

Locus 1	Locus 2	Capurganá	Barú	Santa Marta	La Guajira	Isla Margarita
Ha315	Ha417	0.607	**0.002**	1.000	0.909	0.084
Ha315	Ha220	1.000	0.503	1.000	0.905	0.025
Ha417	Ha220	0.589	1.000	0.242	0.143	1.000
Ha315	HfAAC3	1.000	0.726	1.000	0.782	1.000
Ha417	HfAAC3	0.298	0.951	0.200	**0.014**	1.000
Ha220	HfAAC3	1.000	**0.000**	0.316	0.073	0.000
Ha315	HfAAC43	0.165	0.433	1.000	0.446	1.000
Ha417	HfAAC43	0.620	0.245	1.000	0.484	1.000
Ha220	HfAAC43	0.392	1.000	0.211	**0.033**	1.000
HfAAC3	HfAAC43	1.000	0.340	**0.024**	0.245	1.000
Ha315	HfAAC10	0.074	0.450	0.211	0.825	1.000
Ha417	HfAAC10	1.000	0.620	**0.009**	**0.037**	1.000
Ha220	HfAAC10	1.000	1.000	0.061	0.008	1.000
HfAAC3	HfAAC10	1.000	0.221	1.000	0.065	0.184
HfAAC43	HfAAC10	0.016	**0.050**	0.136	**0.005**	1.000
Ha315	Ha474	0.158	0.177	0.888	0.828	0.091
Ha417	Ha474	0.308	0.139	**0.010**	0.782	1.000
Ha220	Ha474	1.000	1.000	0.389	0.734	**0.034**
HfAAC3	Ha474	0.595	0.067	0.100	1.000	**0.041**
HfAAC43	Ha474	0.658	1.000	0.777	0.355	0.906
HfAAC10	Ha474	0.085	**0.000**	**0.014**	**0.007**	0.330
Ha315	Ha183	0.952	0.814	1.000	0.427	0.093
Ha417	Ha183	0.612	0.365	0.235	0.098	0.147
Ha220	Ha183	1.000	1.000	0.207	**0.015**	1.000
HfAAC3	Ha183	1.000	1.000	0.108	0.074	1.000
HfAAC43	Ha183	1.000	1.000	1.000	0.385	1.000
HfAAC10	Ha183	1.000	**0.037**	0.859	0.167	0.456
Ha474	Ha183	0.076	**0.003**	**0.005**	0.142	1.000
Ha315	Ha462	**0.004**	0.078	1.000	0.305	1.000
Ha417	Ha462	1.000	0.517	1.000	1.000	1.000
Ha220	Ha462	1.000	1.000	1.000	0.476	1.000
HfAAC3	Ha462	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
HfAAC43	Ha462	**0.000**	1.000	1.000	1.000	**0.000**
HfAAC10	Ha462	0.000	0.471	**0.011**	0.327	1.000
Ha474	Ha462	**0.021**	0.350	**0.000**	0.360	1.000
Ha183	Ha462	1.000	0.334	0.319	0.308	1.000

Ha315	HfAAC54	0.082	**0.000**	1.000	0.053	**0.001**
Ha417	HfAAC54	1.000	0.175	1.000	**0.024**	0.205
Ha220	HfAAC54	1.000	1.000	1.000	**0.000**	**0.000**
HfAAC3	HfAAC54	1.000	1.000	1.000	0.068	0.718
HfAAC43	HfAAC54	**0.044**	1.000	**0.015**	**0.015**	**0.003**
HfAAC10	HfAAC54	0.382	0.585	0.339	**0.000**	**0.000**
Ha474	HfAAC54	**0.044**	0.462	0.548	1.000	0.343
Ha183	HfAAC54	0.155	1.000	0.413	0.093	0.248
Ha462	HfAAC54	0.119	1.000	0.105	1.000	0.363

6.3 Estructura genética de *Haemulon aurolineatum*:

Por medio del estadístico Φpt se determinó una estructura genética significativa (Φpt= 0.064 p-valor= 0.001) para toda la población de *H. aurolineatum* en el área de estudio. Los valores del Análisis Molecular de Varianza AMOVA hicieron evidente que la mayor variación se da entre los individuos dentro de las localidades (94%) con respecto al 6% que aporta la diferenciación genética entre las localidades (Tabla 6). El análisis de diferenciación genética con el estadístico Φpt por pares de localidades evidenció diferencias significativas en todas las comparaciones. Isla Margarita presenta el mayor grado de diferenciación respecto a las otras localidades. El menor grado de diferenciación se halló entre Capurganá y La Guajira; sin embargo, la diferenciación fue significativa. El mayor grado de diferenciación se dio entre isla Margarita y Barú (Tabla 7). Al aplicar la prueba de Mantel se encontró que la relación entre la matriz del estadístico Φpt por pares de localidades no tuvo una correlación significativa con la de distancias geográficas (coeficiente de correlación de Pearson=0.519, p-valor= 0.166) (Fig. 5).

Tabla 6. Análisis Molecular de Varianzas con estadístico Φpt para las localidades y los clústers. df: Grados de libertad; SS: Suma de Cuadrados; MS: Media Cuadrados; CV: Componentes de Varianza. **%** Porcentaje de Variación.

Amova (Φpt)= 0.064 p-valor=0.001	**df**	**SS**	**MS**	**CV.**	**%**
Entre localidades	4	103.232	25.808	0.627	6%
Dentro de las localidades	130	1182.373	9.095	9.095	94%
Total	134	1285.606		9.722	100%
Amova (Φpt)= 0.125 p-valor= 0.001					
Entre Clústers	3	147.188	49.063	1.298	12%
Dentro de los Clústers	131	1191.523	9.096	9.096	88%

Total	134	1338,71		10,394	100%

Tabla 7. Estadístico Φpt analizado por pares de localidades (debajo de la diagonal). P- Valores (arriba de la diagonal)

Φpt por pares de localidades	**Capurganá**	**Barú**	**Santa Marta**	**Guajira**	**Isla Margarita**
Capurganá	-	**0.001**	**0.001**	**0.001**	**0.001**
Barú	0.047	-	**0.001**	**0.001**	**0.001**
Santa Marta	0.052	0.074	-	**0.001**	**0.001**
Guajira	0.040	0.064	0.061	-	**0.001**
Isla Margarita	0.088	0.123	0.046	0.094	-

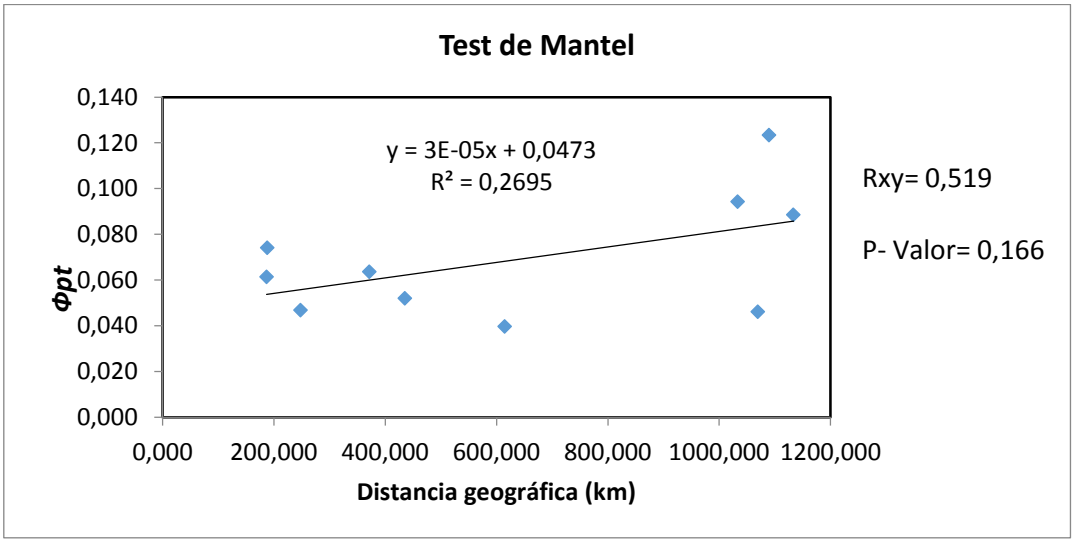


Figura 5. Test de Mantel para Distancia Geográfica vrs. Φpt por pares de localidades. **R^2**: Coeficiente de Determinación. **Rxy**: Coeficiente de Correlación de Pearson. P-valor >0.05 denota una correlación no significativa entre las distancias.

El análisis de Clústers basado en el Criterio de Información Bayesiano en el paquete "adegenet" de R, reveló cuatro linajes genéticos (K=4) que fueron corroborados en el programa STRUCTURE (Fig. 6). El linaje azul se vio distribuido por todas las localidades, siendo predominante en la localidad de Capurganá. En la localidad de Barú el linaje predominante fue el amarillo, el cual

se distribuyó en todas las localidades, excepto en isla Margarita. En Santa Marta no se observa un linaje predominante y tiene representación de los cuatro linajes hallados. En la Guajira el linaje predominante es el rojo, el cual se encuentra también distribuido en Santa Marta e isla Margarita, pero no en Capurganá y Barú. Por último, en isla Margarita se presenta el verde como linaje predominante y no se encuentra el linaje amarillo. El linaje verde también se encuentra en gran medida en Santa Marta. Se realizó un AMOVA para identificar si fue significativa la diferenciación genética entre los cuatro linajes hallados. La mayor diferenciación la aportó la variación entre individuos dentro de cada clúster (88%) frente a la variación entre clústers (12%) (Tabla 7).

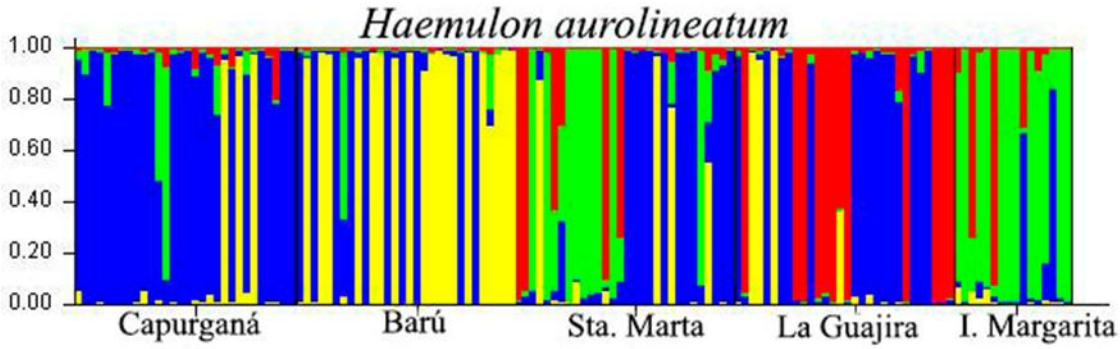


Figura 6. Diagrama en STRUCTURE de la distribución de cuatro linajes genéticos a través de las localidades.

6.4 Amplificación cruzada en *Haemulon steindachneri*

De 14 microsatélites analizados en esta especie no fue posible amplificar masivamente tres: Hau034, HfAAC3 y HfAAC41. Once lograron ser amplificados masivamente, de los cuales HfAAC10 fue monomórfico y Hau075 se desvió significativamente del equilibrio Hardy Weinberg en una sub-muestra de 16 individuos (p-valor=0.0000). Por lo anterior, el análisis de diferenciación genética se realizó con los nueve loci restantes. El análisis realizado en el programa MicroChecker (Oosterhout et al., 2004) no dio evidencia de alelos nulos, ni de

tartamudeo, en ocho loci. El locus HfAAC54 presentó un déficit de heterocigotos y la consecuente probabilidad de presentar alelos nulos.

6.5 Diversidad genética en *Haemulon steindachneri*:

Todos los loci mostraron un alto grado de polimorfismo; el más alto fue Hau220 con 46 alelos y el menor fue Hau462 con 19 alelos. El promedio de alelos por cada loci varió de 10 a 20. La localidad con mayor promedio de alelos fue Barú con 20, en contraste con isla Margarita que presentó 9 alelos en promedio. El promedio de alelos por locus por localidad fue 15. El ámbito de tamaño de los alelos fue de 66-210 (Tabla 8). Las frecuencias alélicas en *H. steindachneri* mostraron la preponderancia de determinados alelos (≈ 4) en cada locus en todas las localidades, frente a un porcentaje restante de diversos alelos cada uno en bajas frecuencias. El locus Ha417 estuvo representado en su 52% por el alelo 140, mientras que el locus con mayor uniformidad en las frecuencias fue HfAAC37 (Anexo B).

Tabla 8. Alelos por loci en cada localidad. Media: Promedio alelos por loci; Total: Total alelos por loci; Ra: Ámbito de tamaños alélicos; I. S.: Índice de diversidad de Simpson; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; A: Promedio de alelos por localidad; N: Individuos analizados en cada localidad.

Loci	Barú	Capurganá	Guajira	Santa Marta	Isla Margarita	Media	Total	Ra	I. S.	Ho	He
Hau183	23	10	9	9	11	12	28	100-200	0.81	0.92	0.81
Hau462	14	9	9	12	8	10	19	66-142	0.87	0.95	0.87
Hau315	25	15	21	19	11	18	38	82-196	0.94	0.96	0.94
Hau220	23	12	22	17	8	16	46	70-200	0.92	0.85	0.92
Hau474	24	12	15	13	8	14	30	134-210	0.92	0.88	0.92
Hau417	20	6	17	12	8	13	26	104-190	0.88	0.93	0.88
HfAAC43	17	13	21	18	7	15	30	90-208	0.94	0.94	0.94
HfAAC37	25	12	24	25	14	20	45	100-200	0.96	0.94	0.96
HfAAC54	13	13	20	21	7	15	44	80-192	0.95	0.7	0.95

A	20	11	18	16	9	15					
N	30	10	30	30	16						
I. S.	0.967	0.900	0.967	0.967	0.933						
Ho	0.815	0.888	0.963	0.970	0.740						
He	0.911	0.877	0.871	0.835	0.814						

Todas las localidades presentaron loci desviados significativamente del Equilibrio Hardy Weinberg. La localidad de Capurganá solo presentó desequilibrio en el locus HfAAC54. El locus HfAAC43 no se halló en desequilibrio para ninguna de las localidades. Ningún locus se halló en desequilibrio para todas las localidades. El locus Ha183 solo se halló en equilibrio en la localidad de Capurganá, mientras que los loci HfAAC37 y Ha417 solo se hallaron alejados significativamente del equilibrio en la localidad de isla Margarita (Fig. 7). Las localidades de Barú y Guajira presentaron cinco loci por fuera del EHW cada una, mientras que Santa Marta e isla Margarita presentaron cuatro loci desviados significativamente del EHW.

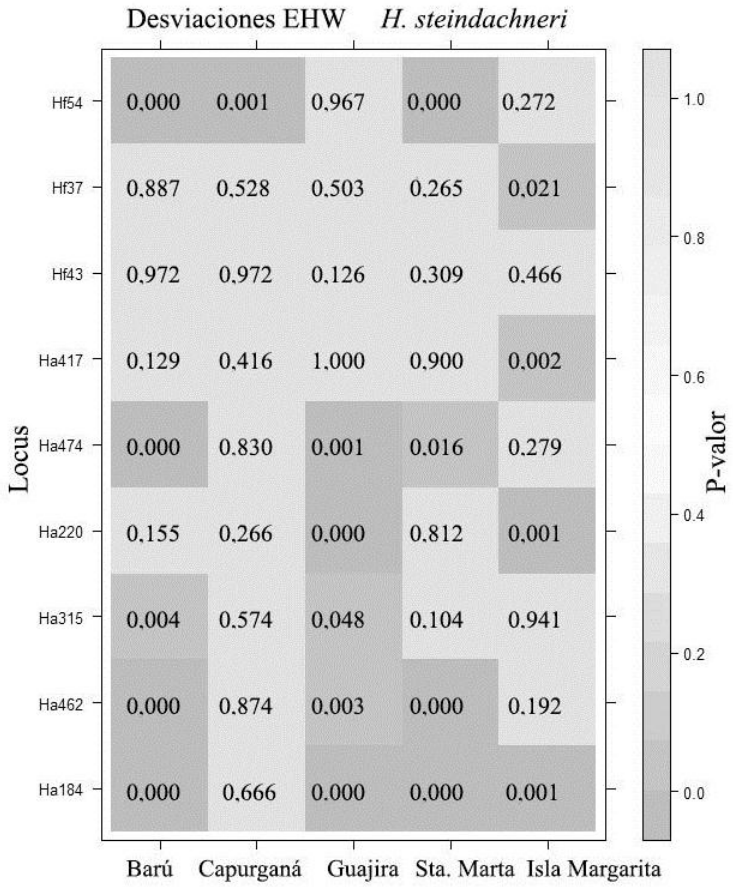


Figura 7. Gráfica de P- valores de prueba de Xi^2 de Equilibrio Hardy-Weinberg de cada loci microsatélite en cada localidad. P-value < 0.05 se considera por fuera del EHW. Los p-values fueron ajustados con la corrección de Bonferroni.

Para la población total no se halló desequilibrio de ligamiento, sin embargo, al hacer el análisis por localidades se halló desequilibrio de ligamiento significativo en Barú donde el índice de asociación de Agapow y Burt (2001) fue r_d =0.028 y el p- valor= 0.033. En las demás localidades el p-valor fue >0.05 (Tabla 9). Al hacer el análisis por pares de loci con el método de Fisher a través de todas las localidades se detectó que para la localidad de Barú sólo un par de loci fue causante del desequilibrio; Hau183 y Hau474 (p-valor=0.011).

Tabla 9. Prueba de Desequilibrio de Ligamiento por localidad. índice de asociación entre los loci. p-valor <0.05 denota desequilibrio de ligamiento significativo para las localidades.

	Índice de asociación r_d de Agapow y Burt (2001)	p- valor
Población total	0.221	0.058
Barú	0.028	**0.033**
Capurganá	0.044	0.072
Guajira	0.018	0.061
Santa Marta	-0.006	0.673
Isla Margarita	0.287	0.118

6.6 Estructura genética de *Haemulon steindachneri*

Para la población total de *H. steindachneri* en el área de estudio el estadístico Φpt determinó una estructura genética significativa (Φpt**=** 0.094 p-valor= 0.001). Los valores del Análisis Molecular de Varianza AMOVA mostraron que la mayor diferenciación genética se da a nivel de individuos dentro de las localidades aportando un porcentaje del 91% a la diferenciación total (Tabla 10). El análisis de diferenciación genética con el estadístico Φpt por pares de localidades no evidenció una diferenciación significativa entre la población de Capurganá y Barú (Φpt= 0.004 p-valor= 0.294). En las demás comparaciones entre localidades sí existe una estructura genética significativa. La diferenciación más alta se halló entre Santa Marta e isla Margarita (Φpt**=** 0.189 p-valor= 0.001). Así mismo, isla Margarita es la localidad más diferenciada de las demás (Tabla 11). La prueba de Mantel no halló una correlación significativa entre la distancia geográfica y la diferenciación genética (Coeficiente de Correlación de Pearson=0.024, p-valor= 0.121) (Fig. 8).

Tabla 10. Análisis Molecular de Varianzas con estadístico **Φpt** para las localidades y los clusters. **df:** Grados de libertad; **SS:** Suma de Cuadrados; **MS**: Media Cuadrados; **CV:** Componentes de Varianza. **%** Porcentaje de Variación.

Amova (Φpt) = 0.094, p-valor=0.001	**df**	**SS**	**MS**	**Est. Var.**	**%**
Entre localidades	4	107.616	26.904	0.845	9%
Entre individuos dentro de localidades	110	897.167	8.156	8.156	91%

Total	114	1004.783		9.002	100%
Amova (Φpt) = 0.062 p-valor=0.001					
Entre Clusters	1	40.488	40.488	0.563	6%
Entre Individuos dentro de los Clusters	113	964.295	8.534	8.534	94%
Total	114	1004.783		9.096	100%

Tabla 11. Estadístico Φpt analizado por pares de localidades (debajo de la diagonal). P- Valores (arriba de la diagonal)

Φpt por pares de localidades	**Capurganá**	**Barú**	**Santa Marta**	**La Guajira**	**Isla Margarita**
Capurganá	-	0.294	**0.001**	**0.001**	**0.001**
Barú	0.004	-	**0.001**	**0.001**	**0.001**
Santa Marta	0.113	0.098	-	**0.001**	**0.001**
La Guajira	0.064	0.062	0.025	-	**0.001**
Isla Margarita	0.128	0.129	0.189	0.155	-

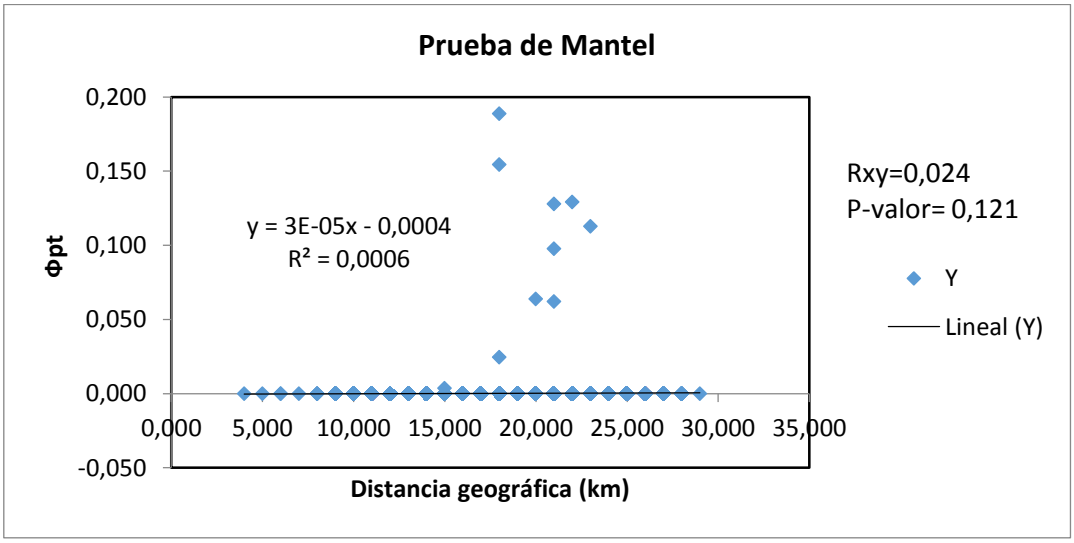


Figura 8. Test de Mantel para Distancia geográfica vrs. Φpt por pares de localidades para *H. steindachneri*. **R^2:** Coeficiente de Determinación. **Rxy**: Coeficiente de Correlación de Pearson. P-valor >0.05 denota una correlación no significativa entre las distancias.

Para la población del área de estudio de *H. steindachneri* el análisis de clústers basado en el Criterio de Información Bayesiano en el programa R, identificó dos clústers (K=2), que se ven diferenciados en el esquema del programa STRUCTURE. El primer linaje se ve como predominante en las localidades de Capurganá y Barú, el siguiente linaje predomina en las localidades de Santa Marta, Guajira e isla Margarita, la mayor predominancia de este linaje se observa

en Santa Marta (Fig. 9). El Análisis Molecular de Varianza que se realizó para evaluar la diferenciación genética a distintos niveles de los clústers, permitió corroborar una diferencia significativa entre los dos linajes identificados (Φpt= 0.062 p-valor=0.001), donde el mayor porcentaje de diferenciación lo aportó la diferenciación entre individuos dentro de los clústers (94%) (Tabla 10).

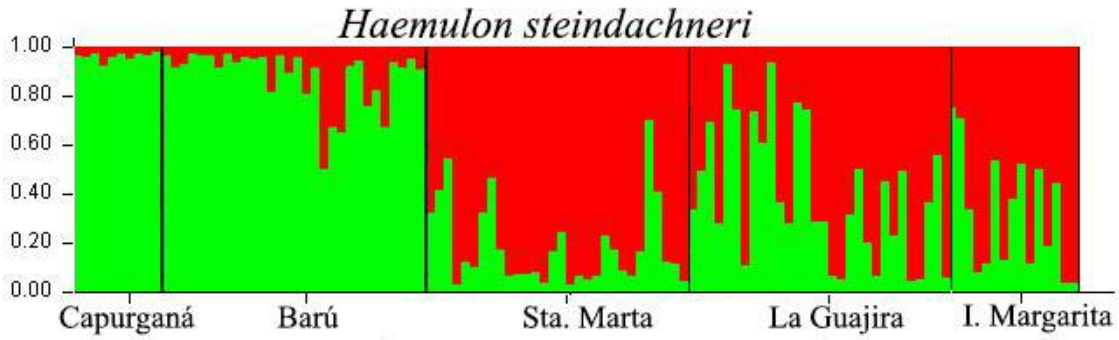


Figura 9. Diagrama en STRUCTURE de la distribución de dos linajes genéticos a través de las localidades.

7 DISCUSIÓN

7.1 Amplificación cruzada en *Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri*

El presente estudio es el primero en evaluar la variabilidad genética por medio de marcadores moleculares tipo microsatélite de *H. aurolineatum* y *H. steindachneri* en el Caribe colombiano. En éste, se demostró la factibilidad de usar amplificación cruzada con los cebadores propuestos por Williams et al. (2003) para *H. flavolineatum* en otras especies del género *Haemulon* y del uso de los cebadores diseñados en este estudio. Los microsatélites propuestos por Williams et al. (2003) fueron en su mayoría altamente polimórficos. Sin embargo, debido a la complejidad en el tipo de repetición del microsatélite se pueden presentar problemas de alelos nulos, como es el caso de HfAAC54 en *H. steindachneri,* y con esto las consecuentes desviaciones del Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW). Para *H. aurolineatum* ya habían sido probados los microsatélites en el estudio de

Williams et al. (2003), en el cual de 11 microsatélites, lograron amplificar 9. Sin embargo, para el presente estudio se decidió seleccionar solamente seis de éstos porque cumplían con el nivel de polimorfismo adecuado y no presentaban problemas de desvíos del EHW. De éstos seis, *Hf*AAC41–A no amplificó para *H. steindachneri* y para *H. aurolineatum* mostró un nivel de polimorfismo muy bajo. Finalmente, se usaron para el análisis sólo cuatro microsatélites en *H. aurolineatum* y tres en *H. steindachneri* de los propuestos por Williams et al. (2003). Los microsatélites de Williams et al. (2003) ya habían sido usados en previos estudios, en otras especies del género *Haemulon,* como es el caso de Villegas et al. (2014) que lograron amplificar cuatro regiones microsatélites en *Haemulon plumieri.* El hecho de que el número de microsatélites propuestos por Williams et al. (2003) sea bajo con respecto a los propuestos en otros estudios, ejemplifica los problemas de la amplificación cruzada, ya que el éxito de ésta tiene que ver no sólo con la cercanía filogenética de las especies en que se usa, sino que depende también de las características de la población. Un ejemplo de lo anterior se puede observar en que, para el estudio de Williams et al. (2003), el microsatélite HfAAC41 mostró un adecuado nivel de polimorfismo en *H. aurolineatum*, mientras que para este estudio solo se observaron tres alelos en un tamaño de muestra más grande.

Por otro lado, de ocho cebadores diseñados en el presente estudio con base en las secuencias de *H. aurolineatum* registradas por Turner et al. (2005), seis permitieron una amplificación exitosa de las secuencias registradas. Para *H. steindachneri* es la primera vez que se prueban estas secuencias por amplificación cruzada y los resultados fueron satisfactorios, pues de 14 microsatélites probados, se lograron usar nueve, pese a la lejanía filogenética relativa de las especies para las que fueron diseñados los microsatélites. Cabe resaltar que en los microsatélites diseñados para *H. aurolineatum* se observó un mayor nivel de polimorfismo en las poblaciones de *H. steindachneri* que en las de *H. aurolineatum*, lo cual es no sólo un indicio del estado de las poblaciones analizadas sino también de la calidad de resolución de los microsatélites empleados, encontrando diferentes grados de variabilidad en distintas especies.

Por lo anterior se recomienda emplear los microsatélites usados en este estudio en futuros estudios de genética poblacional en el género *Haemulon*, teniendo en cuenta que los microsatélites permiten ahorrar tiempo y dinero y su alto grado de polimorfismo es una herramienta de alta resolución para resolver preguntas de variabilidad genética.

7.2 Diversidad genética en *Haemulon aurolineatum* y *Haemulon steindachneri*

Se evidenció un alto grado de polimorfismo en todos los loci amplificados para *H. aurolineatum* en el que la cantidad y ámbito de alelos convergen con los de otras especies del género *Haemulon* (Williams et al., 2003; Purcell et al., 2006; Villegas et al., 2014), aunque en la localidad de menor tamaño de muestra, la cantidad de alelos fue menor respecto a las otras. Aunque todos los loci, a excepción de HfAAC43, se encontraron alejados del Equilibrio de Hardy-Weinberg, este fenómeno no se dio en todas las localidades, con lo que en cierta medida se descartan errores de genotipificación, teniendo en cuenta además que el análisis en el programa MicroChecker no evidenció presencia de alelos nulos. Todas las localidades y la población total se alejaron significativamente del EHW. La localidad de Santa Marta evidenció desvíos en el equilibrio en casi todos los loci, con lo que surge la duda de cuáles son los procesos que experimentan las poblaciones en cada localidad que las puedan alejar del equilibrio.

En primer lugar, se descarta que exista un apareamiento asociativo ya que para las especies de *Haemulon* no ha sido documentado un comportamiento de selección sexual y pareciera que los emparejamientos ocurren al azar, cuando los gametos se liberan al tiempo en los episodios de fecundación (Mcfarland et al., 1984). Por otro lado, no se descarta que la población esté sufriendo un efecto Wahlund, pese a que no existe una correlación entre la distancia geográfica y la matriz de diferenciación genética, se sabe que las deviaciones en el equilibrio pueden ser causadas por una sub-estructuración en cada localidad ocasionada por la mezcla de individuos de cohortes con diferentes frecuencias alélicas, (Hogan et al., 2012).

Los demás procesos que pueden alterar el equilibrio como la endogamia, o la expansión en el tamaño de la población deben ser estudiados con más detenimiento en éstas especies teniendo en cuenta que son de importancia para la pesca artesanal en la región y la presión por sobrepesca podría estar ocasionando los desvíos en el equilibrio en ambas especies. Cabe resaltar que en otras especies del género *Haemulon*, como *H. flavolineatum*, se ha registrado que por fenómenos depredatorios solo 0.01% de los reclutas llega a la edad reproductiva, la cual es dos años después del inicio del reclutamiento (McFarland et al., 1985), cuando el espécimen puede tener una talla de aproximadamente 140 mm (Bravo et al., 2009). Mientras que en otros peces arrecifales se registra más de 2% de supervivencia de los reclutas hasta llegar a la edad reproductiva (McFarland et al., 1985). Teniendo en cuenta que las tallas de captura en la pesca artesanal son cada vez menores y que además los individuos inmaduros de *H. aurolineatum* son una presa de alta importancia en la alimentación de depredadores nativos e invasores como *Pterois volitans* (Pabón y Acero, 2016), se sugiere estudiar si los tamaños poblacionales de las especies de estudio están teniendo una reducción significativa, aunque para el presente estudio esta hipótesis no se considera la más plausible para explicar los desvíos del Equilibrio de Hardy-Weinberg, ya que al tener una muestra con individuos de diferentes cohortes es de esperarse encontrar desvíos en el equilibrio por cuenta del efecto Wahlund (Johnson y Black 1984; Hogan et al., 2010)

7.3 Estructura genética en *Haemulon aurolineatum*

La población de *H. aurolineatum* en el Caribe sur presenta una estructura genética significativa (0.064, p-valor=0.001). Previamente se había observado estructura en el Caribe en otras especies de haemúlidos como *H. flavolineatum* ($F_{ST=}$ 0.003, *p* <0.0001) (Purcell et al., 2006) y *H. plumieri* (F_{ST} = 0.0560, p < 0.001) (Villegas-Hernández et al., 2014). En dichos estudios atribuyen la estructura a un periodo larval corto (~14 d), ya que se ha observado una clara relación entre la dispersión larval y la estructura genética en especies que presentan periodos cortos o muy

largos de dicho estadio (Purcell et al*.,* 2003; Bay et al., 2006; Rocha et al*.,* 2007). En especies con períodos larvales intermedios la relación con la estructura genética no es tan clara, por lo que dicha estructuración se relaciona más con hábitos ecológicos y barreras geográficas (Planes et al*.,* 2001; Rocha et al*.,* 2007). Por ejemplo, Rocha et al. (2002), al estudiar la estructura genética de *Acanthurus bahianus*, *A. chirurgus* y *A. coeruleus* en el Atlántico, especies que presentan historias de vida similares pero preferencias de hábitat distintas en la vida adulta, hallaron que no había estructura poblacional entre las poblaciones de Brasil y las islas de la dorsal Mesoatlántica para las tres especies, por lo que concluyeron que esa barrera oceánica es superada posiblemente debido a la etapa de dispersión larval de aproximadamente 45-70 días. Por su parte, Doherty et al. (1995), al relacionar el periodo larval con la estructura genética, encontraron que en las especies que presentan menos de nueve días en estado larval, la fuerza que más influencia la estructura es la deriva genética, por lo que se infiere que el flujo genético es bajo, mientras que en especies con periodos larvales intermedios (9-39 días), la estructura es influida por la deriva y la migración de individuos.

Los haemúlidos son desovadores pelágicos, con larvas planctónicas (14 a 15 días en promedio) (Lindeman et al., 2001) y en su vida adulta son relativamente sedentarios, hacen migraciones diarias de corta distancia entre parches arrecifales formando grupos de varios individuos en asocio con otros peces en el arrecife, y generalmente los individuos se dispersan en la noche para forrajear (Ogden y Ehrlich, 1977). Este comportamiento ha permitido inferir que la dispersión a largas distancias ocurre por medio del transporte de las larvas por las corrientes oceánicas (Pereira et al*.,* 2011). Sin embargo, el flujo génico puede ser bajo en las poblaciones de haemúlidos puesto que, en comparación con otros peces arrecifales, la talla y edad de asentamiento de las larvas son bajas y presentan hábitos epibentónicos, estando cerca al fondo la mayor parte del periodo larval (Jordan et al., 2009). El periodo larval de los haemúlidos es considerado de los más cortos en peces del Caribe (Purcell et al., 2006), y se asume que las larvas no tienen alta capacidad de dispersión, por lo que son retenidas en los arrecifes natales (Lindeman et al., 2001). Tanto en el caso de *H. flavolineatum* como de *H.*

plumieri, se consideró que la dinámica de flujo génico sigue un patrón de aislamiento por distancia, mientras que en el presente estudio en *H. aurolineatum* no se encontró una correlación positiva entre la divergencia genética y la distancia geográfica, por lo que, además de las características de dispersión de la especie, se considera que los patrones de flujo génico reciente los están determinando tanto condiciones oceanográficas, preferencias ecológicas, como la historia evolutiva de la especie. Además, en especies que presentan baja dispersión, la estructura genética se relaciona más con patrones históricos, mientras que en especies de dispersión planctónica ésta refleja la influencia de factores oceanográficos contemporáneos (Pelc et al., 2009). Como las especies del presente estudio poseen larvas planctónicas, pero su periodo de dispersión es relativamente corto se considera que su estructura genética refleja procesos recientes, pero también históricos.

Lo anterior se ve reforzado con el hecho de que en *H. aurolineatum* no se observó una separación clara debida a las barreras geográficas entre los cuatro linajes revelados por STRUCTURE; por el contrario, se considera que la distribución de los cuatro linajes puede estar representando fuerzas de divergencia genética distintas en cada uno, pues, uno de los linajes se distribuye a través de todas las localidades (clúster azul, Fig. 6). Otros dos linajes podrían estar siendo separados por la barrera que impone el río Magdalena (clúster amarillo y rojo, fig. 6) y un cuarto linaje (clúster verde, Fig. 6) deja en evidencia el flujo génico entre Santa Marta e isla Margarita.

Por otro lado, la comparación entre pares de localidades fue significativa en todos los casos, lo cual conlleva a inferir que cada región tiene características geográficas con las que interactúan la biología y los hábitos ecológicos de cada especie para hacerlas significativamente diferenciadas genéticamente de las otras. En el caso de Capurganá, Landínez et al. (2009) atribuyen una ligera estructuración genética de *Lutjanus synagris* (Φ_{ST} = 0.007, P = 0.0001) a la posible influencia de las diferencias en la forma de la plataforma continental entre Capurganá, islas del Rosario y Santa Marta, argumentando que esta especie

presenta una fuerte asociación con los fondos de la plataforma continental, los cuales usa para protección y como lugar de forrajeo y que además las diferencias de profundidad y el tipo de sedimento son factores que influyen en la estructura de la población. Otro factor que Landínez et al. (2009) consideran influyente en el flujo génico de los organismos marinos del Caribe colombiano es la contracorriente Panamá- Colombia, pues esta puede estar favoreciendo el flujo entre las poblaciones de Capurganá e islas del Rosario. Por lo anterior, atribuyen las diferencias entre las poblaciones de *L. synagris* entre ambos sitios a la influencia de la desembocadura del río Atrato. Por otro lado, el diagrama en STRUCTURE permite observar que el linaje predominante en Capurganá está también distribuido en el resto de localidades, lo que conlleva a pensar que la diferenciación de esta localidad con respecto a las otras, podría ser más reflejo de un proceso histórico que de factores recientes como corrientes o barreras geográficas.

Aunque el linaje predominante en Barú también se encuentra en Capurganá, Santa Marta y La Guajira, la proporción en las otras localidades es baja, por lo que las diferencias de Barú con respecto a los demás lugares del Caribe se pueden atribuir a procesos que están reteniendo los individuos y que limitan el flujo génico a los lugares aledaños. En primer lugar, el corto periodo larval y tanto la presencia de las desembocaduras de los ríos Atrato y Magdalena podrían estar limitando el flujo genético entre esta localidad y las otras, así como la preferencia de esta especie por aguas claras y arrecifes, lo cual predomina en ésta región. Al analizar la localidad de Santa Marta, se encuentran dos linajes predominantes, aquel mayoritario en Capurganá y el linaje predominante en isla Margarita, lo que indica que en esta región no se están reteniendo las larvas de un solo linaje, pudiendo recibir individuos provenientes de otras localidades. Esto se podría atribuir a que la forma de la plataforma continental es estrecha y puede estar recibiendo influencias tanto de la corriente del Caribe, que en cierto grado explica el compartir el linaje predominante en isla Margarita, como de la contracorriente Panamá- Colombia. Teniendo en cuenta que el periodo larval de esta especie se considera corto, habría que estimar cuánto se puede dispersar en esos 14 días con ayuda de las

corrientes, sin embargo, esta hipótesis es plausible al saber que esta especie desova durante todo el año (Estrada, 1983) y por eso su distribución no converge con un solo patrón de corrientes ya que éste cambia a lo largo del año en el Caribe colombiano.

En La Guajira también se observó predominancia del linaje que comparte con Santa Marta e isla Margarita y no sobrepasa el río Magdalena. La presencia predominante de éste linaje en La Guajira, y la baja proporción del mismo en otras regiones, es el causante de la diferenciación genética de ésta frente a las otras regiones y podría ser el reflejo de que a la altura de la península de la Guajira la plataforma continental se estrecha y luego se amplía desde el Cabo de la Vela hacia el suroccidente donde, al llegar a la Sierra Nevada de Santa Marta, vuelve a estrecharse ocasionando una ruptura filogeográfica (Betancur et al., 2010) que hace de La Guajira una región diferenciada. Almanza (2014) no halló en la especie de tiburón *Rhizoprionodon porosus* una estructura genética significativa (Φpt= 0,024, p=0,072) en el Caribe colombiano, sin embargo al hacer el análisis por pares de localidades encontró diferencias significativas entre La Guajira y las localidades de Magdalena, Bolívar y Córdoba, relacionada con el déficit de heterocigosidad en La Guajira que podría estar implicando que los individuos de dicha región estén emparentados, debido a que el flujo superficial en dirección oriente que proviene de la Contracorriente Panamá- Colombia al llegar a La Guajira forma una subcorriente que se ve interrumpida por la surgencia que va en dirección occidente. La localidad que presentó mayor Φpt en comparación con las otras fue isla Margarita; esto tiene sentido si se tiene en cuenta que es la más alejada en distancia geográfica de las otras. En ésta, predomina un linaje que comparte con Santa Marta, que puede ser el mayoritario en ésta región por fenómenos oceanográficos contemporáneos; sin embargo, al tener en cuenta que la especie no sigue un modelo de aislamiento por distancia, la diferenciación genética de ésta región frente a las otras, también puede deberse a fenómenos históricos y a la presencia de una plataforma continental amplia.

Por último, es necesario analizar si la estructuración genética en *H. aurolineatum* es ocasionada por los desvíos del Equilibrio Hardy- Weinberg por un posible efecto Wahlund. Sin embargo, no hay una relación directa entre los desvíos en el EHW por efecto Wahlund y la estructura genética, como lo reportaron Hogan et al. (2010), en *Stegastes partitus* a lo largo del Sistema arrecifal Mesoamericano, que presentó desvíos significativos del EHW atribuidos al efecto Wahlund, y un alto grado de estructuración genética a nivel temporal, pero no presentó una estructuración genética espacial. Por lo anterior, esta hipótesis se podría probar haciendo un análisis temporal que distinga los individuos de diferentes cohortes (Hogan et al., 2010).

7.4 Estructura genética en *Haemulon steindachneri*.

Para la especie *H. steindachneri* se halló una estructura genética significativa en el área estudiada, lo cual converge con lo hallado para otras especies de haemúlidos. El período de duración larval de ésta es similar al de *H. aurolineatum*, es decir corto, por lo que se espera cierto grado de estructuración genética, pero su reproducción está registrada sólo para la primera mitad del año (Estrada, 1983), lo cual podría evidenciar diferencias en la distribución de linajes respecto a *H. aurolineatum*. Por lo anterior su periodo de dispersión larval podría estar influenciado por la presencia de los vientos Alisios y un transporte de larvas en convergencia con la Corriente del Caribe y la Contracorriente Panamá-Colombia. Este fenómeno se ve reflejado en que no se halló una relación significativa entre la distancia geográfica y la divergencia genética entre las localidades. Al hacer la comparación Φpt entre pares de localidades no se observaron diferencias significativas entre la región de Capurganá y Barú, lo cual converge con el diagrama de STRUCTURE (Fig. 6) en el que se ve un linaje predominante entre estas dos localidades, que, aunque se encuentra en Santa Marta, La Guajira e isla Margarita, su proporción es mínima respecto al linaje que predomina en éstas. La predominancia de éste linaje puede ser explicada por la retención de las larvas que puede ocasionar la Contracorriente Panamá-Colombia que además permite el

flujo génico entre Capurganá y Barú, y por la barrera que impone el río Magdalena, por la cual se observan dos poblaciones, separadas una de la otra, donde la barrera más importante es el Magdalena. Éste resultado converge con el de Rocha et al., (2008) en el que por medio de ADN mitocondrial logran observar una separación filogenética en las poblaciones de *H. steindachneri* entre Venezuela y Brasil, la cual es atribuida a la desembocadura del río Amazonas.

La comparación por pares de Φpt muestra diferencias significativas entre las localidades; Capurganá - Santa Marta, Capurganá - La Guajira, Capurganá - Isla Margarita, Barú - Santa Marta, Barú - La Guajira, Barú – Isla Margarita, Santa Marta- La Guajira, Santa Marta – Isla Margarita y La Guajira- Isla Margarita. Se observa que el linaje predominante en todas es el mismo, lo cual permite inferir que las diferencias se deben a características únicas de cada localidad y su relación con el linaje predominante. El periodo larval y su relación con las corrientes del primer periodo del año determinan en cierta medida la estructuración genética de *H. steindachneri* en el Caribe; sin embargo, las diferencias significativas entre cada una de las localidades que están ubicadas del río Magdalena hasta Venezuela, dejan ver que otros factores geográficos y la ecología de la especie relacionada con esos factores están determinando la estructura de *H. steindachneri*.

Cabe resaltar que los factores ecológicos también pueden tener un fuerte efecto sobre el flujo génico; por ejemplo, Rocha et al. (2005), al comparar la estructura genética de diferentes especies del género *Halichoeres*, encontraron mayor conectividad entre poblaciones separadas por varios kilómetros que tenían preferencias de hábitat similares que con las poblaciones adyacentes que diferían en sus preferencias ecológicas. Además, hallaron una correlación positiva entre el grado de divergencia genética y el grado de especialización ecológica de cada especie. Aunque la relación causal de cómo la ecología de la especie determina la estructura genética no ha sido determinada, en el presente estudio se puede observar que para *H. steindachneri* la influencia de la desembocadura del río

Magdalena sí determina en gran medida su estructura genética, mientras que esta relación no es tan clara en *H. aurolineatum* donde unos linajes están separados del río, otros son únicos en una localidad y otro se encuentra distribuido en todas las localidades. El resultado del presente estudio, contrasta con el de Rocha et al. (2002) en el cual *A. chirurgus*, al preferir aguas turbias, no se encuentra afectada por la desembocadura del río Amazonas, mientras que *A. coeruleus* y *A. bahianus* sí, por su menor tolerancia a aguas turbias. En el caso de *H. steindachneri*, a pesar de preferir aguas turbias y de haber sido colectada en cercanías a desembocaduras de ríos (Estrada et al., 1983) su estructura genética sí es afectada por la presencia del Magdalena. Es por ello que, aunque se sabe que las preferencias de hábitat en la vida adulta son importantes en la determinación de la estructura genética, es necesario investigar a profundidad la influencia de ésta en más especies co-distribuidas y que tengan las mismas preferencias.

Teniendo en cuenta que la preferencia por aguas más turbias de *H. steindachneri* con respecto a la preferencia de aguas más claras de *H. aurolineatum* no es un factor suficiente para explicar las diferencias en sus patrones de estructura, es necesario contemplar que aunque *H. aurolineatum* y *H. steindachneri* se han observado en arrecifes de coral, praderas de pastos marinos, raíces de manglar, entre otros *(*Manooch y Barans*,* 1982; Estrada, 1983; Bravo et al., 2009*;* Jordan et al., 2012*),* han desarrollado preferencias ecológicas distintas, pues *H. steindachneri* prefiere fondos blandos (Morales y González, 2009) mientras que *H. aurolineatum* se halla comúnmente en arrecifes de coral (Bravo et al., 2009; Jordan et al., 2012) y su distribución es menos fragmentada que la de *H. steindachneri*. Además, se ha observado a *H. aurolineatum* como una de las especies más comunes del género cerca de las desembocaduras de ríos como Atrato (Estrada, 1983) y Amazonas (Colette y Rützler, 1977). Lo cual, puede sugerir las capacidades de *H. aurolineatum* de tolerar distintos grados de salinidad y de cruzar algunas barreras que *H. steindachneri* no sobrepasa.

Además de las diferencias en la preferencia de hábitats y en las épocas de reproducción, hay que tener en cuenta que los patrones de estructuración pueden

estar sugiriendo procesos históricos diferentes, donde *H. aurolineatum* al tener un origen más antiguo en el Caribe (Rocha et al., 2008) puede mostrar mayor diferenciación genética, relacionada con los procesos geomorfológicos y oceanográficos que ha sufrido cada región. *Haemulon steindachneri*, por su parte, al tener una historia más reciente en el Caribe, con el surgimiento del istmo de Panamá (Rocha et al., 2008), presenta una distribución más limitada y refleja procesos oceanográficos más recientes. Esta hipótesis se puede ver evidenciada en que en *H. aurolineatum* se encontraron cuatro clústers, significativamente diferenciadas que reflejan cada una, procesos distintos de diferenciación, mientras que en *H. steindachneri* sólo se hallaron dos clústers y la presencia clara de una barrera geográfica que ha influido en la diferenciación de éstas dos poblaciones recientemente.

8 CONCLUSIONES:

1. Los microsatélites fueron una herramienta adecuada para responder inquietudes de la variabilidad genética de *H. aurolineatum* (10 microsatélites) y *H. steindachneri* (9 microsatélites) en el Caribe sur, por lo cual, se recomienda su uso en futuras investigaciones de genética de poblaciones del género *Haemulon*.

2. Las poblaciones en todas las localidades de ambas especies presentaron desvíos significativos del Equilibrio Hardy-Weinberg. Se considera que estás desviaciones pueden tener relación principalmente con el efecto Wahlund o en segundo lugar con alteraciones en el tamaño poblacional.

3. La estructura genética hallada en *Haemulon aurolineatum* puede ser el reflejo tanto de su periodo de dispersión larval, de procesos oceanográficos contemporáneos, como de procesos históricos, lo cual

se ve reflejado en la distribución de las cuatro poblaciones halladas entre las distintas localidades y en las diferencias significativas entre las localidades que no tienen relación con la distancia geográfica.

4. La estructura genética de *Haemulon steindachneri* puede ser en su mayoría el reflejo de procesos oceanográficos contemporáneos y de su biología y preferencias ecológicas.

5. Las diferencias halladas entre la estructura de ambas especies sugieren una clara influencia de la biología y ecología de la especie, así como de su origen evolutivo, en la estructura genética.

9 BIBLIOGRAFÍA

- Agapow, P. M., y Burt, A. (2001). Indices of multilocus linkage disequilibrium. Molecular Ecology Notes, 1(1-2), 101-102.

- Alhjanabi, S.M, y Martínez, I. (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research, 25:4692-4693

- Almanza, M. A. (2014). Análisis genético poblacional del tiburón cazón antillano, *Rhizoprionodon porosus* (Carcharhinidae), en el Caribe colombiano. Tesis Maestria. Univ. Nacional de Colombia-Sede Caribe.

- Andrade-Amaya, C.A. (2000). The circulation and variability of the Colombian Basin in the Caribbean Sea. Tesis Ph. D. University of Wales, Gales. 223 pp.

- Andrade, C. A., Barton, E. D., & Mooers, C. N. (2003). Evidence for an eastward flow along the Central and South American Caribbean Coast. Journal of Geophysical Research: Oceans, 108(C6).

- Arias, F. (1998). Condiciones oceanográficas del Caribe colombiano. En:

Colombia Patria de tres mares. EXPOLISBOA 98. Diego Samper Ediciones (Ed). Bogotá.

- Audemard, F. E., y Audemard, F. A. (2002). Structure of the Mérida Andes, Venezuela: relations with the South America–Caribbean geodynamic interaction. Tectonophysics, 345(1), 1-26.

- Avise, J. C. (2000). Phylogeography: the history and formation of species. Harvard Univ.

- Bay, L. K., Crozier, R. H., & Caley, M. J. (2006). The relationship between population genetic structure and pelagic larval duration in coral reef fishes on the Great Barrier Reef. Marine Biology, 149(5), 1247-1256.

- Bradbury, I. R., Laurel, B., Snelgrove, P. V., Bentzen, P., & Campana, S. E. (2008). Global patterns in marine dispersal estimates: the influence of geography, taxonomic category and life history. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences,

- Bravo, E., Eslava, N., & González, L. (2009). Crecimiento y mortalidad natural del pez *Haemulon aurolineatum* (Teleostei: Haemulidae) del suroeste de la isla de Margarita, Venezuela. International Journal of Tropical Biology and Conservation, 57(3).

- Cervigón, F. (2005). La ictiofauna marina de Venezuela: una aproximación ecológica. Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, 44(1), 3-28.

- Cervigón, F., Cipriani, R., Fischer, W., Garibaldi, L., Hendrickx, M., Lemus, A. J., & Rodríguez, B. (1992). Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América. FAO, Roma, 513 p.

- Collette B.B. y Rützler, K. (1977) Reef fishes over sponge bottoms off the mouth of the Amazon River: 305-310. Proceedings of the 3rd International Coral Reef Symposium, Miami, Florida.

- Cortés, M., y Angelier, J. (2005). Current states of stress in the northern Andes as

indicated by focal mechanisms of earthquakes. Tectonophysics, 403(1), 29-58.

- Darcy, G. H. (1983). Synopsis of Biological Data on the Grunts *Haemulon aurolineatum* and *H. plumieri* (Pisces: Haemulidae). NOM Technical Report NMFS Circular 448.

- Díaz, J. M. (2014), Región Caribe de Colombia En: Colombia. Ed: Banco de Occidente

- Díaz, J. M., y Acero, A. (2003). Marine biodiversity in Colombia: achievements, status of knowledge and challenges. Biodiversidad marina en Colombia: Estado actual del conocimiento y desafíos futuros. Gayana, 67(2), 261-274.

- Doherty, P. J., Planes, S., & Mather, P. (1995). Gene flow and larval duration in seven species of fish from the Great Barrier Reef. Ecology, 76(8), 2373-2391.

- Drummond, A. J. et al. (2010) Geneious v5.5. Available at http://www.geneious.com, (last accessed 12 March 2012)

- Estrada, M. I. (1983). Contribución al conocimiento de la biología y ecología de las especies del género *Haemulon* (Pisces: Haemulidae) en los arrecifes del Caribe colombiano, con énfasis en la región de Santa Marta. Tesis de Licenciatura, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá.

- Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology, 14(8), 2611-2620.

- Excoffier, L., Smouse, P. E., y Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 131(2), 479-491.

- Gómez, A. (1996). Causas de la fertilidad marina en el nororiente de Venezuela. Interciencia, 21(3): 140- 146.

- Gordon, A. L. (1967). Circulation of the Caribbean Sea. Journal of Geophysical Research, 72(24), 6207-6223.

- Hogan, J. D., Thiessen, R. J., y Heath, D. D. (2010). Variability in connectivity indicated by chaotic genetic patchiness within and among populations of a marine fish. Marine Ecology Progress Series, 417, 263-275.

- Hogan, J. D., Thiessen, R. J., Sale, P. F., y Heath, D. D. (2012). Local retention, dispersal and fluctuating connectivity among populations of a coral reef fish. Oecologia, 168(1), 61-71.

- IDEAM, IGAC, Ivy, IIAP, INVEMAR y SINCHI. 2007. Ecosistemas continentales, costeros y marinos de Colombia. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, Bogotá. 276 p.

- Johnson, M. S., y Black, R. (1984). Pattern beneath the chaos: the effect of recruitment on genetic patchiness in an intertidal limpet. Evolution, 1371-1383.

- Jordan, L. K., Lindeman, K. C., y Spieler, R. E. (2012). Depth-variable settlement patterns and predation influence on newly settled reef fishes (*Haemulon* spp., Haemulidae). PloS one, 7(12), e50897.

- Landínez-García, R. M., Ospina-Guerrero, S. P., Rodríguez-Castro, D. J., Arango, R., & Márquez, E. (2009). Genetic analysis of *Lutjanus synagris* populations in the Colombian Caribbean Análisis genético de *Lutjanus synagris* en poblaciones del Caribe Colombiano. Ciencias Marinas, 35(4), 321-331.

- Lindeman, K. C., Lee, T. N., Wilson, W. D., Claro, R. O. D. O. L. P. H. O., y Ault, J. S. (2001). Transport of larvae originating in southwest Cuba and the Dry Tortugas: evidence for partial retention in grunts and snappers. In Proc Gulf Caribb Fish Inst. Vol. 52, pp. 732-747.

- Manooch III, C. S., & Barans, C. A. (1982). Distribution, abundance, and age and growth of the tomtate, Haemulon aurolineatum, along the southeastern United States coast [Grunt, fishes]. Fishery bulletin United States, National Marine Fisheries Service.

- Márquez, E. M.-R.-A. (2013). Uso de citogenética y técnicas moleculares en estudios de diversidad genética en peces colombianos: 237-312. En E. J.-A. N. J. Mancera-Rodríguez, Biología molecular aplicada a la producción animal y la

conservación de especies silvestres. Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

- Mcfarland, W.N., E.B. Brothers, J.C. Ogden, M.J. Shulman, E.l. Beringham y N.M. Kotchianprentis, (1984). Recruitment patterns in young French grunts, *Haemulon flavolineatum* (Family Haemulidae), at St. Croix, Virgin Islands.--Fish. Bull. 83: 413-426.

- Molina, A. (1993). Estudio sedimentológico y morfológico de la plataforma continental Caribe entre el sector de Santa Marta y Punta Morro Hermoso. Bol. Cient. CIOH, 14: 67-78.

- Morales, M., y González, L. W. (2009). Edad y crecimiento del pez *Haemulon steindachneri* (Perciformis: Haemulidae) en el suroeste de la isla de Margarita, Venezuela. International Journal of Tropical Biology and Conservation, 58(1).

- Moritz, C (1994) Defining “evolutionary significant units” for conservation. Trends Ecol Evol 9:373–375

- Ogden, J. C., & Ehrlich, P. R. (1977). The behavior of heterotypic resting schools of juvenile grunts (Pomadasyidae). Marine Biology, 42(3), 273-280.

- Oosterhout C, Hutchinson W, Willis D, Shipley P. (2004). Micro Checker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Mol. Ecol. Notes 4: 535–538.

- Pabón, P. E., y Pizarro, A. A. (2016). Ecología trófica del invasor pez león (*Pterois volitans*) en el Caribe colombiano: Impacto sobre familias ícticas de Santa Marta y San Andrés. En: Campos, N. H. y A. Acero P. (Eds). 2016 Contribuciones en Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Colombia- 2015. CECIMAR, Sede Caribe, Universidad Nacional de Colombia, Santa Marta, 141 p.

- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular ecology notes, 6(1), 288-295.

- Pelc, R. A., Warner, R. R., & Gaines, S. D. (2009). Geographical patterns of genetic structure in marine species with contrasting life histories. Journal of

Biogeography, 36(10), 1881-1890.

- Pereira, P. H. C., Feitosa, J. L. L., y Ferreira, B. P. (2011). Mixed-species schooling behavior and protective mimicry involving coral reef fish from the genus *Haemulon* (Haemulidae). Neotropical Ichthyology, 9(4)

- Planes, S., Doherty, P. J., & Bernardi, G. (2001). Strong genetic divergence among populations of a marine fish with limited dispersal, *Acanthochromis polyacanthus*, within the Great Barrier Reef and the Coral Sea. Evolution, 55(11), 2263-2273.

- Purcell, J. F., Cowen, R. K., Hughes, C. R., & Williams, D. A. (2006). Weak genetic structure indicates strong dispersal limits: a tale of two coral reef fisH. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 273(1593)

- Raymond, M., y Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of heredity, 86(3), 248-249.

- Riginos, C., Douglas, K. E., Jin, Y., Shanahan, D. F., & Treml, E. A. (2011). Effects of geography and life history traits on genetic differentiation in benthic marine fishes. Ecography, 34(4), 566-575.

- Rocha, L. A., Bass, A. L., Robertson, D. R., & Bowen, B. W. (2002). Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae). Molecular Ecology, 11(2), 243-251.

- Rocha, L. A., Robertson, D. R., Roman, J., & Bowen, B. W. (2005). Ecological speciation in tropical reef fishes. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 272(1563), 573-579.

- Rocha, L. A., Craig, M. T., & Bowen, B. W. (2007). Phylogeography and the conservation of coral reef fishes. Coral Reefs, 26(3)

- Rocha, L. A., Lindeman, K. C., Rocha, C. R., & Lessios, H. A. (2008). Historical biogeography and speciation in the reef fish genus *Haemulon* (Teleostei: Haemulidae). Molecular phylogenetics and evolution, 48(3), 918-928.

- Rousset, F., 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resources 8: 103-106.

- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. Nature biotechnology, 18(2), 233-234.

- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science, 236(4803)

- Shulman, M.J. y Bermingham, E. (1995) Early life histories, ocean currents, and the population genetics of caribbean reef fishes. Evolution 49:897–910

- Taboada, A., Rivera, L. A., Fuenzalida, A., Cisternas, A., Philip, H., Bijwaard, H.,y Rivera, C. (2000). Geodynamics of the northern Andes: Subductions and intracontinental deformation (Colombia). Tectonics, 19(5), 787-813.

- Tavera, J. J., Acero P, A., Balart, E. F., y Bernardi, G. (2012). Molecular phylogeny of grunts (Teleostei, Haemulidae), with an emphasis on the ecology, evolution, and speciation history of New World species. BMC evolutionary biology, 12(1).

- Trenkamp, R., Kellogg, J. N., Freymueller, J. T., y Mora, H. P. (2002). Wide plate margin deformation, southern Central America and northwestern South America, CASA GPS observations. Journal of South American Earth Sciences, 15(2), 157-171.

- Turner, N. K., Chapman, R. W. y Ball, A. O. (2005) Population structure of the tomtate, *Haemulon aurolineatum*, Unpublished. GenBank: AY523674.1, AY523675.1, AY523677.1, AY523679.1, AY523680.1, AY523681.1, AY523682

- Vides, M. P., Sierra-Correa, P. C., & Ruiz, M. L. (2003). Atlas de paisajes costeros de Colombia. INVEMAR.

- Villegas-Hernández, H., Rodríguez-Canul, R., Guillén-Hernández, S., Zamora-Bustillos, R., & González-Salas, C. (2014). Population differentiation in *Haemulon*

plumieri juveniles across the northern coast of the Yucatan Peninsula. Aquatic Biology, 20(2), 129-137.

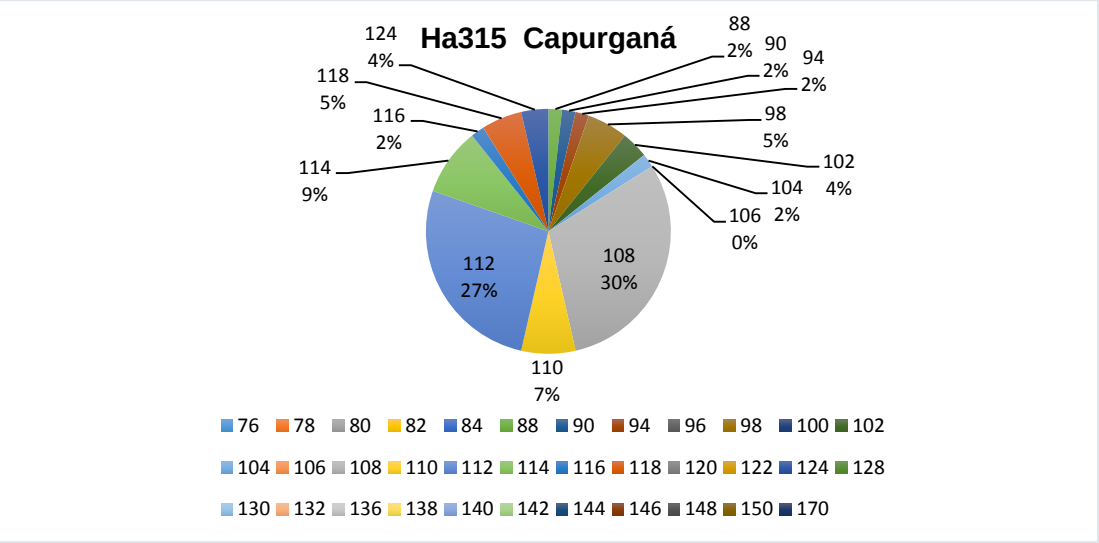
- Williams, D. A. (2003). Microsatellite multiplexes for high-throughput genotyping of French grunts (*Haemulon flavolineatum*, Pisces: Haemulidae) and their utility in other grunt species. Molecular Ecology Notes

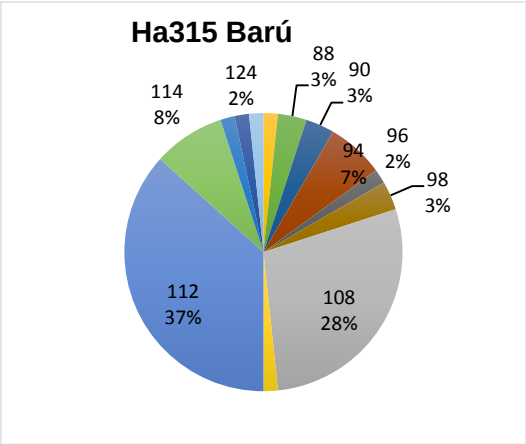
- Wüst, G. (1964). Stratification and circulation in the Antillean-Caribbean basins (Vol. 1). Columbia University Press.

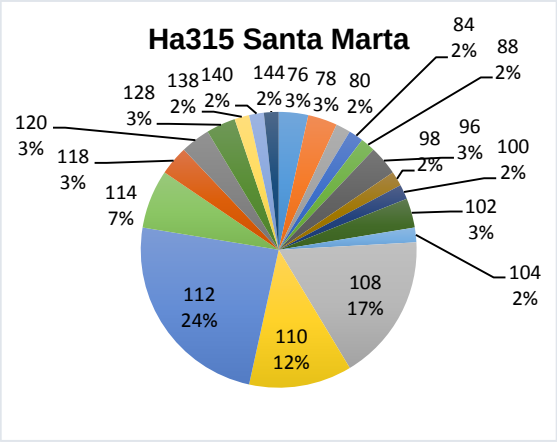
10. ANEXO A

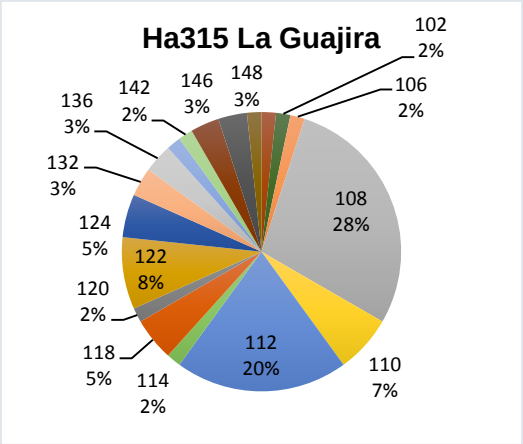
Frecuencias Alélicas de *Haemulon aurolineatum* en cada locus por localidad.

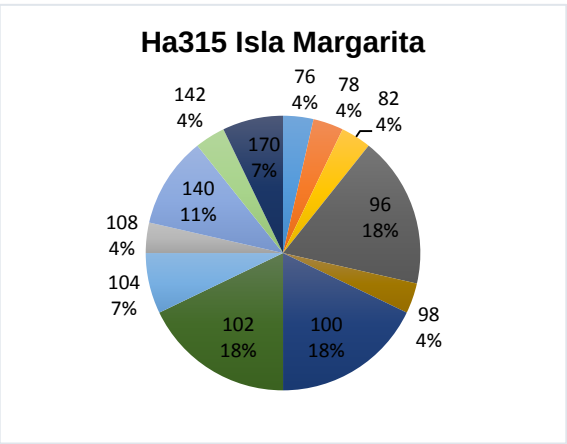
Locus Ha315



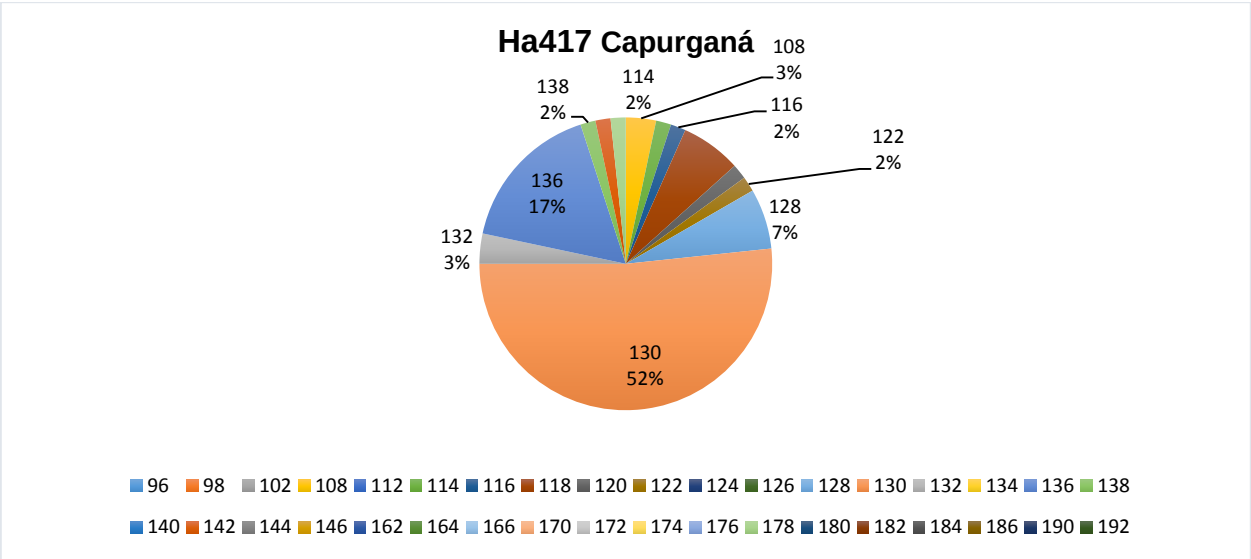

Ha315 Barú
114 8%
124 2%
88 3%
90 3%
96 2%
94 7%
98 3%
112 37%
108 28%

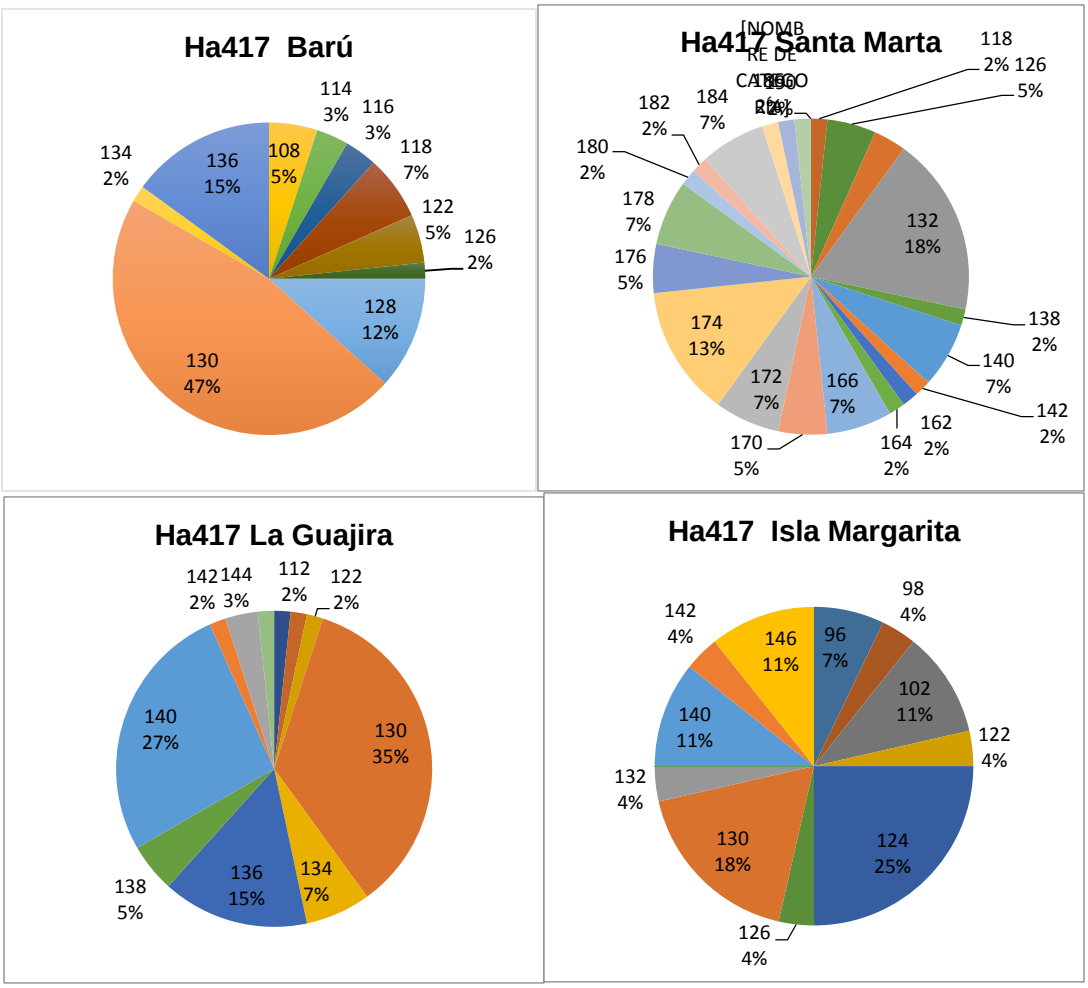

Ha315 Santa Marta
84 2%
88 2%
128 3%
138 2%
140 2%
144 2%
76 3%
78 3%
80 2%
120 3%
118 3%
98 2%
96 3%
100 2%
114 7%
102 3%
104 2%
112 24%
108 17%
110 12%


Ha315 La Guajira
102 2%
106 2%
148 3%
146 3%
142 2%
136 3%
132 3%
124 5%
122 8%
120 2%
118 5%
114 2%
112 20%
110 7%
108 28%

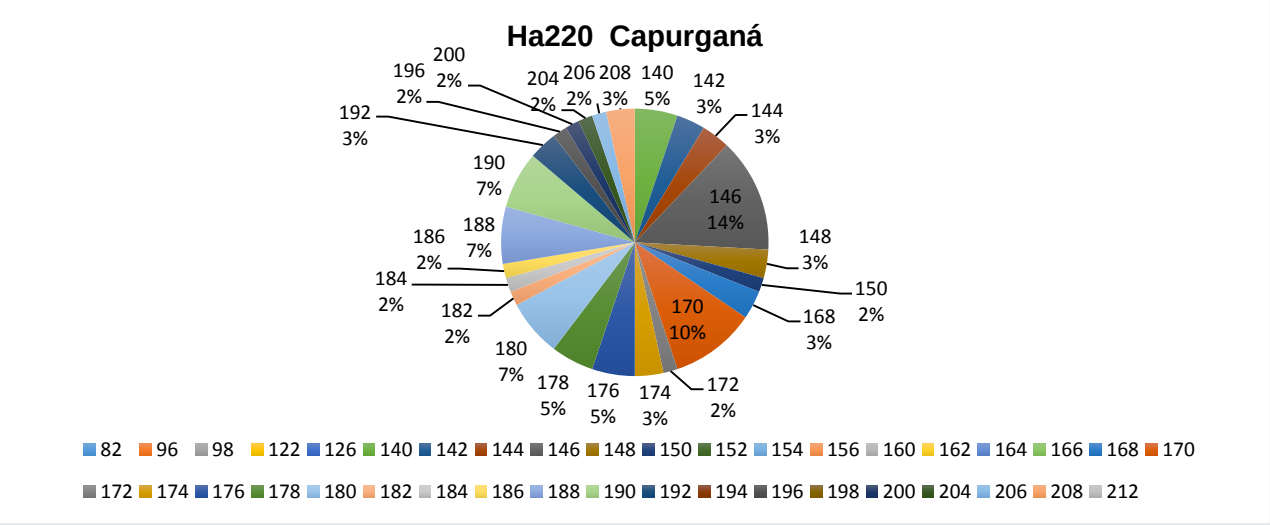

Ha315 Isla Margarita
142 4%
76 4%
78 4%
82 4%
170 7%
140 11%
108 4%
96 18%
104 7%
102 18%
100 18%
98 4%

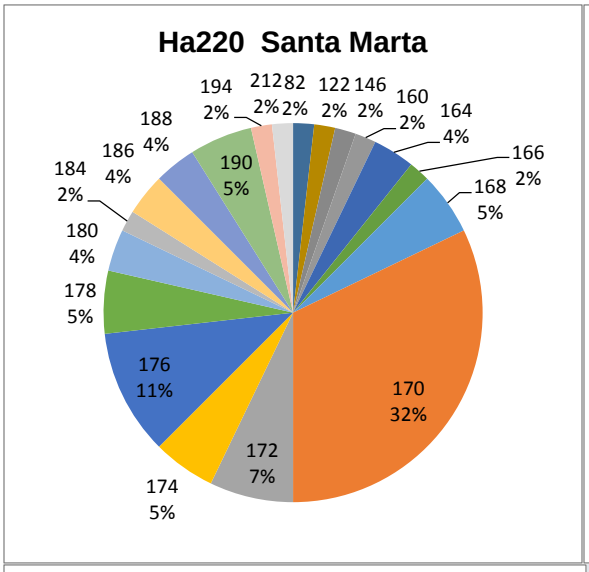
Locus Ha417

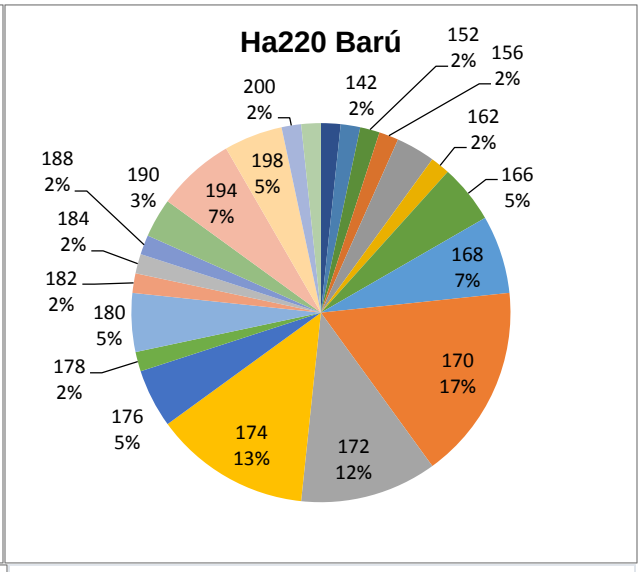

Ha417 Capurganá
108 3%
138 2%
114 2%
116 2%
122 2%
136 17%
128 7%
132 3%
130 52%
96 98 102 108 112 114 116 118 120 122 124 126 128 130 132 134 136 138
140 142 144 146 162 164 166 170 172 174 176 178 180 182 184 186 190 192

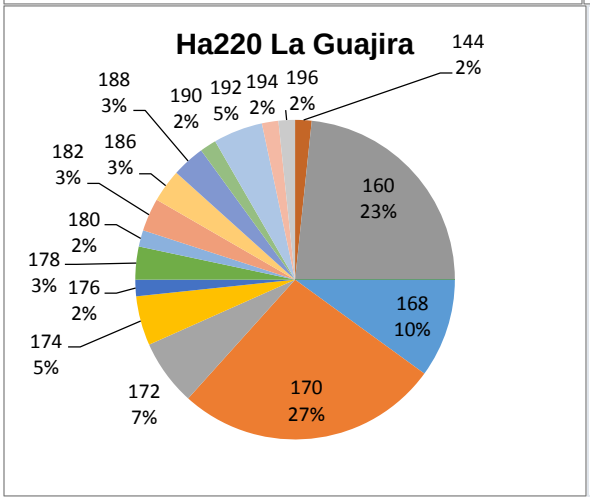

Ha417 Barú
114 3%
116 3%
118 7%
122 5%
126 2%
128 12%
130 47%
134 2%
136 15%
108 5%
Ha417 Santa Marta
118 2%
126 5%
132 18%
138 2%
140 7%
142 2%
162 2%
164 2%
166 7%
170 5%
172 7%
174 13%
176 5%
178 7%
180 2%
182 2%
184 7%
Ha417 La Guajira
142 2%
144 3%
112 2%
122 2%
130 35%
134 7%
136 15%
138 5%
140 27%
Ha417 Isla Margarita
98 4%
96 7%
102 11%
122 4%
124 25%
126 4%
130 18%
132 4%
140 11%
142 4%
146 11%

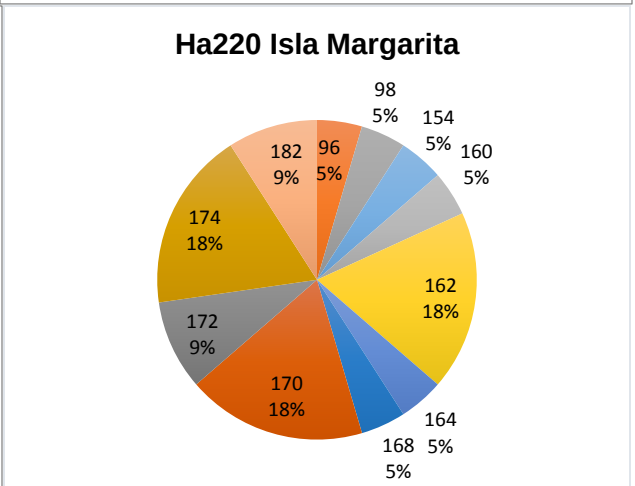
Locus Ha220


Ha220 Capurganá
140 5%
142 3%
144 3%
146 14%
148 3%
150 2%
168 3%
170 10%
172 2%
174 3%
176 5%
178 5%
180 7%
182 2%
184 2%
186 2%
188 7%
190 7%
192 3%
196 2%
200 2%
204 2%
206 2%
208 3%
82 96 98 122 126 140 142 144 146 148 150 152 154 156 160 162 164 166 168 170
172 174 176 178 180 182 184 186 188 190 192 194 196 198 200 204 206 208 212

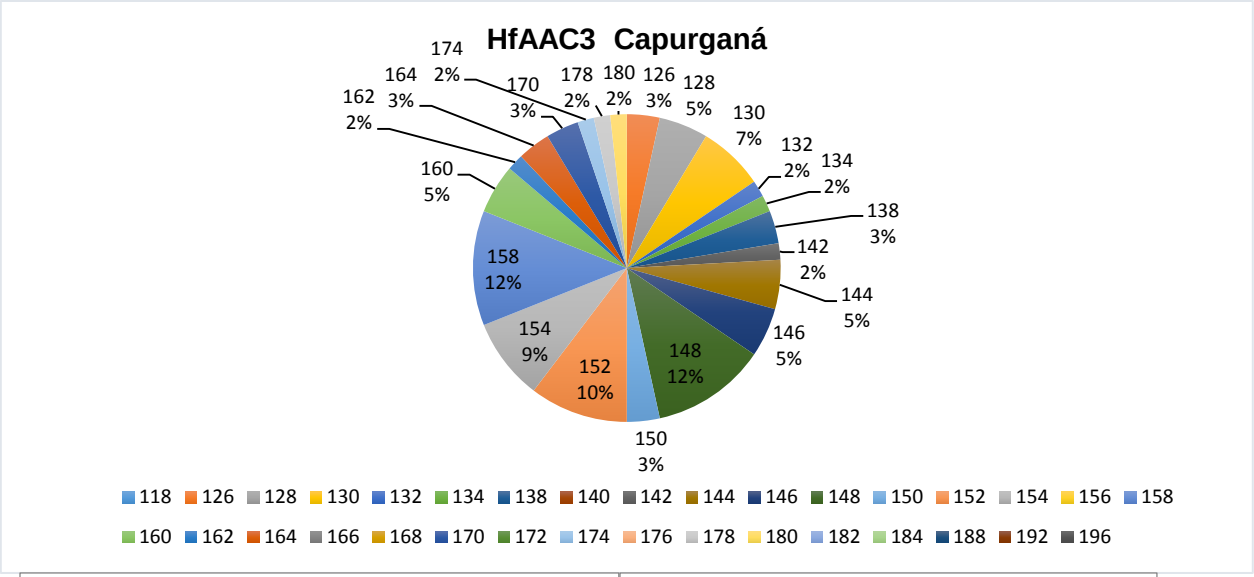

Ha220 Santa Marta
194 2%
212 2%
82 2%
122 2%
146 2%
160 2%
164 4%
166 2%
168 5%
188 4%
186 4%
184 2%
190 5%
180 4%
178 5%
176 11%
170 32%
172 7%
174 5%

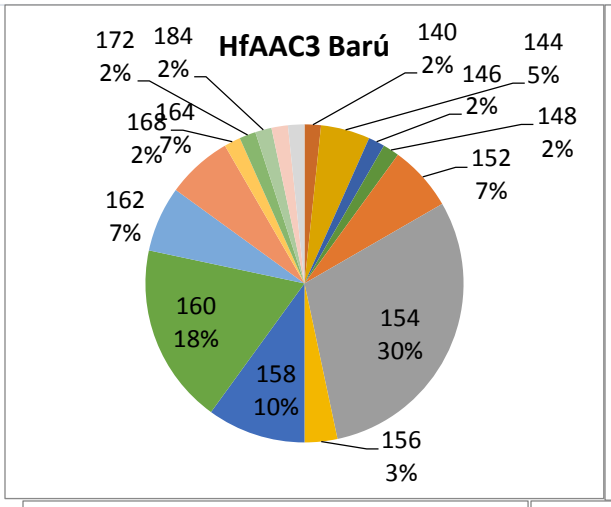

Ha220 Barú
152 2%
156 2%
200 2%
142 2%
162 2%
166 5%
188 2%
190 3%
198 5%
194 7%
184 2%
182 2%
168 7%
180 5%
178 2%
170 17%
176 5%
174 13%
172 12%

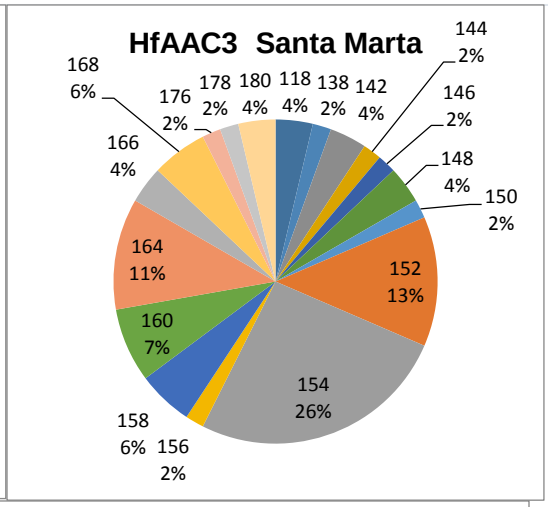

Ha220 La Guajira
144 2%
188 3%
190 2%
192 5%
194 2%
196 2%
182 3%
186 3%
160 23%
180 2%
178 3%
176 2%
168 10%
174 5%
172 7%
170 27%

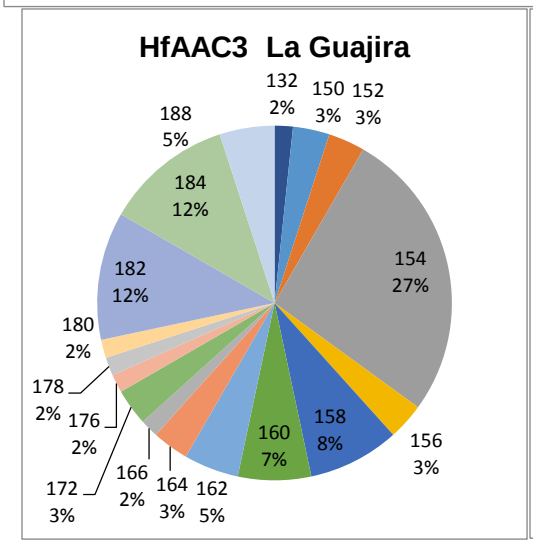

Ha220 Isla Margarita
98 5%
154 5%
160 5%
182 9%
96 5%
174 18%
162 18%
172 9%
170 18%
164 5%
168 5%

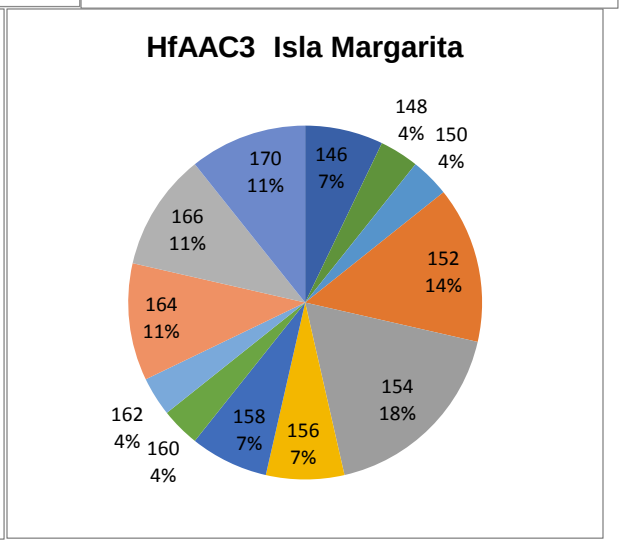
Locus HfAAC3



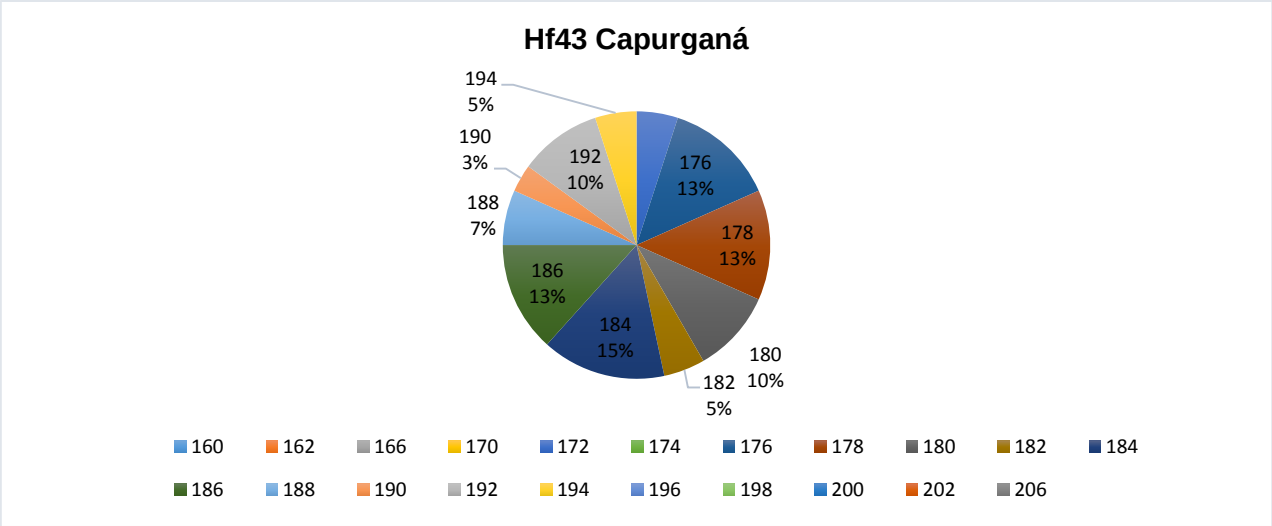


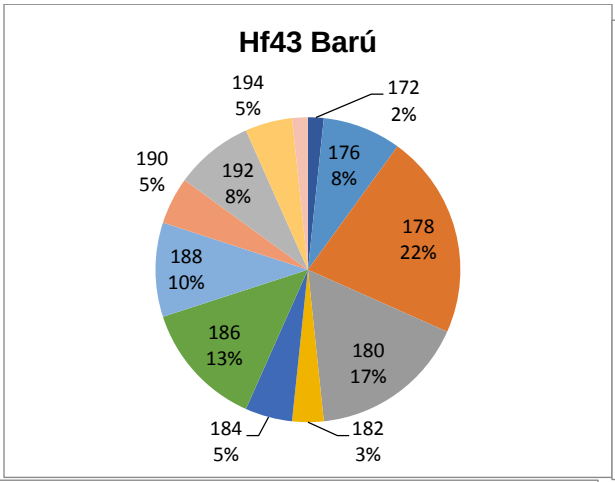


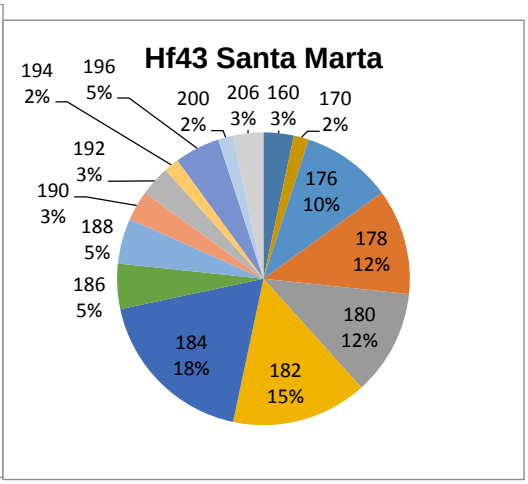


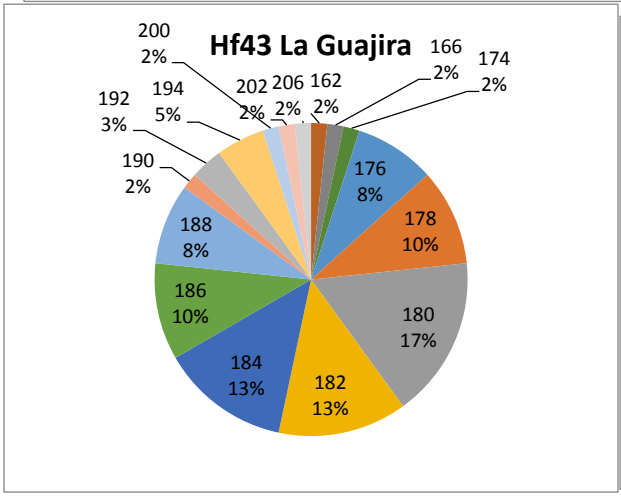


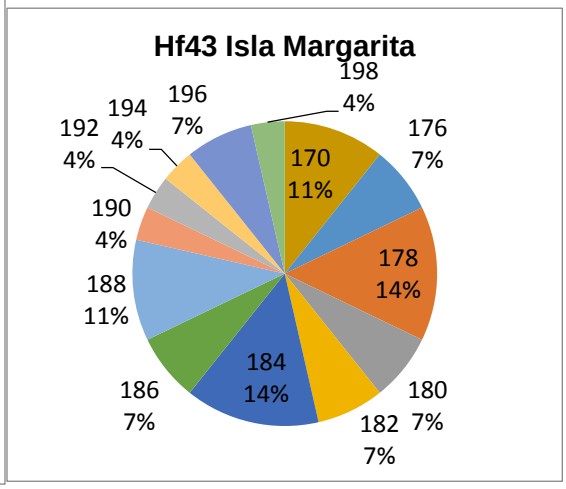
Locus Hf43


Hf43 Capurganá
194 5%
190 3%
192 10%
176 13%
188 7%
178 13%
186 13%
184 15%
180 10%
182 5%
160 162 166 170 172 174 176 178 180 182 184
186 188 190 192 194 196 198 200 202 206

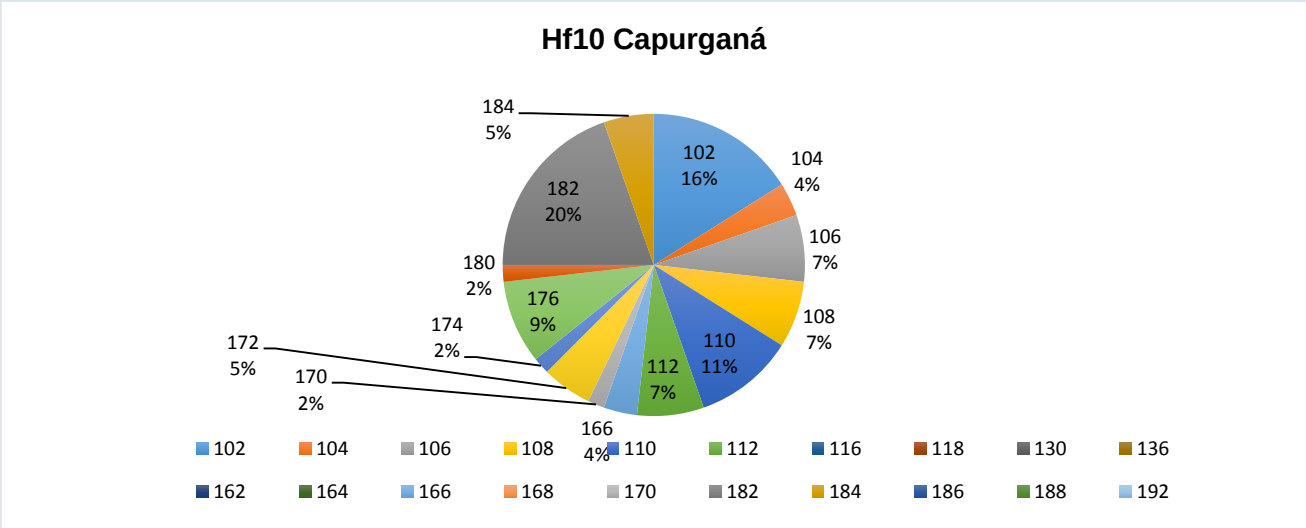

Hf43 Barú
194 5%
172 2%
176 8%
190 5%
192 8%
178 22%
188 10%
186 13%
180 17%
184 5%
182 3%

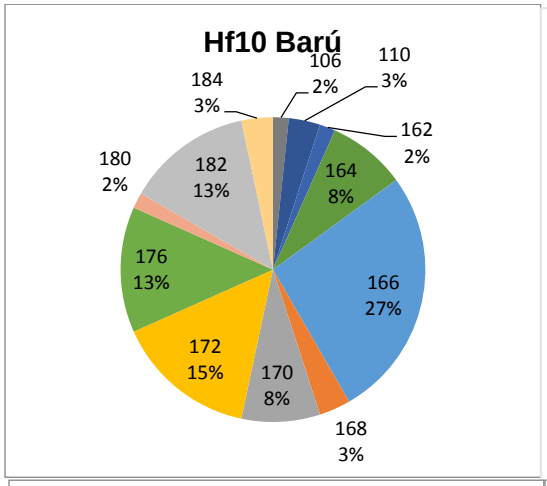

Hf43 Santa Marta
194 2%
196 5%
200 2%
206 3%
160 3%
170 2%
192 3%
176 10%
190 3%
188 5%
178 12%
186 5%
180 12%
184 18%
182 15%

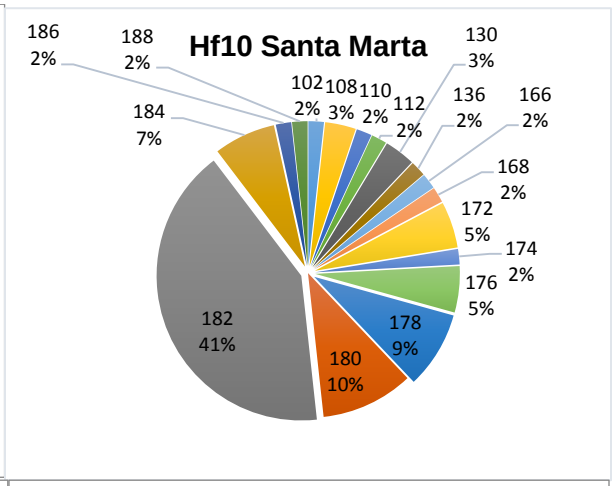

Hf43 La Guajira
200 2%
166 2%
174 2%
192 3%
194 5%
202 2%
206 2%
162 2%
176 8%
190 2%
178 10%
188 8%
186 10%
180 17%
184 13%
182 13%

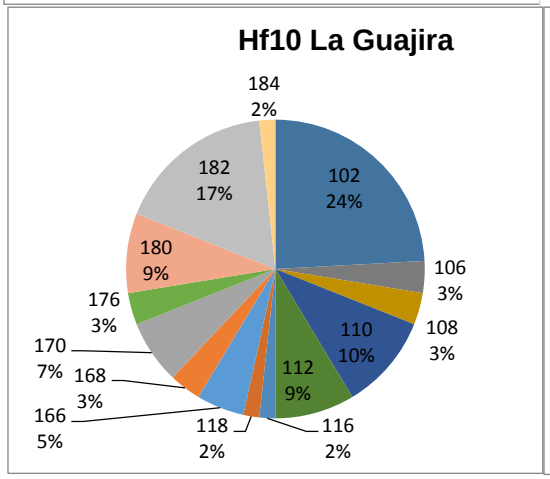

Hf43 Isla Margarita
198 4%
196 7%
194 4%
176 7%
192 4%
170 11%
190 4%
178 14%
188 11%
184 14%
186 7%
180 7%
182 7%

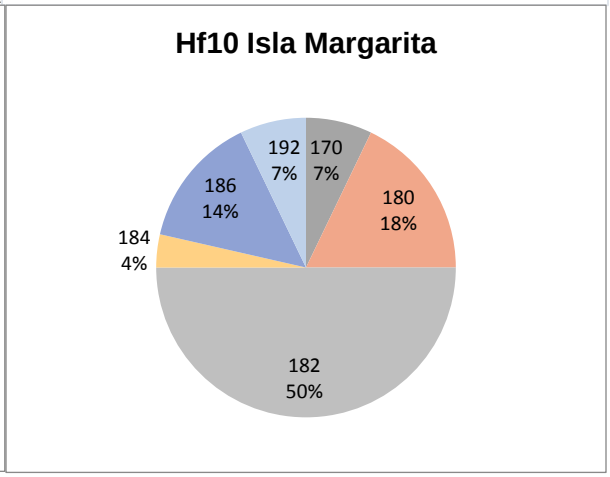
Locus Hf10


Hf10 Capurganá
184 5%
102 16%
104 4%
182 20%
106 7%
180 2%
176 9%
108 7%
174 2%
110 11%
172 5%
112 7%
170 2%
166 4%
102 104 106 108 110 112 116 118 130 136
162 164 166 168 170 182 184 186 188 192

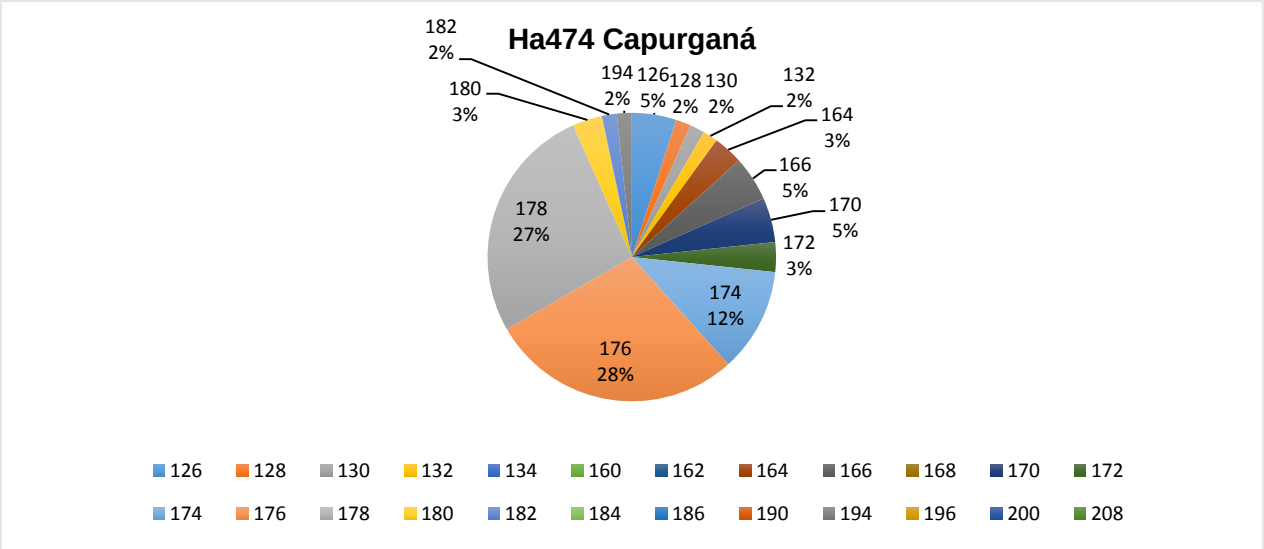

Hf10 Barú
106 2%
110 3%
184 3%
162 2%
180 2%
182 13%
164 8%
176 13%
166 27%
172 15%
170 8%
168 3%

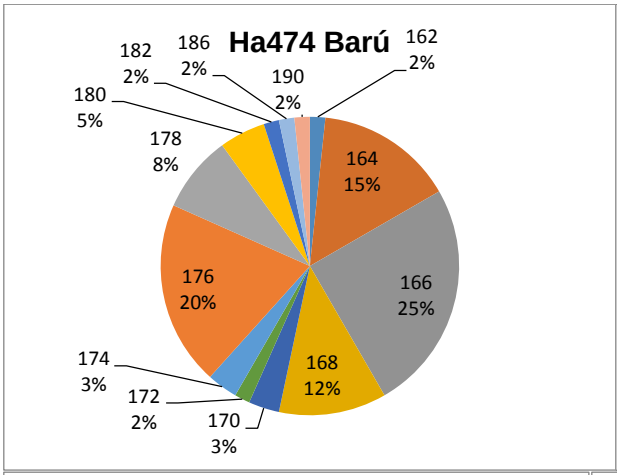

Hf10 Santa Marta
186 2%
188 2%
130 3%
102 2%
108 3%
110 2%
112 2%
184 7%
136 2%
166 2%
168 2%
172 5%
174 2%
176 5%
182 41%
178 9%
180 10%

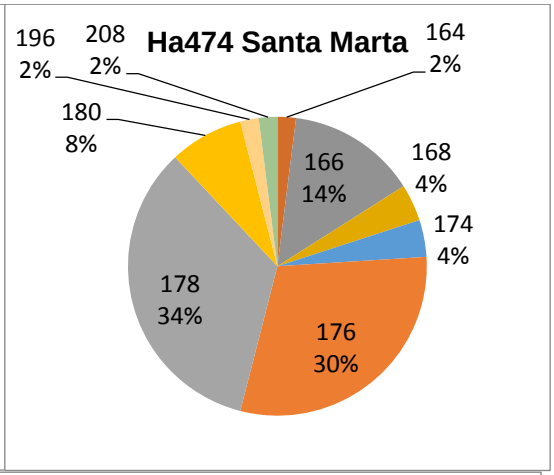

Hf10 La Guajira
184 2%
182 17%
102 24%
180 9%
106 3%
176 3%
110 10%
108 3%
170 7%
112 9%
168 3%
166 5%
118 2%
116 2%

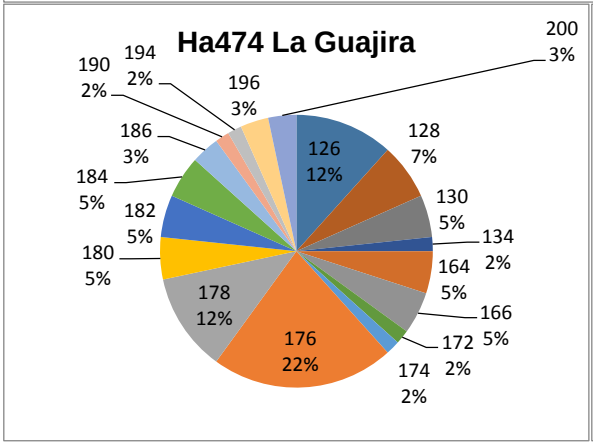

Hf10 Isla Margarita
192 7%
170 7%
186 14%
180 18%
184 4%
182 50%

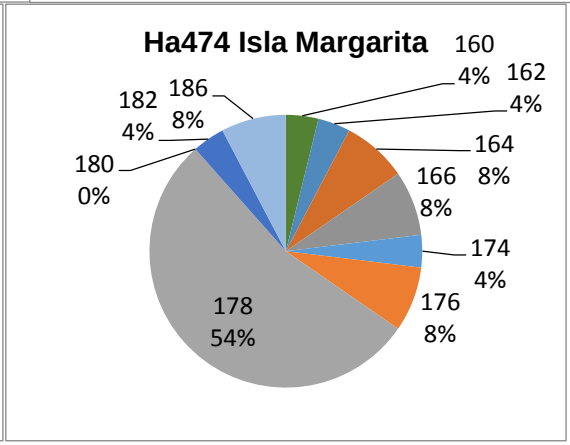
Locus Ha474


Ha474 Capurganá
182 2%
180 3%
194 2%
126 5%
128 2%
130 2%
132 2%
164 3%
166 5%
170 5%
172 3%
174 12%
176 28%
178 27%
126 128 130 132 134 160 162 164 166 168 170 172
174 176 178 180 182 184 186 190 194 196 200 208

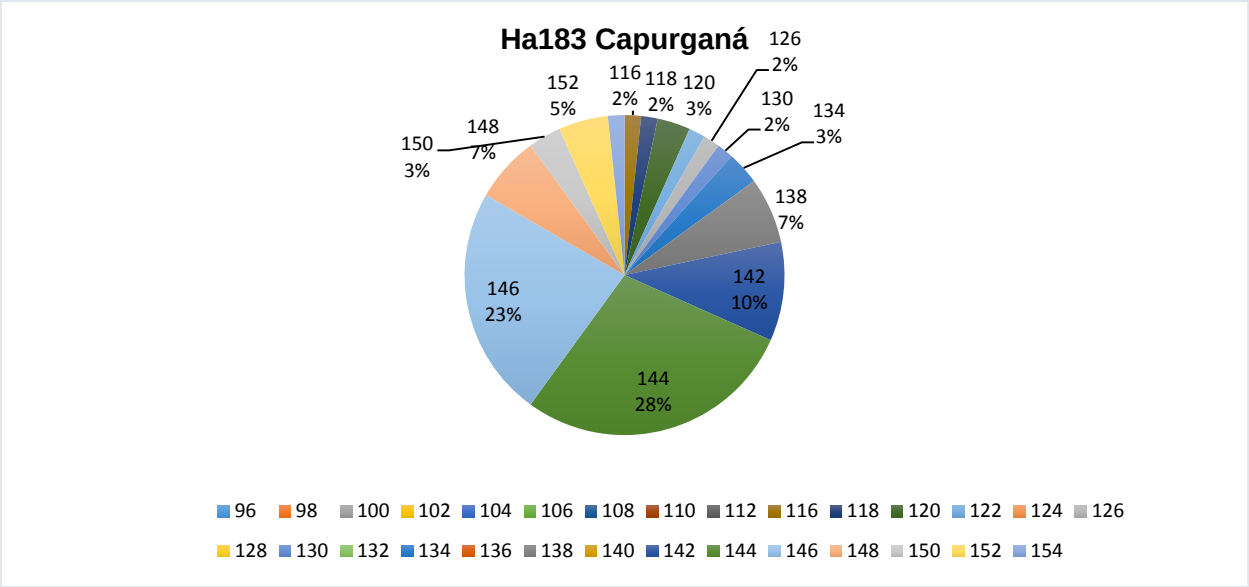

Ha474 Barú
182 2%
186 2%
190 2%
162 2%
180 5%
178 8%
164 15%
176 20%
166 25%
168 12%
174 3%
172 2%
170 3%

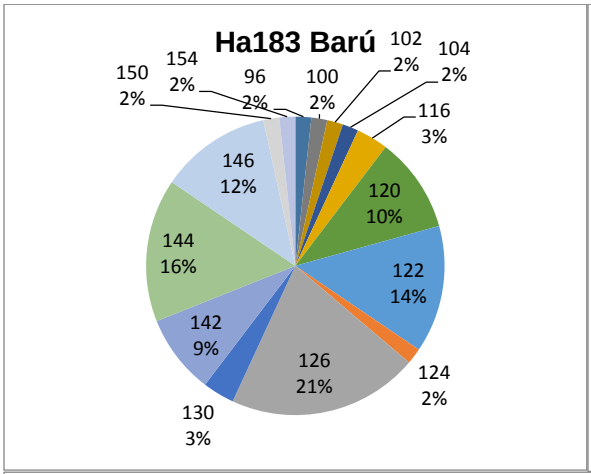

Ha474 Santa Marta
196 2%
208 2%
164 2%
180 8%
166 14%
168 4%
174 4%
178 34%
176 30%

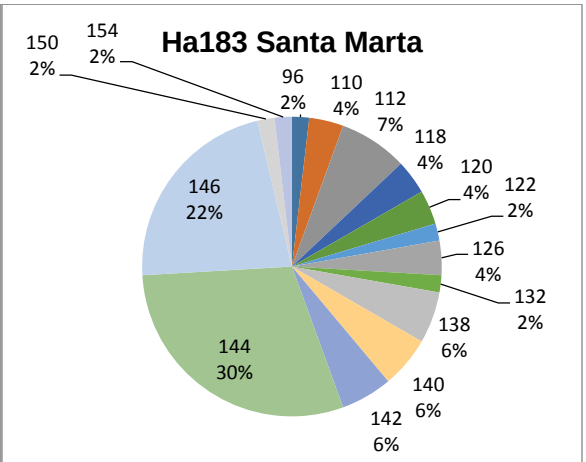

Ha474 La Guajira
190 2%
194 2%
196 3%
200 3%
186 3%
126 12%
128 7%
184 5%
130 5%
182 5%
134 2%
180 5%
164 5%
178 12%
166 5%
176 22%
172 5%
174 2%

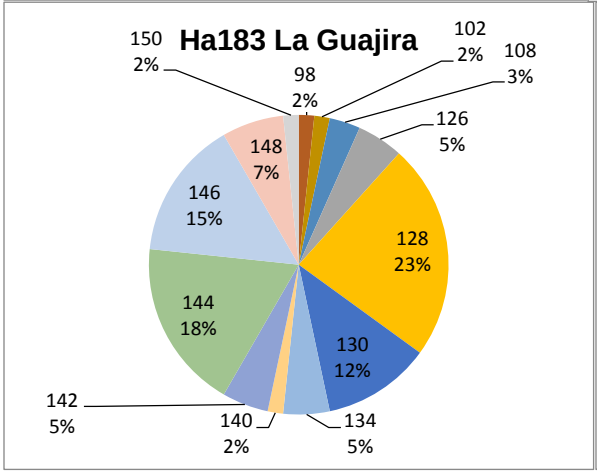

Ha474 Isla Margarita
160 4%
162 4%
182 4%
186 8%
180 0%
164 8%
166 8%
174 4%
178 54%
176 8%

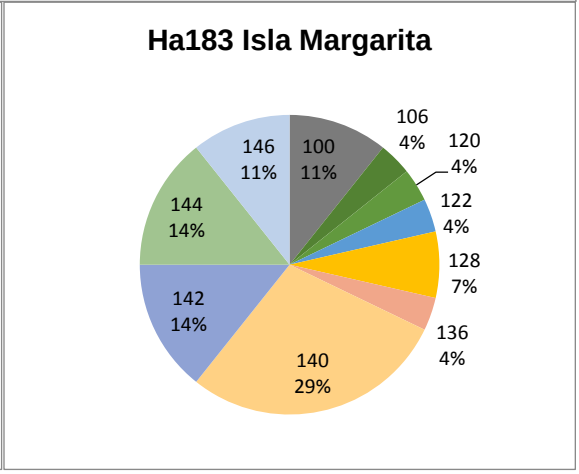
Locus Ha183


Ha183 Capurganá
126 2%
152 5%
116 2%
118 2%
120 3%
130 2%
134 3%
148 7%
150 3%
138 7%
142 10%
146 23%
144 28%
96 98 100 102 104 106 108 110 112 116 118 120 122 124 126
128 130 132 134 136 138 140 142 144 146 148 150 152 154

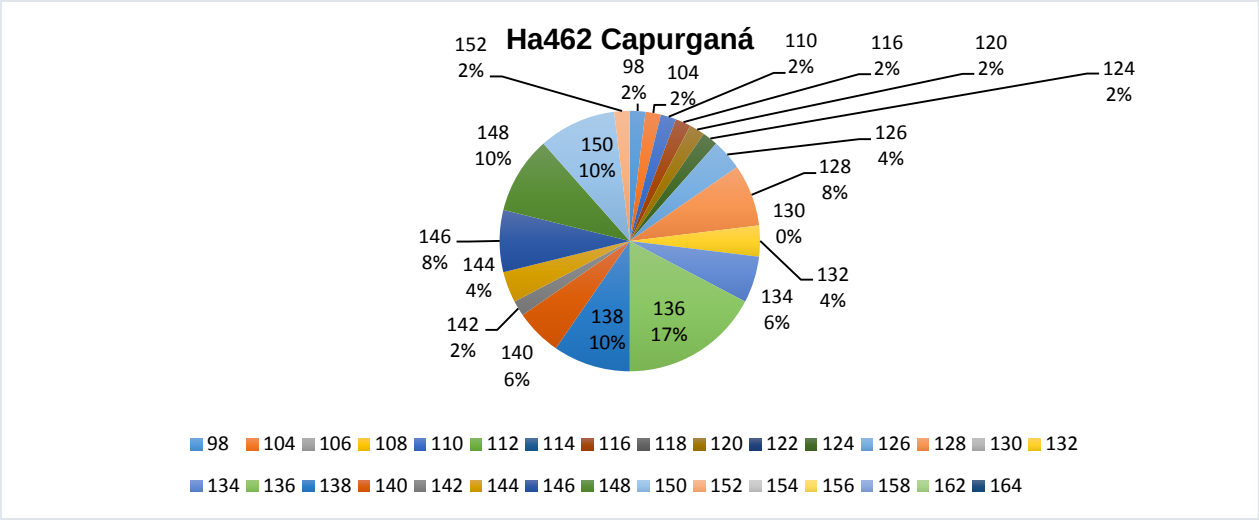

Ha183 Barú
102 2%
104 2%
150 2%
154 2%
96 2%
100 2%
116 3%
146 12%
120 10%
144 16%
122 14%
142 9%
126 21%
124 2%
130 3%

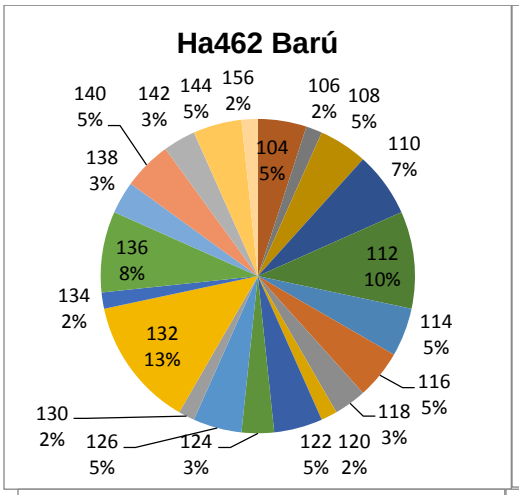

Ha183 Santa Marta
150 2%
154 2%
96 2%
110 4%
112 7%
118 4%
120 4%
122 2%
146 22%
126 4%
132 2%
138 6%
144 30%
140 6%
142 6%

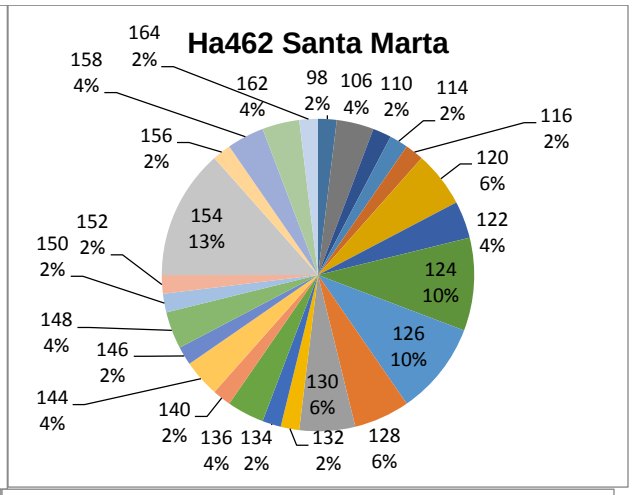

Ha183 La Guajira
150 2%
102 2%
108 3%
98 2%
126 5%
148 7%
146 15%
128 23%
144 18%
130 12%
142 5%
140 2%
134 5%

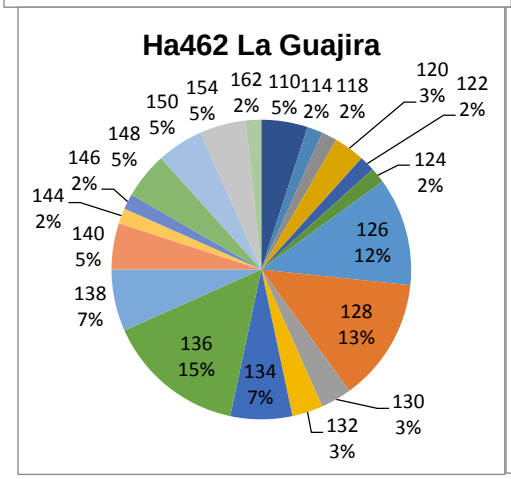

Ha183 Isla Margarita
106 4%
120 4%
146 11%
100 11%
144 14%
122 4%
128 7%
142 14%
136 4%
140 29%

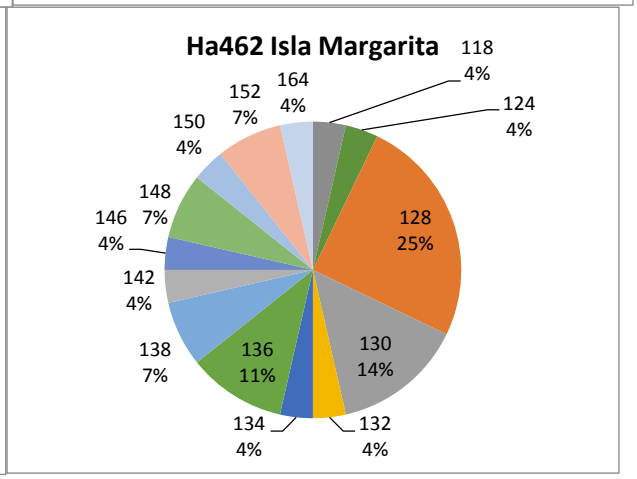
Locus Ha462


Ha462 Capurganá
152 2%
98 2%
104 2%
110 2%
116 2%
120 2%
124 2%
126 4%
128 8%
130 0%
132 4%
134 6%
136 17%
138 10%
140 6%
142 2%
144 4%
146 8%
148 10%
150 10%
98 104 106 108 110 112 114 116 118 120 122 124 126 128 130 132
134 136 138 140 142 144 146 148 150 152 154 156 158 162 164

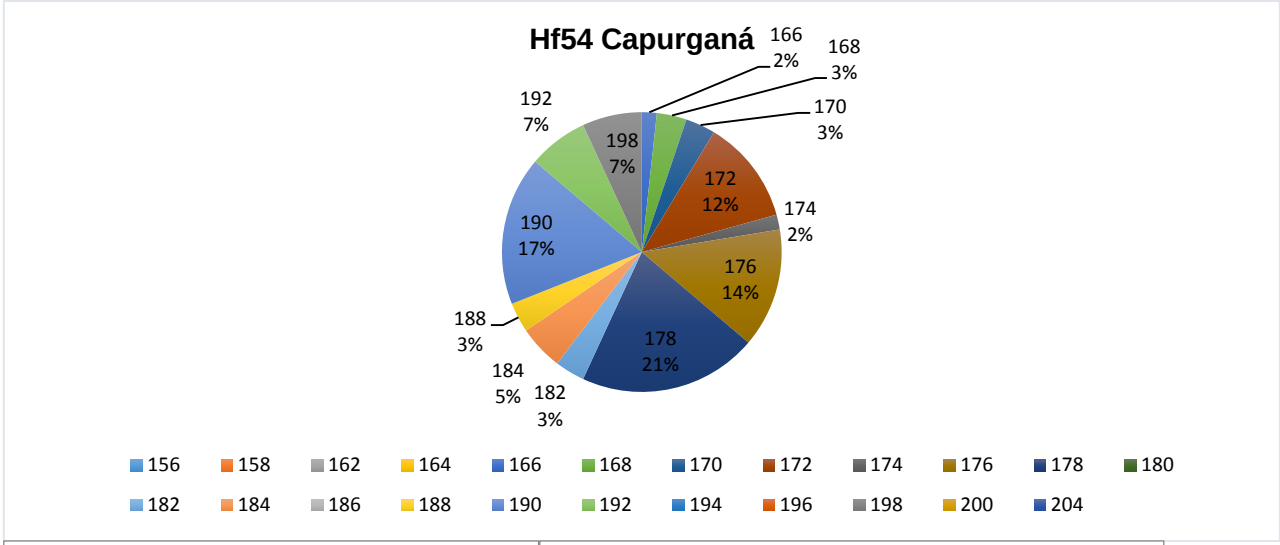

Ha462 Barú
140 5%
142 3%
144 5%
156 2%
106 2%
108 5%
110 7%
138 3%
104 5%
136 8%
112 10%
134 2%
132 13%
114 5%
116 5%
130 2%
118 3%
126 5%
124 3%
122 5%
120 2%

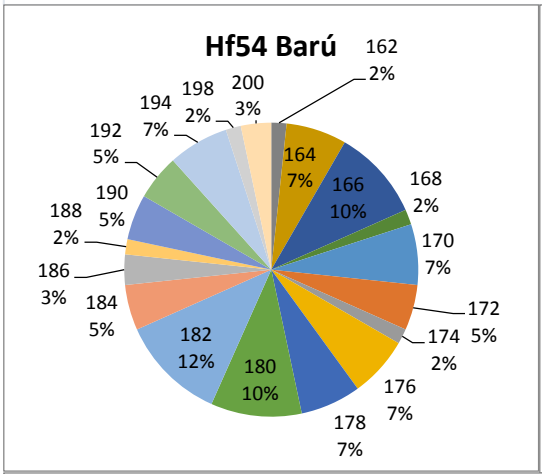

Ha462 Santa Marta
164 2%
158 4%
162 4%
98 2%
106 4%
110 2%
114 2%
116 2%
156 2%
120 6%
154 13%
122 4%
152 2%
150 2%
124 10%
148 4%
126 10%
146 2%
130 6%
144 4%
140 2%
136 4%
134 2%
132 2%
128 6%

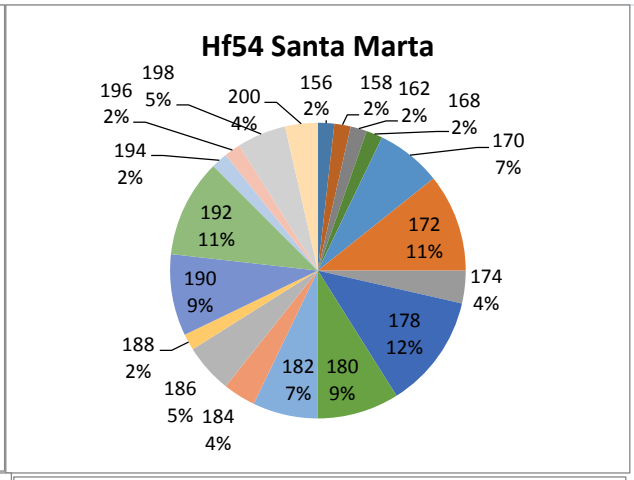

Ha462 La Guajira
150 5%
154 5%
162 2%
110 5%
114 2%
118 2%
120 3%
122 2%
148 5%
146 2%
124 2%
144 2%
126 12%
140 5%
138 7%
128 13%
136 15%
134 7%
130 3%
132 3%

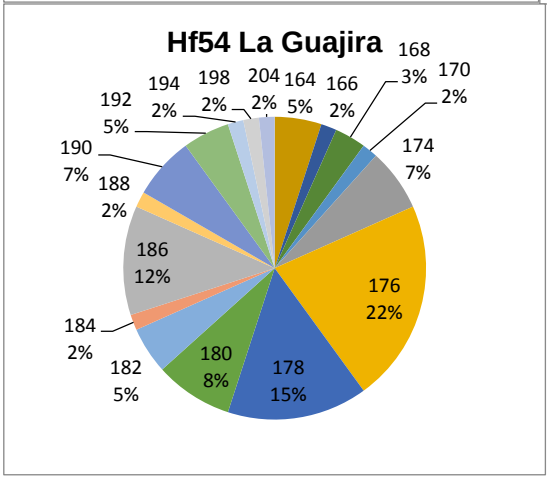

Ha462 Isla Margarita
118 4%
152 7%
164 4%
124 4%
150 4%
148 7%
128 25%
146 4%
142 4%
130 14%
138 7%
136 11%
134 4%
132 4%

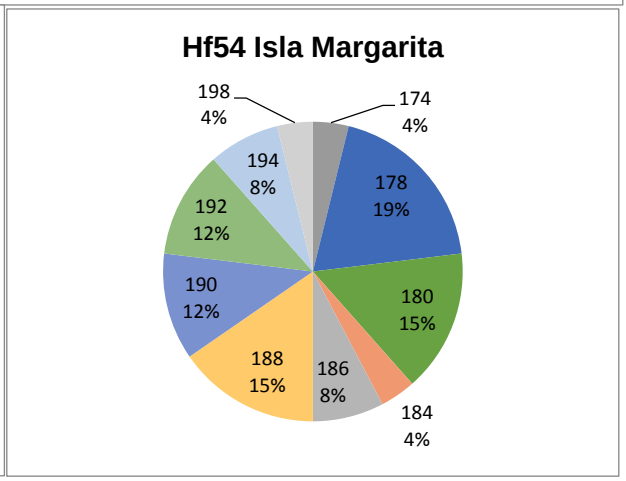
Locus Hf54


Hf54 Capurganá
166 2%
168 3%
170 3%
172 12%
174 2%
176 14%
178 21%
182 3%
184 5%
188 3%
190 17%
192 7%
198 7%
156 158 162 164 166 168 170 172 174 176 178 180
182 184 186 188 190 192 194 196 198 200 204


Hf54 Barú
162 2%
164 7%
166 10%
168 2%
170 7%
172 5%
174 2%
176 7%
178 7%
180 10%
182 12%
184 5%
186 3%
188 2%
190 5%
192 5%
194 7%
198 2%
200 3%


Hf54 Santa Marta
156 2%
158 2%
162 2%
168 2%
170 7%
172 11%
174 4%
178 12%
180 9%
182 7%
184 4%
186 5%
188 2%
190 9%
192 11%
194 2%
196 2%
198 5%
200 4%

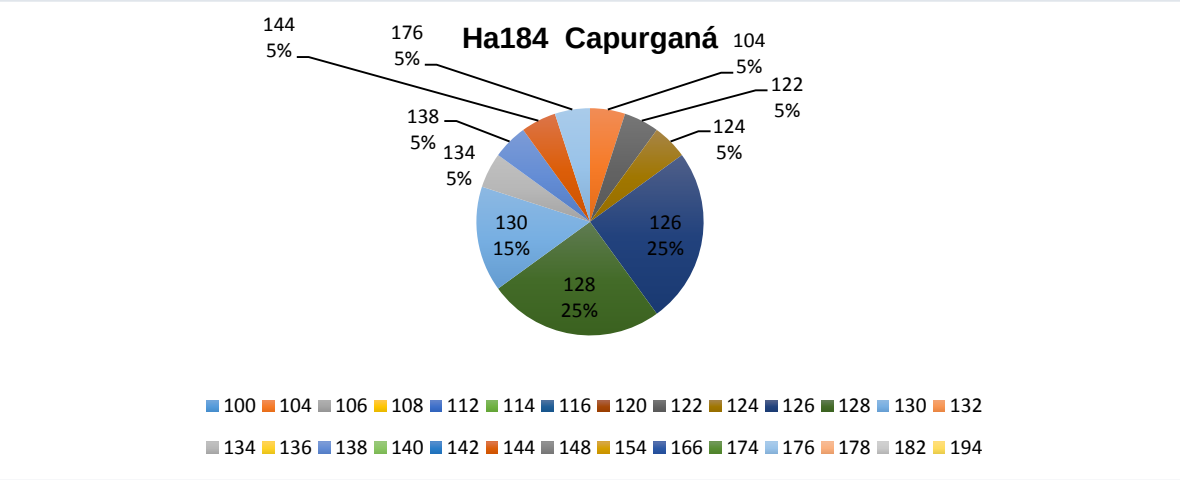

Hf54 La Guajira
164 5%
166 2%
168 3%
170 2%
174 7%
176 22%
178 15%
180 8%
182 5%
184 2%
186 12%
188 2%
190 7%
192 5%
194 2%
198 2%
204 2%

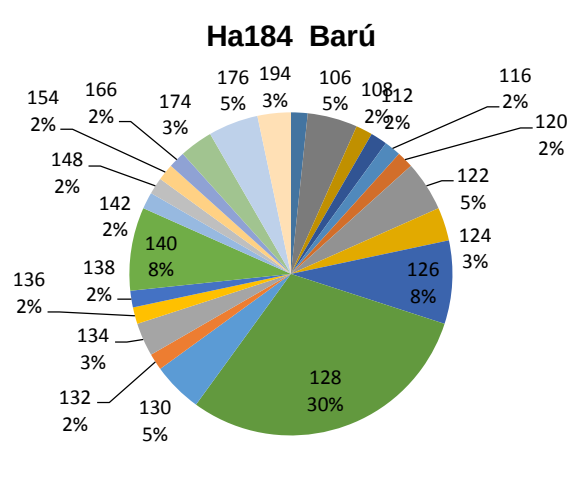

Hf54 Isla Margarita
174 4%
178 19%
180 15%
184 4%
186 8%
188 15%
190 12%
192 12%
194 8%
198 4%

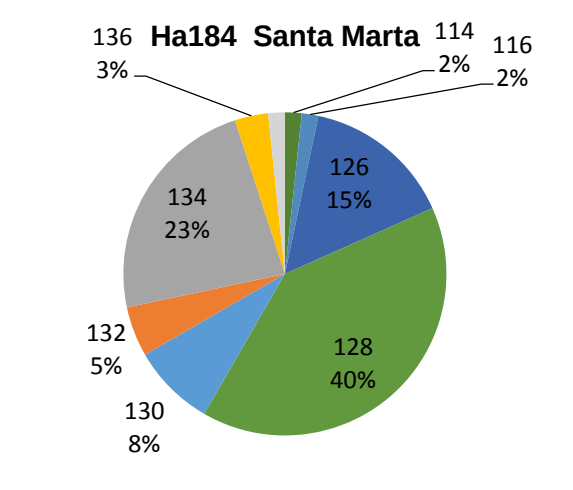
11. ANEXO B

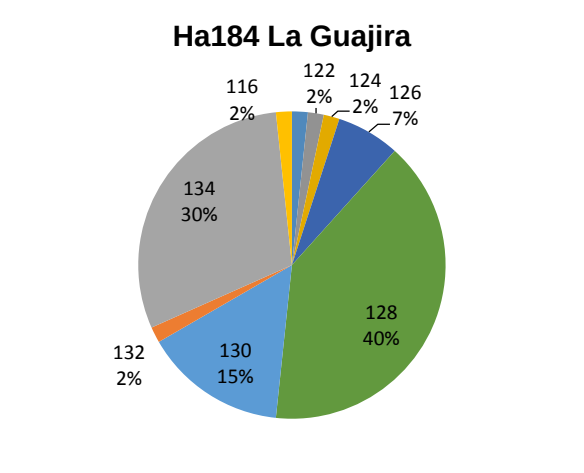
Frecuencias alélicas de *Haemulon steindachneri*

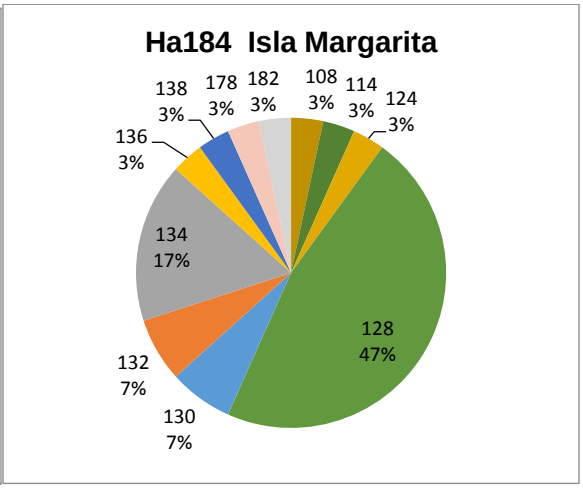
Locus Ha184



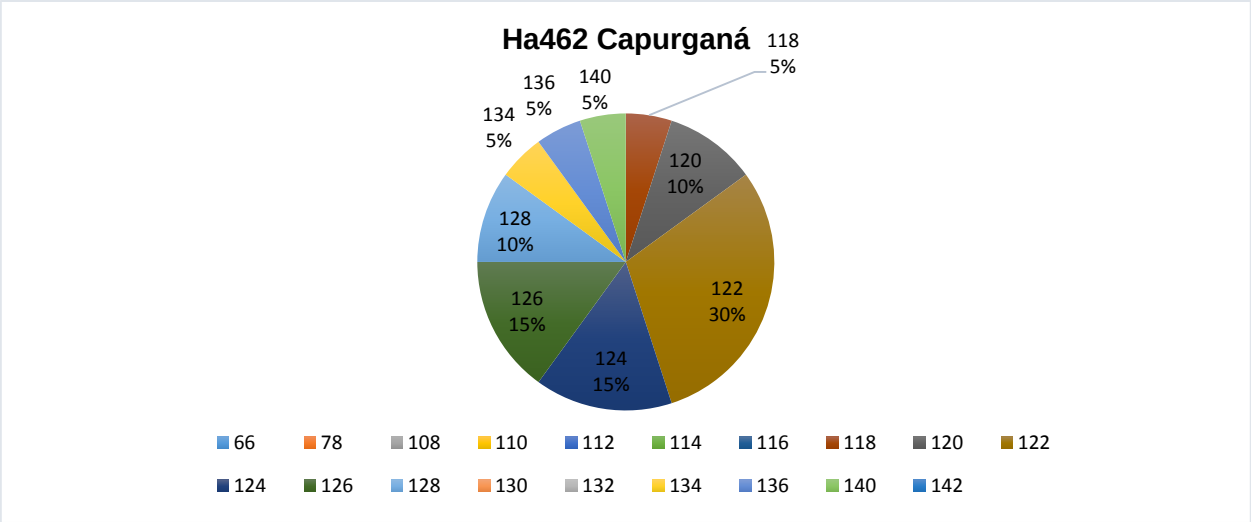


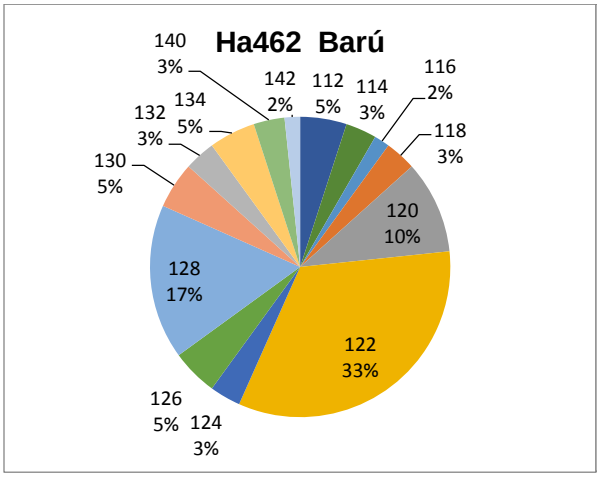


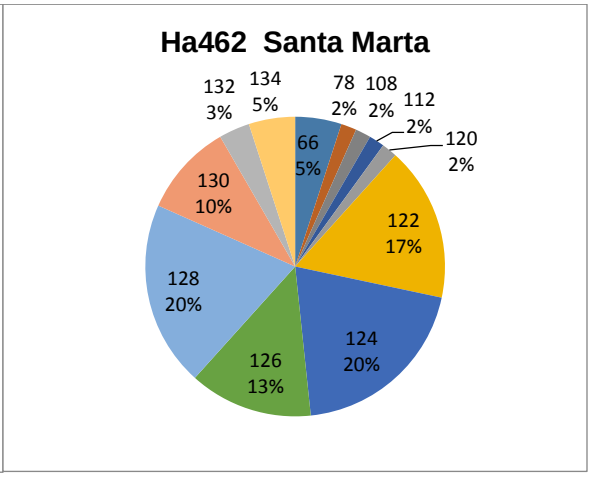


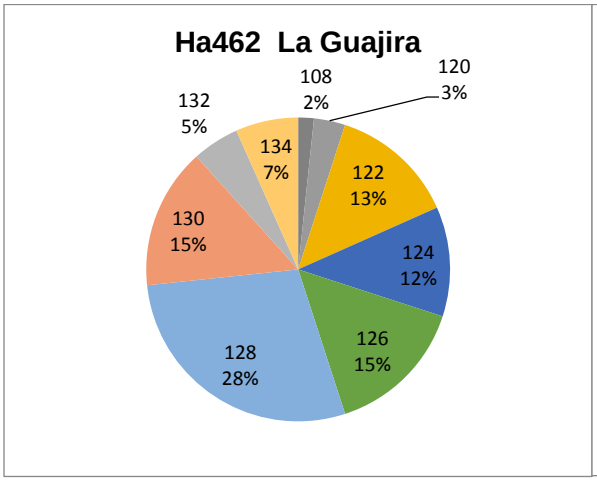


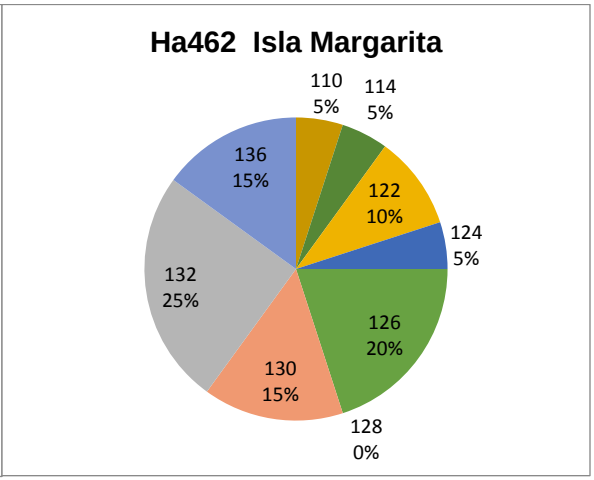
Locus Ha462


Ha462 Capurganá
118 5%
140 5%
136 5%
134 5%
120 10%
128 10%
122 30%
126 15%
124 15%
66 78 108 110 112 114 116 118 120 122
124 126 128 130 132 134 136 140 142

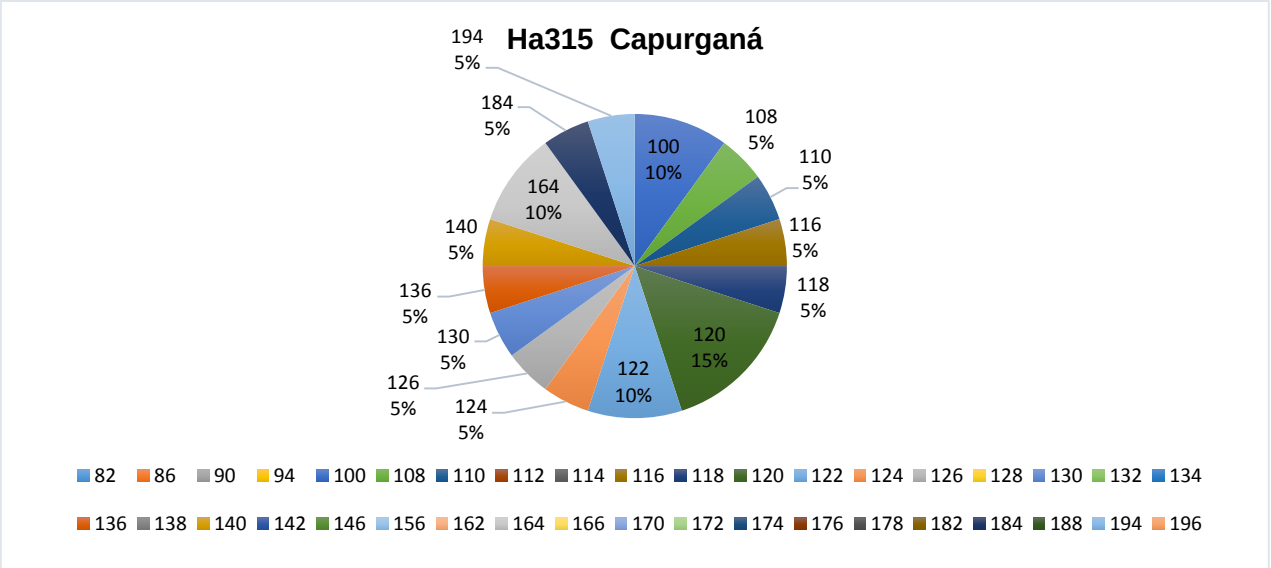

Ha462 Barú
140 3%
142 2%
112 5%
114 3%
116 2%
118 3%
132 3%
134 5%
130 5%
120 10%
128 17%
122 33%
126 5%
124 3%

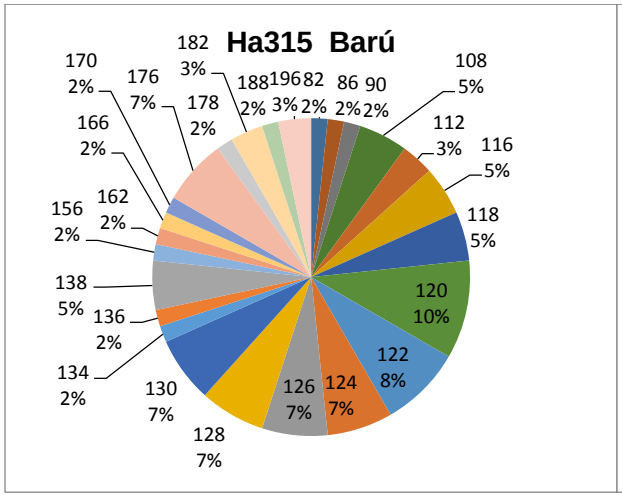

Ha462 Santa Marta
132 3%
134 5%
78 2%
108 2%
112 2%
120 2%
66 5%
130 10%
122 17%
128 20%
124 20%
126 13%

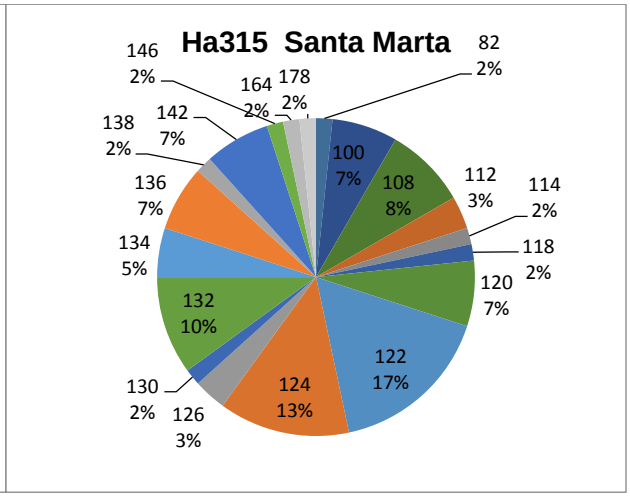

Ha462 La Guajira
108 2%
120 3%
132 5%
134 7%
122 13%
130 15%
124 12%
128 28%
126 15%

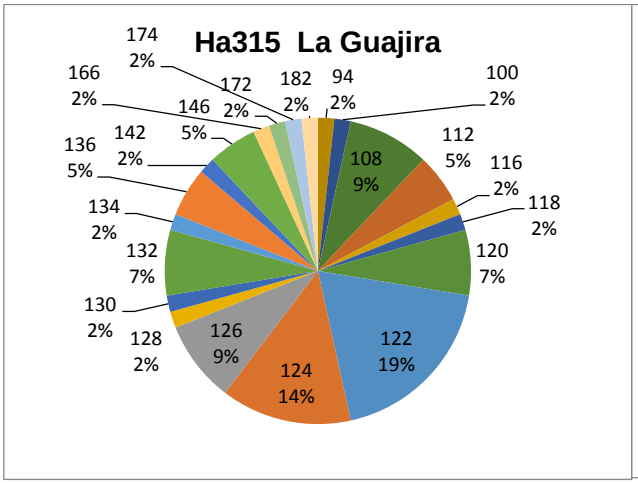

Ha462 Isla Margarita
110 5%
114 5%
136 15%
122 10%
124 5%
132 25%
126 20%
130 15%
128 0%

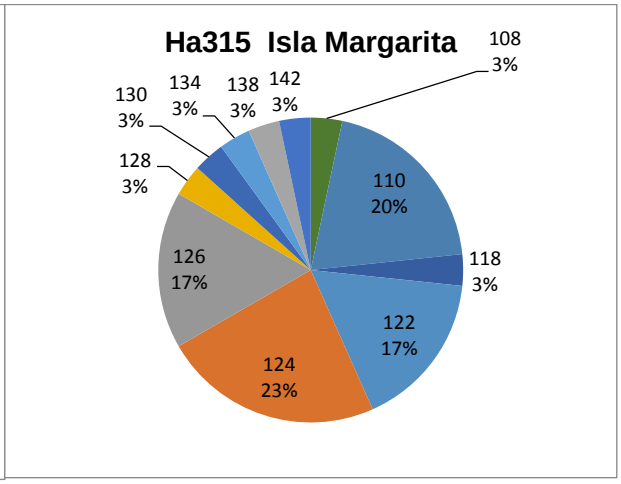
Locus Ha315


Ha315 Capurganá
194 5%
184 5%
108 5%
110 5%
100 10%
164 10%
116 5%
140 5%
118 5%
136 5%
120 15%
130 5%
122 10%
126 5%
124 5%
82 86 90 94 100 108 110 112 114 116 118 120 122 124 126 128 130 132 134
136 138 140 142 146 156 162 164 166 170 172 174 176 178 182 184 188 194 196

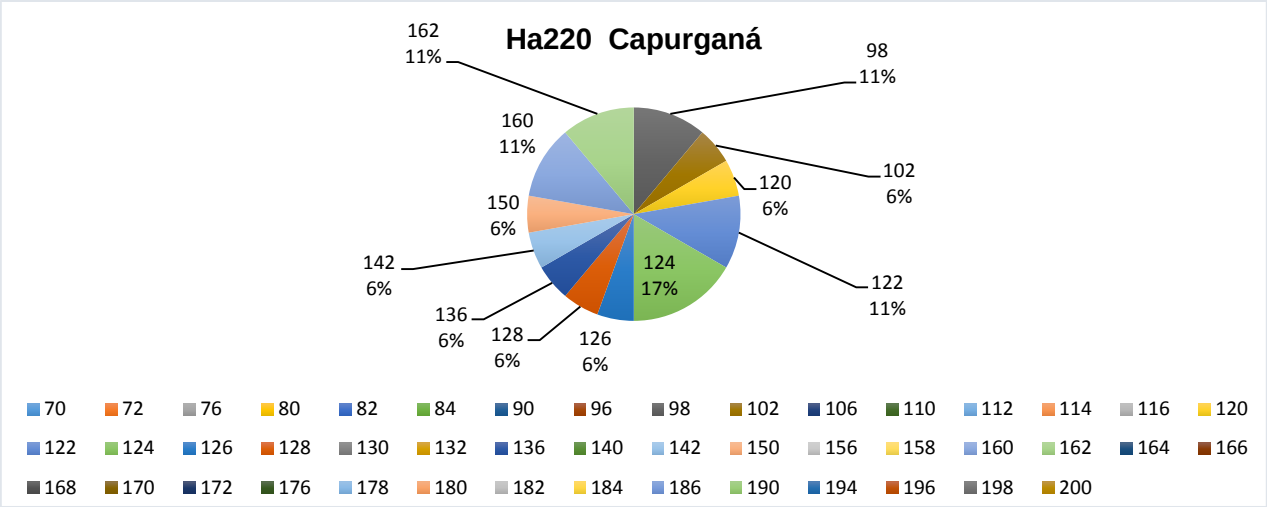

Ha315 Barú
182 3%
170 2%
176 7%
188 2%
196 3%
82 2%
86 2%
90 2%
178 2%
108 5%
166 2%
112 3%
116 5%
156 2%
162 2%
118 5%
120 10%
138 5%
136 2%
122 8%
134 2%
130 7%
126 7%
124 7%
128 7%

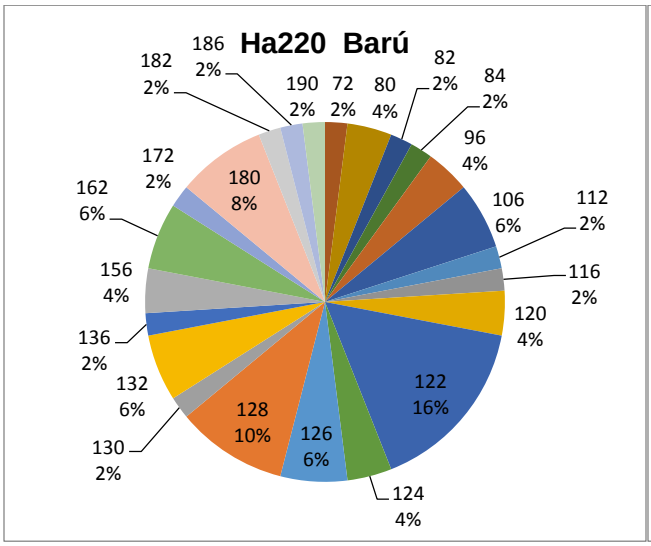

Ha315 Santa Marta
146 2%
82 2%
164 2%
178 2%
142 7%
138 2%
100 7%
108 8%
112 3%
114 2%
136 7%
134 5%
118 2%
120 7%
132 10%
122 17%
130 2%
124 13%
126 3%

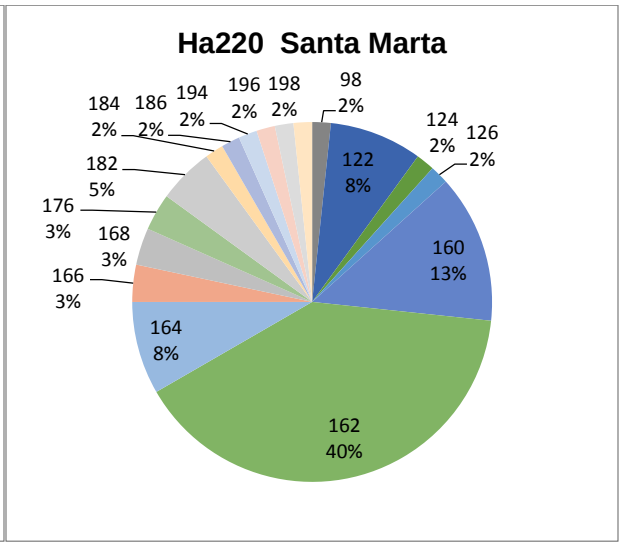

Ha315 La Guajira
174 2%
166 2%
172 2%
182 2%
94 2%
100 2%
146 5%
112 5%
136 5%
142 2%
108 9%
116 2%
134 2%
118 2%
132 7%
120 7%
130 2%
126 9%
128 2%
122 19%
124 14%

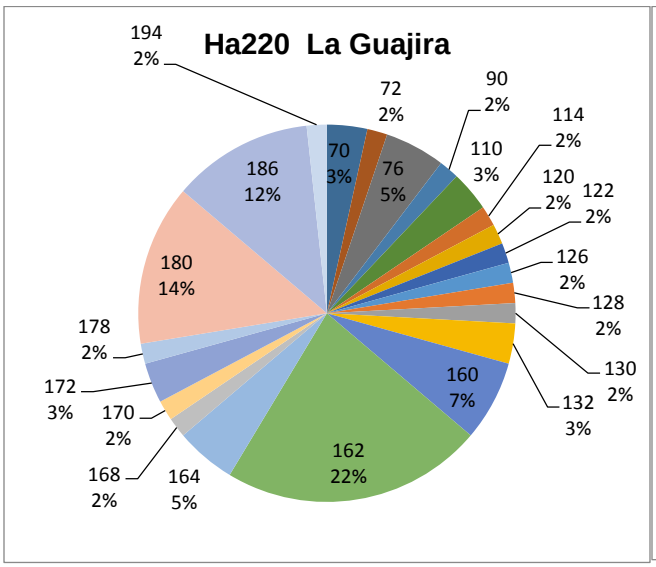

Ha315 Isla Margarita
108 3%
130 3%
134 3%
138 3%
142 3%
128 3%
110 20%
118 3%
126 17%
122 17%
124 23%

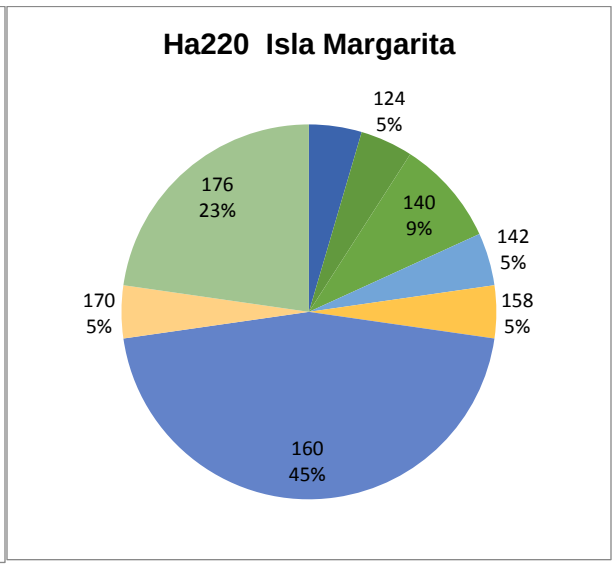
Locus Ha220


Ha220 Capurganá
162 11%
98 11%
160 11%
102 6%
120 6%
150 6%
142 6%
124 17%
122 11%
136 6%
128 6%
126 6%
70 72 76 80 82 84 90 96 98 102 106 110 112 114 116 120
122 124 126 128 130 132 136 140 142 150 156 158 160 162 164 166
168 170 172 176 178 180 182 184 186 190 194 196 198 200

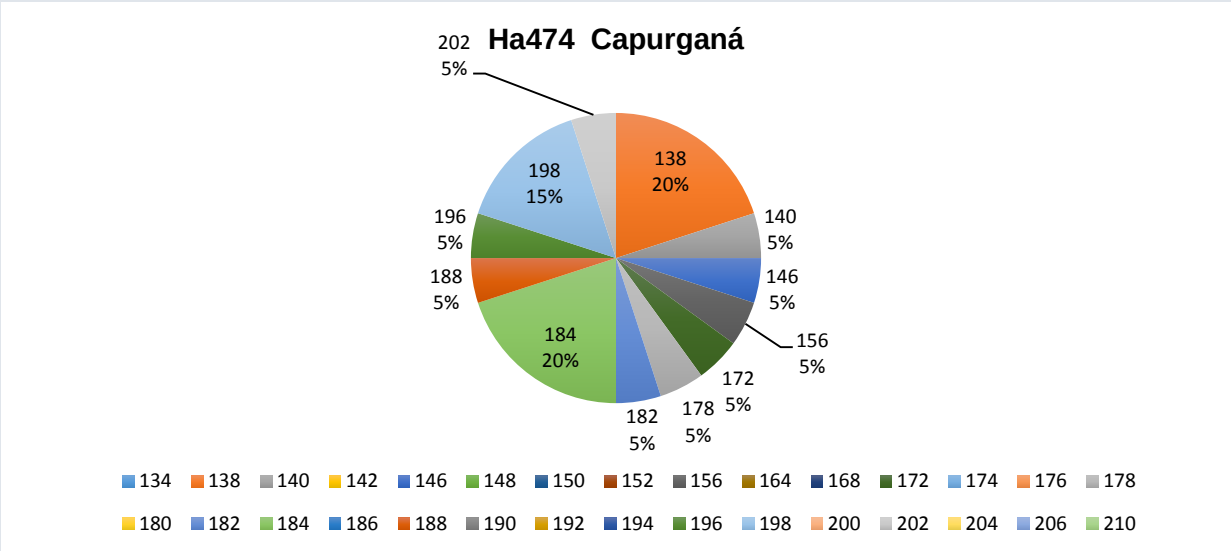

Ha220 Barú
186 2%
182 2%
190 2% 72 2% 80 4%
82 2%
84 2%
96 4%
106 6%
112 2%
116 2%
120 4%
122 16%
124 4%
126 6%
128 10%
130 2%
132 6%
136 2%
156 4%
162 6%
172 2%
180 8%

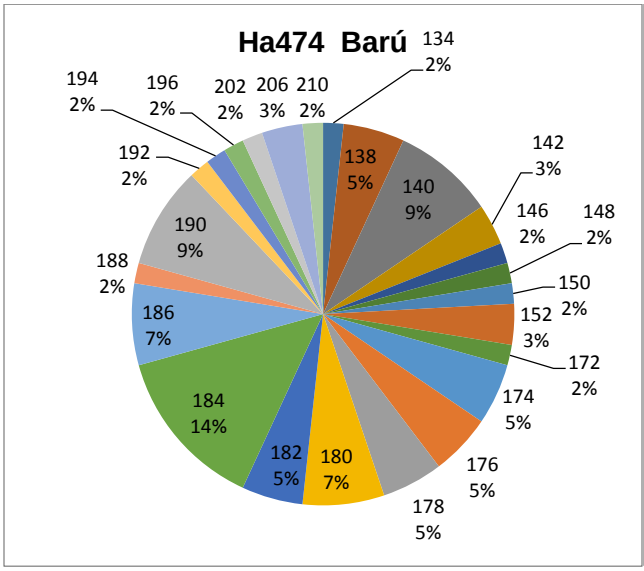

Ha220 Santa Marta
184 2%
186 2%
194 2%
196 2%
198 2%
98 2%
124 2%
126 2%
182 5%
176 3%
168 3%
166 3%
122 8%
160 13%
164 8%
162 40%

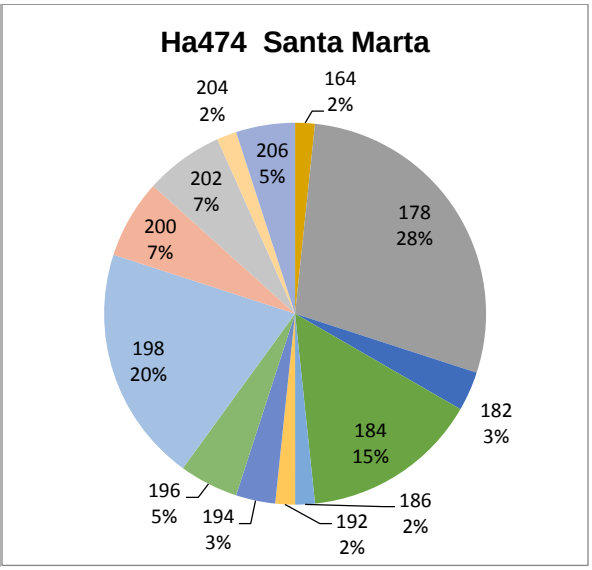

Ha220 La Guajira
194 2%
72 2%
90 2%
114 2%
110 3%
120 2%
122 2%
126 2%
128 2%
130 2%
132 3%
160 7%
162 22%
164 5%
168 2%
170 2%
172 3%
178 2%
180 14%
186 12%
70 3%
76 5%

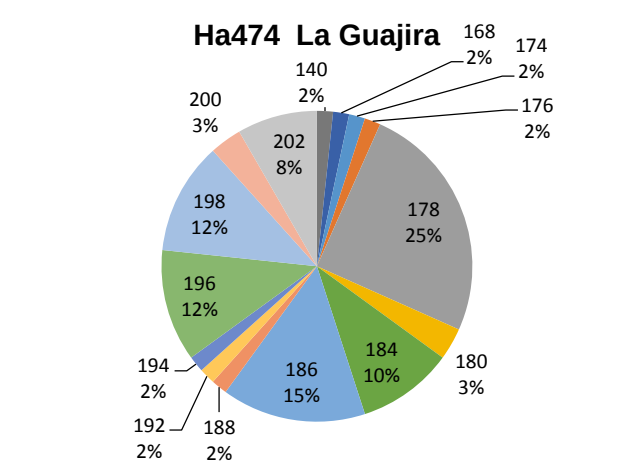

Ha220 Isla Margarita
124 5%
140 9%
142 5%
158 5%
160 45%
170 5%
176 23%

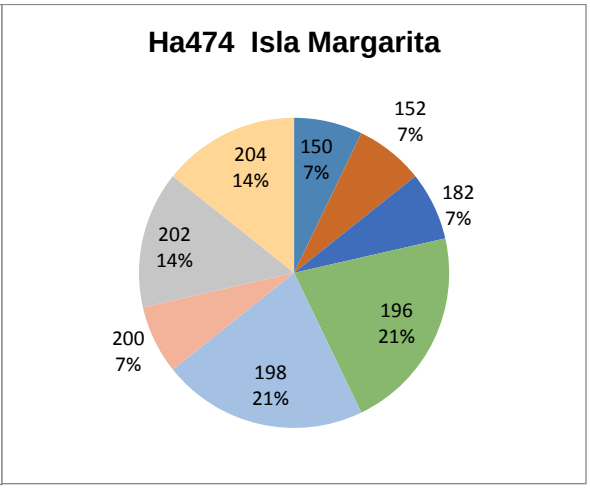
Locus Ha474


Ha474 Capurganá
202 5%
138 20%
140 5%
146 5%
156 5%
172 5%
178 5%
182 5%
184 20%
188 5%
196 5%
198 15%
134 138 140 142 146 148 150 152 156 164 168 172 174 176 178
180 182 184 186 188 190 192 194 196 198 200 202 204 206 210

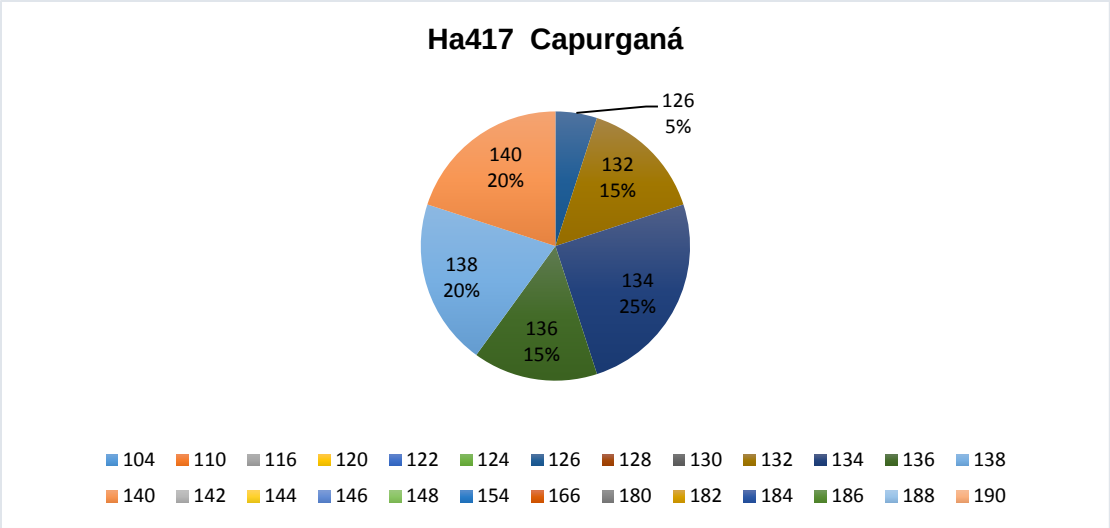

Ha474 Barú
134 2%
138 5%
140 9%
142 3%
146 2%
148 2%
150 2%
152 3%
172 2%
174 5%
176 5%
178 5%
180 7%
182 5%
184 14%
186 7%
188 2%
190 9%
192 2%
194 2%
196 2%
202 2%
206 3%
210 2%

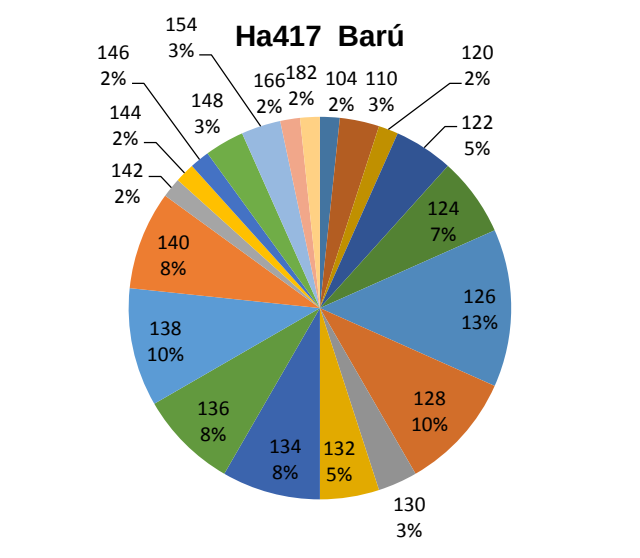

Ha474 Santa Marta
164 2%
178 28%
182 3%
184 15%
186 2%
192 2%
194 3%
196 5%
198 20%
200 7%
202 7%
204 2%
206 5%

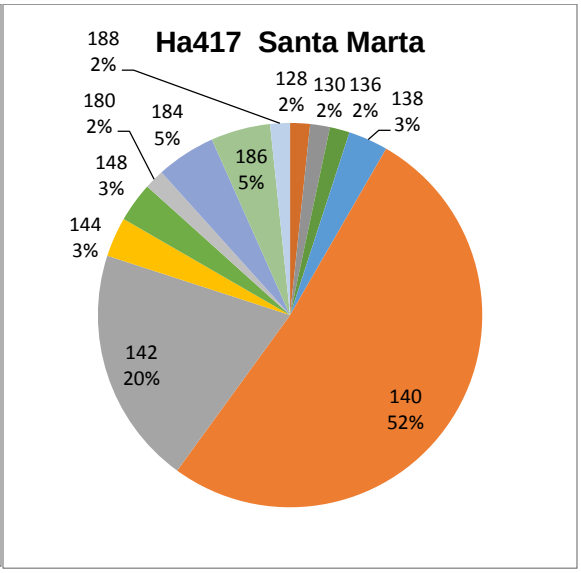

Ha474 La Guajira
140 2%
168 2%
174 2%
176 2%
178 25%
180 3%
184 10%
186 15%
188 2%
192 2%
194 2%
196 12%
198 12%
200 3%
202 8%

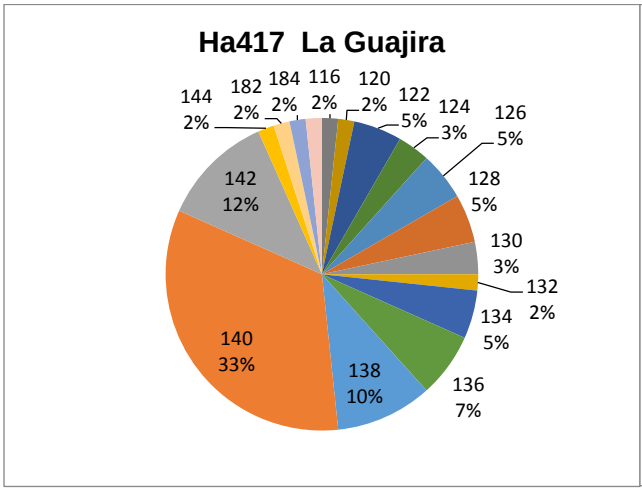

Ha474 Isla Margarita
150 7%
152 7%
182 7%
196 21%
198 21%
200 7%
202 14%
204 14%

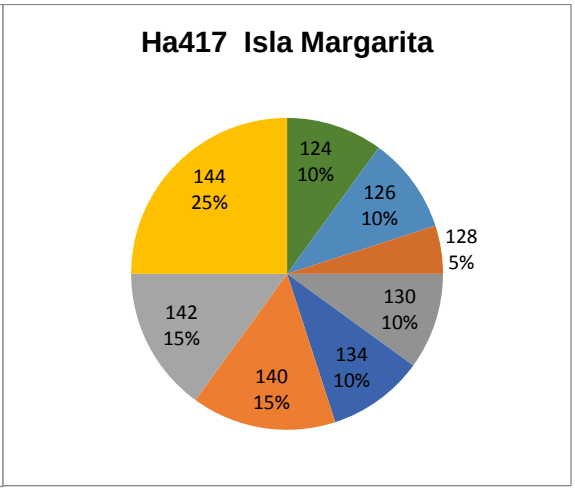
Locus Ha417


Ha417 Capurganá
126 5%
132 15%
134 25%
136 15%
138 20%
140 20%
104 110 116 120 122 124 126 128 130 132 134 136 138
140 142 144 146 148 154 166 180 182 184 186 188 190

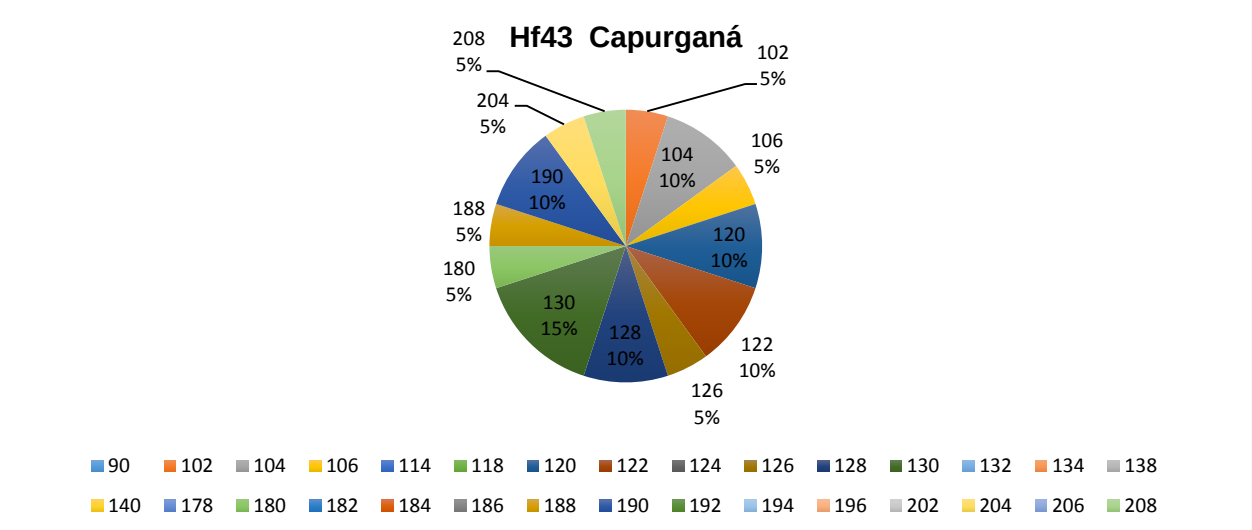

Ha417 Barú
154 3%
146 2%
166 2%
182 2%
104 2%
110 3%
120 2%
148 3%
144 2%
122 5%
142 2%
124 7%
140 8%
126 13%
138 10%
128 10%
136 8%
134 8%
132 5%
130 3%

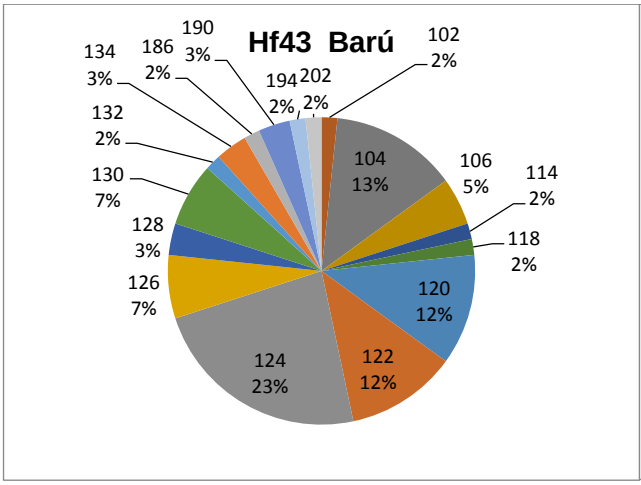

Ha417 Santa Marta
188 2%
128 2%
130 2%
136 2%
138 3%
180 2%
184 5%
186 5%
148 3%
144 3%
142 20%
140 52%

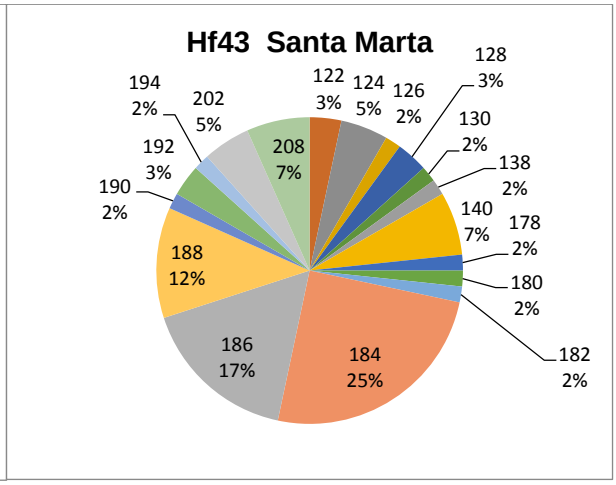

Ha417 La Guajira
144 2%
182 2%
184 2%
116 2%
120 2%
122 5%
124 3%
126 5%
128 5%
142 12%
130 3%
132 2%
134 5%
140 33%
138 10%
136 7%

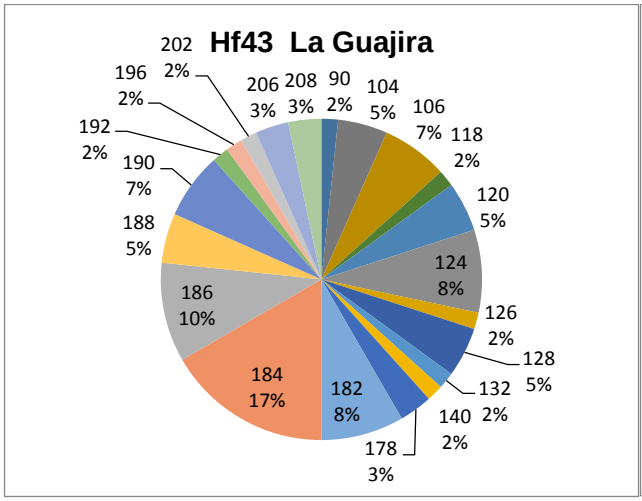

Ha417 Isla Margarita
124 10%
144 25%
126 10%
128 5%
130 10%
142 15%
134 10%
140 15%

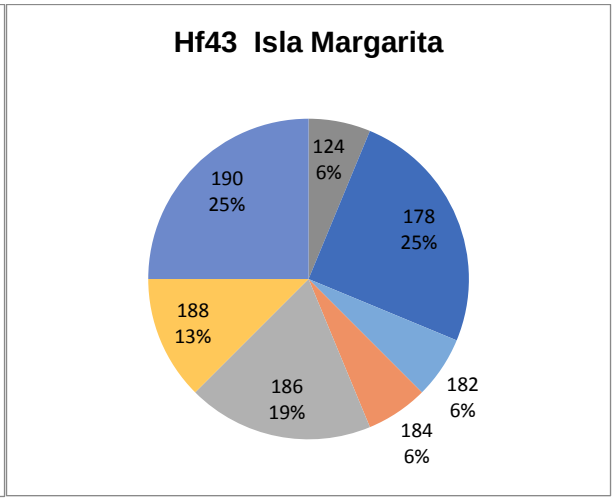
Locus Hf43


Hf43 Capurganá
208 5%
102 5%
204 5%
106 5%
104 10%
190 10%
120 10%
188 5%
180 5%
130 15%
128 10%
122 10%
126 5%
90 102 104 106 114 118 120 122 124 126 128 130 132 134 138
140 178 180 182 184 186 188 190 192 194 196 202 204 206 208

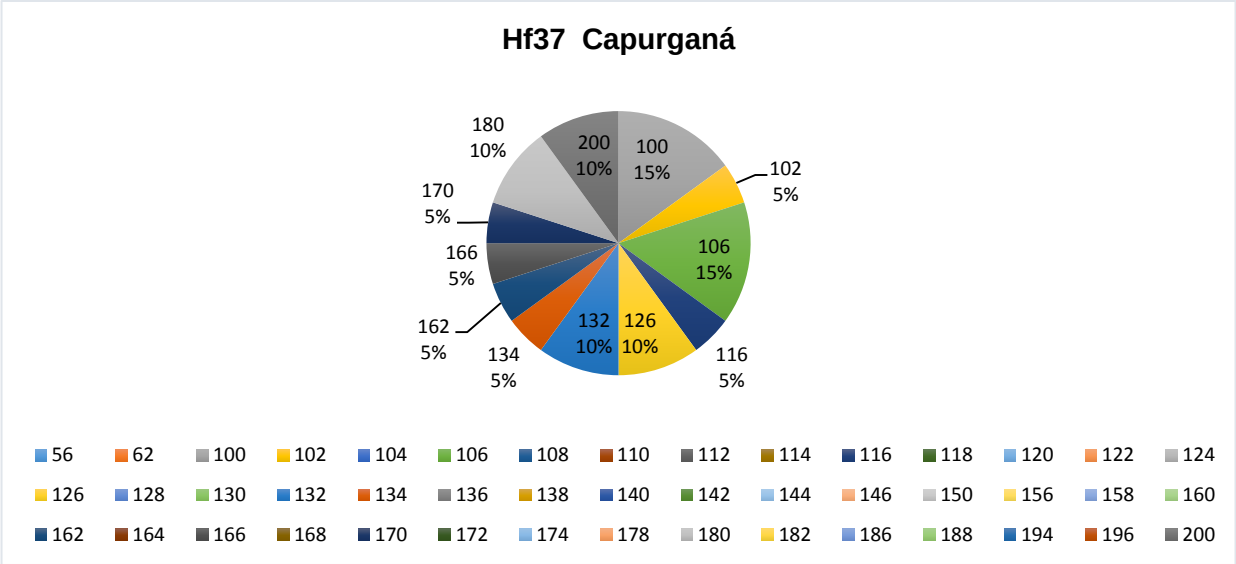

Hf43 Barú
190 3%
134 3%
186 2%
102 2%
194 2%
202 2%
132 2%
130 7%
104 13%
106 5%
114 2%
128 3%
118 2%
126 7%
120 12%
124 23%
122 12%

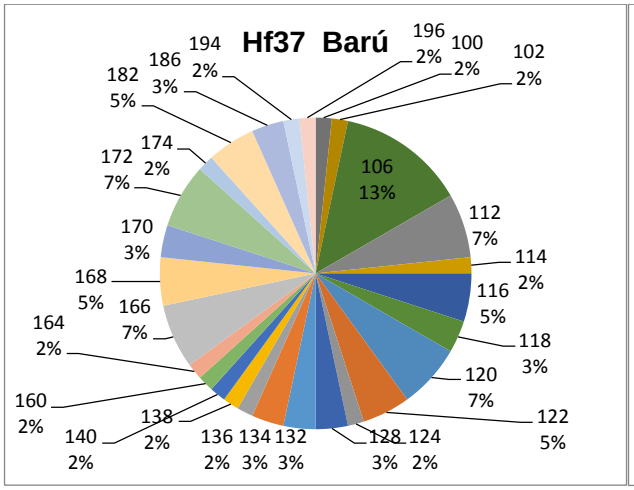

Hf43 Santa Marta
128 3%
122 3%
124 5%
126 2%
194 2%
202 5%
130 2%
192 3%
208 7%
138 2%
190 2%
140 7%
178 2%
188 12%
180 2%
186 17%
184 25%
182 2%

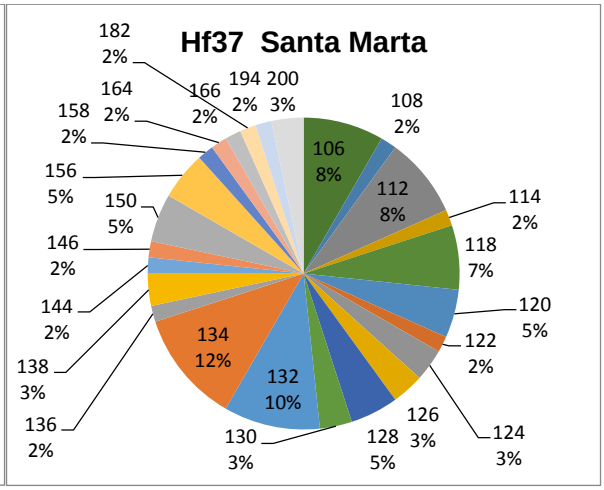

Hf43 La Guajira
202 2%
196 2%
206 3%
208 3%
90 2%
104 5%
106 7%
192 2%
118 2%
190 7%
120 5%
188 5%
124 8%
186 10%
126 2%
128 5%
184 17%
182 8%
132 2%
140 2%
178 3%

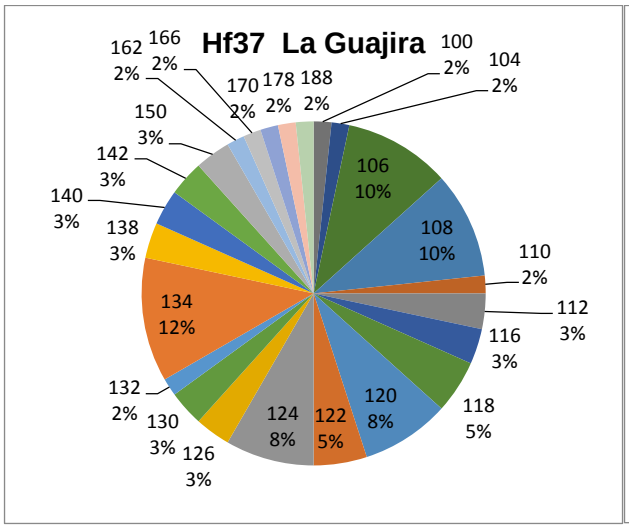

Hf43 Isla Margarita
124 6%
190 25%
178 25%
188 13%
182 6%
186 19%
184 6%

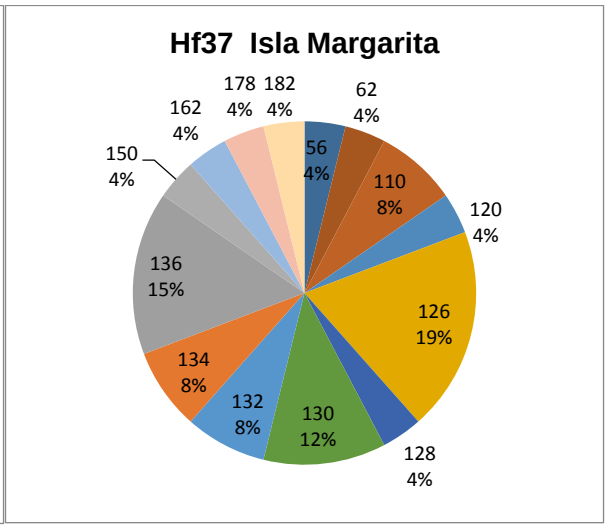
Locus Hf37


Hf37 Capurganá
100 15%
102 5%
106 15%
116 5%
126 10%
132 10%
134 5%
162 5%
166 5%
170 5%
180 10%
200 10%
56 62 100 102 104 106 108 110 112 114 116 118 120 122 124
126 128 130 132 134 136 138 140 142 144 146 150 156 158 160
162 164 166 168 170 172 174 178 180 182 186 188 194 196 200

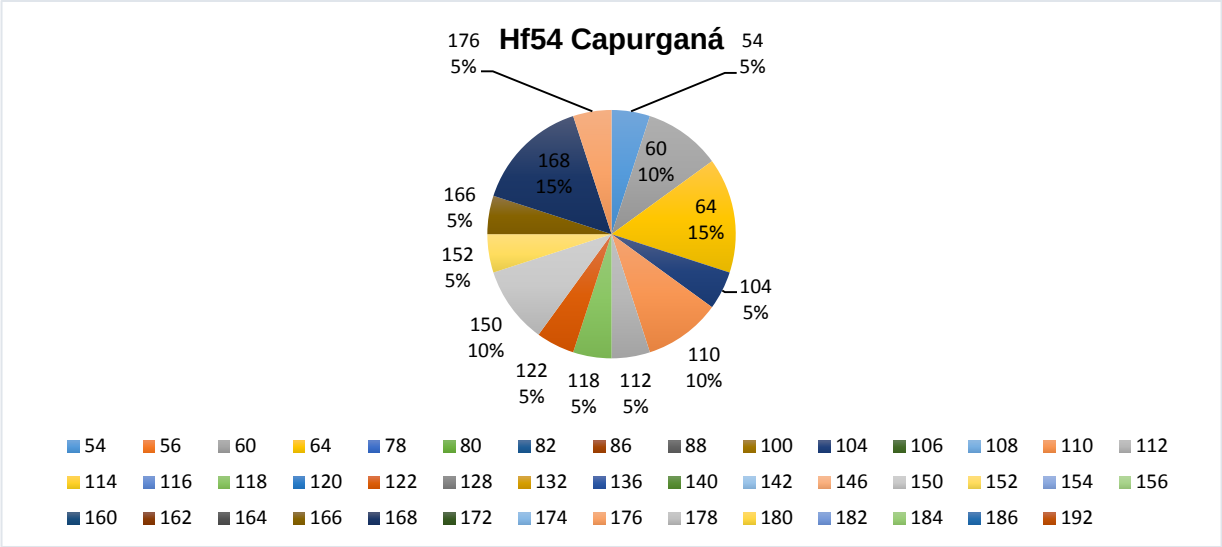

Hf37 Barú
106 13%
112 7%
114 2%
116 5%
118 3%
120 7%
122 5%
124 2%
128 3%
132 3%
134 3%
136 2%
138 2%
140 2%
160 2%
164 2%
166 7%
168 5%
170 3%
172 7%
174 2%
182 5%
186 3%
194 2%
196 2%
100 2%
102 2%

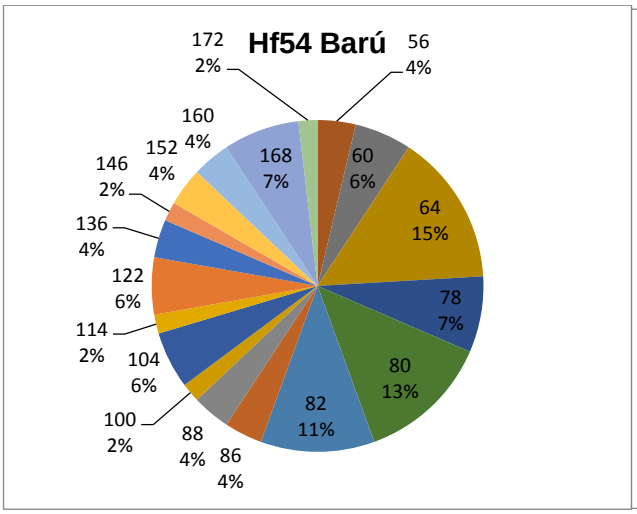

Hf37 Santa Marta
106 8%
108 2%
112 8%
114 2%
118 7%
120 5%
122 2%
124 3%
126 3%
128 5%
130 3%
132 10%
134 12%
136 2%
138 3%
144 2%
146 2%
150 5%
156 5%
158 2%
164 2%
166 2%
182 2%
194 2%
200 3%

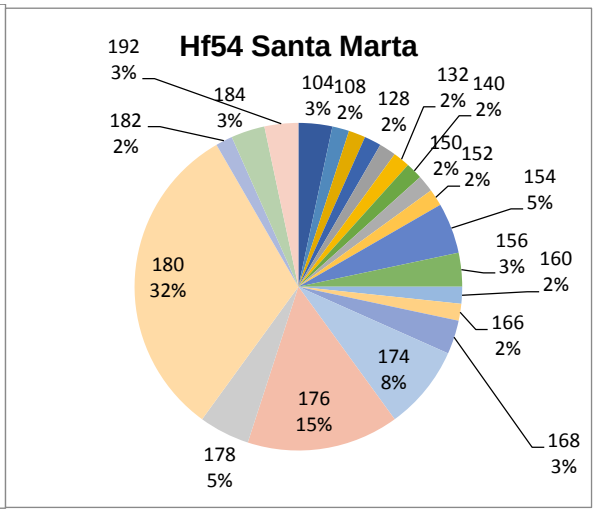

Hf37 La Guajira
106 10%
108 10%
110 2%
112 3%
116 3%
118 5%
120 8%
122 5%
124 8%
126 3%
130 3%
132 2%
134 12%
138 3%
140 3%
142 3%
150 3%
162 2%
166 2%
170 2%
178 2%
188 2%
100 2%
104 2%

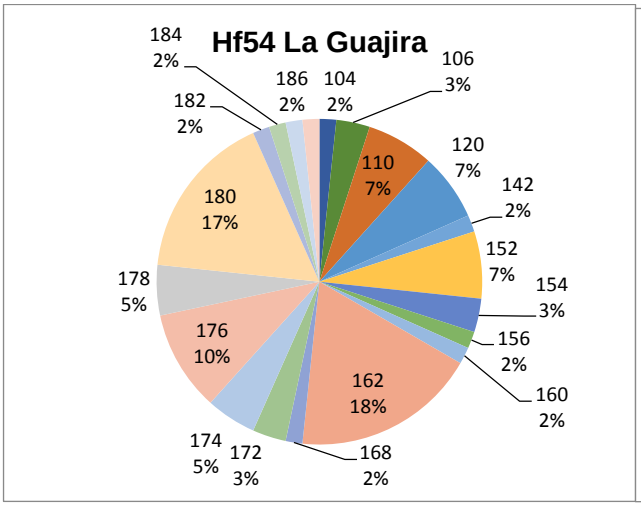

Hf37 Isla Margarita
56 4%
62 4%
110 8%
120 4%
126 19%
128 4%
130 12%
132 8%
134 8%
136 15%
150 4%
162 4%
178 4%
182 4%

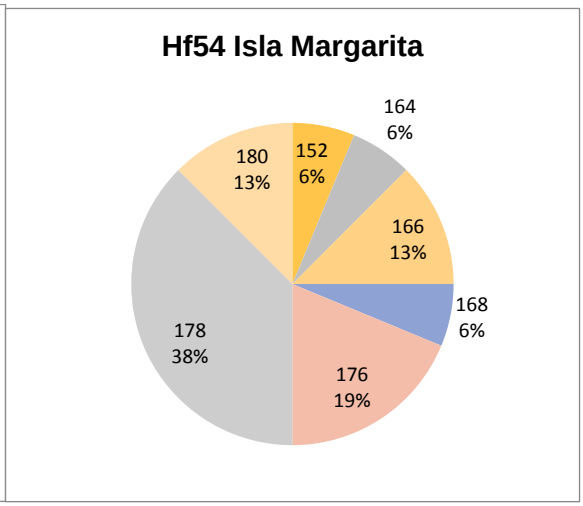
Locus Hf 54


Hf54 Capurganá
176 5%
54 5%
60 10%
64 15%
104 5%
110 10%
112 5%
118 5%
122 5%
150 10%
152 5%
166 5%
168 15%
54 56 60 64 78 80 82 86 88 100 104 106 108 110 112
114 116 118 120 122 128 132 136 140 142 146 150 152 154 156
160 162 164 166 168 172 174 176 178 180 182 184 186 192


Hf54 Barú
172 2%
56 4%
60 6%
64 15%
78 7%
80 13%
82 11%
86 4%
88 4%
100 2%
104 6%
114 2%
122 6%
136 4%
146 2%
152 4%
160 4%
168 7%


Hf54 Santa Marta
192 3%
184 3%
182 2%
104 3%
108 2%
128 2%
132 2%
140 2%
150 2%
152 2%
154 5%
156 3%
160 2%
166 2%
168 3%
174 8%
176 15%
178 5%
180 32%


Hf54 La Guajira
184 2%
182 2%
186 2%
104 2%
106 3%
110 7%
120 7%
142 2%
152 7%
154 3%
156 2%
160 2%
162 18%
168 2%
172 3%
174 5%
176 10%
178 5%
180 17%


Hf54 Isla Margarita
164 6%
152 6%
166 13%
168 6%
176 19%
178 38%
180 13%