Conectividad genética de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) en el Pacífico central de México

Genetic connectivity of *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) on Mexican central Pacific

Ericka Urbiola-Rangel y Omar Chassin-Noria

Facultad de Biología, CMEB, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. Francisco J. Mújica S/N, Morelia Michoacán, 58030. México e-mail: ochassin@umich.mx

Urbiola-Rangel E. y O. Chassin-Noria. 2013. Conectividad genética de Stegastes acapulcoensis (Pomacentridae) en el Pacífico central de México. Hidrobiológica 23 (3): 415-419.

RESUMEN

La familia Pomacentridae incluye especies de peces que son abundantes en los sistemas arrecifales, como las incluidas en el género Stegastes, con representantes que en etapa adulta son herbívoros, territoriales y dependientes de un substrato para su reproducción. En este estudio se analizó la conectividad genética de Stegastes acapulcoensis entre cuatro poblaciones del Pacífico mexicano, separadas por una distancia geográfica máxima de 435 km. Se estudió la diferenciación genética entre cuatro localidades, con cuatro loci de microsatélites y estimadores tradicionales, obteniendo valores de $F_{ST} = 0.0017$ (p < 0.01) y de $R_{ST} = 0.0279$ (p < 0.01). De igual manera con D_{EST} y métodos bayesianos, se detectó escasa o nula diferenciación genética entre las localidades estudiadas. Los resultados pueden explicarse debido a la dispersión de S. acapulcoensis en su etapa de larva pelágica, ya que dichas larvas pueden seguir los cambios estacionales de dirección de la Corriente del Oeste de México. Finalmente a través de los resultados de conectividad obtenidos para Stegastes acapulcoensis se infiere que otras especies de peces demersales podrían presentar el mismo patrón de conectividad, por lo que este estudio es también la primera evidencia para sugerir la necesidad de unir siete áreas marinas prioritarias para la conservación de México.

Palabras clave: Diversidad genética, conectividad genética, microsatélites.

ABSTRACT

The family Pomacentridae includes fish species that are abundant on coral reef systems, like the ones included on Stegastes genus with organisms that in adult stage are herbivore, territorial and dependent of a substrate for reproduction. We analyzed the genetic connectivity of Stegastes acapulcoensis between sites of the Mexican Pacific, separated for a maximum geographic distance of 435 km. We assess the genetic differentiation between four sites with four microsatellite loci and traditional estimative methods, having as a result values of $F_{ST} = 0.0017$ (p < 0.01) and $R_{ST} = 0.0279$ (p < 0.01). Equally, with D_{EST} and Bayesian methods null or little genetic differentiation between sites was detected. These results are explained considering the dispersal ability of S. acapulcoensis on its pelagic larval stage, which follows the Mexican West Current pattern. Finally, due our results we suggest that it is possible to infer that other demersal fish species may present the same connectivity pattern. The present work constitutes the first evidence that suggests the necessity to join seven priority marine areas of Mexico into a unique continual area.

Key Words: Genetic diversity, Genetic connectivity, Microsatellites.

Los peces de la familia Pomacentridae, poseen dos fases de desarrollo, la primera es una larva pelágica, en donde se da el mayor potencial de dispersión y la segunda fase corresponde a los adultos, en la que son relativamente sedentarios (Roberts, 1997; Helfman et al., 2009). Este es el caso de Stegastes acapulcoensis (Fowler, 1944), una especie herbívora, territorial que depende de un sustrato rocoso para su reproducción, presenta fertilización externa, en la cual los machos ofrecen un sitio de anidación en donde después del cortejo, las hembras depositan miles de huevos que posteriormente son fertilizados por el macho, quién brindará cuidado parental hasta la eclosión de las larvas. Esta especie se distribuye en el Pacífico desde la península de Baja California en México, hasta Perú, viviendo en arrecifes rocosos a una profundidad de 2 a 16 m (Allen-Robertson, 1998).

Con el análisis de diversos marcadores moleculares se ha estimado la diversidad y el grado de conectividad genética entre poblaciones de peces con fase larvaria de diversas familias (Pomacentridae, Acanthuridae, Gobiidae, Bleniidae, Labridae), en los cuales se ha detectado ausencia y presencia de conectividad genética (Doherty et al., 1995; Shulman-Bermingham, 1995; Rhodes et al., 2003; Ospina-Guerrero et al., 2008) a diferentes escalas geográficas. En particular para el género Stegastes (Jenyns, 1842), se han desarrollado algunos trabajos utilizando diferentes marcadores moleculares, en los cuales se ha reportado variación en cuanto a la conectividad genética entre poblaciones (por ej. Shaklee, 1984; Ospina-Guerrero et al., 2008; Hepburn et al., 2009; Salas et al., 2010).

En este trabajo se analizó la diversidad y diferenciación genética de *S. acapulcoensis* en cuatro localidades del Pacífico central de México: Zihuatanejo, Guerrero (17° 38′ 57.26″ N, 101° 37′ 16.56″ O); Manzanillo, Colima (19° 5′ 49.37″ N, 104° 26′ 13.36″ O); Manzanillera, Michoacán (18° 21′ 19.50″ N, 103° 30′ 48.68″ O) y Negritos, Jalisco (19° 31′ 37.67″ N, 105° 4′ 57.81″ O) (Fig. 1), separados por una distancia máxima de 435 km. Se recolectaron un total de 134 ejemplares adultos (entre marzo y diciembre de 2010), en promedio 33.5 por localidad, con un rango de 30 a 36 individuos. De cada ejemplar se cortó un fragmento de la aleta pectoral derecha de aproximadamente cinco mm², que fue conservado en etanol absoluto.

Se realizó la extracción de ADN siguiendo el protocolo propuesto por FitzSimmons (1997) y se amplificaron cuatro *loci* de microsatélites nucleares diseñados originalmente para *Stegastes partitus* (Poey, 1868) (SpGATA-40, SpGATA-16, SpAAT-39 y SpTG-53; Williams *et al.* 2003; Thiessen-Heath, 2007) con las siguientes condiciones: 200 μM de dNTP´s, 1.5 mM de MgCl₂, 0.5 μM de cada uno de los primers, 2 U de Taq polimerasa, 2.5 μL de buffer 10 X (100 Mm Tris, 500 mM KCl; pH 8.3), 50μg/ml BSA y de 20 a 200 ng de ADN. El programa de amplificación de los cuatro *loci* fue el siguiente: 94 °C 1 min., seguido de 30 ciclos de 94 °C 10 seg., 50 °C 10 seg., 72 °C 10 seg. y extensión final de 72 °C por 2 min. Los oligonucleótidos seleccionados fueron marcados con fluoróforos del filtro G5 (Applied Biosystems) y la determinación de los genotipos se realizó mediante electroforesis capilar en un equipo automatizado (ABI 310, Applied Biosystems). La asignación de



Figura 1. Localidades de recolecta de ejemplares de Stegastes acapulcoensis en la región del Pacífico central de México.

tamaño de los alelos se realizó con el software Peak Scanner v. 1.0 (Applied Biosystems).

Para detectar la presencia de alelos nulos, dominancia de alelos pequeños y errores de genotipado, se realizó un análisis en Micro-Checker v. 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Se estimó la diversidad genética y se realizó una prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg, así como de diferenciación genética utilizando los estimadores F_{ST} y R_{ST} con GenAlEx v. 6.4 (Peakall-Smouse, 2006) y Arlequin v. 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005). Jost (2008) ha demostrado que G_{ST} y sus similares pueden, bajo condiciones de elevada heterocigocidad promedio dentro de subpoblaciones, subestimar la diferenciación genética. Por ello se estimó también D_{EST} empleando SMOGD (Crawford, 2010). Finalmente se realizó un análisis bayesiano para detectar la asignación probabilística de los individuos a K poblaciones empleando STRUCTURE v. 2.3.1 (Pritchard *et al.*, 2009) y la estrategia sugerida por Evanno *et al.* (2005) para detectar si K>1.

Todos los *loci* utilizados fueron polimórficos, con un promedio de 32.75 alelos y un rango de 25 a 49 alelos por *locus*. No se detectaron alelos nulos, dominancia de alelos pequeños ni errores de genotipado. Los valores de diversidad genética esperada (h_e) obtenidos para cada *locus* fueron altos (rango 0.924-0.950) y los cuatro *loci* se observaron en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Se obtuvieron los siguientes valores de AMOVA globales $F_{ST}=0.0017~(p<0.01)~y~R_{ST}=0.0279~(p<0.01).$ Los valores pareados de diferenciación genética se muestran en la Tabla 1. Se obtuvo un valor promedio de $D_{EST}=0.0482~(rango~0-0.076)$, lo que refleja de nula a ligera diferenciación genética entre las localidades estudiadas, siendo este resultado consistente con los estimadores clásicos de diferenciación. No se logró la detección de K > 1 probando un rango de K entre uno a diez en STRUCTURE. Este resultado reflejó de manera consistente, aunado con los otros estimadores de diferenciación empleados, la conectividad genética entre los organismos de las cuatro localidades analizadas.

Dado que *S. acapulcoensis* en etapa adulta, se asocia estrechamente y de manera estable a territorios de menos de tres metros cuadrados, y que la menor distancia geográfica entre las localidades analizadas fue de 92 kilómetros, se esperaba encontrar ausencia de conectividad genética, sin embargo, se observó

un resultado distinto. Esto puede explicarse si consideramos que en varias especies incluyendo Pomacéntridos, se ha reportado conectividad genética, mediada por la dispersión en la etapa de larva pelágica (Doherty *et al.*, 1995).

Específicamente en el género Stegastes se ha detectado ausencia de conectividad genética ($F_{ST} > 0.4$) entre poblaciones separadas por 125 km en S. partitus. Este valor tan elevado según los autores, es debido a la combinación de perturbaciones ambientales (mareas rojas) y fenómenos atmosféricos (huracanes), que pueden formar barreras a la conectividad genética (Lacson et al., 1989).

Por el contrario, Hepburn et al. (2009) y Salas et al. (2010) reportan ausencia o escasa estructura genética en poblaciones distanciadas de 300 y hasta 1,100 km respectivamente (F_{ST} = 0.003), para *S. partitus*, explicando tal conectividad por el desplazamiento de las larvas que siguen las corrientes marinas. Los adultos de esa especie, al igual que los de *S. acapulcoensis*, establecen pequeños territorios, realizando desplazamientos de pocos metros. En *S. partitus* se ha observado que las hembras son las que realizan desplazamientos más largos (máximo 10 m) en comparación con los machos, quienes buscan los sitios de anidación (Knapp-Warner, 1991).

Algunos trabajos realizados en diversas especies que presentan fase larvaria, muestran conectividad genética (Doherty et al., 1995; Shulman-Bermingham, 1995) que es atribuida al movimiento de las larvas por las corrientes marinas, las cuales aunque siguen patrones regulares, pueden cambiar temporalmente el rumbo y ocasionar el traslado de especies a nuevos sitios (Meekan et al., 2001).

En México, existe una corriente de flujo adyacente a la costa central del Pacífico, denominada Corriente del Oeste de México (COM), la cual inicia en el Golfo de Tehuantepec y se mueve en dirección norte hasta encontrarse con la Corriente de California (CC); ésta corriente cambia temporalmente de dirección hacia el sur, en la primera mitad del año, permitiendo que la CC se incorpore a la Corriente Ecuatorial del Norte (CEN) (Kessler, 2006). La conectividad genética encontrada en este estudio entre los distintos sitios de muestreo puede explicarse por la acción la COM, sobre todo considerando que las larvas de S.

Tabla 1. Valores pareados de F_{ST} debajo de la diagonal y R_{ST} arriba de la diagonal para 4 poblaciones de *Stegastes acapulcoensis* en la región del Pacífico central de México. Los valores resaltados en negritas son significativos (p < 0.05).

	Negritos, Jalisco	Manzanillo, Colima	Manzanillera, Michoacán	Zihuatanejo, Guerrero
Negritos, Jalisco		0.0523	0.0000	0.0078
Manzanillo, Colima	0.0025		0.0561	0.0272
Manzanillera, Michoacán	0.0000	0.0033		0.017
Zihuatanejo, Guerrero	0.0005	0.0025	0.0003	

acapulcoensis son pelágicas durante 19 a 23 días, después de lo cual se establecen como peces demersales (Wellington-Victor, 1989).

Determinar el nivel de conectividad genética entre poblaciones es útil para establecer un buen manejo y conservación de los ecosistemas marinos (Dibacco *et al.*, 2006), permitiendo establecer áreas protegidas que incluyan procesos ecológicos como la dispersión.

En México, se han identificado 70 regiones marinas prioritarias para la conservación (Arriaga-Cabrera et al., 1998), las cuales fueron seleccionadas considerando criterios ambientales, económicos y de amenaza. Sin embargo, aún falta información, específicamente de conectividad genética y diversidad de las comunidades, sin que se privilegie únicamente la riqueza y endemismo de las áreas marinas, para definir las prioridades de conservación. Por ejemplo en el estado de Michoacán hay sólo dos regiones prioritarias, la número 29 (Maruata y Colola) y la 30 (Mexiquillo y Delta del Balsas); ambas separadas por decenas de kilómetros (Arriaga-Cabrera et al., 1998), sin una razón aparente.

Dada la ausencia de diferenciación genética encontrada en 435 km, atribuida al transporte de larvas de *S. acapulcoensis* por la COM, y considerando que la especie objeto de este estudio, puede tener un patrón de conectividad común a otras especies demersales con características de historia de vida similares (Chávez, 2012), se propone considerar cómo una área prioritaria marina para conservación y manejo, el litoral comprendido, entre las zonas 25 (Mismaloya-Pta. Soledad, en el estado de Jalisco) y 31 (Tlacoyunque, en el estado de Guerrero), planteadas por Arriaga-Cabrera y colaboradores (1998) para el Pacífico central de México.

AGRADECIMIENTOS

La primera autora recibió la beca CONACYT para estudios de posgrado con número de becario 239252. Este trabajo fue financiado por la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH. Los autores agradecen por el uso de Maptool para generar el mapa de este trabajo. Maptool es un producto de SEATURTLE.ORG.

REFERENCIAS

- ALLEN, G. R. & D. R. ROBERTSON. 1998. *Peces del Pacífico oriental tropical*. CONABIO, Agrupación Sierra Madre y Cemex. Ciudad de México. 327 p.
- ARRIAGA-CABRERA, L., E. VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, J. GONZÁLEZ-CANO, R. JIMÉNEZ-ROSENBERG, E. MUÑOZ-LÓPEZ & V. AGUILAR-SIERRA (COORDINADORES). 1998. Regiones Marinas Prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México. En español: disponible en línea en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/Mmapa.html (consultado el 5 de julio 2013) 18 p.

- CHÁVEZ, C. E. J. 2012. Conectividad genética de Acanthemblemaria macrospilus (Teleostei: Chaenopsidae) del Pacífico central mexicano. Tesis Licenciatura, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 57 p.
- CRAWFORD, N. G. 2010. SMOGD: software for the measurement of genetic diversity. *Molecular Ecology Resources* 10: 556-557.
- DIBACCO, C., L. A. LEVIN & E. SALA. 2006. Connectivity in marine ecosystems: the importance of larval and spore dispersal. *In*: Crooks, K.R. & M. Sanjayan (Eds.). *Connectivity Conservation*. Cambridge University Press, pp.184-212.
- DOHERTY, P. J., S. PLANES & P. MATHER. 1995. Gene flow and larval duration in seven species of fish from the Great Barrier Reef. *Ecology* 76: 2373-2391.
- EVANNO, G., S. REGNAUT & J. GOUDET. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- EXCOFFIER, L., G. LAVAL & S. SCHNEIDER. 2005. Arlequin ver. 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- FITZ SIMMONS, N. 1997. Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of the green turtle *Chelonia mydas*. Tesis Doctoral. Universidad de Queensland, Australia. 241 p.
- HELFMAN, G. S., B. B. COLLETTE, D. E. FACEY & B. W. Bowen. 2009. 2nd ed. *The diversity of fishes: Biology, Evolution, and Ecology*. Wiley-Blackwell, Oxford. 720 p.
- HEPBURN, R. I., P. F. SALE, B. DIXON & D. D. HEATH. 2009. Genetic structure of juvenile cohorts of bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) along the Mesoamerican barrier reef: chaos through time. *Coral Reefs* 28: 277-288.
- JOST, L. 2008. G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology* 17: 4015-4026.
- KESSLER, W. S. 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69: 181-217.
- KNAPP, R. A. & S. S WARNER. 1991. Male parental care and female choice in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*: bigger is not always better. *Animal Behavior* 41: 747-756.
- Lacson, J. M., V. M. Riccardi, S. W. Calhoun & D. C. Morizot. 1989. Genetic differentiation of bicolor damselfish (*Eupomacentrus partitus*) populations in the Florida Keys. *Marine Biology* 103: 445-451.
- MEEKAN, M. G., J. L. ACKERMAN & G. M. WELLINGTON. 2001. Demography and age structures of coral reef damselfishes in the tropical eastern Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 212: 223-232.
- Ospina-Guerrero, S. P., R. M Landínez-García, D. J. Rodríguez-Castro, R. Arango & E. Márquez. 2008. Conectividad genética de *Stegastes par*-

- titus en el Caribe Sur evidenciada por análisis microsatélite. Ciencias Marinas 34 (2): 155-163.
- Peakall, R. & P. E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel.

 Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- PRITCHARD, J. K., X. WEN & D. FALUSH. 2009. Documentation for STRUC-TURE software: Version 2.3. Chicago: University of Chicago. 38 n
- RHODES, K. L., R. I. LEWIS, R. W. CHAPMAN & Y. SADOVY. 2003. Genetic structure of camouflage grouper, *Epinephelus polyphekadion* (Pisces: Serranidae), in the western central Pacific. *Marine Biology* 142: 771-776.
- ROBERTS, C. M. 1997. Connectivity and management of Caribbean coral reefs. *Science* 278: 1454-1457.
- SALAS, E., H. MOLINA-UREÑA, R. P. WALTER & D. D. HEATH. 2010. Local and regional genetic connectivity in a Caribbean coral reef fish. *Marine Biology* 157: 437-445.
- SHAKLEE, J. B. 1984. Genetic variation and population structure in the damselfish, *Stegastes fasciolatus*, throughout the Hawaiian archipelago. *Copeia* 3: 629-640.

- Shulman, M. J. & E. Bermingham. 1995. Early life histories, ocean currents, and the population genetics of Caribbean reef fishes. *Evolution* 49: 897-910.
- THIESSEN, R. J. & D. D. HEATH. 2007. Characterization of one trinucleotide and six dinucleotide microsatellite markers in bicolor damselfish, *Stegastes partitus*, a common coral reef fish. *Conservation Genetics* 8: 983-985.
- Van Oosterhout, C., W .F. Hutchinson, D. P. M. Wills & P. Shipley. 2004. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.
- Wellington, G. M. & V. C. Victor. 1989. Planktonic larval duration of one hundred species of Pacific and Atlantic damselfishes (Pomacentridae). *Marine Biology* 101: 557-567.
- WILLIAMS, D. A., J. PURCELL, C. R. HUGHES & R. K. COWEN. 2003. Polymorphic microsatellite loci for population studies of the bicolor damselfish, *Stegastes partitus* (Pomacentridae). *Molecular Ecology Notes* 3: 547-549.

Recibido: 21 de febrero del 2012.

Aceptado: 8 de julio de 2013.