



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**TAXONOMÍA, FILOGENIA Y PATRONES DE  
DIVERGENCIA GENÉTICA DE LA FAMILIA  
GERREIDAE (TELEOSTEI: PERCIFORMES) EN  
AMÉRICA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR  
EN  
CIENCIAS MARINAS**

**PRESENTA  
ADRIANA MARTÍNEZ GUEVARA**

La Paz, B.C.S., Junio del 2015



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 28 del mes de Mayo del 2015 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

“TAXONOMÍA, FILOGENIA Y PATRONES DE DIVERGENCIA GENÉTICA  
DE LA FAMILIA GERREIDAE (TELEOSTEI: PERCIFORMES) EN AMÉRICA”

Presentada por el alumno:

MARTÍNEZ

GUEVARA

ADRIANA

Apellido paterno

materno

nombre(s)

Con registro: 

B	1	1	0	4	1	9
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISION REVISORA**

Directores de Tesis

DR. FRANCISCO XAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ  
Director de Tesis

DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGUERO  
2º. Director de Tesis

DR. SERGIO FRANCISCO MARTÍNEZ DÍAZ

DR. RODRIGO MONCAYO ESTRADA

DR. OMAR DOMÍNGUEZ DOMÍNGUEZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



**IPN**  
**CICIMAR**  
**DIRECCION**



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 03 del mes Junio del año 2015  
el (la) que suscribe MC. ADRIANA MARTÍNEZ GUEVARA alumno(a) del  
Programa de DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS  
con número de registro B110419 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS  
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:  
DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ y DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO  
y cede los derechos del trabajo titulado:

**"TAXONOMÍA, FILOGENIA Y PATRONES DE DIVERGENCIA GENÉTICA  
DE LA FAMILIA GERREIDAE (TELEOSTEI: PERCIFORMES) EN AMÉRICA"**

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: amtzguevara@gmail.com - fj\_gr@yahoo.com - j\_delac@yahoo.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

**MC. ADRIANA MARTÍNEZ GUEVARA**

*nombre y firma*

*A mis padres*

*A mis hermanas*

*Esto es por y para ustedes*

.

*En el fondo, los científicos somos gente con suerte:  
podemos jugar a lo que queramos durante toda la vida.*

*Lee Smolin*

## *Agradecimientos*

---

G.B. Stern escribió que la gratitud en silencio no sirve a nadie; es por eso que me permito expresar mis más sinceros agradecimientos a quienes, de una u otra manera, hicieron lo posible para que yo alcanzara un peldaño más en mi vida académica y personal:

Nuevamente tengo la oportunidad de agradecerle al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituciones que me han brindado todo lo necesario para poder superarme en el ámbito profesional y científico.

Le agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a la Secretaría de Investigación y Posgrado-IPN y a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades-IPN (COFFA-IPN); cuyas becas representaron el soporte económico necesario para que pudiera llevar a cabo la realización de mi posgrado.

Con gran cariño agradezco a la Colección Ictiológica del CICIMAR-IPN, así como a todos y cada uno de los integrantes de esta cofradía. Me acobijaron y me enseñaron que un equipo laboral y académico, puede llegar a ser también tu familia.

Dr. José De La Cruz-Agüero y Dr. Francisco J. García-Rodríguez, ninguna palabra podrá expresar mis infinitos agradecimientos y mi profunda admiración hacia ustedes. Me han enseñado lo que es ser un buen científico, un investigador, a amar la ictiología y aprender de la genética. Son mis maestros, mis guías, mis consejeros, mis amigos, y algún día espero poder llegar a ser su colega.

Le agradezco también al Dr. Rodrigo Moncayo Estrada, Dr. Omar Domínguez-Domínguez, Dr. Sergio Martínez Díaz y a la Dra. Patricia Jiménez-Rosenberg, miembros de mi comisión revisora, cuyo tiempo otorgado, comentarios y sugerencias, llevaron al mejoramiento de este trabajo.

A todo el personal directivo, académico, técnico, docente y administrativo del CICIMAR-IPN, cuyo trabajo en el Centro es indispensable para el desarrollo de nosotros como alumnos.

Agradezco el apoyo en los muestreos, los tejidos y los ejemplares necesarios para la finalización de esta investigación a: la Dra. Martha Valdéz-Moreno, Dr. Juan Jacobo Schmitter-Soto, y colaboradores (ECOSUR); Dra. Lizbeth Chumba-Segura y alumnos (CINVESTAV); cDr. Raúl Hernández y Dra. Martha Perera (UJAT); Dr. Omar Domínguez-Domínguez y alumnos (UMSNH); Dr. Claudio Oliveira (UNESP), Dr. César Salinas y colaboradores (CIB); a la California Academy of Science-Department of Ichthyology; así como a las familias Hernández-Gómez y García-Caudillo, por su hospitalidad durante mi estancia en Tenosique y Chetumal.

Difícil es poder nombrar a todos y cada uno de los amigos y amigas que han sido mi apoyo, mi aliento, mis confidentes, mi soporte, mis travesuras y mi conciencia. Ya sea de antes, de ahora o los de siempre. Ya sea en La Paz, en Atlixco, o desde la Latitud 60° N y hasta el Ecuador. Les agradezco sus palabras, sus consejos, sus regaños, sus locuras y su compañía, tanto en las alegrías como en las tristezas; son mi universo y saben bien que forman parte de él.

Uno de mis mayores agradecimientos es para mi familia. Veracruz, Puebla y Tabasco, los llevo siempre en mi mente y corazón. Principalmente le agradezco a mis hermanas, compartimos ADN y mucho más de lo que eso significa. Son todo para mí, las adoro.

Finalmente, agradezco a mis padres. Me dieron la vida y sin saberlo, siempre me han dado las alas, los motivos y todo lo necesario para querer vivirla intensamente. Mi ejemplo a seguir, mis héroes, mi orgullo y más grande amor. Pocos pueden presumir que trabajaron hombro con hombro con sus padres durante sus investigaciones de campo, yo soy una de ellos. Gracias, los Amo con todo mi ser...



*Taxonomy is described sometimes as a science and sometimes as an art,  
but really it's a battleground. Bill Bryson.*

# ÍNDICE

---

---

<b>RESUMEN</b>	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>II</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>Familia Gerreidae</b>	<b>2</b>
<b>Estatus taxonómico de las especies de la familia Gerreidae en América</b>	<b>5</b>
<i>Género Eucinostomus</i>	6
<i>Género Eugerres</i>	7
<i>Género Gerres</i>	8
<i>Género Diapterus</i>	10
<i>Género Deckertichthys</i>	10
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>12</b>
<b>Planteamiento del problema</b>	<b>19</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>General</b>	<b>20</b>
<b>Particulares</b>	<b>20</b>
<b>METODOLOGÍA GENERAL</b>	<b>21</b>
<b>Obtención de ejemplares</b>	<b>21</b>
<b>Determinación específica</b>	<b>22</b>
<b>Muestras de tejido</b>	<b>24</b>
<b>Obtención de datos moleculares</b>	<b>24</b>
Extracción de ADN	24
Amplificación	24
Secuenciación, edición y alineamiento	25
Análisis taxonómico molecular	26
Análisis filogenéticos	27
Análisis de saturación	28
Modelo de sustitución	29
Construcción de árboles filogenéticos	29
Reloj molecular	31
<b>RESULTADOS</b>	<b>34</b>
<b>Análisis taxonómico molecular</b>	<b>34</b>

Género <i>Eucinostomus</i>	34
Género <i>Diapterus</i> y <i>Deckertichthys</i>	43
Género <i>Gerres</i>	49
Género <i>Eugerres</i>	54
<b>Análisis filogenéticos</b>	<b>64</b>
Análisis de saturación	64
Modelos de sustitución nucleotídica	67
Filogenia molecular	68
Máxima Parsimonia (MP)	68
Máxima Verosimilitud (ML)	72
Inferencia Bayesiana (IB)	76
Reloj molecular	80
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>82</b>
<b>Análisis moleculares</b>	<b>82</b>
Implicaciones taxonómicas	83
Género <i>Eucinostomus</i>	83
Género <i>Diapterus</i> y <i>Deckertichthys</i>	85
Género <i>Gerres</i>	85
Género <i>Eugerres</i>	86
<b>Análisis filogenéticos</b>	<b>90</b>
<b>Tiempos de divergencia</b>	<b>95</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>99</b>
<b>RECOMENDACIONES Y LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN A FUTURO</b>	<b>101</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>103</b>
<b>GLOSARIO</b>	<b>119</b>
<b>Anexo 1</b>	<b>125</b>
<b>Anexo 2</b>	<b>130</b>
<b>Anexo 3</b>	<b>131</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Esquema que muestra las principales características de los organismos pertenecientes a la familia Gerreidae. _____	3
2	Sitios de muestreo y localidades de procedencia de los organismos y tejidos analizados. _____	23
3	Dendogramas obtenidos mediante <i>Neighbor-joining</i> utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies del género <i>Eucinostomus</i> . _____	40
	Continuación de la Figura 3. _____	41
4	Dendogramas de <i>Neighbor-joining</i> simplificados utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies de <i>Eucinostomus</i> . _____	42
5	Dendogramas obtenidos mediante <i>Neighbor-joining</i> utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies del género <i>Diapterus</i> y <i>Deckertichthys</i> . _____	47
6	Dendogramas de <i>Neighbor-joining</i> simplificados, utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies de <i>Diapterus</i> y <i>Deckertichthys</i> . _____	48
7	Dendogramas obtenidos mediante <i>Neighbor-joining</i> utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de <i>Gerres cinereus</i> del Atlántico (A) y Pacífico (P). _____	52
8	Dendogramas <i>Neighbor-joining</i> simplificados utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de <i>Gerres cinereus</i> del Atlántico y Pacífico. _____	53
9	Dendogramas obtenidos mediante <i>Neighbor-joining</i> utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies del género <i>Eugerres</i> . _____	59
	Continuación de la Figura 9. _____	60
10	Dendogramas <i>Neighbor-joining</i> simplificados utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies de <i>Eugerres</i> . _____	61
11	Prueba de saturación para el gen nuclear RAG1. _____	65

12	Pruebas de saturación para los genes mitocondriales utilizados en los análisis filogenéticos. _____	66
13	Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (MP), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA (1,376 pb). _____	69
14	Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (MP), obtenido de los datos del fragmento nuclear RAG1 (635 pb). _____	70
15	Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (MP), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA y RAG1 (2,011 pb). _____	71
16	Árbol generado a partir del método de Máxima Verosimilitud (ML), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA (1,376 pb). _____	73
17	Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (ML), obtenido de los datos del fragmento nuclear RAG1 (635 pb). _____	74
18	Árbol generado a partir del método de Máxima Verosimilitud (ML), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA y RAG1 (2,011 pb). _____	75
19	Árbol generado a partir del método de Inferencia Bayesiana (IB), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA (1,376 pb). _____	77
20	Árboles generados a partir del método de Inferencia Bayesiana (IB), obtenidos de los datos del fragmento nuclear RAG1 (635 pb). _____	78
21	Árbol generado a partir del método de Inferencia Bayesiana (IB), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 (2,011 pb). _____	79
22	Calibración del árbol en el tiempo relativo. Cronograma hipotético de los eventos de divergencia en la familia Gerreidae. _____	81

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla	Descripción	Página
1	Especies consideradas como válidas para el género <i>Eucinostomus</i> analizadas en el presente trabajo. _____	7
2	Especies consideradas como válidas para el género <i>Eugerres</i> analizadas en el presente trabajo. _____	8
3	Especies consideradas como válidas para el género <i>Gerres</i> analizadas en el presente trabajo. _____	9
4	Especies consideradas como válidas para el género <i>Diapterus</i> analizadas en el presente trabajo. _____	10
5	Especies consideradas como válidas para el género <i>Deckertichthys</i> analizadas en el presente trabajo. _____	11
6	Nombre de las instituciones, ubicación, número de organismos donados y número de tejidos donados. _____	21
7	Iniciadores utilizados para la amplificación de distintos fragmentos de genes de ADNmt y ADN nuclear de especies de la Familia Gerreidae y grupos afines. _____	26
8	Resultados de las pruebas de Friedman y Nemenji entre especímenes de <i>Eugerres mexicanus</i> y <i>E. castroaguirrei</i> . _____	63
9	Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género <i>Eucinostomus</i> . _____	36
10	Porcentajes de la distancia genética de los cuatro marcadores dentro de las especies de <i>Eucinostomus spp.</i> _____	36
11	Porcentajes de la distancia genética entre las especies de <i>Eucinostomus spp.</i> _____	37
12	Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género <i>Diapterus/ Deckertichthys</i> . _____	43
13	Porcentajes de la distancia genética intra-específica de los cuatro marcadores para las especies de <i>Diapterus spp</i> y <i>Deckertichthys sp.</i> _____	44
14	Porcentajes de la distancia genética entre las especies de <i>Diapterus spp</i> y <i>Deckertichthys sp.</i> _____	46

15	Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género <i>Gerres</i> . _____	49
16	Porcentajes de la distancia genética intra-específica de los cuatro marcadores para <i>Gerres cinereus</i> del Atlántico (A) y Pacífico (P). _____	49
17	Porcentajes de la distancia genética entre las especies de <i>Gerres cinereus</i> del Atlántico (A) y Pacífico (P). _____	51
18	Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género <i>Eugerres</i> . _____	54
19	Porcentajes de la distancia genética intra-específica de los cuatro marcadores para las especies de <i>Eugerres spp.</i> _____	55
20	Porcentajes de la distancia genética entre las especies de <i>Eugerres spp.</i> _____	57
21	Resultados del test de saturación. _____	65
22	Resultados obtenidos mediante el programa jModelTest® 0.1.1. _____	67

## RESUMEN

---

La familia Gerreidae presenta una composición taxonómica la cual ha cambiado considerablemente a través del tiempo, al igual que las escasas propuestas filogenéticas, las cuales difieren de acuerdo a diversos autores. El presente estudio determina los niveles de divergencia genética inter e intra-específica a partir de secuencias parciales de ADN mitocondrial (COI, 12SrRNA, 16SrRNA) y ADN nuclear (RAG1). La intención es aportar elementos que permitan un soporte taxonómico objetivo de la familia Gerreidae, así como una mejor comprensión de la historia evolutiva del grupo mediante la generación de una hipótesis filogenética [(Máxima Verosimilitud (ML), Máxima Parsimonia (MP) e Inferencia Bayesiana (IB)]. Se obtuvieron un total de 248 secuencias parciales de 20 especies actualmente reconocidas como válidas, clasificadas en cinco géneros anfiamericanos. Se generaron cladogramas mediante el método de *Neighbour joining* (NJ) para cada marcador y por género. Los valores de divergencia genética interespecífica estimados mediante el modelo de sustitución molecular de Kimura dos parámetros (K2P) oscilaron entre 1% y 24% para COI; 0.7% a 19% en 12SrRNA; 1% a 13%; para 16SrRNA; y en RAG1 de 0.5% a 2%; los cuales fueron aceptables para discriminar entre las especies.

Los cladogramas obtenidos mediante los métodos de ML, MP e IB mostraron topologías similares entre sí, siendo congruentes con las hipótesis filogenéticas propuestas previamente, las cuales sugieren que la familia se encuentra dividida en dos sub-grupos (*Diapterus* + *Eugerres* + *Deckertichthys* y *Eucinostomus* + *Gerres*). La calibración en el tiempo de divergencia entre las especies de los gerreidos presentó diversos escenarios que sugieren una serie de eventos ocurridos entre  $\approx 57$  y  $\approx 1.2$  m.a. Dichos eventos permitieron la diversificación del grupo, pudiendo concluir que existe coherencia en asociar las divergencias genéticas presentes en la familia Gerreidae con los eventos ocurridos durante la formación del Istmo de Panamá.

**Palabras clave:** Gerreidae, taxonomía molecular, filogenia; ADN; América.

## ABSTRACT

---

The Gerridae family exhibits a taxonomic composition which has changed considerably throughout time, as well as the phylogenetic relationships that have differed among authors. In the present study I determined the intra e inter-specific genetic divergence levels from mitochondrial (COI, 12SrRNA and 16SrRNA) and nuclear (RAG1) DNA fragments. The intention was to provide evidence that supports a taxonomic scheme of the family and a better understanding of the evolutionary history of the group by phylogenetic hypothesis (Maximum Likelihood-ML, Maximum Parsimony-MP and Bayesian Inference -IB). From 20 valid species I obtained 248 partial, belonging to five anfiamerican genera. *Neighbour joining* (NJ) cladograms was performed by molecular marker and by genera. The interspecific genetic divergence values estimated by the Kimura two-parameter (K2P) molecular substitution model varied between 1% to 24% for COI; 0.7% to 19% for 12SrRNA; 1% to 13% for 16SrRNA; and by RAG1 from 0.5% to 2%. These values were acceptable to discriminate between gerreids species.

The cladograms obtained by ML, MP and IB showed similar topologies, being congruent with phylogenetic hypotheses previously proposed which suggest that the family is divided into two sub-groups (*Diapterus* + *Eugerres* + *Deckertichthys* and *Eucinostomus* + *Gerres*). The calibration time of divergence between Gerreids species showed several scenarios that suggest a series of events that occurred between  $\approx 57$  and  $\approx 1.2$  m. These events allowed the diversification of the group, and could help to conclude that there is consistency in associating genetic differences present in the Gerreidae family with the events during the Isthmus of Panama formation.

**Key words:** Gerreidae, molecular taxonomy, phylogeny; DNA; America.

## INTRODUCCIÓN

---

Históricamente, los estudios especializados en distinguir o delimitar y clasificar tanto especies de peces marinos como de otros grupos, se han realizado con base en las características morfológicas y merísticas de los organismos. Sin embargo, la plasticidad fenotípica puede enmascarar los rasgos utilizados en las descripciones, lo cual daría como resultado diagnósticos erróneos (Rosso *et al.*, 2012). De igual forma, las especies crípticas (*sensu* Bickford *et al.*, 2007) o aquellos organismos cuyas características fueran distintas a través de las diferentes etapas de su vida, podrían aumentar la confusión al momento de querer delimitar a las especies (Rosso *et al.*, 2012).

En la última década, la tecnología desarrollada para poder secuenciar el Ácido desoxirribonucleico (ADN) ha permitido que se incremente el número de investigaciones que emplean herramientas moleculares. Éstas proporcionan datos adicionales cuyos resultados han tenido importantes implicaciones en el ámbito taxonómico y sistemático de peces marinos, lo que ha supuesto el advenimiento de una nueva filogenia molecular (Hebert *et al.*, 2003; Meier, 2008; Benigno, 2013).

Dichas herramientas han permitido el establecimiento de límites entre especies cuyas características externas impiden que sean diferenciadas o que no sea posible vislumbrar una clara y evidente separación entre ellas (por ejemplo en el caso de las especies crípticas *sensu* Bickford *et al.*, 2007). También, han permitido agrupar organismos que se pensaba que no tenían relación entre sí por presentar formas o características diferentes, pero que en realidad pertenecen a un mismo grupo (*e.g.* *Anguilla huangi* y *Anguilla luzonensis* en Watanabe *et al.*, 2013).

La amplia gama existente de herramientas y técnicas moleculares aportan una gran cantidad de información en conjunto con las técnicas clásicas (características morfológicas y merísticas), las cuales pueden ser aplicadas en diferentes niveles taxonómicos, (desde poblaciones hasta órdenes), abarcando cualquier intervalo de

edad de los organismos (e.g. huevos, larvas, alevines y adultos). De igual forma, las técnicas y métodos para su obtención e interpretación son muy diversas y numerosas (e.g. Ferguson & Thorpe, 1991; Meyer, 1993; Carvalho & Pitcher, 1995; Hillis *et al.*, 1996; Ferraris & Palumbi, 1996; Kocher & Stepien, 1997).

Estas características y ventajas propias del uso de las herramientas moleculares en el análisis taxonómico y sistemático de los peces marinos, han demostrado que los datos moleculares son de gran utilidad en aquellos taxa donde los caracteres morfológicos externos no son lo suficientemente resolutivos y representan dificultades en casos donde las especies tienen una morfología muy similar (Bernardi *et al.*, 2004; Byrkjedal *et al.*, 2007; Tavera-Vargas, 2012). Esta situación también la presentan los organismos pertenecientes a la familia Gerreidae, motivo por el que se desarrolla el presente trabajo.

Debido a lo anterior, se resalta la aplicación de protocolos moleculares considerando aspectos de taxonomía tradicional o clásica, con el objetivo de integrar la mayor cantidad de aspectos e información posible (taxonomía integrativa) para obtener la llamada evidencia total, la cual permite perfeccionar las hipótesis sobre el entendimiento del origen y la evolución de las especies.

### **Familia Gerreidae**

La familia Gerreidae es un grupo de peces conocido comúnmente como mojarras pertenecientes al orden de los Perciformes (Nelson, 2006). Los gerreidos se caracterizan por ser organismos pequeños y de color plateado (<50 cm de Longitud Total, LT). Presentan una boca extremadamente protráctil, una vaina escamosa en la aleta dorsal y anal, cuentan de IX a X espinas y 9 a 17 radios en la aleta dorsal, radios branquióstegos libres y aleta caudal fuertemente ahorquillada. Algunas especies presentan barras verticales o longitudinales en los costados, aletas pares e impares con puntuaciones incoloras, oscuras o amarillas (Castro-Aguirre, 1978; Aguirre-León & Yáñez-Arancibia, 1984; Fig. 1).

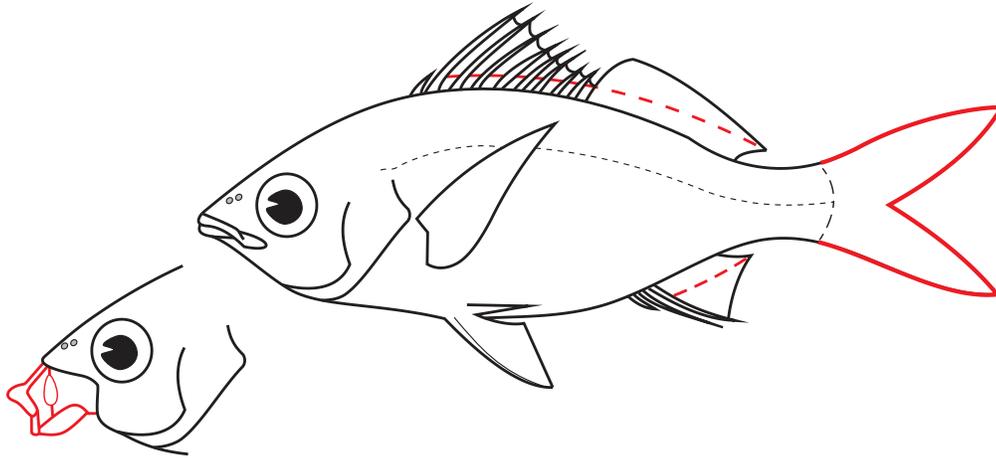


Figura 1.- Esquema que muestra las principales características de los organismos pertenecientes a la familia Gerreidae, resaltadas en rojo (Boca protráctil, vaina escamosa en aleta dorsal y anal y aleta caudal ahorquillada). Modificada de Aguirre-León & Yáñez-Arancibia, 1984.

Las mojarras conforman uno de los grupos más representativos de los sistemas acuáticos tropicales y subtropicales del mundo. Si bien son consideradas como especies marinas, comúnmente se les encuentra en zonas costeras, estuarios de aguas salobres y fondos blandos, lagunas hipersalinas y bahías, a excepción de la especie *Eugerres mexicanus* la cual es considerada la única del grupo de origen dulceacuícola (Matheson & McEachran 1984; Castro-Aguirre *et al.*, 1999; De La Cruz-Agüero, 2001; González-Acosta, 2005). De acuerdo con Ayala-Pérez *et al.* (2003) estos peces representan más del 90% de la abundancia total en ambientes estuarinos. Su alta abundancia es aprovechada en México por la pesca comercial y representa un ingreso aproximado de 18 millones de pesos, con una producción anual de 1,159 toneladas (CONAPESCA, 2014). Se ha registrado en los últimos años, que las capturas anuales promedio han alcanzado las 9,000 toneladas métricas, por lo que este recurso pesquero artesanal es considerado como importante en el país (FAO, 2007; FAO, 2011, Valle-López, 2014).

Para la familia Gerreidae se ha reconocido la existencia de más de 50 especies agrupadas en 8 géneros (*sensu* Eschmeyer, 2015): *Gerres*, *Parequula*, *Pentaprion*, *Diapterus*, *Eucinostomus*, *Eugerres*, *Ulaema*, *Deckertichthys*; el último

de ellos establecido recientemente (Vergara-Solana *et al.*, 2014). Sin embargo, el número de taxa así como su *estatus* taxonómico pudiera variar según el autor debido a que existen especies nominales las cuales no han sido revisadas, incluyendo algunos géneros. Por tal motivo, la validez de algunas especies en particular permanece cuestionable, así como la incertidumbre de su pertenencia a la familia (De La Cruz-Agüero *et al.*, 2012a): *Ulaema lefroyi* (Goode, 1874); *Eucinostomus havana* (Nichols, 1912); *Eugerres periche* (Evermann *et Radcliffe*, 1917).

La problemática taxonómica y la incertidumbre sobre la validez de algunas especies en la familia Gerreidae, es el resultado de que los organismos que lo integran presentan morfologías muy similares. Esto plantea la duda si en algunos casos éstas deban integrar una sola especie con morfotipos diferentes o si deban ser consideradas como especies crípticas (e.g. Tapia-García & Ayala-Pérez, 1996). La escasa diferenciación morfológica se debe principalmente a que: a) existen en algunas especies traslapes en sus caracteres diagnósticos; b) las descripciones son breves y limitadas; c) en algunos grupos los ejemplares tipo están en mal estado o fueron extraviados. A todo lo anterior se suma el hecho de que la mayoría de las revisiones taxonómicas que se han llevado a cabo sobre algunos géneros no han sido publicadas de manera formal (e.g. Curran, 1942; Zahuranec, 1967; Matheson, 1983; Burnes-Romo, 2009).

Los análisis morfológicos previos en esta familia han mostrado que existen fuertes niveles de similitud entre algunas especies presentes en ambas cuencas del continente americano (e.g. De La Cruz-Agüero, 2013; Vergara-Solana *et al.*, 2014). Por otra parte, se considera que la presencia de la masa continental representa una barrera geográfica que limita el flujo genético interespecífico, por lo que en estos organismos cabría esperar una divergencia genética mayor entre aquellas especies separadas por tal barrera geográfica que la encontrada en especies cohabitantes de cada uno de los océanos. Debido a lo anterior, el análisis de las divergencias genéticas de estas especies resultaría de gran interés para perfeccionar los esquemas taxonómicos de la familia y así posteriormente poder establecer hipótesis

filogénéticas y biogeográficas que permitieran una mejor comprensión de la historia evolutiva de este grupo.

### **Estatus taxonómico de las especies de la familia Gerreidae en América**

El amplio cuestionamiento de la validez taxonómica, así como el rango de distribución de las especies de gerreidos presentes en el continente americano, ha impuesto cambios nomenclaturales hasta del estatus taxonómico de la familia y actualmente continúa siendo tema de debate entre los expertos.

Si bien permanece la incertidumbre taxonómica sobre algunos grupos de la familia, actualmente se reconoce la presencia de cinco géneros de gerreidos en costas del Pacífico y cuatro géneros en el Atlántico Americano. Se comparten en ambos océanos los géneros *Diapterus*, *Eucinostomus*, *Gerres* y *Eugerres*, en el Atlántico solo se distribuye *Ulaema* y para el Pacífico sólo *Deckertichthys* (*sensu* Vergara-Solana *et al.*, 2014).

Los géneros *Diapterus*, *Deckertichthys* y *Eugerres* se distinguen por presentar el margen del preopérculo notablemente aserrado. Pero a diferencia de *Diapterus* y *Deckertichthys* que poseen un preorbital liso, *Eugerres* también presenta el preorbital aserrado. Por su parte, *Deckertichthys* se distingue de *Diapterus* por presentar un cuerpo ovoide y las aletas dorsales separadas, mientras que las especies de *Diapterus* son de forma romboidal y las aletas dorsales no se separan (Castro-Aguirre *et al.*, 1999; Vergara-Solana *et al.*, 2014).

Por su parte los géneros *Eucinostomus* y *Gerres*, presentan un preopérculo con borde liso. Se distinguen entre si, debido a que la forma y el tamaño del cono interhemal en *Eucinostomus* conforma un divertículo alargado que recibe el extremo posterior de la vejiga gaseosa, además de que la coloración del cuerpo es uniforme sin presencia de bandas en el cuerpo como se encuentran en *Gerres* (De La Cruz-Agüero, 2001). El género *Ulaema* a su vez se caracteriza del resto por presentar un

número menor de espinas en la aleta anal y por la forma y grado de fusión del cono interhemal (De La Cruz-Agüero, 2001).

### Género *Eucinostomus*

El género *Eucinostomus* es considerado como el grupo más complejo y problemático, taxonómicamente hablando, dentro de la familia Gerreidae (Matheson y McEachran, 1984; De La Cruz-Agüero & Galván-Magaña, 1993). Este género fue establecido hace aproximadamente 160 años por Spencer F. Baird y Charles Girard (Baird, 1855: 334). Desde entonces la composición específica del mismo ha sido modificada desde su diagnosis, la cual se realizó con base en ejemplares de *Eucinostomus argenteus*, Baird y Girard (Baird, 1855).

En el caso particular de la especie *Eucinostomus lefroyi*, la cual fue descrita en 1874 por George Brown Goode como *Diapterus lefroyi*, existe incertidumbre en cuanto a su pertenencia dentro del género. Curran (1942) demostró la integridad de *lefroyi* ubicándola dentro de un género monotípico *Ulaema*, el cual es considerado como válido en la actualidad (*sensu* Froese & Pauly, 2014). Sin embargo, esta especie es asignada también con frecuencia por diversos autores dentro de *Eucinostomus* (ver De La Cruz-Agüero, 2001).

Actualmente, se reconocen como válidas diez especies de *Eucinostomus* (*sensu* Froese & Pauly, 2014). Particularmente, la identidad taxonómica de *Eucinostomus harengulus* (especie descrita en 1879 por George Brown Goode & Tarlerton Hoffman Bean) ha sufrido modificaciones a lo largo del tiempo (e.g. Curran, 1942; Matheson y McEachran, 1984; De La Cruz-Agüero, 2001), por lo que hasta el momento no se cuenta con la evidencia suficiente que sustente su reconocimiento como especie válida (ver De La Cruz-Agüero, 2001). Debido a lo anterior, las especies del género *Eucinostomus* consideradas en el presente trabajo corresponden solo a aquellas presentadas en la Tabla 1.

Tabla 1.- Especies consideradas como válidas para el género *Eucinostomus* analizadas en el presente trabajo. Las letras indican su distribución en las costas de América: A= Atlántico, P=Pacífico.

Género	especie	Autor	Estatus taxonómico	Distribución
<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Baird et Girard, 1855	Válida	A
<i>Eucinostomus</i>	<i>currani</i>	Zahuranec, 1980	Válida	P
<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	(Gill, 1863)	Válida	P
<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	Zahuranec, 1980	Válida	P
<i>Eucinostomus</i>	<i>gracilis</i>	(Gill, 1862)	Válida	P
<i>Eucinostomus</i>	<i>gula</i>	(Quoy et Gaimard, 1824)	Válida	A
<i>Eucinostomus</i>	<i>havana</i>	(Nichols, 1912)	Válida	A
<i>Eucinostomus</i>	<i>jonesii</i>	(Günther, 1879)	Válida	A
<i>Eucinostomus</i>	<i>melanopterus</i>	(Bleeker, 1863)	Válida	A

### Género *Eugerres*

Las especies del género *Eugerres*, el cual fue descrito por Jordan et Evermann en 1927, presentan, al igual que los demás grupos de la familia Gerreidae, una problemática taxonómica debido a las características merísticas y morfológicas utilizadas en su diagnosis (Castro-Aguirre, 1978; Matheson, 1983; Castro-Aguirre et al., 1999). Como en el caso del género *Eucinostomus*, dichas características morfológicas conllevan a que las especies dentro del género sean confundidas y se realicen determinaciones erróneas, particularmente en organismos en etapas larvarias y juveniles (González-Acosta, 2005).

De las siete especies válidas del género *Eugerres* (*sensu* Froese & Pauly, 2014) consideradas para este trabajo (Tabla 2), por lo menos seis de ellas presentan confusión en su taxonomía, nomenclatura y distribución (*e.g.* *Eugerres axillaris*-*Eugerres lineatus*, *Eugerres awlae*-*Eugerres-plumieri*, *Eugerres mexicanus*-*Eugerres-castroaguirrei*).

Cabe mencionar que dentro de este género se clasifica a las únicas dos especies de la familia que presentan una distribución exclusiva de ambientes

dulceacuícolas: la mojarra blanca o mexicana *Eugerres mexicanus* (Steindachner, 1863) y la especie descrita recientemente *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013, cuya rango de distribución se limita al río Grijalva-Usumacinta en el sureste de México y norte de Guatemala (González-Acosta & Rodiles-Hernández, 2013).

Tabla 2.- Especies consideradas como válidas para el género *Eugerres* analizadas en el presente trabajo. Las letras indican su distribución en las costas de América: A= Atlántico, P=Pacífico, GU=Río Grijalva-Usumacinta.

Género	especie	Autor	Estatus taxonómico	Distribución
<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	Schultz, 1949	Válida*	A
<i>Eugerres</i>	<i>axillaris</i>	(Günther, 1864)	Válida	P
<i>Eugerres</i>	<i>brasilianus</i>	(Cuvier, 1830)	Válida	A
<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	(Humboldt, 1821)	Válida	P
<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	(Steindachner, 1863)	Válida	GU
<i>Eugerres</i>	<i>plumieri</i>	(Cuvier, 1830)	Válida	A
<i>Eugerres</i>	<i>castroaguirrei</i>	González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013	Válida	GU

\*De acuerdo a Eschmeyer, 2015.

### Género Gerres

El nombre *Gerres* fue utilizado por primera vez por el naturalista francés Georges Cuvier (1769-1832). Su denominación hacía referencia a un nombre latinizado y coloquial hecha por los romanos para referirse a una cierta clase de peces que se presume pudieran corresponder a aquellos de la familia Centranchantidae (véase De La Cruz-Agüero, 2001). Posteriormente, en 1824 los naturalistas franceses Jean René Constant Quoy (1790-1869) y Joseph Paul Gaimard (1796-1858) toman el nombre de una obra de Cuvier para describir a unos peces provenientes de Brasil (De La Cruz-Agüero, 2001). Sin embargo, es hasta 1963 cuando el nombre derivado de *Gerres* se aplicó de manera formal para aquellos

organismos clasificados dentro de la familia Gerreidae, siendo a su vez *Gerres* el género tipo (De La Cruz-Agüero, 2001; Burnes-Romo, 2009).

De manera general, se reconocen 28 especies válidas dentro del género *Gerres* a nivel mundial (*sensu* Froese & Pauly, 2014). Sin embargo, en el continente americano persiste la problemática taxonómica sobre si se trata de un grupo monotípico con una especie de distribución anfiamericana, *Gerres cinereus* (Walbaum, 1792), o considerar a *Gerres similius* Regan, 1907, confinada a las costas del Pacífico, como una especie totalmente distinta de *G. cinereus*. Al respecto se menciona incluso de la posible existencia de un complejo de especies en *G. cinereus* (e.g., Matheson, 1983; Antuna-Mendiola *et al.*, 2003; Nelson *et al.*, 2004).

La revisión taxonómica más reciente sobre el estatus de *Gerres cinereus* en América, se realizó en el 2009 (véase Burnes-Romo, 2009), y aun cuando sus resultados llevaron a concluir que el nombre propuesto de *G. simillimus* Regan, 1907 para los organismos de la vertiente Pacífico debería ser considerado como válido, Burnes-Romo (2009; pág. 68) finalmente menciona que "...es necesario llevar a cabo la formalización de las conclusiones vertidas en el presente trabajo apoyadas en análisis osteológicos y genéticos, por medio de una publicación formal para que esta aseveración sea considerada por la comunidad científica y reconocida en la literatura ictiológica." Debido a lo anterior, la especie perteneciente al género *Gerres* considerada en este trabajo corresponde a la mostrada en el Tabla 3.

Tabla 3.- Especies consideradas como válidas para el género *Gerres* analizadas en el presente trabajo. Las letras indican su distribución en las costas de América: A= Atlántico, P=Pacífico.

Género	especie	Autor	Estatus taxonómico	Distribución
<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	(Walbaum, 1792)	Válida	A/P

### Género *Diapterus*

El género *Diapterus* fue descrito por Ranzani en 1842 y posteriormente re-diagnosticado por Jordan *et* Evermann en 1927. Al igual que los otros géneros clasificados dentro de los gerreidos, las especies de *Diapterus* han presentado problemas taxonómicos y nomenclaturales, los cuales se han ido resolviendo en la última década, aun cuando el establecimiento del género fue hace más de 100 años. Tal es el caso de la validez taxonómica de *Diapterus brevirostris* (Sauvage, 1879), respecto a si debía ser considerada como sinónima de *Diapterus peruvianus* (Cuvier, 1830), y cuya incertidumbre fue esclarecida hace apenas siete años con el trabajo de González-Acosta y colaboradores (2007).

Dentro de este contexto, se considera que *Diapterus* está compuesto por tres especies (*sensu* Eschmeyer, 2015; Vergara-Solana *et al.*, 2014) distribuidas en el continente americano (Tabla 4).

Tabla 4.- Especies consideradas como válidas para el género *Diapterus* analizadas en el presente trabajo. Las letras indican su distribución en las costas de América: A= Atlántico, P=Pacífico.

Género	especie	Autor	Estatus taxonómico	Distribución
<i>Diapterus</i>	<i>auratus</i>	Ranzani, 1842	Válida	A
<i>Diapterus</i>	<i>brevirostris</i>	(Sauvage, 1879)	Válida	P
<i>Diapterus</i>	<i>rhombeus</i>	(Cuvier, 1829)	Válida	A

### Género *Deckertichthys*

Derivado de la revisión taxonómica del género *Diapterus* por medio de análisis morfológicos y moleculares realizada por Vergara-Solana en el 2012 y la evidencia morfológica, osteológica y molecular existente (e.g. Deckert, 1973; Deckert & Greenfield, 1987; Bianchi, 1991; Castro-Aguirre *et al.*, 1999; López-Peralta & Arcila 2002; Ruiz-Carus & Uribe-Alcocer, 2003, 2004; Díaz-Ruiz *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007; De La Cruz-Agüero & Chollet-Villalpando, 2012; De La Cruz-Agüero *et al.*, 2012a), fue posible concluir y soportar de manera robusta que la especie *Diapterus*

*aureolus* (Jordan *et* Gilbert, 1882) (*sensu lato*) debía constituir un género nuevo totalmente diferente a *Diapterus*, por lo que en Marzo del 2014, se asigna de manera formal el género monotípico *Deckertichthys* y la especie tipo que lo representa *Deckertichthys aureolus* (Jordan *et* Gilbert 1882) (véase Vergara-Solana, *et al.* 2014).

El género *Deckertichthys* redefinido por Vergara-Solana y colaboradores (2014) lleva su nombre en honor a Gary Dennis Deckert, por su contribución al estudio de la familia Gerreidae y porque fue el primero en reconocer el carácter distintivo del taxón. Derivado de lo anterior, en el presente trabajo se considera a dicho género y especie como válido dentro de la clasificación de la familia (*sensu* Eschmeyer, 2015; Froese & Pauly, 2014; Tabla 5).

Tabla 5.- Especies consideradas como válidas para el género *Deckertichthys* analizadas en el presente trabajo. Las letras indican su distribución en las costas de América: P=Pacífico.

<b>Género</b>	<b>especie</b>	<b>Autor</b>	<b>Estatus taxonómico</b>	<b>Distribución</b>
<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	(Jordan <i>et</i> Gilbert, 1882)	Válida	P

## ANTECEDENTES

---

La amplia gama de herramientas moleculares que existe, así como de los métodos y modelos que se utilizan para la interpretación de los resultados derivados de su aplicación, han permitido que sean importantes auxiliares en la resolución de problemas taxonómicos y sistemáticos tanto en peces como en otros organismos (Avice, 2004).

Existen diversos estudios cuyos resultados son el reflejo de la aplicación de protocolos moleculares y los cuales se han llevado a cabo en diferentes grupos de peces marinos, desde elasmobranchios hasta diversos grupos de teleósteos. Bajo este contexto podemos mencionar el trabajo realizado por Stelbrink *et al.* (2010) quienes analizaron las relaciones inter-específicas del género *Squatina* (tiburón angelito). Los autores realizaron la reconstrucción filogenética con base en el marcador COI y 16SrRNA obtenido a partir de muestras de 17 especies de las 22 descritas para el género. Adicionalmente usaron puntos de calibración geológicos y fósiles para estimar los tiempos de divergencia entre las especies de *Squatina* y de esta forma contrastar los patrones biogeográficos de las especies inferidas en el grupo. Sus resultados mostraron una distancia intergenérica (*Squalus–Squatina*) entre el 14.8% y 18.3%. Los análisis permitieron concluir que el género *Squatina* es un grupo monofilético y que algunos de los clados reconocidos en el análisis pudieron ser el resultado del cierre del Mar de Tetis, mientras que otros están relacionados al cierre del Istmo de Panamá, ya que el análisis del reloj molecular mostró que la divergencia entre ambos linajes coincide con el tiempo estimado de esos dos eventos geológicos.

Por su parte, Vélez-Zuazo y Agnarsson (2011) analizaron las relaciones filogenéticas de 229 especies de tiburones (los ocho órdenes y 31 familias descritas del mundo) con base en cuatro marcadores de ADNmt (COI, Cytb, 16S y NADH-2) y un marcador de ADNn (Rag1). La hipótesis filogenética propuesta por los autores bajo inferencia bayesiana concordó con estudios previos sobre la filogenia de los

tiburones, sin embargo, también mostró diferencias en diversos aspectos con respecto a otros estudios moleculares recientes. Su principal aporte fue rechazar la hipótesis que incluye al grupo de los batoideos dentro de los tiburones. Si bien el trabajo realizado por Vélez-Zuazo y Agnarsson contempla el mayor número de especies de tiburones dentro de su análisis, en comparación con trabajos previos, no estima tiempos de divergencia ni realiza un análisis detallado en cuanto a los patrones de divergencia observados en ese grupo, así como no se resuelven algunas discrepancias observadas en los clados que no concuerdan con los esquemas taxonómicos del grupo.

Algunos de los trabajos realizados en el grupo de los teleósteos, incluyen el de Lakra y colaboradores (2009), quienes analizan las relaciones filogenéticas entre las especies de importancia comercial de los sciaenidos de la India, así como una identificación específica a partir de secuencias parciales de COI y 16S rRNA. Sus resultados en general mostraron una fuerte correlación con la sub-división taxonómica previamente propuesta para el grupo analizado. Las divergencias genéticas estimadas con ambos marcadores moleculares obtenidas mediante el modelo de K2P fueron suficientes para discriminar entre los individuos de las diferentes especies de sciaenidos. Los autores mencionan que los valores encontrados corresponden con aquellos registrados en otros grupos de la misma familia tanto para 16SrRNA (4.8% - 15.3%) como para los registrados en COI en otros teleosteós (1.04 to 20.63%) y permiten sugerir que una de las especies podría ser considerado como un género distinto al que pertenece nominalmente.

Agorreta *et al* (2013) utilizaron tres marcadores moleculares de ADNmt (cytb, 16S y atp6-8) y dos de ADNn (actB y S7) para la reconstrucción filogenética del género *Pseudoxiphophorus*. Los resultados de los autores mostraron fuertes discrepancias con la hipótesis morfológica propuesta previamente para el grupo. La estimación de los tiempos de divergencia entre las especies del género *Pseudoxiphophorus* fue calibrada con base en la edad de un evento geológico (el cierre final del cinturón volcánico trans-mexicano) ocurrido hace 5-11 millones de

años. Los autores mencionan que pudieron generar evidencia la cual sugiere que el género *Pseudoxiphophorus* está constituido por múltiples linajes, algunos de ellos representan nuevas especies independientes las cuales requieren de una descripción formal, destacando la necesidad de una revisión taxonómica mayor. La alta diversidad observada en el grupo pudo ser originada como resultado de diversas fluctuaciones en el nivel del mar así como glaciaciones continentales durante el Plioceno y Pleistoceno, lo que permitió el surgimiento de la diversidad de linajes de estos pecílidos. Si bien se trata de un grupo dulceacuícola, este tipo de metodologías pudieran servir de ejemplo para la aplicación de las mismas en otros grupos de peces como los marinos.

Uno de los trabajos que destaca, es el realizado por Tavera-Vargas (2012), quien examina las relaciones filogenéticas de la familia de peces marinos Haemulidae a partir de cinco marcadores moleculares (tres de origen mitocondrial y dos nucleares) y mediante el análisis de la morfología externa de los integrantes de dicha familia. Este trabajo permite discutir resultados con importantes implicaciones para la sistemática y taxonomía de la familia Hemulidae. Los resultados obtenidos por Tavera-Vargas con respecto a las relaciones interfamiliares, mostraron una estrecha cercanía entre la familia Gerreidae y la familia Hapalogenyidae.

Por otra parte, existen trabajos que utilizan análisis moleculares para la identificación o caracterización de especies en determinadas regiones o países, los cuales incluyen entre sus especies analizadas algunos representantes de la familia Gerreidae (e.g. Valdez-Moreno *et al.*, 2010; Lakra *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2012; Weigt *et al.*, 2012; Zhang & Hanner, 2012). Sin embargo, este tipo de trabajos en su mayoría se refieren a identificaciones realizadas con base en el código de barras, los cuales no abundan en los resultados que pudieran indicar que existe discrepancia con los esquemas taxonómicos propuestos con base en características morfológicas, pero si pueden ser considerados al momento de querer contar con una referencia en cuanto a la divergencia genética intra o interespecífica que pudieran presentar los integrantes de la familia Gerreidae.

De manera particular, los trabajos enfocados al estudio de los gerreidos basados en análisis moleculares enfocados a la resolución de la filogenia o taxonomía de algunos de los miembros pertenecientes a la familia son escasos. De estos podemos destacar el de Ruiz-Carus & Uribe-Alcocer (2003), donde evaluaron la filogenia de tres especies de gerreidos (*Eucinostomus gula*, *Eugerres plumieri* y *Diapterus auratus*) por medio de alozimas y ADN mitocondrial. Dichos autores estimaron las similitudes genéticas entre estos grupos a partir de los datos obtenidos de 18 proteínas codificantes y fragmentos de ADN mitocondrial (ADNm) producidos por tres enzimas de restricción. Sus resultados mostraron que existe una cercanía entre *E. plumieri* con *D. auratus* mayor que cualquier combinación existente entre los tres taxa; concluyendo de esta forma que *Eugerres* y *Diapterus* son grupos hermanos. Estas conclusiones soportan la práctica taxonómica común de agrupar a estos dos géneros juntos por la presencia de un preopérculo aserrado. En este estudio no se incluyó un representante del género *Gerres*.

Posteriormente, Benítez-Cortés (2004) realizó un análisis de las relaciones genéticas de las especies *Eugerres lineatus*, *\*Diapterus peruvianus*, *\*Gerres simillimus*, *Eucinostomus dowii* y *\*Ulaema lefroyi* de los géneros de la subfamilia *\*Gerreinae* (\*sic). La mayor similitud que este autor observó fue entre *Eugerres lineatus* y *Diapterus peruvianus*. Debido a que la muestra de *Ulaema lefroyi* estaba fijada en formol no se pudo amplificar el ADNmt. El autor concluye que estos elementos permiten soportar la monofilia de las especies analizadas.

En el 2006, Chakraborty y colaboradores, publicaron los resultados sobre la comparación de una porción del 16SrRNA entre dos morfotipos de coloración de *Gerres erythrourus* (tipo amarillo y tipo blanco) distribuidos en las islas japonesas de Ryukyu y otras áreas del Indo-Pacífico. El grado de diferenciación genética entre sus secuencias, registrado entre un rango del 4.1% - 4.7%, así como los análisis filogenéticos y el rango de distribución, llevaron a la conclusión de que ambos morfotipos debían corresponder a dos especies y no a una.

Por su parte, Chen *et al.* (2007) realizaron un estudio filogenético de la familia Gerreidae con base en secuencias de cuatro genes, dos mitocondriales (12SrRNA y 16SrRNA), y dos nucleares (Rodopsina y RAG1). Para esto consideraron cuatro géneros de la familia distribuidos en el Atlántico y de manera adicional incluyeron 39 especies representativas de la serie Percomorfa. Los resultados filogenéticos confirmaron la monofilia de la familia Gerreidae y sugirieron la división de la misma en dos sub grupos (*Diapterus-Eugerres* y *Eucinostomus-Gerres*), lo cual corresponde con el arreglo taxonómico establecido anteriormente con base en la forma del borde preopercular.

Con base a la información proporcionada por el análisis de cuatro genes mitocondriales (COI, 16SrARN, 28SrARN y el Cyt b), Asgharian y colaboradores (2010) propusieron que la especie nominal *Gerres filamentosus* del Parque Nacional Nayband representa un complejo que comprende dos especies distintas pero cercanamente relacionadas. Los niveles de divergencia genética registrados por los autores entre los dos linajes mostraron valores más altos que los usualmente considerados como indicadores de la existencia de nuevas especies (*e.g.* 12.5% para COI). Resaltan también las ventajas del uso de múltiples marcadores moleculares en la taxonomía, la necesidad de un mayor número de muestras, así como la necesidad de otros protocolos morfológicos y moleculares que permitan un mejor análisis de la especie analizada, así como el requerimiento en general de una mejora en los protocolos para la amplificación de ADN de muestras almacenadas.

Cázarez-Carrillo (2011) realizó la descripción de la larva de *Eucinostomus jonesii* mediante métodos morfológicos, osteológicos y genéticos. Por medio de esta técnica molecular, logró la identificación larvaria de seis especies de la familia Gerreidae *Eucinostomus jonesii*, *E. gula*, *E. argenteus*, *E. melanopterus*, *Gerres cinereus* y *Euguerres plumieri*, cuyas muestras fueron recolectadas en cuatro localidades de las costas de la Península de Yucatán. El porcentaje de divergencia genética considerado para la delimitación específica fue del 3% y fue estimado bajo el modelo de Kimura dos parámetros (K2P). Este trabajo corresponde a una tesis, el

cual hasta el momento no ha sido publicada de manera formal y en la que no se discuten algunos detalles del dendograma, como la separación de las especies de gerreidos propuesto por la autora. Además, se observa que algunos organismos no pudieron ser determinados taxonómicamente y que representan linajes distintos a las seis especies analizadas por la autora (e.g. *E. cff. gula*).

Posteriormente, Miranda-Marín (2014) realiza un análisis molecular con el fin de contrastar la hipótesis filogenética sustentada en análisis morfológicos que sugiere que el género *Eugerres* es un grupo monofilético. Para lo cual, analizó muestras provenientes de algunos puntos del Pacífico oriental tropical (POT), Atlántico occidental tropical (AOT) y de ambientes dulceacuícolas de la región sureste de México. Los resultados obtenidos mediante el análisis de 61 secuencias parciales del COI, de las cuales siete secuencias de *Eugerres brasilianus* y *Eucinostomus currani* fueron obtenidas del Sistema de Código de Barras de la Vida (BOLD System), no permitieron determinar claramente la monofilia del género *Eugerres*, si no que sugiere la hipótesis de que el género constituye un grupo parafilético-polifilético (*sic*), en donde el componente dulceacuícola manifiesta un origen evolutivo independiente con relación al grupo de especies de distribución marino-estuarina. Dicha conclusión permite a la autora sustentar la idea de ubicar al componente dulceacuícola como una entidad supraespecífica diferente a la cual esta asignado. De igual forma, los análisis de las distancias genéticas permitieron la determinación taxonómica de las especies del género *Eugerres*, con excepción de *E. mexicanus* y *E. castroaguirrei*, especies de las cuales no se obtuvo evidencia de diferenciación genética en dicho trabajo. Este análisis corresponde a una tesis que no cuenta con una publicación arbitrada de manera formal hasta el momento.

Recientemente, Vergara-Solana y colaboradores (2014) evaluaron la taxonomía y filogenia del género *Diapterus* mediante morfometría geométrica y datos moleculares con base en cuatro marcadores (12SrRNA, 16SrRNA, COI y RAG1). Distinto a los esquemas taxonómicos previos, los autores soportan que *Diapterus* se encuentra representado por un grupo polifilético debido a que las divergencias entre

*D. aureolus* (*sensu lato*) y las otras especies del género fueron muy elevadas. Considerando lo anterior, se propuso separar a esta especie del género *Dipaterus* y en consecuencia nombran un nuevo género monotípico *Deckertichthys* y designan al neotipo *Deckertichthys aureolus*. La divergencia genética observada entre las especies hermanas *D. brevirostris* y *D. rhombeus*, las cuales se distribuyen en cuencas distintas (Pacífico - Atlántico, respectivamente), permitieron a los autores sugerir que la especiación dentro de este género pudo haber ocurrido antes del último surgimiento del Istmo de Panamá hace aproximadamente 3.2 millones de años (a.m.).

Si bien existen trabajos enfocados en analizar algunos aspectos básicos de la biología de la familia Gerreidae tales como su alimentación (Chávez-Comparán & Hamman, 1989; Branco *et al.*, 1997; Denadai *et al.*, 2012), distribución (Araújo & Santos, 1999; Ayala-Pérez *et al.*, 2001; Pontes-Franco *et al.*, 2011) reproducción (Iqbal *et al.*, 2007; Kanak & Tachihara, 2008; Hernández-Gómez *et al.*, 2013) entre otros; son escasas las revisiones taxonómicas que se han realizado en los grupos de gerreidos distribuidos en América, de entre las que se destacan las revisiones morfológicas hechas por Curran (1942), Zahuranec (1967), Matheson & McEachrean (1984), De La Cruz-Agüero (2001), González-Acosta (2005), Burnes-Romo (2009). Es de resaltar que la mayoría de estas revisiones no han sido publicadas de manera formal y corresponden a disertaciones de maestría o doctorado. De este esfuerzo de investigación se han podido re-describir algunas especies que presentaban confusión taxonómica con sus congéneres.

Dentro de este contexto, González-Acosta & Rodiles-Hernández (2013) describieron una nueva especie cuya distribución se restringe al río Grijalva-Usumacinta en el sureste de México y norte de Guatemala. De acuerdo a los autores, las dos únicas especies de origen dulceacuícola de la familia Gerreidae, *E. mexicanus* y *E. castroaguirrei*, se distinguen de sus congéneres marinos por presentar el origen de la aleta dorsal en posición posterior a la inserción de las aletas pectorales y por qué el borde de la cresta supraoccipital es más corta. A su vez, los

autores mencionan que es posible distinguir a la nueva especie por una cierta combinación de características merísticas y morfológicas (e.g. longitud de la segunda espina dorsal, longitud de la segunda espina anal, diámetro ocular, etc.). Sin embargo, el escrito no incluye una clave dicotómica de identificación que permita discriminar fácilmente entre estas dos entidades. De igual forma, las características que sirven de diagnóstico para *E. castroaguirrei*, no permiten una delimitación clara y sencilla con respecto a *E. mexicanus*, ya que existe superposición entre ellas. Dentro de este contexto, la aplicación de técnicas moleculares permitiría obtener más elementos que ayuden a clarificar el estatus de taxonómico de dicha especie.

### **Planteamiento del problema**

Los esfuerzos de trabajo en el contexto taxonómico para la familia Gerreidae actualmente se siguen realizando, debido al cúmulo de antecedentes que permiten plantear preguntas y sugerir hipótesis relevantes sobre su sistemática. Si bien este grupo ha sido abordado desde diferentes perspectivas (e.g. morfológica, osteológica y merísticamente), al presentar una gran complejidad en su sistemática es pertinente permite que la aplicación de nuevos protocolos, en este caso los moleculares, con la finalidad de que puedan aportar mayor número de elementos que soporten su taxonomía y, posteriormente, para que el grupo sea considerado como modelo filogenético en otras familias de peces marinos.

## OBJETIVOS

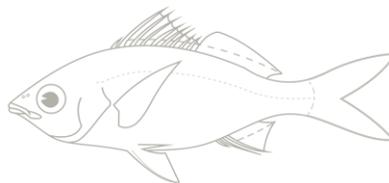
---

### General

Definir la taxonomía y filogenia de la familia Gerreidae en América con base en el análisis de cuatro marcadores moleculares (COI, 12SrRNA, 16SrRNA, RAG1).

### Particulares

- 1) Esclarecer el estatus taxonómico y nomenclatural de especies selectas de la familia Gerreidae, con base en las distancias genéticas inter e intraespecíficas.
- 2) Elaborar una hipótesis filogenética molecular que permita tener una mejor comprensión de los procesos de especiación ocurridos en América para esta familia.
- 3) Estimar los tiempos de divergencia entre las especies de la familia Gerreidae.



## METODOLOGÍA GENERAL

---

### Obtención de ejemplares

Los ejemplares analizados fueron obtenidos en muestreos realizados a lo largo de la costa del Pacífico mexicano, Golfo de México y Caribe Mexicano (Fig. 2; Anexo 1), los cuales se realizaron desde marzo del 2009 a junio 2014. Otros de los ejemplares se consiguieron de los mercados locales en diferentes estados de la República Mexicana (e.g. Veracruz, Oaxaca, Sinaloa, Baja California Sur). Adicionalmente se obtuvo material donado (organismos y tejidos) por distintas instituciones nacionales y extranjeras (Tabla 6). La intención de realizar esta estrategia de muestreo fue con el objetivo de tener muestras de distintas localidades dentro del intervalo de distribución de las especies para revisar la variabilidad intraespecífica que pudiera presentarse en cada grupo.

Tabla 6.- Nombre de las instituciones, ubicación, número de organismos donados y número de tejidos donados. na= no aplica.

Nombre de la Institución / Departamento / Responsable	Ubicación	Organismos donados	Tejidos donados
El Colegio de la Frontera Sur – ECOSUR / Dra. Martha Valdez M.	Chetumal, Q. Roo, México	na	11
Laboratorio de cefalópodos – CIBNOR / Dr. César Salinas.	La Paz, B. C. S., México	104	na
División académica multidisciplinaria de los ríos – UJAT / MC Raúl Hernández y Dra. Martha Perera.	Tenosique, Tabasco, México	26	na
Laboratorio de Biología Acuática – UMSNH / Dr. Omar Domínguez D.	Morelia, Mich., México	na	60
Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, Universidade Estadual Paulista – UNESP / Dr. Claudio Oliveira.	Botucatu, Sao Paulo, Brasil	na	18
Academy's Department of Ichthyology, California Academy of Sciences – CAS	San Francisco, California, U.S.A.	na	1

### **Determinación específica**

Los especímenes recolectados fueron determinados a nivel de especie con ayuda de un microscopio-estereoscópico Olympus® SZ61, considerando las características morfológicas descritas en claves taxonómicas especializadas (e.g. Bussing, 1995; Castro-Aguirre *et al.*, 1999; Carpenter, 2002), y en algunos casos se utilizaron las referencias diagnósticas originales (e.g. Baird, 1855; Curran, 1942; Cuvier & Valenciennes, 1830; Deckert & Greenfield, 1987).

De manera particular y debido a que no existe una clave de determinación que permita diferenciar entre las dos especies de gerreidos que se distribuyen en el Río Grijalva-Usumacinta, para poder llevar a cabo la determinación de *Eugerres castroaguirrei*, se consideraron sólo aquellos ejemplares que mostraron el mayor número de características diagnósticas no cuantificables (e.g. segunda espina dorsal deprimida se extiende hasta la base del tercer o cuarto radio de la aleta dorsal en *E. castroaguirrei* vs. segunda espina dorsal deprimida se extiende hasta la base del quinto o sexto radio de la aleta dorsal en *E. mexicanus*) y cuantificables (e.g. proporciones del cuerpo); aún cuando éstas últimas se traslapan con aquellas que caracterizan a *Eugerres mexicanus* (ver González-Acosta & Rodiles-Hernández, 2013: 309–310). Sin embargo, cabe mencionar que de las muestras analizadas, no todos los especímenes presentaron en su totalidad las características mencionadas por González-Acosta & Rodiles-Hernández (2013) como diagnósticas.

Todos los organismos fueron fotografiados por el lado izquierdo, se les tomó el peso (en gramos) con una balanza digital y fueron medidos (lontitud estándar- LS, en cm) con un ictiómetro o vernier. La información obtenida y las fotografías digitales se encuentran integradas a la base de datos general, propiedad de la Colección Ictiológica (CI) (<http://coleccion.cicimar.ipn.mx/>) del Centro Interdisciplinario de Ciencia Marinas (CICIMAR-IPN) de La Paz, Baja California Sur, México.

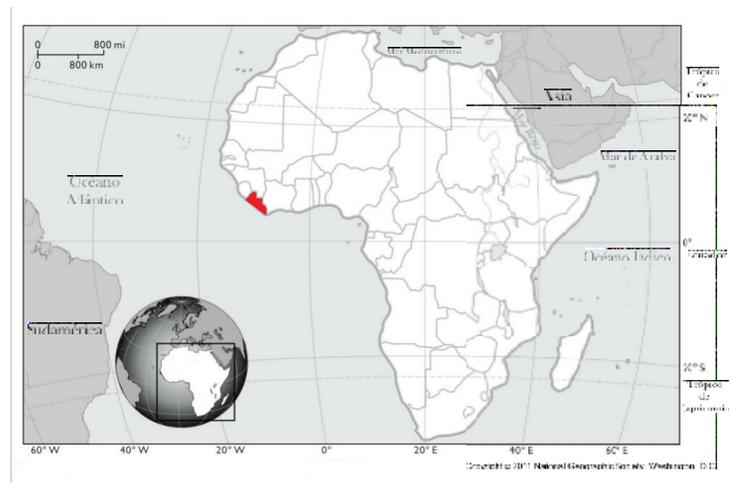
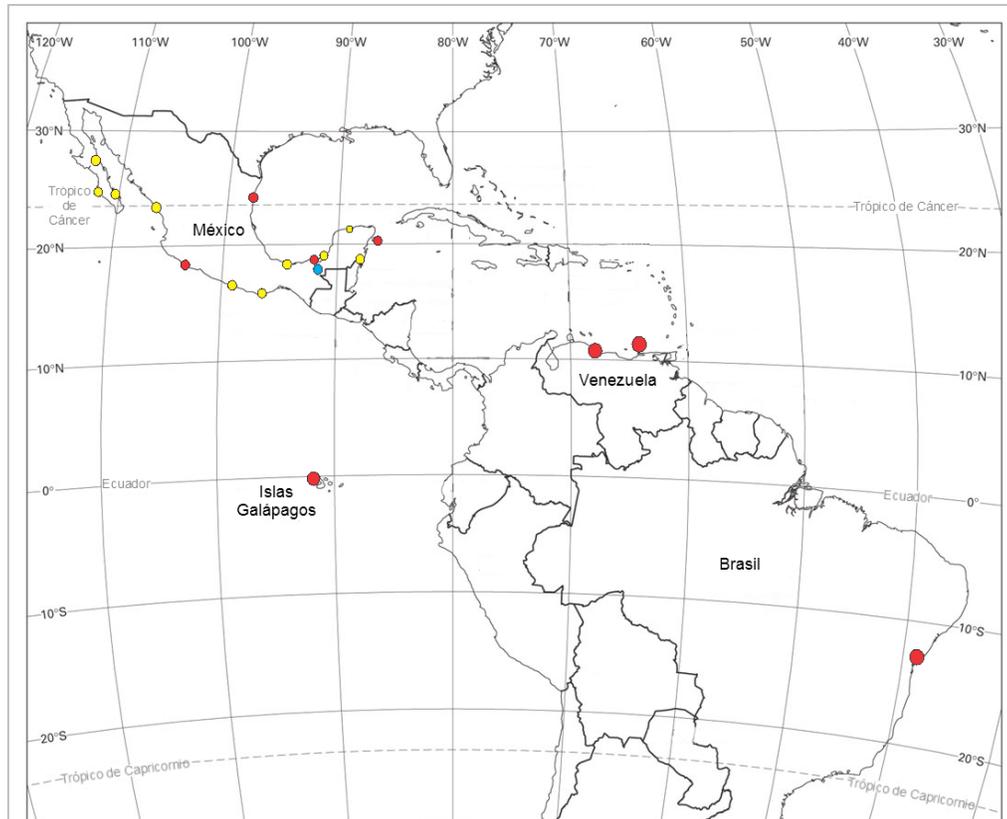


Figura 2.- Sitios de muestreo y localidades de procedencia de los organismos y tejidos analizados. Sitios de muestreos realizados por la CI (círculos en amarillo); sitios de muestro realizados por las instituciones donadoras (círculos en rojo); sitios de muestreo de las especies de origen dulceacuícola de la familia Gerreidae (círculo en azul).

## **Muestras de tejido**

De cada individuo se obtuvo un fragmento de tejido muscular del lado derecho de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>, los cuales fueron almacenados en tubos conteniendo etanol al 96%. Los organismos “*voucher*” se encuentran actualmente depositados y bajo resguardo de la Colección Ictiológica (CI) (<http://coleccion.cicimar.ipn.mx/>) del CICIMAR-IPN. Después de la obtención del tejido, dichos ejemplares fueron fijados en formol al 10% y posteriormente preservados en etanol al 50%.

## **Obtención de datos moleculares**

### Extracción de ADN

El ADN total se obtuvo a partir de una sub-muestra del tejido de cada organismo mediante el uso de un kit de extracción comercial (Qiagen® y DNAzol®), siguiendo los protocolos recomendados por los fabricantes.

### Amplificación

Se amplificaron tres fragmentos de genes mitocondriales (Citocromo Oxidasa Subunidad I - COI, 16SrRNA, 12SrRNA) y un fragmento de ADN nuclear (el exón 3 del gen activante de la recombinación - RAG1). La amplificación se realizó mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando iniciadores (*primers* o cebadores) universales para cada fragmento. Asimismo, en el presente trabajo se diseñaron dos pares de *primers* específicamente para el marcador RAG1 mediante el programa *Primer3* (Rozen & Skaletsky, 2000) (Tabla 7). Todas las amplificaciones fueron realizadas a partir de un volumen de 35 µl conteniendo lo siguiente: 1x PCR buffer (Invitrogen®, Fermentas®), 0.7 µl dNTP mix (10 mM), 0.48 µM de cada primer (*forward* y *reverse*), 4.0 µM MgCl<sub>2</sub>, 0.05 U/µl de ADN Taq polimerasa (Invitrogen®, Fermentas®), y 1.0 µl de DNA total de cada muestra. El protocolo general del termociclador fue el siguiente: para el COI la amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 94°C por 2 min, seguido de 35 ciclos, cada uno de los cuales fue a 94°C por 30 seg, 54°C por 30 seg y 72°C por 1 min; se realizó una extensión final a 72°C por 10 min. Para los segmentos 12SrRNA y 16SrRNA la amplificación consistió de una desnaturalización inicial a 94°C por 2 min, seguido de

35 ciclos, cada uno a 94°C por 1 min, 58°C por 1 min y 72°C por 1 min; y una extensión final de 72°C por 4 min. Finalmente para el RAG1, la amplificación de PCR consistió de una temperatura inicial a 95°C por 4 min, 30 ciclos integrados cada uno a 95°C por 45-50 seg, 58 a 66.5°C por 30 seg y 72°C por 1 min, con una extensión final de 72°C por 4 min. Las amplificaciones fueron confirmadas mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1% y reveladas con Gelgreen o Gelred y visualizadas mediante un foto-documentador Labnet con luz ultravioleta (UV). Para confirmar el tamaño del fragmento esperado se utilizó un marcador molecular integrado por fragmentos de ADN digeridos, cuyos tamaños fueron conocidos.

#### Secuenciación, edición y alineamiento

Todas las muestras amplificadas de manera exitosa fueron enviadas a Macrogen, Inc. en Corea del Sur, para su secuenciación en ambos sentidos empleando los mismos iniciadores utilizados para su amplificación. Las secuencias obtenidas fueron revisadas, arregladas y editadas con los programas Sequencher® v4.5 (Gene Codes Corporation, [www.genecodes.com](http://www.genecodes.com)), ChromasPro® ([www.technelysium.com](http://www.technelysium.com)) y Geneious® v5.4 (Drummond *et al.*, 2011). Posteriormente se realizó un *Blast* (búsqueda especializada) en bases de datos de secuencias en línea (*e.g.* GenBank y BoldSystem) con el fin de corroborar que la secuencia obtenida pertenecía al grupo objetivo de estudio así como que el fragmento correspondiera al gen que se pretendía amplificar

El alineamiento múltiple se llevó a cabo aplicando el algoritmo *Muscle* implementado en el programa MEGA® v5 (Tamura *et al.*, 2011). Finalmente las secuencias fueron depositadas en el GenBank (número de acceso en Anexo 2). De manera adicional se consultaron las bases de datos en línea (GenBank y BoldSystem) para determinar la pertinencia sobre el uso de algunas secuencias en el análisis preliminar realizado en el presente trabajo.

Tabla 7.- Iniciadores utilizados para la amplificación de distintos fragmentos de genes de ADNmt y ADN nuclear de especies de la Familia Gerreidae y grupos afines.

Marcador	Iniciador	Secuencia del iniciador 5' – 3'	Autor
<b>16SrRNA</b>	16Sar-L	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Palumbi, 1996
	16Sbr-H	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	
<b>12SrRNA</b>	L1091	AAAAAGCTTCAAACCTGGGATTAGATACCCCACTAT	Kocher <i>et al.</i> , 1989
	H1478	TGACTGCAGAGGGTGACGGGCGGTGTGT	
<b>COI</b>	FishF1	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	Ward <i>et al.</i> , 2005
	FishR1	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA	
	FishF2	TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC	
	FishR2	ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	
<b>RAG1</b>	DauraRAG1F1	ATCTCTGGATGGGCTTCCTC	Vergara-Solana, 2012
	DauraRAG1R1	AAAAGGGGTTGGTTCTCCAT	Vergara-Solana, 2012
	SpsiRAG1FI	TCACCAGTTTGAATGGCAGC	*
	HscuRAG1R1	CAGCGTGGGATGGGTCTC	*

\*Iniciadores diseñados durante el desarrollo del presente trabajo.

### Análisis taxonómico molecular

Una vez obtenidas las secuencias de ADN, se confirmó la identificación y determinación de las especies realizadas con base en criterios morfológicos a partir de la revisión de grupos genéticos. Éstos fueron obtenidos empleando como referencia las secuencias del COI, ya que se considera que la evolución molecular de este marcador es lo suficientemente rápida como para permitir discriminar no solo entre especies muy cercanas, sino que también permite diferenciar entre grupos filogeográficos pertenecientes a una misma especie (Cox & Hebert, 2001; Wares & Cunningham 2001). Actualmente se cuenta con una amplia gama de investigaciones desarrolladas que demuestran la utilidad de este marcador en diferentes campos de las ciencias biológicas, incluyendo la asignación de individuos a sus correspondientes grupos taxonómicos (*e.g.* Ward *et al.*, 2005; Hanner *et al.*, 2011a; Weigt *et al.*, 2012; Puckridge *et al.*, 2013), la identificación de organismos extintos o de especímenes de colecciones, detección en mercados de productos alimenticios de especies reguladas (*e.g.* Hanner *et al.*, 2011b) y de índole de conservación y

control de especies invasoras (e.g. Frankham *et al.*, 2012; Valdéz-Moreno *et al.*, 2012).

Las ventajas del análisis taxonómico molecular, es que al conocer la secuencia de un ejemplar o de cualquier muestra (incluidos huevos, larvas, juveniles o fragmentos de organismos), esta puede ser identificada al compararla con una base de secuencias referenciadas provenientes de organismos *voucher* previamente determinados por expertos (Johns & Avise, 1998).

Considerando lo anterior, las distancias genéticas dentro y entre las especies se estimaron con las secuencias parciales de los tres fragmentos de genes mitocondriales (COI, 12SrRNA, 16SrRNA) y el fragmento de ADN nuclear (RAG1), mediante la aplicación del modelo de sustitución nucleotídica Kimura dos parámetros (K2P; K80) (Kimura, 1980). Para eliminar el efecto de la variabilidad intraespecífica, se estimó la distancia genética neta, la cual estima la distancia entre dos grupos sin tomar en cuenta la diversidad nucleotídica al interior de cada uno (Tamura *et al.*, 2011). Considerando las distancias genéticas (K2P), se generaron dendogramas para cada marcador mediante el método de *Neighbour-joining* (NJ) o método del *vecino más cercano* (Saitou & Nei, 1987) con el fin de proporcionar una representación gráfica de la divergencia genética específica. La robustez de las ramas internas en cada árbol fue soportado por una prueba de remuestreo *Bootstrap* empleando 1,000 réplicas (Felsenstein, 1985). Estos análisis se realizaron con el programa MEGA® v5 (Tamura *et al.*, 2011). Considerando que el interés de este análisis fue únicamente el de soportar la determinación taxonómica, la revisión se realizó para cada uno de los géneros por separados.

### Análisis filogenéticos

Para estimar las relaciones filogenéticas de las especies de la familia Gerreidae, se consideró la elaboración de dos matrices diferentes, una de ellas para explorar las relaciones familiares del grupo de estudio, en donde se incluye solo la información de los genes mitocondriales (COI, 12SrRNA y 16SrRNA), y una segunda

matriz incluyendo los cuatro genes amplificados concatenados, mitocondriales y el nuclear. El concatenado de las secuencias se realizó con ayuda del programa BioEdit® (Hall, 1999).

Para generar estas matrices se utilizó una sola secuencia representativa de cada especie, permitiendo de esta forma analizar las relaciones al interior de la familia Gerreidae. Como grupos externos se incluyeron de manera adicional secuencias de especies pertenecientes a la familia Serranidae: *Diplectrum pacificum* Meek et Hildebrand, 1925 y *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner, 1868). La familia Serranidae ha sido considerada como uno de los grupos más cercanos a los gerreidos (*Sensu* Chen et al., 2007).

#### *Análisis de saturación*

Debido a que las mutaciones ocurren a través del tiempo, es de esperarse que las diferencias observadas entre un par de secuencias homologas se vaya incrementando de manera lineal. Sin embargo, dado que algunos sitios nucleotídicos experimentan más de una sustitución o cambio, la diferencia observada entre las secuencias se convierte en un indicador poco confiable de la divergencia real que se ha producido con el tiempo (Kocher & Carleton, 1997).

Se considera que la tasa verdadera de evolución está oculta por la ocurrencia de las múltiples sustituciones que suceden en un sitio, por lo que se deben aplicar correcciones estadísticas apropiadas para transformar las diferencias observadas a una medida que exprese el número total de cambios que han ocurrido (divergencia total o distancia evolutiva). Dichas correcciones pueden derivarse de cualquier modelo de mutación y sólo son exactas si se realizan en las primeras etapas de diferenciación (antes de que se alcance el punto en que las secuencias no pueden mostrar una mayor diferenciación o punto de saturación) y cuando se estima que todos los sitios nucleotídicos están evolucionando de acuerdo al mismo modelo de sustitución (Kocher & Carleton, 1997; Stepien & Kocher 1997).

Considerando lo anterior, como paso inicial en el análisis filogenético de este trabajo se calculó la tasa de saturación de las secuencias de cada uno de los marcadores moleculares, tanto mitocondriales como el nuclear, para lo cual se graficaron las transiciones y las transversiones de nucleótidos totales contra la distancia genética ( $p$ , K80) entre especies mediante el método de Xia implementado en el programa Dambe® (Xia & Xie, 2001). Es de esperar que la divergencia entre las secuencias no debe ser demasiado conservada ni tan divergente como para experimentar una saturación substancial; ya que esta saturación oscurece la información filogenética contenida en los datos (Xia & Lemey, 2009).

#### *Modelo de sustitución*

Como segundo paso, se procedió a elegir el modelo de sustitución que mejor se ajustara a los datos para cada uno de los genes de acuerdo con el criterio de información Bayesiana (BIC) y el criterio de Aikaike (AIC), empleando el programa jModelTest® 0.1.1 (Posada, 2008).

Dentro de este proceso, cada fragmento de ADNmt y ADNn fue analizado de manera independiente. Una vez obtenido el modelo de sustitución, se consideraron diversos valores (e.g. número de esquemas de sustitución, frecuencia de bases, tasa de variación, distribución) para ser aplicados posteriormente en el programa Mr. Bayes® v3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), lo que permitió soportar la hipótesis filogenética que mejor se ajustara a los genes dadas las condiciones de su evolución en la familia Gerreidae.

#### *Construcción de árboles filogenéticos*

Los análisis de máxima verosimilitud (*Maximum Likelihood* - ML), máxima parsimonia (MP) e inferencia Bayesiana (BI) fueron utilizados para la reconstrucción filogenética de la familia. El principio del método de ML se basa en obtener el árbol filogenético que representa la verosimilitud más alta que producen los datos observados y se calcula con base en la probabilidad de que el patrón de variación observado en una posición determinada del alineamiento haya sido producido,

teniendo en cuenta un proceso de sustitución definido (modelo evolutivo) y un árbol filogenético determinado; en pocas palabras, representa el árbol más probable (Carranza, 2002; Guerra-García *et al.*, 2008).

Por su parte, el método de MP se basa en el principio conocido como “Navaja de Occam” (Occam’s razor- formulado por William Ockham en el siglo XIV), el cual hace referencia a un tipo de razonamiento basado en una premisa muy simple: en igualdad de condiciones, la solución correcta será probablemente la más sencilla, debido a que se considera que la solución más simple requiere del menor número de suposiciones y de operaciones lógicas. Bajo este principio, en los análisis con MP el árbol filogenético que se elige es el que implica la mínima cantidad de cambios evolutivos o pasos que se requieren para explicar una determinada matriz de caracteres (Farris, 1970; Swofford *et al.*, 1996).

El método Bayesiano en lugar de buscar un árbol con la máxima similitud observada en los datos, produce una mejor serie de árboles y una probabilidad completa de distribuciones de similitud dada por los datos y el modelo evolutivo especificado (Rannala & Yang, 1996). Las aproximaciones bayesianas se basan en la probabilidad posterior de un árbol, una medida que puede ser interpretada como la probabilidad de que un árbol dado sea el que describe correctamente la historia de la muestra taxonómica que estamos estudiando (Huelsenbeck *et al.*, 2001).

Para generar los árboles de ML se utilizó el programa RAxML® v.8 (Stamatakis, 2014) con un *bootstrapping* de 1,000 repeticiones. En el caso de MP, se utilizó el programa TNT® 1.1. (Goloboff *et al.* 2003) mediante el criterio de búsqueda tradicional. Finalmente para la obtención de resultados mediante BI, se utilizó el programa Mr. Bayes® v3.2.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) el cual fue ajustado con los modelos de sustitución nucleotídica previamente estimados para cada fragmento mediante el programa jModelTest® 0.1.1 (Posada, 2008). Se consideraron cuatro cadenas de Markov (MCMC) de 40,000,000 de generaciones en dos corridas simultáneas y con una frecuencia de muestreo de cada 100 generaciones.

Posteriormente se utilizó el programa Tracer® 1.5 (Rambaut & Drummond, 2007) para explorar el tamaño efectivo de muestreo (ESS), lo que permitió evaluar que cada corrida representara satisfactoriamente el espacio de probabilidad posterior de todos los parámetros del modelo. Finalmente, las corridas fueron combinadas y el 25% de los parámetros y árboles iniciales fueron descartados mediante el programa Mr. Bayes® v3.2.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Todos los árboles filogenéticos generados fueron visualizados y editados mediante el programa FigTree® 1.4.2 (Rambaut, 2014).

### *Reloj molecular*

La estimación de escalas de tiempo evolutivas es un objetivo común en el análisis filogenético molecular (Duchêne *et al.*, 2014). Esto se puede estimar utilizando los métodos basados en la hipótesis del reloj molecular, la cual postula que la tasa de evolución en una molécula dada de ADN o proteína es aproximadamente constante a través del tiempo y entre linajes evolutivos (Zuckermandl & Pauling, 1962). En otras palabras, propone que existe una proporción estadística desde el tiempo transcurrido del último ancestro común de dos cadenas de proteínas similares y contemporáneas y el número de diferencias en los aminoácidos entre sus secuencias. Lo anterior en la práctica, ha permitido postular una dimensión temporal en los árboles filogenéticos construidos a partir de datos moleculares (Morgan, 1998).

Si las proteínas evolucionan a tasas constantes, éstas pueden ser utilizadas para la reconstrucción filogenética, lo que ha sido la aplicación más importante de la hipótesis de reloj molecular, ya que de esa forma permite estimar los tiempos en que las especies, poblaciones o incluso cepas virales divergen. Para convertir las distancias genéticas a tiempos absolutos, se utiliza un tiempo externo (llamado punto de calibración), el cual se estima a partir de datos fósiles o eventos histórico-geográficos que marcan la separación de las especies (Yang, 2002).

En los sistemas marinos, la disyunción entre especies o poblaciones puede ser desencadenada por eventos vicariantes, como el último cierre del Istmo de Panamá, ocurrido hace aproximadamente 2.9-3.5 millones de años (m.a.) (Bermingham, *et al.* 1997; Coates, *et al.* 2004). Este evento propició un sin número de especies con características morfológicas muy similares pero sin flujo genético entre ellas debido a la presencia de una barrera física (especies fraternas *sensu* Jordan, 1908) (Bernardi & Lape, 2005).

De manera ideal, la calibración del reloj molecular se establece con base en el registro fósil, sin embargo, en la familia Gerreidae, esta estimación podría ser más precisa al ser analizada con base en especies cuyos procesos de divergencia pudieran estar mejor justificados como consecuencia de eventos de vicarianza.

Dentro de este contexto, se asume entonces que el par de especies de gerreidos menos divergente (*Gerres cinereus* Pacífico vs. *Gerres cinereus* Atlántico) se aisló en el momento del último cierre del Istmo de Panamá, proporcionando de esta manera la mejor estimación de la tasa de evolución molecular para la familia Gerreidae (e.g. Bermingham *et al.*, 1997; Knowlton y Weigt, 1998; Lessios *et al.*, 2001; Lessios, 2008).

La mayoría de los modelos de reloj molecular (relajados) se han implementado en los marcos Bayesianos (Drummond *et al.*, 2011; Thorne *et al.*, 1998; Yang & Rannala, 2006). Debido a lo anterior, se probó la hipótesis de reloj molecular de manera independiente para cada marcador de acuerdo al método propuesto por Kimura (1980) mediante el programas MEGA® v5 (Tamura *et al.*, 2011).

El filograma obtenido en el programa Mr. Bayes® se ultrametrizó (dató) mediante la rutina "Beauti" en BEAST® v1.8.1 (Drummond & Rambaut, 2007). Los nodos del árbol ultramétrico se calibraron en el tiempo relativo mediante una distribución normal con media de 3.2 +/- 0.25 de desviación estándar, para lo cual se estableció como nodo central al que representa la divergencia de la especie

anfiamericana *Gerres cinereus*. Esta calibración se llevó a cabo también mediante el programa BEAST® v1.8.1 (Drummond & Rambaut, 2007).

Debido a que muchos de los datos que se utilizan en este tipo de análisis exhiben niveles significativos de variación en las tasas de sustitución entre linajes, como resultado de las diferencias en el tamaño de población, la tasa de mutación o la influencia de la selección natural; el reloj molecular puede “relajarse” o atenuarse para que considere dicha variación, lo que permite estimar una tasa de sustitución distinta a lo largo de cada rama del árbol filogenético (Duchêne *et al.*, 2014).

De acuerdo a Cranston & Rannala (2005), una aproximación filogenética relajada, en donde la filogenia y los tiempos de divergencia son co-estimados bajo un modelo de reloj molecular relajado, es preferida sobre uno bajo un modelo estricto.

Dentro de este contexto, se eligió estimar el reloj molecular mediante un modelo relajado con distribución log normal, considerando el modelo evolutivo de especies de Yule (Drummond *et al.*, 2011). Finalmente se generaron dos cadenas de Markov con 40,000,000 de generaciones muestreadas cada 100, donde el intervalo de confianza (95%) de la posición relativa de los nodos corresponde a los límites superior e inferior dados en m.a. Estos parámetros fueron monitoreados mediante el programa TRACER® 1.5 (Rambaut & Drummond, 2007). Se utilizó el programa TreeAnnotator® v1.6.1 (Rambaut & Drummond, 2007) para obtener el árbol de máxima credibilidad después de descartar el 25% de los árboles generados (100,000). El árbol generado fue visualizado y editado mediante el programa FigTree® 1.4.2 (Rambaut, 2014).

## RESULTADOS

---

### Análisis taxonómico molecular

#### Género *Eucinostomus*

Para el género *Eucinostomus*, se obtuvieron 49 secuencias parciales del COI, 27 del 12SrRNA, 26 del 16SrRNA y 24 del RAG1 correspondientes a las nueve especies del género analizadas en este estudio (Tabla 9).

La longitud, es decir, el número de pares de bases (pb) para los cuatro marcadores fue de: 665, 434, 607 y 671 pb para el COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1, respectivamente.

El fragmento que presentó un mayor número de sitios variables fue el COI (30.7% de su longitud) y, por el contrario, el más conservado fue el RAG1, con sólo el 4.62% de variación (Tabla 9). Los porcentajes de divergencia genética intra e inter-específica variaron de acuerdo a cada marcador analizado (Tabla 10 y 11) y en los cuatro fragmentos las distancias genéticas al interior de cada grupo fueron varias órdenes de magnitud menores a las observadas entre especies.

Las distancias genéticas intra-específica más altas se observaron en la especie *E. gula* (COI= 2.684% y 16SrRNA= 1.707%). Debido a que sólo se contó con una muestra de la especie *E. havana*, no se presentan datos para la misma.

La mayor distancia inter-específica obtenida a partir de COI se presentó entre las especies *E. dowii* y *E. currani* (20.1%) y la menor entre *E. jonesii* y *E. entomelas* (10.0%), como se observa en la tabla 10. La distancia promedio obtenida fue del 14.25%. La especie *E. dowii* presentó sólo un haplotipo mientras que *E. argenteus*, *E. gula*, *E. jonesii* y *E. melanopterus* por cada secuencia obtenida se presentó un haplotipo diferente (11, 6, 2 y 5 respectivamente).

Para el 12SrRNA, sólo las especies *E. gula* y *E. jonesii* presentaron divergencias inter-específicas por encima del 0.2%, el resto mantuvo valores del 0.0% (Tabla 11). Los valores inter-específicos presentaron una distancia promedio del 11.08%. La mayor divergencia se observó entre *E. gula* y *E. entomelas* (17.67%) y la menor entre *E. currani* y *E. melanopterus* (3.95%), como se observa en la tabla 11. *Eucinostomus gula* y *E. jonesii* fueron las únicas especies que presentaron más de un haplotipo.

Para el marcador 16SrRNA, las únicas secuencias que mostraron variabilidad genética fueron las de *E. gula* (1.71%) y las de *E. argenteus* (0.9%) (Tabla 10), debido a que en cada una de ellas se encontró más de un haplotipo. Con excepción de *E. havana* (que no pudo ser evaluada por registrar sólo una secuencia), todos los individuos de cada especie presentaron secuencias iguales y en consecuencia solo un haplotipo fue encontrado. Se obtuvo una distancia inter-específica promedio de 8.33%. La mayor distancia se presentó entre *E. dowii* y *E. havana* (12.76%) y la menor entre *E. currani* y *E. melanopterus* (3.88%; Tabla 11).

Por otra parte, en el RAG1, de origen nuclear, se observó un patrón similar al registrado en los tres marcadores de origen mitocondrial. Este fragmento fue el más conservado y presentó valores intra-específicos muy bajos en comparación con el resto de los marcadores: 0.1% para *E. dowii*, 0.17% para *E. jonesii* y 0.11% para *E. melanopterus*, y 0.0% para el resto de las especies (Tabla 9). De igual forma, el RAG1 presentó las divergencias genéticas inter-específicas más bajas para los cuatro marcadores analizados dentro del género *Eucinostomus*, con un valor promedio de 1.23% (Tabla 11). La distancia genética más alta se presentó entre las especies *E. gracilis* y *E. melanopterus* (2.03%), y las bajas entre *E. argenteus* y *E. dowii* y entre *E. currani* y *E. melanopterus* (0.55 y 0.50%, respectivamente), resaltando el hecho de que este par de complejos son considerados como especies fraternas. La distancia entre el resto de las especies se encontraron entre el 1.01% y el 1.91% (Tabla 11). En cuanto a los haplotipos encontrados con el marcador RAG1,

sólo *E. dowii*, *E. melanopterus* y *E. jonesii* presentaron más de un haplotipo, manteniendo el resto de las especies sólo uno (Tabla 11).

Tabla 9.- Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género *Eucinostomus*.

Marcador	Número de secuencias	Longitud (pb)	Sitios conservados	Sitios variables	Sitios parsimoniosamente informativos
COI	49	665	461	204	203
12SrRNA	27	434	316	116	108
16SrRNA	26	607	456	150	132
RAG1	24	671	640	31	31

Tabla 10.- Porcentajes de la distancia genética de los cuatro marcadores dentro de las especies de *Eucinostomus spp* (promedio  $\pm$  Error Estandar). Ns= número de secuencias, Nh= número de haplotipos. Las abreviaturas corresponden a las especies: *Ear*= *E. argenteus*; *Ecu*= *E. currani*; *Edo*= *E. dowii*; *Een*= *E. entomelas*; *Egra*= *E. gracilis*; *Egu*= *E. gula*; *Ehav*= *E. havana*; *Ejo*= *E. jonesii*; *Eme*= *E. melanopterus*.

Especie	COI	Ns	Nh	12SrRNA	Ns	Nh	16SrRNA	Ns	Nh	RAG1	Ns	Nh
<i>Ear</i>	0.73 $\pm$ 0.0019	11	11	0.0 $\pm$ 0.0	4	1	0.09 $\pm$ 0.0008	4	2	0.0 $\pm$ 0.0	4	1
<i>Ecu</i>	0.07 $\pm$ 0.0006	5	3	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1
<i>Edo</i>	0.16 $\pm$ 0.0011	6	1	0.0 $\pm$ 0.0	6	1	0.0 $\pm$ 0.0	6	1	0.1 $\pm$ 0.001	5	2
<i>Een</i>	0.19 $\pm$ 0.0011	10	7	0.0 $\pm$ 0.0	3	1	0.0 $\pm$ 0.0	3	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1
<i>Egra</i>	0.12 $\pm$ 0.0011	4	3	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1
<i>Egu</i>	2.61 $\pm$ 0.0046	6	6	0.32 $\pm$ 0.0022	4	2	1.70 $\pm$ 0.0043	3	3	0.0 $\pm$ 0.0	4	1
<i>Ehav</i>	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	-	-
<i>Ejo</i>	0.15 $\pm$ 0.0013	2	2	0.23 $\pm$ 0.0023	2	2	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.16 $\pm$ 0.0016	2	2
<i>Eme</i>	0.21 $\pm$ 0.0012	5	5	0.0 $\pm$ 0.0	3	1	0.0 $\pm$ 0.0	3	1	0.11 $\pm$ 0.0010	3	2

Tabla 11.- Porcentajes de la distancia genética entre las especies de *Eucinostomus spp.* El promedio dado debajo de la diagonal, el error estándar dado encima de la diagonal. Las abreviaturas corresponden a las especies: *Ear*= *E. argenteus*; *Ecu*= *E. currani*; *Edo*= *E. dowii*; *Egra*= *E. gracilis*; *Egu*= *E. gula*; *Een*= *E. entomelas*; *Ejo*= *E. jonesii*; *Eme*= *E. melanopterus*; *Ehav*= *E. havana*. na= no aplica.

Marcador	Especies	<i>Ear</i>	<i>Ecu</i>	<i>Edo</i>	<i>Een</i>	<i>Egra</i>	<i>Egu</i>	<i>Ehav</i>	<i>Ejo</i>	<i>Eme</i>
<b>COI</b>	<i>Ear</i>	-	0.0189	0.0166	0.0182	0.0161	0.0162	na	0.0208	0.0188
	<i>Ecu</i>	17.78	-	0.0207	0.0182	0.0186	0.0177	na	0.0175	0.0154
	<i>Edo</i>	13.21	20.06	-	0.0174	0.0154	0.0165	na	0.0199	0.0205
	<i>Een</i>	16.54	15.56	15.69	-	0.0175	0.0174	na	0.0138	0.0193
	<i>Egra</i>	13.67	17.77	13.53	15.98	-	0.0148	na	0.0199	0.0187
	<i>Egu</i>	13.57	16.34	14.95	15.64	12.80	-	na	0.0174	0.0190
	<i>Ehav</i>	na	na	na	na	na	na	-	na	na
	<i>Ejo</i>	19.49	15.83	18.48	10.03	18.39	15.23	na	-	0.0216
	<i>Eme</i>	16.76	12.01	19.61	17.54	16.94	17.11	na	19.93	-
	<b>Promedio</b>									
<b>12SrRNA</b>	<i>Ear</i>	-	0.0189	0.0140	0.0201	0.0167	0.0167	0.0186	0.0207	0.0202
	<i>Ecu</i>	13.96	-	0.0186	0.0160	0.0153	0.0198	0.0167	0.0161	0.0095
	<i>Edo</i>	7.81	12.90	-	0.0189	0.0130	0.0176	0.0181	0.0195	0.0192
	<i>Een</i>	14.08	10.33	13.49	-	0.0167	0.0233	0.0187	0.0129	0.0161
	<i>Egra</i>	10.84	9.48	7.59	10.69	-	0.0173	0.0176	0.0170	0.0157
	<i>Egu</i>	12.99	14.16	11.29	17.67	11.34	-	0.0218	0.0215	0.0214
	<i>Ehav</i>	13.15	10.54	13.17	12.05	11.75	16.35	-	0.0193	0.0173
	<i>Ejo</i>	15.04	10.74	14.12	6.91	11.79	15.90	13.49	-	0.0160
	<i>Eme</i>	15.13	3.95	13.75	10.87	10.02	15.03	11.09	10.15	-
	<b>Promedio</b>									
<b>16SrRNA</b>	<i>Ear</i>	-	0.0130	0.0087	0.0147	0.0128	0.0140	0.0161	0.0146	0.0131
	<i>Ecu</i>	9.00	-	0.0131	0.0119	0.0134	0.0139	0.0142	0.0125	0.0085
	<i>Edo</i>	4.25	9.39	-	0.0148	0.0129	0.0105	0.0164	0.0142	0.0136
	<i>Een</i>	11.90	7.76	11.70	-	0.0138	0.0152	0.0142	0.0097	0.0120
	<i>Egra</i>	9.00	9.38	9.19	10.21	-	0.0126	0.0156	0.0142	0.0131
	<i>Egu</i>	6.35	9.88	6.82	12.02	8.50	-	0.0161	0.0151	0.0139
	<i>Ehav</i>	12.74	10.61	12.76	10.61	12.70	13.19	-	0.0150	0.0133
	<i>Ejo</i>	11.11	7.78	10.22	5.39	10.85	11.39	11.44	-	0.0118
	<i>Eme</i>	9.18	3.88	9.78	7.76	8.94	10.35	9.36	7.55	-
	<b>Promedio</b>									

Continuación de la Tabla 11.

Marcador	Especies	Ear	Ecu	Edo	Een	Egra	Egu	Ehav	Ejo	Eme
RAG1	Ear	-	0.0050	0.0028	0.0046	0.0043	0.0042	na	0.0049	0.0053
	Ecu	1.51	-	0.0052	0.0047	0.0057	0.0050	na	0.0048	0.0027
	Edo	0.55	1.74	-	0.0043	0.0038	0.0043	na	0.0047	0.0055
	Een	1.35	1.51	1.23	-	0.0046	0.0046	na	0.0042	0.0052
	Egra	1.01	1.85	0.89	1.34	-	0.0047	na	0.0051	0.0060
	Egu	1.01	1.51	1.23	1.35	1.34	-	na	0.0048	0.0053
	Ehav	na	na	na	na	na	na	-	na	na
	Ejo	1.52	1.01	1.40	1.18	1.52	1.35	na	-	0.0047
	Eme	1.69	0.50	1.91	1.69	2.03	1.69	na	1.46	-
	Promedio					1.23 ± 0.0026				

El dendograma generado a partir del método de *NJ* para el COI permitió distinguir la presencia de ocho grupos claramente diferenciados, sustentados de manera robusta mediante remuestreo (Fig. 3). Dichas agrupaciones corresponde con las especies previamente designadas a partir de criterios morfológicos. Cabe resaltar la distinción entre *E. dowii* – *E. argenteus*, la cercanía entre *E. currani* y *E. melanopterus* (en esta última especie se incluye un organismo proveniente de la costa oeste de África, el cual es similar a los demás organismos provenientes de la costa americana). Finalmente, hay la diferenciación de dos grupos dentro de la especie *E. gula*, uno proveniente del Golfo de México y otro de aguas venezolanas, separados por una distancia genética del 2.68% (Fig. 3).

En el caso del 12SrRNA, el dendograma generado permitió distinguir la presencia de nueve grupos claramente diferenciados (Fig. 3). Se resalta nuevamente la distinción entre *E. dowii* – *E. argenteus*, así como la cercanía entre *E. currani* y *E. melanopterus* (incluido el organismo africano). Aquí se hace la inclusión al análisis de un organismo de *E. havana*.

El dendograma generado a partir de las secuencias parciales del fragmento 16SrRNA, distingue también la presencia de los mismos nueve grupos observados en los dendogramas anteriores (Fig. 4). Se observa también la integración de *E. dowii* en un clado distinto al de *E. argenteus*, la cercanía entre *E. currani* y *E.*

*melanopterus*, y la presencia de dos grupos en *E. gula*, uno asociado a un organismo proveniente de Venezuela y otro a los procedentes del Golfo de México (Fig. 3).

Los grupos obtenidos para el RAG1 soportan la diferenciación de ocho especies, de las cuales, *E. dowii* con *E. argenteus* y *E. currani* con *E. melanopterus* son las más cercanas. Se observa nuevamente la integración en el mismo clado de organismos pertenecientes a *E. melanopterus* provenientes de continentes diferentes (América y África). Finalmente, para este marcador no se observaron agrupaciones distintas entre los organismos determinados taxonómicamente como *E. gula* provenientes de Venezuela y *E. gula* provenientes del Golfo de México (Fig. 3).

De manera general, las topologías de los dendogramas generados a partir de los cuatro marcadores, y en lo que respecta al análisis molecular del género *Eucinostomus*, se detectaron configuraciones muy similares, donde se pueden distinguir ocho (COI y RAG1) o nueve (al incluir a la especie *E. havana* en los análisis del 12SrRNA y 16SrRNA) grupos taxonómicos claramente diferenciados y los cuales corresponden a las determinaciones hechas previamente. Finalmente, en los dendogramas de COI, 12SrRNA y 16SrRNA, *E. gula* mostró una separación entre los organismos provenientes de costas venezolanas y los recolectados en costas del Golfo de México (Fig. 4). Sin embargo, esto no fue observado mediante el RAG1, debido aparentemente a que es un marcador mucho menos variable.

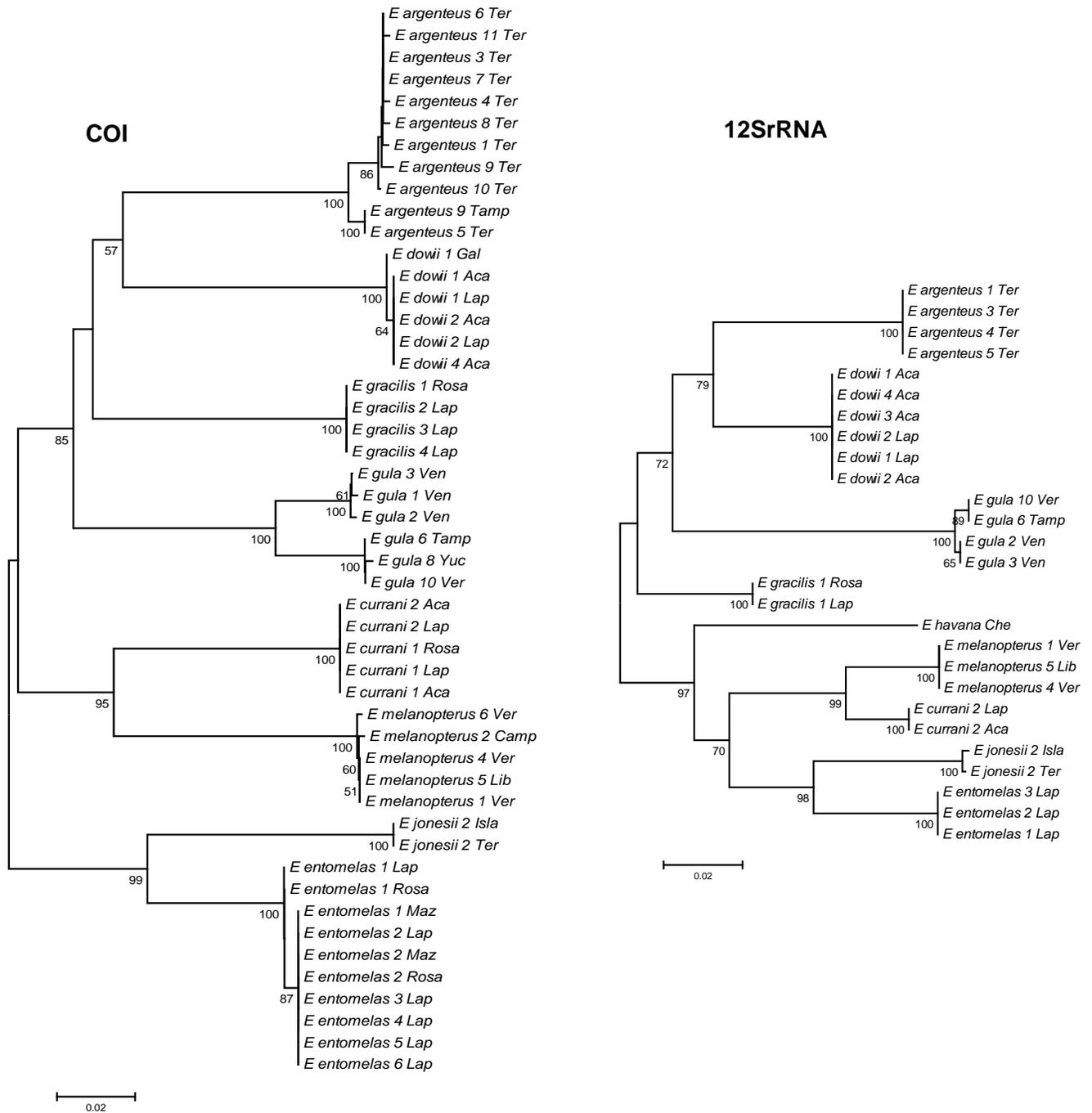
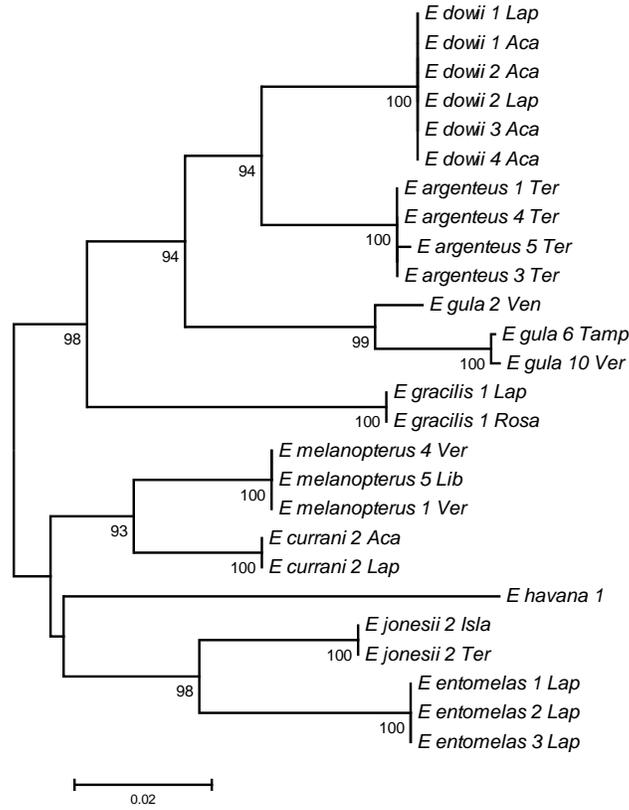
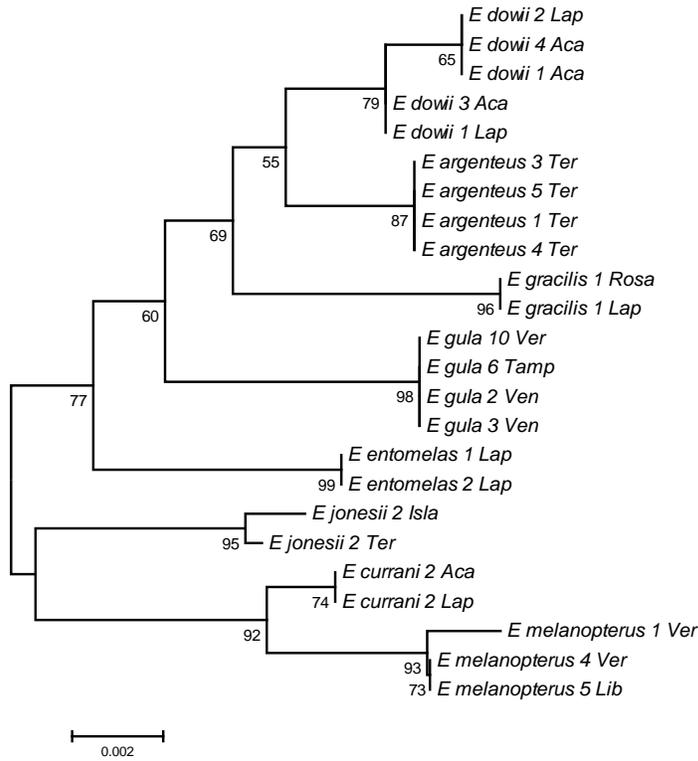


Figura 3.- Dendrogramas obtenidos mediante *Neighbor-joining* utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies del género *Eucinostomus*. El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50% obtenido de la prueba de remuestreo de 1,000 repeticiones. La escala está dada acorde al índice de la distancia genética de Kimura de dos parámetros. Las letras corresponden a las localidades de captura de las especies nominales: Aca = Acapulco; Lap= La Paz; Rosa= Santa Rosalía; Ter= Laguna de Términos; Tamp= Tamaulipas; Ver= Veracruz; Isla= Isla Mujeres; Che= Chetumal; Ven= Venezuela y Lib= Liberia.

16SrRNA



RAG1



Continuación de la Figura 3.

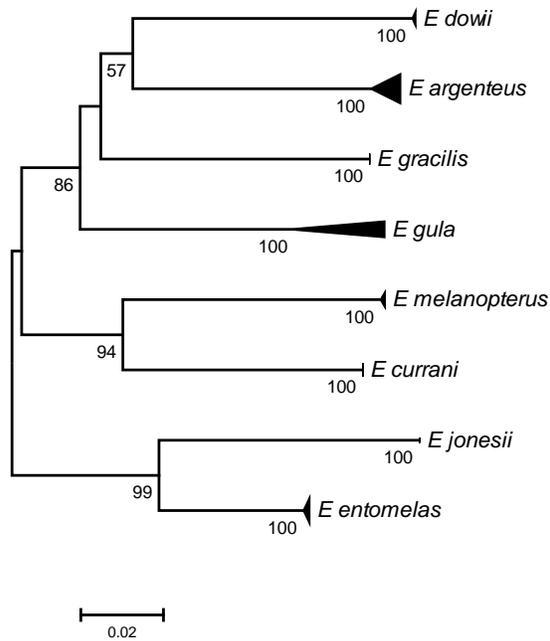
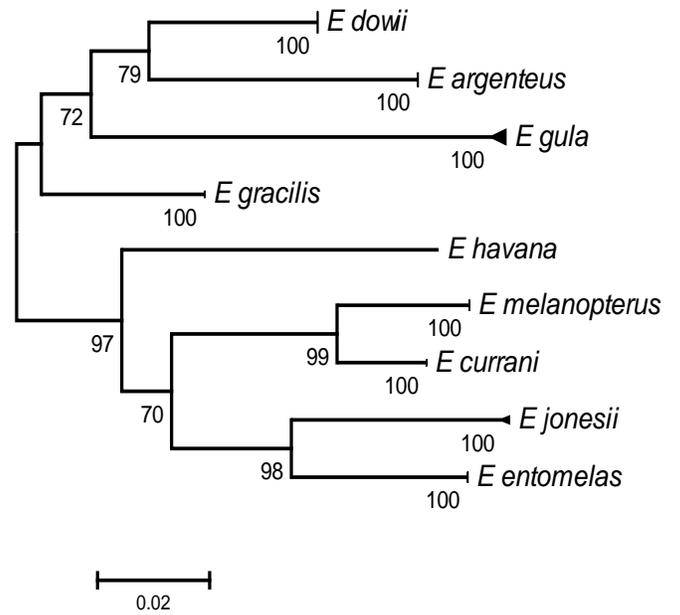
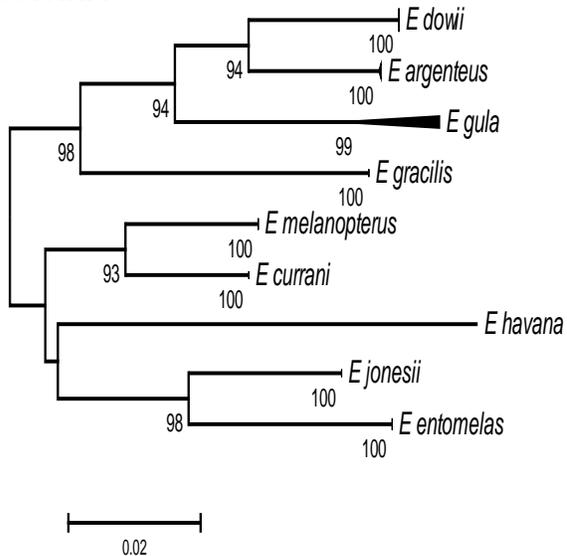
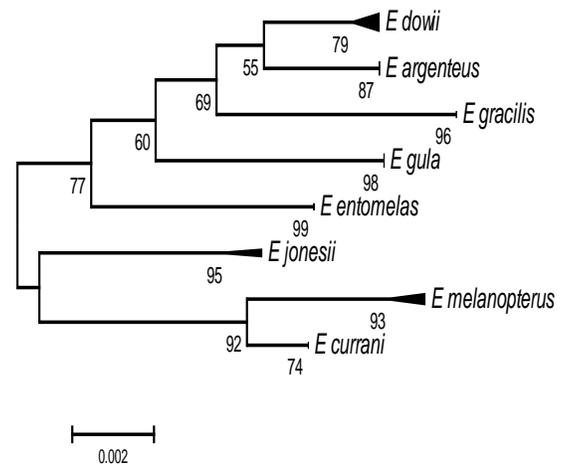
**COI****12SrRNA****16SrRNA****RAG1**

Figura 4.- Dendogramas obtenidos mediante Neighbor-joining utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies de *Eucinostomus*. El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50%. La escala está dada acorde a la distancia de Kimura de dos parámetros. El ancho de los puntos terminales en las ramas reflejan la variabilidad encontrada en todas las secuencias de cada uno de los clados.

### Género *Diapterus* y *Deckertichthys*

Debido al reciente establecimiento del género monotípico *Deckertichthys* (Vergara-Solana *et al.*, 2014), los análisis moleculares de este grupo se realizaron en conjunto con el género *Diapterus*.

Para el género *Diapterus* se obtuvieron un total de 51 secuencias parciales, de las cuales 13 correspondieron al COI, 13 al 12SrRNA, 13 al 16SrRNA y 12 al RAG1. Para el género *Deckertichthys* se obtuvo un total de 25 secuencias, seis del COI, siete del 12SrRNA, siete del 16SrRNA y cinco del RAG1 (Tabla 12).

Para ambos géneros la longitud de cada marcador fue de 518, 429, 407 y 658 pb para el COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 respectivamente.

De manera general, el fragmento que presentó un mayor número de sitios variables fue el COI (28.37% de su longitud) y, el más conservado fue el RAG1, con sólo el 6.83% de variación (Tabla 12).

Las distancias genéticas intra-específicas para el género *Diapterus* variaron de 0.0% (12SrRNA) a un 0.92% (COI). Por otra parte, se observó una mayor variación dentro de la especie *Deckertichthys aureolus* con un intervalo de 0.07% (16SrRNA) a 1.21% (COI) (Tabla 13).

Tabla 12.- Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género *Diapterus/ Deckertichthys*.

Marcador	Número de secuencias	Longitud (pb)	Sitios conservados	Sitios variables	Sitios parsimoniosamente informativos
COI	13/6	518	371	147	147
12SrRNA	13/7	429	381	46	45
16SrRNA	13/7	407	353	54	52
RAG1	12/5	658	613	45	40

Tabla 13.-Porcentajes de la distancia genética intra-específica de los cuatro marcadores para las especies de *Diapterus spp* y *Deckertichthys sp* (promedio  $\pm$  Error Estandar). Las abreviaturas corresponden a las especies: *Dau*= *Diapterus auratus*, *Dbre*= *Diapterus brevirostris*, *Drhom*= *Diapterus rhombeus*, *Daure*= *Deckertichthys aureolus*. Ns= número de secuencias, Nh= número de haplotipos.

Especies	COI	Ns	Nh	12SrRNA	Ns	Nh	16SrRNA	Ns	Nh	RAG1	Ns	Nh
<i>Dau</i>	0.27 $\pm$ 0.0015	5	3	0.09 $\pm$ 0.0009	5	2	0.10 $\pm$ 0.0009	5	2	0.12 $\pm$ 0.0008	5	3
<i>Dbre</i>	0.29 $\pm$ 0.0014	6	4	0.07 $\pm$ 0.0007	6	2	0.13 $\pm$ 0.0013	6	2	0.92 $\pm$ 0.0026	5	4
<i>Drhom</i>	0.78 $\pm$ 0.0039	2	2	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.25 $\pm$ 0.0024	2	2	0.24 $\pm$ 0.0013	2	2
<i>Daure</i>	1.21 $\pm$ 0.0033	6	5	0.18 $\pm$ 0.0013	7	3	0.07 $\pm$ 0.0007	7	2	0.30 $\pm$ 0.0020	5	5

Las secuencias del COI analizadas en este trabajo, indicaron que las distancias genéticas entre estas especies fueron relativamente más grandes que las distancias intra-específicas respectivas. En promedio, la distancia de las cuatro especies fue de 15.67%; sin embargo, entre la especie *Deckertichthys aureolus* y las especies de *Diapterus* la distancia fue casi de dos órdenes de magnitud. En cuanto a los haplotipos encontrados dentro del género *Diapterus*, *D. brevirostris* presentó cuatro, mientras que *D. auratus* y *D. rhombeus* sólo presentaron tres y dos, respectivamente. *Deckertichthys aureolus* registró cinco haplotipos (Tabla 13).

Para el género *Diapterus*, los resultados del análisis del fragmento 12SrRNA mostraron distancias genéticas intra-específicas variables que fluctuaron entre el 0.0% (*D. rhombeus*) y 0.09% (*D. auratus*), mientras que las distancias genéticas inter-específicas fueron de 0.71% (*D. brevirostris* y *D. rhombeus*) a 2.83% (*D. brevirostris* y *D. auratus*; Tabla 12). En el caso del género *Deckertichthys*, la distancia genética intra-específica fue de 0.18%. La distancia promedio de las cuatro especies fue de 5.7% (Tabla 13).

De los análisis realizados con el marcador 16SrRNA, las distancias inter-específicas mayores para el género *Diapterus*, fueron entre *D. auratus* y *D. brevirostris* (3.438%) (Tabla 14). La mayor distancia genética inter-genérica fue entre *Diapterus auratus* y *Deckertichthys aureolus* (25.06%). El número de haplotipos encontrados con este marcador para cada especie fue dos (Tabla 13). La distancia

inter-específica promedio para todas las especies fue del 6.64% (Tabla 14). El género *Diapterus* registró distancias genéticas intra-específicas mayores (de 0.13% a 0.25%) que la registrada para el género *Deckertichthys* (0.0734%) (Tabla 13).

En el caso del marcador RAG1, se observó una distancia inter-específica promedio del 2.6%. De manera particular, las especies del género *Diapterus* registraron una distancia genética entre 1.26% (*D. brevirostris* y *D. rhombeus*) y 1.95% (*D. auratus* y *D. rhombeus*); mientras que *Deckertichthys aureolus* registró una distancia genética de más del 3.0% con cada una de las especies de *Diapterus* (Tabla 14). En cuanto a las distancias genéticas intra-específicas, el género *Diapterus* registró de 0.122% (*D. auratus*) a 0.92 (*D. brevirostris*), mientras que la del género *Deckertichthys* fue de 0.30% (Tabla 13). El género *Deckertichthys* registró cinco haplotipos, mientras que las especies de *Diapterus* presentaron dos, tres y cuatro (*D. rhombeus*, *D. auratus* y *D. brevirostris*, respectivamente) (Tabla 13).

Las distancias genéticas inter-específicas estimadas con el COI, permitieron detectar la presencia de dos grupos, uno conteniendo las tres especies del género *Diapterus* y otro al monotípico *Deckertichthys* (Fig. 5).

El dendograma generado a partir del 12SrRNA, permitió la existencia de cuatro clados, de los cuales tres integraron el grupo de *Diapterus* y uno del *Deckertichthys* (Fig. 5).

Por otra parte, el dendograma generado a partir de las secuencias parciales del fragmento 16SrRNA, produjo la misma configuración que la obtenida para el marcador 12SrRNA, donde *Diapterus brevirostris* y *Diapterus rhombeus* son las especies de mayor cercanía y *Deckertichthys aureolus* conforma un grupo diferente del género *Diapterus* (Fig. 5).

El árbol generado a partir del RAG1 soportó la presencia de cuatro clados en donde aquellas que corresponden al género *Diapterus* presentan una mayor cercanía (Fig. 5).

Tabla 14.- Porcentajes de la distancia genética entre las especies de *Diapterus spp* y *Deckertichthys sp*. El promedio dado debajo de la diagonal, el error estándar dado encima de la diagonal. Las abreviaturas corresponden a las especies: *Dau*= *Diapterus auratus*, *Dbre*= *Diapterus brevirostris*, *Drhom*= *Diapterus rhombeus*, *Daure*= *Deckertichthys aureolus*.

Marcador	Especies	<i>Dau</i>	<i>Dbre</i>	<i>Drhom</i>	<i>Daure</i>
<b>COI</b>	<i>Dau</i>	-	0.01169	0.01891	0.02635
	<i>Dbre</i>	12.56	-	0.01641	0.02471
	<i>Drhom</i>	15.46	12.91	-	0.02479
	<i>Daure</i>	25.06	23.28	24.65	-
	<b>Promedio</b>	15.67 ± 0.0131			
<b>12SrRNA</b>	<i>Dau</i>	-	0.00802	0.00771	0.01542
	<i>Dbre</i>	2.831	-	0.00399	0.01666
	<i>Drhom</i>	2.664	0.7183	-	0.01630
	<i>Daure</i>	9.499	10.93	10.73	-
	<b>Promedio</b>	5.7 ± 0.0080			
<b>16SrRNA</b>	<i>Dau</i>	-	0.00914	0.00922	0.01919
	<i>Dbre</i>	3.271	-	0.00721	0.01865
	<i>Drhom</i>	3.438	2.111	-	0.01837
	<i>Daure</i>	12.31	11.75	11.18	-
	<b>Promedio</b>	6.64 ± 0.0096			
<b>RAG1</b>	<i>Dau</i>	-	0.00501	0.00517	0.00715
	<i>Dbre</i>	1.862	-	0.00442	0.00705
	<i>Drhom</i>	1.958	1.267	-	0.00712
	<i>Daure</i>	3.625	3.642	3.697	-
	<b>Promedio</b>	2.6 ± 0.0040			

Finalmente, las topologías de los dendogramas generados a partir de los cuatro marcadores fueron relativamente parecidas, con excepción del marcador COI, cuya configuración muestra una mayor cercanía entre *Diapterus brevirostris* y *D. auratus*. El resto de los marcadores mitocondriales y el nuclear mostraron que *D. brevirostris* es una especie cercana a *D. rhombeus*. Resalta además el hecho de que, independientemente del marcador analizado, existe una elevada similitud genética al interior de cada especie, que entre ellas, lo cual soporta las determinaciones taxonómicas de las cuatro especies (Fig. 6).

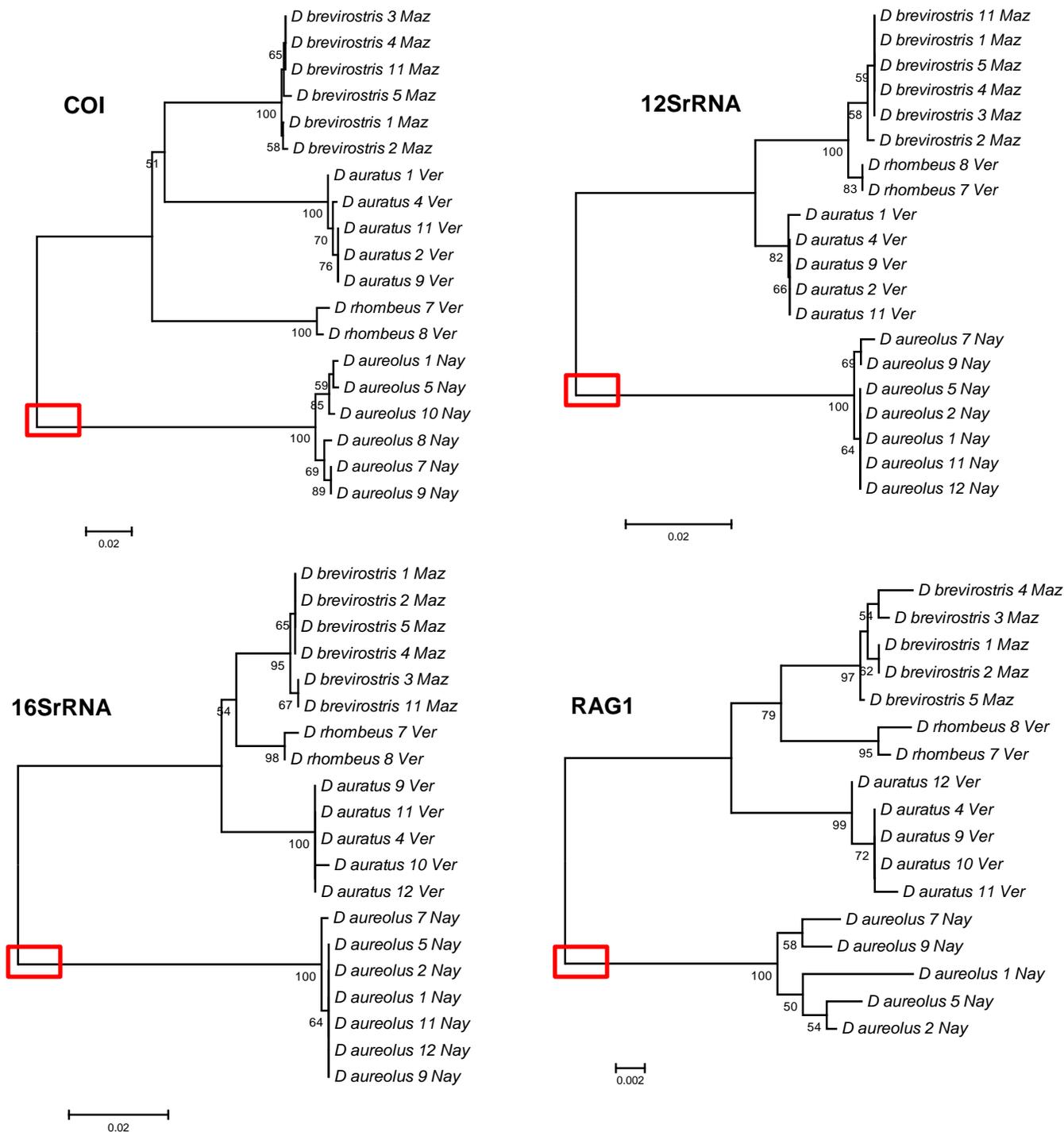


Figura 5.- Dendogramas obtenidos mediante *Neighbor-joining* utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies del género *Diapterus* y *Deckertichthys* (resaltado en rojo). El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50% obtenido de la prueba de remuestreo de 1,000 repeticiones. La escala está dada acorde al índice de la distancia genética de Kimura de dos parámetros. Las letras corresponden a las localidades de captura de las especies nominales: Maz=Mazatlán; Ver= Veracruz; Nay= Nayarit.

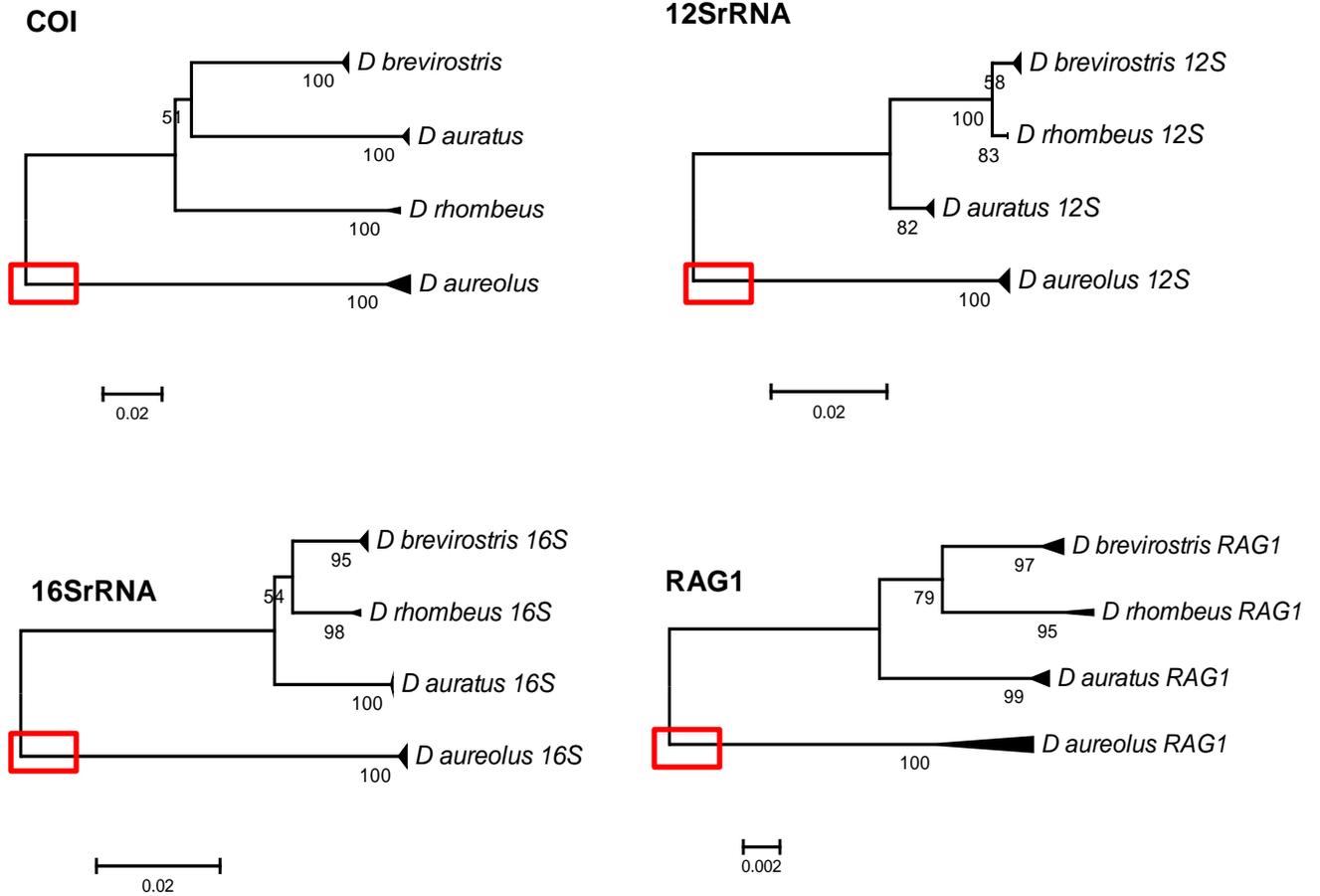


Figura 6.- Dendogramas de Neighbor-joining simplificados, utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies de *Diapterus* y *Deckertichthys* (resaltado en rojo). El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50%. La escala está dada acorde a la distancia de Kimura de dos parámetros. El ancho de los puntos terminales en las ramas reflejan la variabilidad encontrada en todas las secuencias de cada uno de los clados.

### Género Gerres

Del género *Gerres* se obtuvieron un total de 48 secuencias parciales, de las cuales 14 corresponden al COI, 14 al 12SrRNA, 14 al 16SrRNA y seis al RAG1 (Tabla 15). Las secuencias son de individuos procedentes tanto del Océano Atlántico (A) como del Océano Pacífico (P).

La longitud varió en cada marcador, registrándose un mayor número de pb en el marcador RAG1 (661) y el de menor número se obtuvo en el marcador 12SrRNA (420 pb; Tabla 15). Por su parte, el fragmento con el mayor número de sitios variables fue el COI (2.45% de su longitud) y el más conservado fue el RAG1, con sólo el 0.61% de variación (Tabla 15).

Las distancias genéticas intra-específicas variaron del 0.0% (RAG1) para *G. cinereus* (Atlántico y Pacífico) a 0.09% (COI) en *G. cinereus* del Pacífico (Tabla 16).

Tabla 15.- Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género *Gerres*.

Marcador	Número de secuencias	Longitud (pb)	Sitios conservados	Sitios variables	Sitios parsimoniosamente informativos
COI	14	654	638	16	13
12SrRNA	14	420	411	9	6
16SrRNA	14	594	581	13	12
RAG1	6	661	657	4	3

Tabla 16.- Porcentajes de la distancia genética intra-específica de los cuatro marcadores para *Gerres cinereus* del Atlántico (A) y Pacífico (P) (promedio  $\pm$  Error Estandar). Ns= número de secuencias, Nh= número de haplotipos.

Especie	COI	Ns	Nh	12SrRNA	Ns	Nh	16SrRNA	Ns	Nh	RAG1	Ns	Nh
Gc A	0.04 $\pm$ 0.0004	7	3	0.06 $\pm$ 0.0006	7	2	0.0 $\pm$ 0.0	7	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1
Gc P	0.09 $\pm$ 0.0006	7	3	0.13 $\pm$ 0.0009	7	3	0.04 $\pm$ 0.0004	7	2	0.0 $\pm$ 0.0	4	1

La distancia promedio encontrada entre *G. cinereus* del Atlántico y *G. cinereus* del Pacífico fue de 1.29% para el COI (Tabla 17). En ambas costas americanas se registraron tres haplotipos (Tabla 16). Las distancias genéticas inter-específicas estimadas con este marcador, permitieron observar una diferenciación entre los organismos provenientes del Océano Atlántico y los del Océano Pacífico, debido a lo cual se distingue la presencia de dos grupos claramente definidos (Fig. 7).

A partir del marcador 12SrRNA se encontró una distancia intra-específica del 0.06% y de 0.13% para los individuos del Atlántico y Pacífico, respectivamente. El promedio de la distancia genética inter-específica fue de 0.88% (Tabla 17). *Gerres cinereus* del Atlántico, registró un mayor número de haplotipos que la especie del Pacífico (dos y tres, respectivamente; Tabla 16).

A partir del marcador 16SrRNA, se obtuvo una distancia genética intra-específica del 0.0% para *Gerres* del Atlántico y del 0.04% para *Gerres* del Pacífico (Tabla 16). La distancia genética entre los organismos provenientes de ambas costas fue del 2.06% (Tabla 17). El mayor número de haplotipos se observó entre los organismos recolectados en el Pacífico (Tabla 16).

En resumen, se pudo observar que las secuencias obtenidas del RAG1 no mostraron variabilidad genética en ninguno de los grupos (Tabla 16), debido a que sólo fue encontrado un haplotipo en cada uno de ellos. La distancia genética inter-específica de este marcador, también resultó ser la más baja en comparación con los tres anteriores, con un valor promedio de 0.32% (Tabla 17).

Tabla 17.- Porcentajes de la distancia genética entre las especies de de *Gerres cinereus* del Atlántico (A) y Pacífico (P). El promedio dado debajo de la diagonal, el error estándar dado encima de la diagonal.

Marcador	Especies	<i>G. cinereus A</i>	<i>G. cinereus P</i>
<b>COI</b>	<i>G. cinereus A</i>	-	0.0062
	<i>G. cinereus P</i>	2.25	-
	Promedio	1.29 ± 0.0033	
<b>12SrRNA</b>	<i>G. cinereus A</i>	-	0.0056
	<i>G. cinereus P</i>	1.45	-
	Promedio	0.88 ± 0.0031	
<b>16SrRNA</b>	<i>G. cinereus A</i>	-	0.0055
	<i>G. cinereus P</i>	2.06	-
	Promedio	1.14 ± 0.0031	
<b>RAG1</b>	<i>G. cinereus A</i>	-	0.0032
	<i>G. cinereus P</i>	0.60	-
	Promedio	0.32 ± 0.0017	

A partir de las secuencias parciales del fragmento COI, 12SrRNA, 16SrRNA y del RAG1, se pudieron generar dendogramas que permiten distinguir la presencia de dos grupos claramente definidos, los cuales corresponden a los organismos de *G. cinereus* del Atlántico y del Pacífico (Fig. 7).

Finalmente, las cuatro topologías de los dendogramas generados a partir de cada marcador analizado, mostraron las misma configuración, la cual destaca una clara distinción entre los organismos de la especie *Gerres cinereus* distribuidos en el Atlántico y los del Pacífico (Fig. 8).

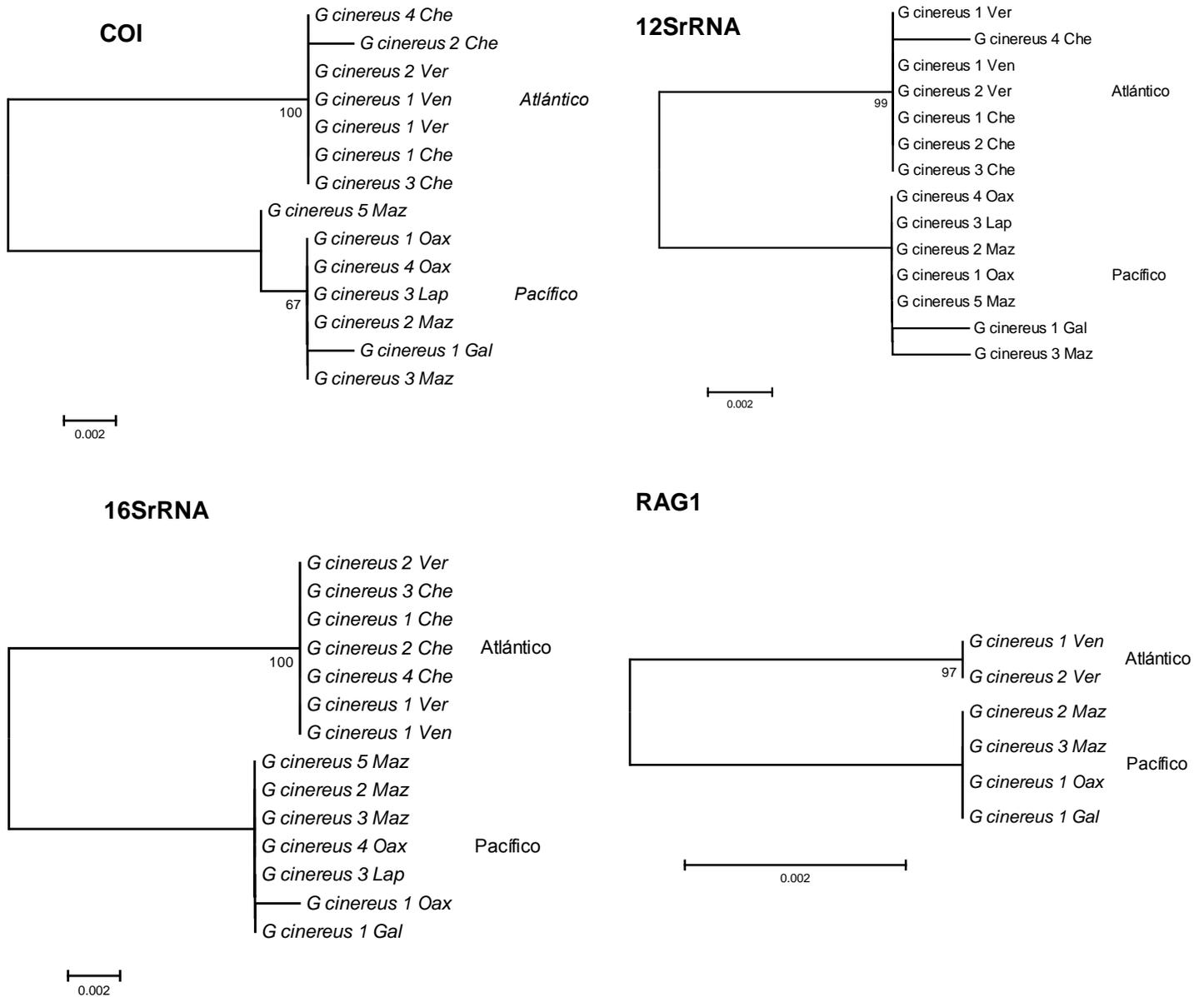


Figura 7.- Dendogramas obtenidos mediante *Neighbor-joining* utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de *Gerres cinereus* del Atlántico (A) y Pacífico (P). El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50% obtenido de la prueba de remuestreo de 1,000 repeticiones. La escala está dada acorde al índice de la distancia genética de Kimura de dos parámetros. Las letras corresponden a las localidades de captura: Che= Chetumal; Ver= Veracruz; Ven= Venezuela; Maz=Mazatlán; Oax= Oaxaca; Lap= La Paz; Gal= Islas Galápagos.

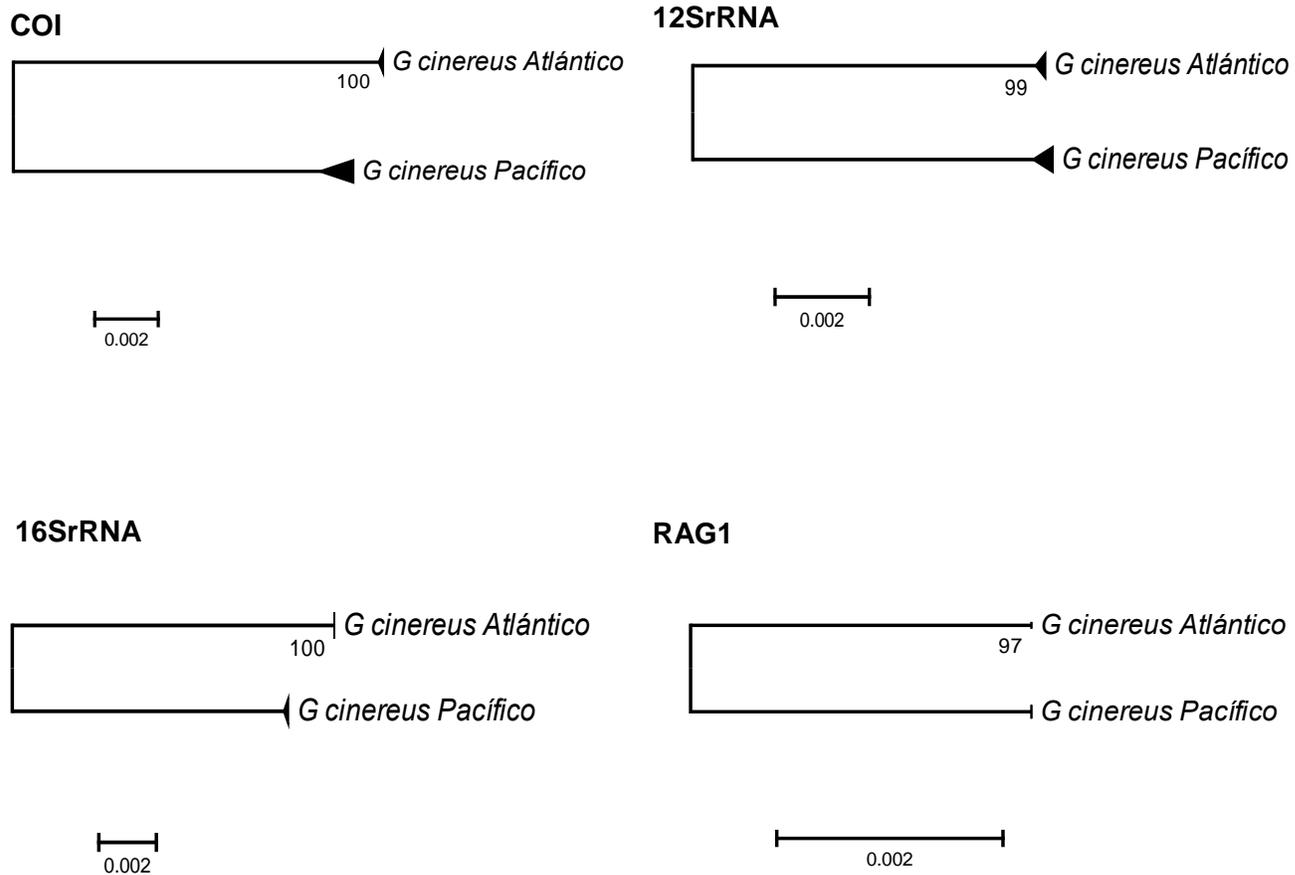


Figura 8.- Dendogramas Neighbor-joining simplificados utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de *Gerres cinereus* del Atlántico y Pacífico. El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50%. La escala está dada acorde a la distancia de Kimura de dos parámetros. El ancho de los puntos terminales en las ramas reflejan la variabilidad encontrada en todas las secuencias de cada uno de los clados.

### Género *Eugerres*

Del género *Eugerres* se obtuvo un total de 75 secuencias parciales, de las cuales 39 correspondieron al COI, 13 al 12SrRNA, 12 al 16SrRNA y 11 al RAG1 (Tabla 18).

La longitud varió en cada marcador, obteniéndose un total de 668, 422, 600 y 665 pb para el COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1, respectivamente (Tabla 18).

El fragmento que presentó un mayor número de sitios variables fue el COI (23.35% de su longitud) y el más conservado fue el RAG1, con sólo el 3.75% de variación (Tabla 18).

Los porcentajes de divergencia genética intra e inter-específica variaron de acuerdo con el marcador analizado. Las distancias genéticas dentro de cada grupo fueron considerablemente menores a las observadas entre los distintos grupos obtenidos (Tabla 19). Las distancias genéticas intra-específicas variaron de 0.0% a un 0.40% (COI). Debido a que sólo se contó con una muestra de la especie *E. axillaris*, no se presentan datos intra-específicos.

Tabla 18.- Número de secuencias, longitud, sitios conservados, variables y parsimoniosamente informativos de cada uno de los marcadores analizados en el género *Eugerres*.

<b>Marcador</b>	<b>Número de secuencias</b>	<b>Longitud (pb)</b>	<b>Sitios conservados</b>	<b>Sitios variables</b>	<b>Sitios parsimoniosamente informativos</b>
<b>COI</b>	39	668	512	156	140
<b>12SrRNA</b>	13	422	397	25	19
<b>16SrRNA</b>	12	600	565	34	31
<b>RAG1</b>	11	665	640	25	19

Tabla 19.-Porcentajes de la distancia genética intra-específica de los cuatro marcadores para las especies de *Eugerres spp* (promedio  $\pm$  Error Estandar). Las abreviaturas corresponden a las especies: *Eaw*= *E. awlae*; *Eax*= *E. axillaris*; *Ebra*= *E. brasilianus*; *Eli*= *E. lineatus*; *Emex*= *E. mexicanus*; *Eplu*= *E. plumieri*. Ns= número de secuencias, Nh= número de haplotipos.

Especie	COI	Ns	Nh	12SrRNA	Ns	Nh	16SrRNA	Ns	Nh	RAG1	Ns	Nh
<i>Eaw</i>	0.03 $\pm$ 0.00032	9	2	0.23 $\pm$ 0.0023	2	2	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1
<i>Eax</i>	-	1	1	-	1	1	-	1	1	-	1	1
<i>Ebra</i>	0.40 $\pm$ 0.0019	3	3	0.15 $\pm$ 0.0014	3	2	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.10 $\pm$ 0.0009	3	2
<i>Elin</i>	0.12 $\pm$ 0.0008	11	5	0.23 $\pm$ 0.0022	2	2	0.35 $\pm$ 0.0023	2	2	-	1	1
<i>Emex</i>	0.03 $\pm$ 0.0003	10	2	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1	0.0 $\pm$ 0.0	2	1
<i>Eplu</i>	0.36 $\pm$ 0.0015	5	5	0.0 $\pm$ 0.0	3	1	0.23 $\pm$ 0.0015	3	2	0.15 $\pm$ 0.0015	2	2

Los datos obtenidos con el COI indicaron que existe una distancia promedio del 9.91%. La mayor distancia se presentó entre *E. axillaris* y *E. mexicanus* (17.38%), y menor entre *E. awlae* y *E. plumieri* (1.62%) (Tabla 21). *Eugerres lineatus* y *E. plumieri* fueron las dos especies del género que presentaron más haplotipos (Tabla 20).

Las distancias intra-específicas obtenidas mediante el 12SrRNA variaron del 0.0% (*E. plumieri* y *E. mexicanus*) al 0.23% (*E. awlae* y *E. lineatus*) (Tabla 19). La distancia genética inter-específica promedio fue de 1.9%. La mayor distancia se observó entre *E. lineatus* y *E. mexicanus* (4.07%) y la menor entre *E. awlae* y *E. plumieri* (0.96%) (Tabla 20).

De los análisis realizados con el marcador 16SrRNA, se obtuvo que solo *E. lineatus* y *E. plumieri* presentaron una distancia genética mayor al 0.2% (0.35% y 0.23%, respectivamente) (Tabla 19). Cada una de las otras especies presentaron secuencias similares y en consecuencia un solo haplotipo con distancias genéticas de 0.0%.

La distancia inter-específica promedio fue de 2.2%. *Eugerres mexicanus* y *E. lineatus* presentaron la mayor distancia (4.15%) y *E. awlae* y *E. plumieri* la menor (0.59%; Tabla 20).

Para el RAG1, se obtuvieron distancias intra-específicas bajas en comparación con el resto de los marcadores: 0.10% para *Eugerres brasilianus*; 0.15% para *E. plumieri* y de 0.0% para *E. awlae* y *E. mexicanus* (Tabla 19). La mayor distancia genética obtenida entre las especies de este género se registró entre *E. plumieri* y *E. mexicanus* (2.00%) y la menor entre *E. awlae* y *E. plumieri* (0.0%) (Tabla 20). Sólo *E. brasilianus* y *E. plumieri* presentaron dos haplotipos; en el resto de las especies sólo se observó uno (Tabla 19).

Tabla 20.- Porcentajes de la distancia genética entre las especies de *Eugerres spp.* El promedio dado debajo de la diagonal, el error estándar dado encima de la diagonal. Las abreviaturas corresponden a las especies: *Eaw*= *E. awlae*; *Eax*= *E. axillaris*; *Ebra*= *E. brasiliensis*; *Elin*= *E. lineatus*; *Emex*= *E. mexicanus*; *Eplu*= *E. plumieri*.

Marcador	Especies	<i>Eaw</i>	<i>Eax</i>	<i>Ebra</i>	<i>Elin</i>	<i>Emex</i>	<i>Eplu</i>
<b>COI</b>	<i>Eaw</i>	-	0.0153	0.0130	0.0130	0.0167	0.0048
	<i>Eax</i>	12.56	-	0.0139	0.0126	0.0188	0.0153
	<i>Ebra</i>	10.31	10.45	-	0.0136	0.0167	0.0125
	<i>Elin</i>	10.61	9.33	10.22	-	0.0173	0.0125
	<i>Emex</i>	15.46	17.38	15.08	16.45	-	0.0159
	<i>Eplu</i>	1.62	12.43	10.06	9.67	14.74	-
	<b>Promedio</b>				9.91 ± 0.0084		
<b>12SrRNA</b>	<i>Eaw</i>	-	0.0081	0.0049	0.0046	0.0085	0.0
	<i>Eax</i>	2.68	-	0.0087	0.0085	0.0091	0.0081
	<i>Ebra</i>	1.04	3.25	-	0.0053	0.0092	0.0049
	<i>Elin</i>	0.96	3.05	1.28	-	0.0097	0.0046
	<i>Emex</i>	3.18	3.43	3.76	4.07	-	0.0085
	<i>Eplu</i>	0.0	2.67	1.04	0.96	3.18	-
	<b>Promedio</b>				1.9 ± 0.0038		
<b>16SrRNA</b>	<i>Eaw</i>	-	0.0055	0.0058	0.0050	0.0081	0.0055
	<i>Eax</i>	1.80	-	0.0066	0.0043	0.0087	0.0050
	<i>Ebra</i>	1.99	2.72	-	0.0069	0.0085	0.0055
	<i>Elin</i>	1.44	1.07	2.92	-	0.0086	0.0042
	<i>Emex</i>	3.66	4.03	4.04	4.15	-	0.0076
	<i>Eplu</i>	0.59	1.44	1.87	1.08	3.29	-
	<b>Promedio</b>				2.2 ± 0.0036		
<b>RAG1</b>	<i>Eaw</i>	-	0.0045	0.00469	0.00403	0.00529	0.0
	<i>Eax</i>	1.535	-	0.00430	0.00317	0.00490	0.00451
	<i>Ebra</i>	1.744	1.436	-	0.00404	0.00474	0.00469
	<i>Elin</i>	1.378	0.762	1.278	-	0.00472	0.00403
	<i>Emex</i>	2.004	1.695	1.592	1.536	-	0.00530
	<i>Eplu</i>	0.0	1.537	1.747	1.380	2.007	-
	<b>Promedio</b>				1.39 ± 0.0027		

Las distancias inter-específicas del COI, permitieron distinguir cinco grupos claramente definidos, los cuales coinciden con los grupos previamente determinados mediante características morfológicas (Fig. 9).

El dendograma generado para el 12SrRNA (Fig. 9) permitió distinguir la presencia de cinco grupos, uno de los cuales se integró por *E. awlae* y *E. plumieri*, dos entidades previamente separadas por sus características morfológicas y por el COI.

En el caso del dendograma generado a partir de las secuencias parciales del fragmento 16SrRNA, permitió distinguir la presencia de seis grupos (Fig. 9). Esta configuración coincide con la obtenida con el marcador COI, y difiere de la obtenida con el 12SrRNA, el cual mostró sólo cinco clados. El número de clados obtenidos con el COI y el 16SrRNA coinciden con los grupos previamente determinados taxonómicamente.

Los resultados obtenidos mediante el RAG1, agruparon en un mismo conjunto a las especies *E. plumieri* y *E. awlae*, considerándose de esta forma, que son las especies más cercanas entre sí, mientras que el resto de las demás especies pudieron ser agrupadas de acuerdo a la distinción taxonómica establecida previamente con base en características morfológicas (Fig. 9).

Los dendogramas generados a partir de los cuatro marcadores permitiendo el reconocimiento de seis grupos con COI y 16SrRNA; sin embargo cuando se compararon las secuencias de 12SrRNA y RAG1, *E. awlae* y *E. plumieri* integraron un grupo (Fig. 10). Por su parte, las especies *Eugerres lineatus* y *E. axillaris* siempre formaron grupos independientes.

La distancia genética estimada con base en los cuatro marcadores moleculares analizados, indicó que casi todos los organismos de *E. mexicanus* presentaron secuencias idénticas, dentro de las cuales se incluían algunos ejemplares que fueron determinados previamente como la especie putativa *E. castroaguirrei*. La distancia intra-específica para COI fue de 0.1% y la intra e inter-específica para el resto de los marcadores fue de 0.0%. Los dendogramas tampoco

presentaron evidencia de la existencia de grupos distintos que representarían a las dos especies (Fig. 9 y 10).

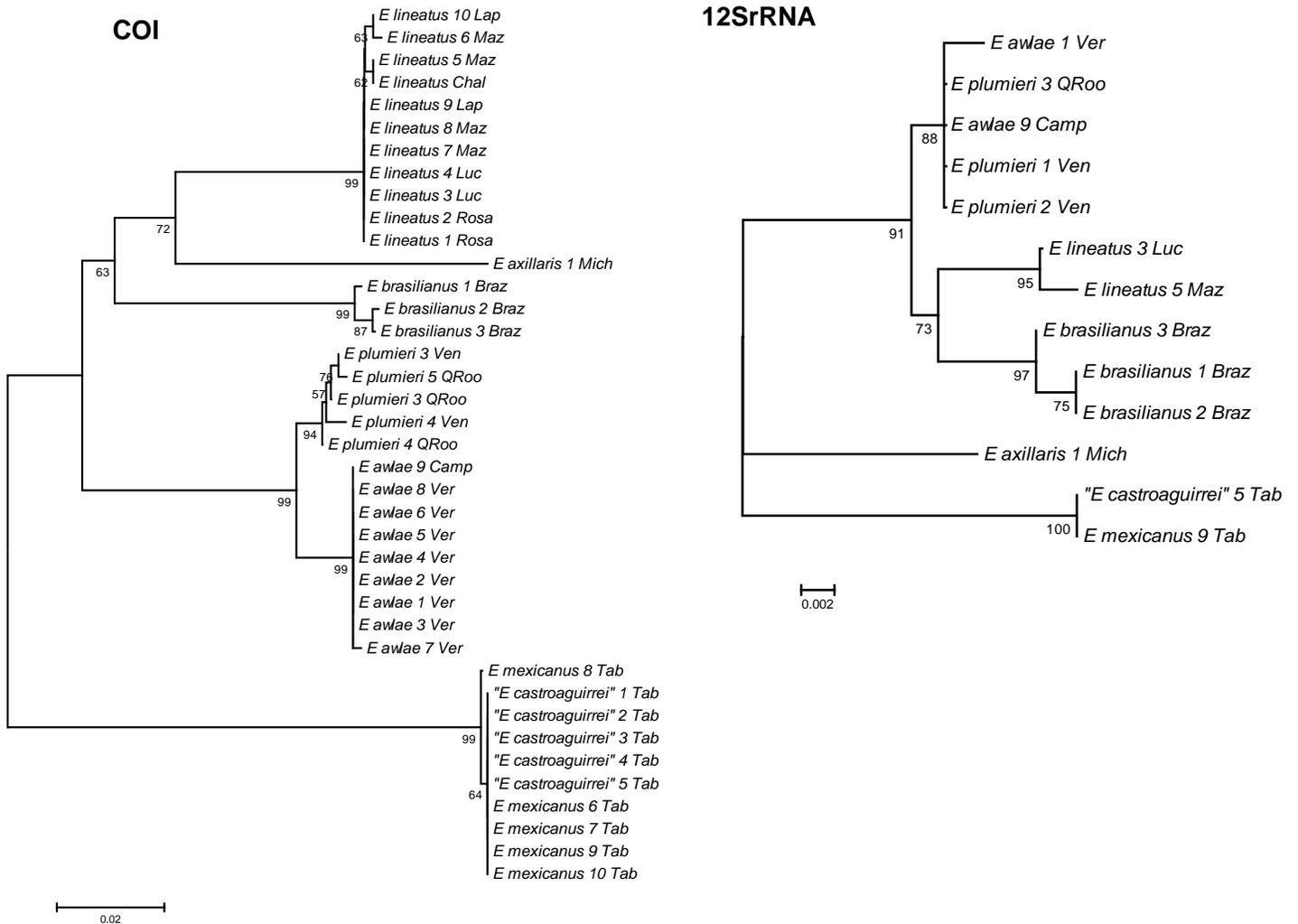
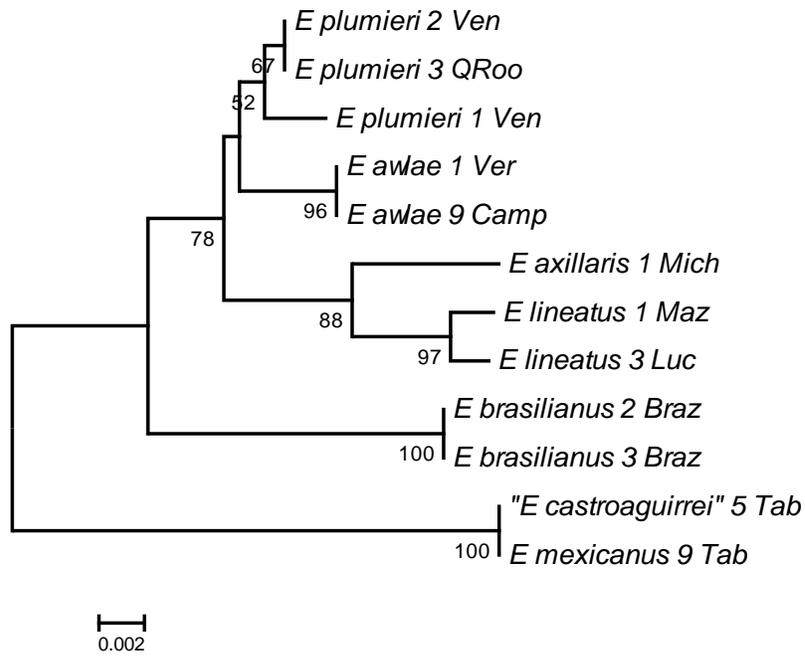
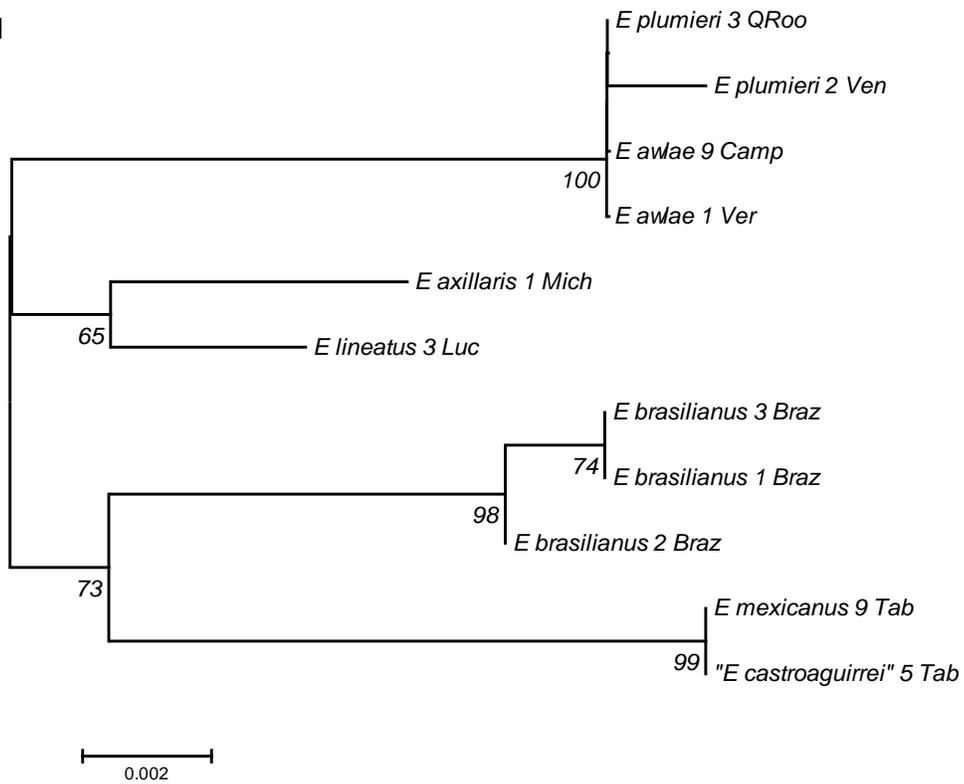


Figura 9.- Dendrogramas obtenidos mediante *Neighbor-joining* utilizando secuencias parciales de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies del género *Eugerres*. El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50% obtenido de la prueba de remuestreo de 1,000 repeticiones. La escala está dada acorde al índice de la distancia genética de Kimura de dos parámetros. Las letras corresponden a las localidades de captura de las especies nominales: Lap= La Paz; Maz=Mazatlán; Chal= Puerto Chale; Luc= San Lucas; Rosa= Santa Rosalía; Tab= Tabasco; Ver= Veracruz; Camp= Campeche; Ven= Venezuela; Braz= Brasil; QRoo= Quintana Roo; Mich= Michoacán.

16SrRNA



RAG1



Continuación de la Figura 9.

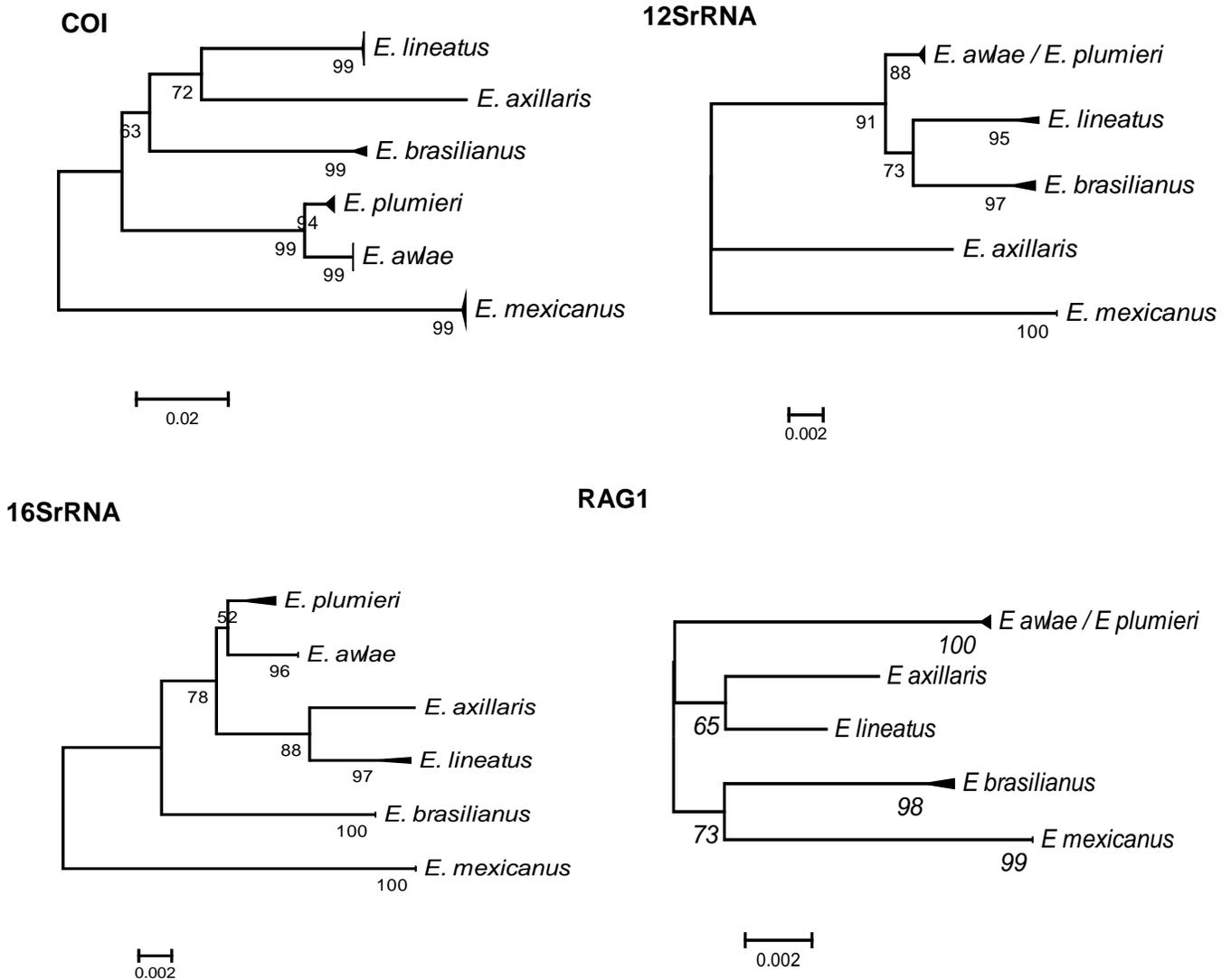


Figura 10.- Dendrogramas *Neighbor-joining* simplificados utilizando secuencias parciales de: COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 de las especies de *Eugerres*. El número debajo de la rama indica el valor bootstrap >50%. La escala está dada acorde a la distancia de Kimura de dos parámetros. El ancho de los puntos terminales en las ramas reflejan la variabilidad encontrada en todas las secuencias de cada uno de los clados.

Considerando que los resultados de los análisis moleculares no mostraron diferencias a nivel específico entre los ejemplares de *E. castroaguirrei* y *E. mexicanus*, las dos especies putativas de origen dulceacuícola fueron evaluadas también por medio de análisis estadísticos.

Para esto, se evaluaron 20 especímenes que fueron recolectados en El Recreo, Tenosique, Tabasco, México (17°28'52" N y 91°25'17" W) ubicado a orillas del Río Usumacinta. De manera adicional, se incluyeron las medidas y proporciones morfológicas de 42 especímenes de *E. castroaguirrei* (de los cuales seis son material tipo), y de 125 especímenes de *E. mexicanus* (tres son material tipo), esta información se obtuvo de González-Acosta & Rodiles-Hernández (2013).

Se analizaron los datos biométricos así como las proporciones en la longitud estándar, altura del cuerpo, longitud de la cabeza, y otras tres proporciones corporales establecidas en la descripción original de *E. castroaguirrei* (ver González-Acosta & Rodiles-Hernández, 2013). Debido a la naturaleza del tamaño de muestra en ambos sets de datos, se aplicó una prueba de Friedman (Ft) y una de Nemenji para comparar el material biológico (medidas y proporciones corporales). Teniendo en cuenta el hecho de que había múltiples comparaciones entre los especímenes, se utilizó la corrección de Bonferroni (el nivel de significancia dividido entre el número de pruebas o comparaciones). Una probabilidad de  $P < 0.05$  fue usada como criterio de significancia estadística.

Los resultados obtenidos de las comparaciones morfológicas y de las proporciones corporales, no mostraron diferencias entre los individuos de ambas especies putativas (Tabla 8). Por lo tanto, los análisis morfológicos y moleculares sugieren que no existe evidencia suficiente para suponer que lo que se considera como *E. castroaguirrei* (sensu González-Acosta & Rodiles-Hernández, 2013) es una entidad distintae de *E. mexicanus* (Steindachner, 1863).

Tabla 8.- Resultados de las pruebas de Friedman y Nemenji entre especímenes de *Eugerres mexicanus* capturados para el presente estudio (*E. mexicanus* 1) y aquellos registrados por González-Acosta & Rodiles-Hernández (2013) (material tipo: *E. castroaguirrei* y *E. mexicanus* 2), utilizando medidas y proporciones corporales. Diferencias pareadas entre grupos arriba de la diagonal, valores de P debajo de la diagonal.

Diferencias pareadas entre medidas y proporciones corporales	<i>E. castroaguirrei</i>	<i>E. mexicanus</i> 2	<i>E. mexicanus</i> 1
<i>E. castroaguirrei</i>	-	0.778	0.222
<i>E. mexicanus</i> 2	0.051	-	0.556
<i>E. mexicanus</i> 1	0.783	0.218	-

\*Nivel de significancia corregida de Bonferroni: 0.0167;  $\alpha = 0.05$ . Diferencia crítica: 0.7812.

## **Análisis filogenéticos**

Se obtuvo un fragmento concatenado de 1,376 pb del ADNmt proveniente de 518, 439 y 419 pb del COI, 12SrRNA, y 16SrRNA, respectivamente. De dicho fragmento se observaron 796 sitios conservados (57.85%), 560 sitios variables (40.70%) y 489 sitios parsimoniosamente informativos (35.54%). Un segundo fragmento de 2,011 pb fue construido a partir de la inclusión de 635 pb provenientes del marcador nuclear RAG1. Para este segundo fragmento, los sitios conservados fueron 1,243 pb (61.81%), 748 sitios variables (37.20%) y 612 sitios parsimoniosamente informativos (30.43%).

### Análisis de saturación

Los análisis para evaluar la saturación de la sustitución nucleotídica indicaron que ninguno de los marcadores moleculares empleados se encuentra saturado debido a que los valores observados de *I*ss fueron significativamente menores que los del *I*ss.c (Tabla 21). Por lo tanto, se considera que los fragmentos analizados para la familia Gerreidae no han alcanzado el punto de saturación, y su aplicación puede ser confiable en los análisis filogenéticos, ya que según Xia et al (2003), mencionan que la información obtenida a partir de ese tipo de datos (sin saturación) reflejará una reconstrucción filogenética cercana a la “realidad”.

Estos resultados también pueden ser observados a partir de la relación entre las transversiones / transiciones vs. la distancia genética (K80), en donde se muestra que existe un aumento gradual de las tasas de sustitución nucleotídica con respecto a la distancia genética entre las especies. Ésta relación linear entre las variables, indica que no existe saturación y por tanto se sugiere que los fragmentos son apropiados para su uso en este trabajo (Fig. 11 y 12).

Tabla 21 Resultados del test de saturación (Xia *et al.* 2003; Xia y Lemey, 2009).

Marcador	I <sub>ss</sub>	I <sub>ss.c</sub>	Error estándar	Interpretación
<b>COI</b>	0.2282	0.7170	0.0267	Mínima saturación, secuencias aptas para filogenia
<b>12SrRNA</b>	0.2705	0.7007	0.0470	Mínima saturación, secuencias aptas para filogenia
<b>16SrRNA</b>	0.3675	0.6961	0.0564	Mínima saturación, secuencias aptas para filogenia
<b>RAG1</b>	0.1002	0.7366	0.0147	Mínima saturación, secuencias aptas para filogenia

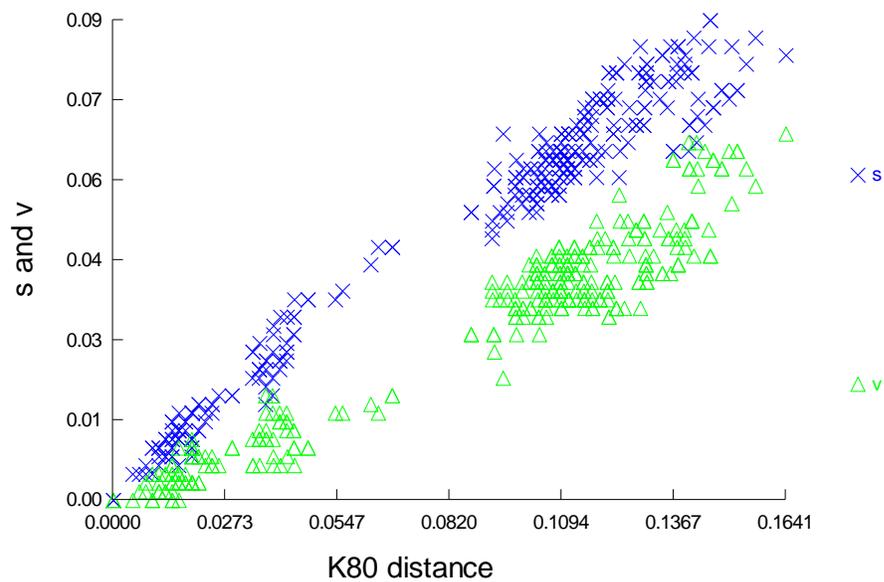


Figura 11. Prueba de saturación para el gen nuclear RAG1. Los triángulos en verde muestran las transversiones (V), las cruces en azul muestran las transiciones (S) a lo largo de las bases nucleotídicas del fragmento. Eje de las X muestra la distancia genética corregida implementada en Dambe (Xia, 2001; Xia y Xie, 2001); el eje de las Y muestran el número de sustituciones nucleotídicas.

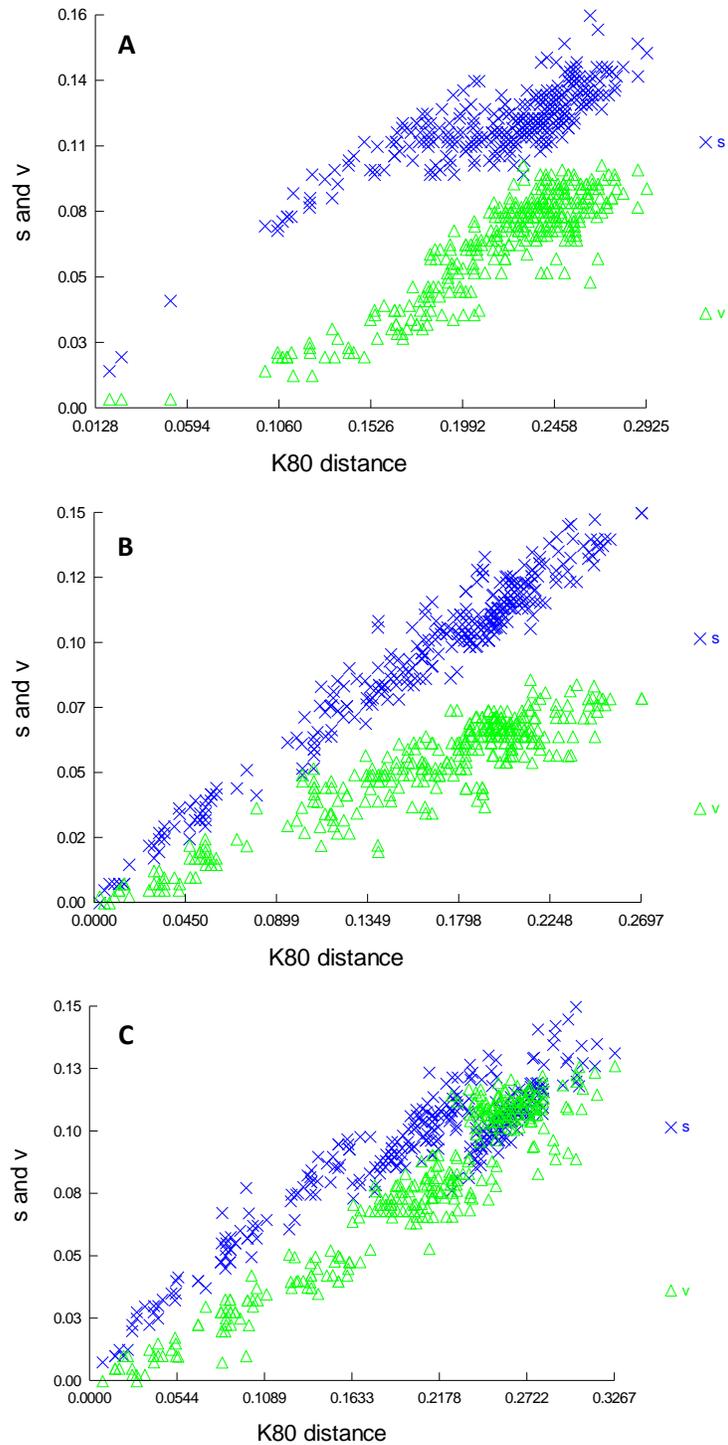


Figura 12. Pruebas de saturación para los genes mitocondriales utilizados en los análisis filogenéticos. Los triángulos en verde muestran las transversiones (V), las cruces en azul muestran las transiciones (S) a lo largo de las bases nucleotídicas para el COI (A), 12SrRNA (B) y 16SrRNA (C). Eje de las X muestra la distancia genética corregida implementada en Dambe (Xia, 2001; Xia y Xie, 2001); el eje de las Y muestran el número de sustituciones nucleotídicas.

Modelos de sustitución nucleotídica

Los modelos de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaron a los datos considerando la información de los criterios AIKAIKE (AIC) y Bayesiano (BIC), fueron los mostrados en la tabla 22 para cada uno de los marcadores analizados.

Tabla 22.- Resultados obtenidos mediante el programa jModelTest® 0.1.1 (Posada 2008) para la elección del modelo de sustitución nucleotídica de cada marcador molecular analizado.

Parámetros	COI		12SrRNA		16SrRNA		RAG1	
	AIC	BIC	AIC	BIC	AIC	BIC	AIC	BIC
<b>Tamaño de muestra</b>	518	518	439	439	419	419	635	635
<b>Modelo</b>	TIM1+I+G	TrN+I+G	TIM2ef+I+G	TIM2ef+I+G	GTR+G	TPM2uf+G	TIM2+I+G	K80+G
<b>Partición</b>	12230	10020	10232	10232	12345	10212	10232	10010
<b>-lnL =</b>	4867.3106	4868.5555	2911.7072	2907.9359	3117.7555	3125.4445	2724.5233	2734.357
<b>k</b>	58	57	55	55	59	56	58	52
<b>freqA</b>	0.2738	0.2739	-	-	0.3347	0.3263	0.2289	-
<b>freqC</b>	0.3042	0.3019	-	-	0.2661	0.2687	0.2513	-
<b>freqG</b>	0.117	0.1168	-	-	0.1847	0.1608	0.2947	-
<b>freqT</b>	0.3051	0.3075	-	-	0.2145	0.2442	0.2252	-
<b>R(a) (AC)</b>	1	1	6.3434	6.64	3.6896	3.8373	1.6765	-
<b>R(b) (AG)</b>	21.9161	16.2198	13.2642	13.8071	15.205	14.693	4.6313	-
<b>R(c) (AT)</b>	1.752	1	6.3434	6.64	7.8081	3.8373	1.6765	-
<b>R(d) (CG)</b>	1.752	1	1	1	1.5815	1	1	-
<b>R(e) (CT)</b>	11.6833	8.5724	31.6971	33.2999	25.805	14.693	7.048	-
<b>R(f) (GT)</b>	1	1	1	1	1	1	1	-
<b>p-inv</b>	0.613	0.613	0.133	0.382	-	-	0.374	-
<b>Gamma shape</b>	1.742	1.707	0.319	0.605	0.294	0.287	0.627	0.258
<b>kappa</b>	-	-	-	-	-	-	-	4.3606 (ti/tv=2.1803)

### Filogenia molecular

Las relaciones filogenéticas entre las especies de la familia Gerreidae se obtuvieron mediante tres métodos: máxima parsimonia, máxima verosimilitud, e inferencia Bayesiana. Para cada método se utilizaron tres matrices, la primera incluía el fragmento nuclear (RAG1 – 635 pb), la segunda incluyendo sólo los fragmentos de ADNmt (COI, 12SrRNA, 16SrRNA – 1,374 pb), y la última que incluía los tres fragmentos de ADNmt más el nuclear (COI, 12SrRNA, 16SrRNA + RAG1 – 2011 pb). Dichos fragmentos aportaron información confiable para su aplicación en los análisis, la cual de manera general permitió resolver las relaciones filogenéticas entre las especies de la familia Gerreidae.

#### *Máxima Parsimonia (MP)*

Los tres árboles generados a partir del método de MP mostraron topologías similares, en donde se observa una mayor afinidad entre el género *Eucinostomus* y el género *Gerres*; y entre el género *Eugerres* y *Diapterus*, con estrecha cercanía del género *Deckertichthys* (Fig. 13, 14 y 15).

Las topologías de los árboles correspondientes a los fragmentos de ADNmt y ADNmt + RAG1 generados con MP, mostraron de forma evidente la presencia de dos grupos dentro del género *Eucinostomus*, el primero constituido por las especies hermanas *E. dowii* y *E. argenteus*, *E. gula1*, *E. cff. gula* (Venezuela) y *E. gracilis*; el segundo grupo se integró por las especies hermanas *E. entomelas* y *E. jonesii*, y *E. melanopterus* y *E. currani* (Fig.15).

Los resultados obtenidos bajo este método no permitieron resolver la filogenia con el marcador nuclear RAG1 de manera clara, en donde el género *Diapterus* y *Deckertichthys* se encuentran entremezclados y las especies *Eucinostomus jonesii* y *Eucinostomus entomelas* no se aprecian como especies hermanas (Fig. 14).

COI + 12SrRNA + 16SrRNA

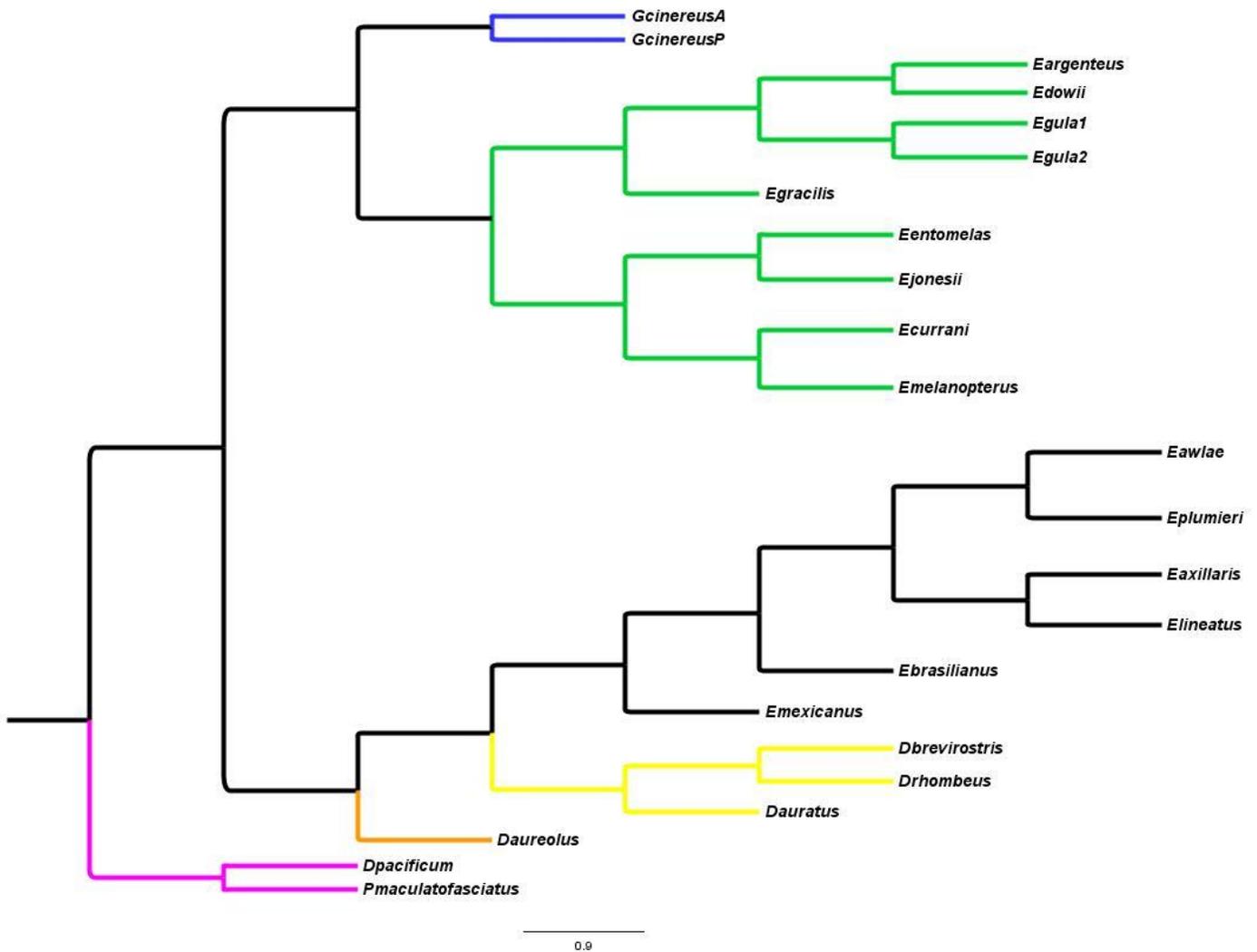


Figura 13. Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (MP), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA (1,376 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae.

RAG1

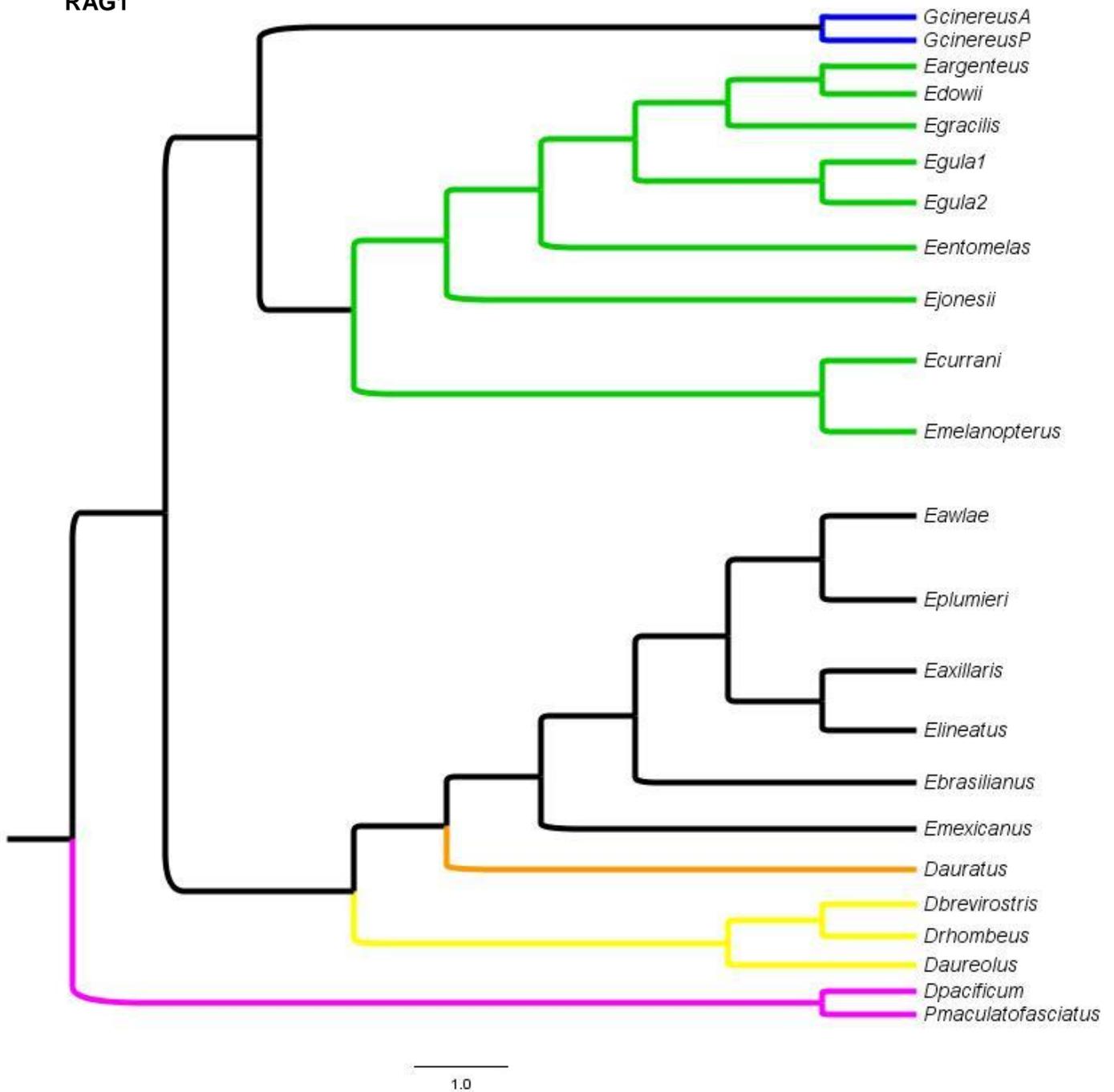


Figura 14. Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (MP), obtenido de los datos del fragmento nuclear RAG1 (635 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae.

COI + 12SrRNA + 16SrRNA

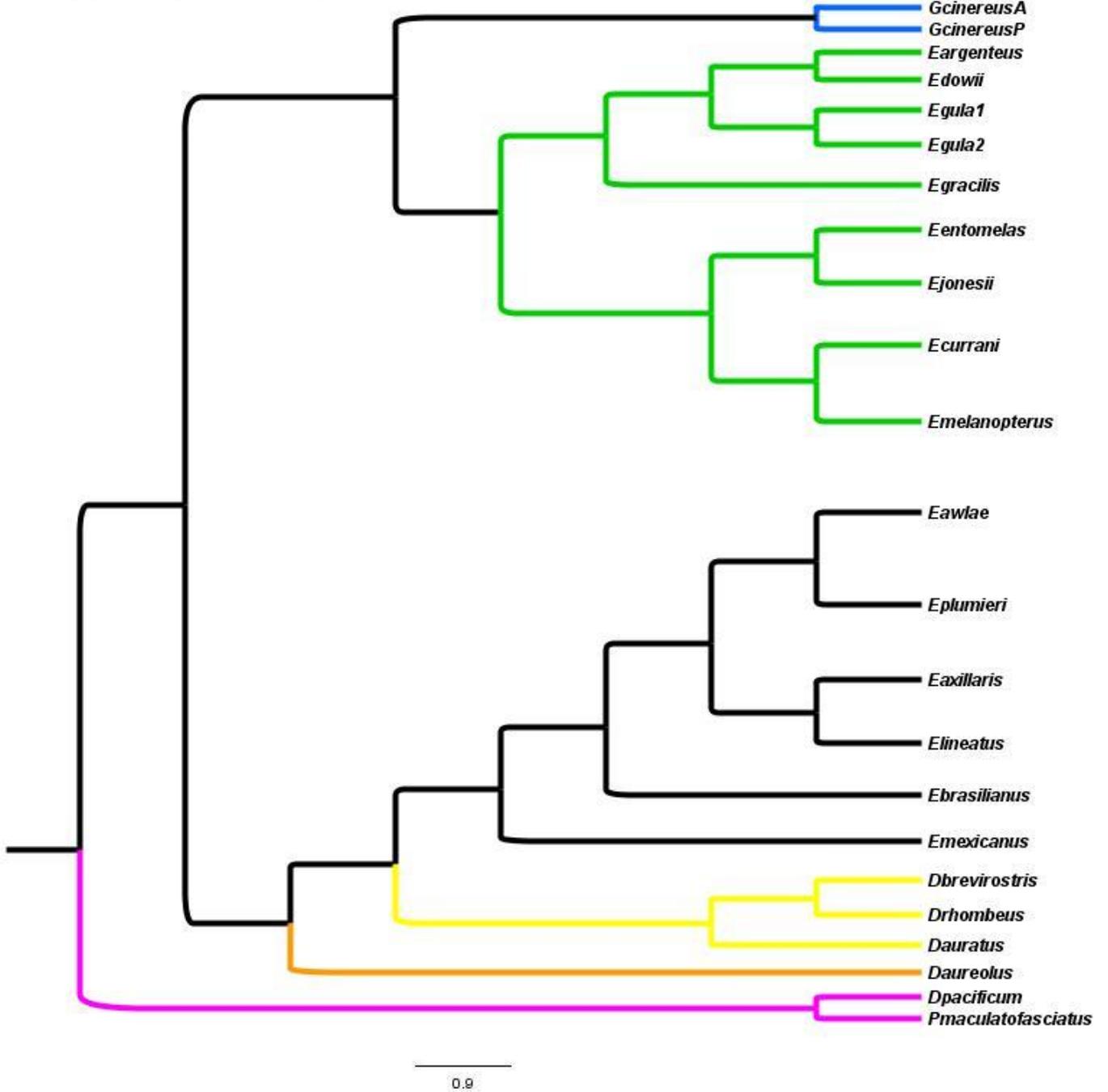


Figura 15. Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (MP), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA y RAG1 (2,011 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae.

### *Máxima Verosimilitud (ML)*

El análisis de máxima verosimilitud, generó tres árboles (ADNmt, RAG1 y ADNmt + RAG1) que mostraron topologías similares y congruentes, a excepción de algunos clados que no se lograron resolver de manera clara con el marcador RAG1 (Fig. 15 y 16). En las tres configuraciones, las especies del género *Eucinostomus* presentaron mayor afinidad con el género *Gerres*. Por su parte, las especies del género *Eugerres* se agruparon de manera cercana con el género *Diapterus*, y éste a su vez con el género monoespecífico *Deckertichthys* (Fig. 16, 17 y 18).

Los resultados de ML (ADNmt y ADNmt + RAG1) sugieren como especies fraternas o hermanas dentro del género *Eucinostomus* a *Eucinostomus argenteus* con *E. dowii*, *E. currani* con *E. melanopterus* y *E. entomelas* con *E. jonesii* (Fig. 18). En el caso particular de las entidades designadas como *E. gula* y *E. cff. gula*, se soporta la relación de especies hermanas. De acuerdo a estos resultados, el género *Eucinostomus* es un grupo monofilético dentro de la familia.

Para el género *Eugerres*, las especies sugeridas como hermanas son *E. plumieri* con *E. awlae* y *E. axillaris* con *E. lineatus*. La especie *E. brasilianus* presentó una mayor afinidad con las especies distribuidas en el Pacífico (*E. lineatus* y *E. axillaris*) que con aquellas distribuidas en el Atlántico (*E. plumieri* y *E. awlae*). Este análisis soporta la monofilia del género *Eugerres*, considerándose dentro del mismo a la especie de origen dulceacuícola *E. mexicanus*.

Con respecto al género *Diapterus*, se reafirma la afinidad entre *D. brevirostris* y *D. rhombeus*, así como la cercanía que presentan con el género *Deckertichthys*. Sin embargo, es importante mencionar que esta filogenia no se resuelve de forma clara a partir de la información del marcador molecular RAG1, debido a que *Diapterus auratus* no se encuentra agrupado con sus congéneres, en cambio se observa que éstas presentan una mayor cercanía con la especie del género *Deckertichthys* (Fig. 17).

COI + 12SrRNA + 16SrRNA

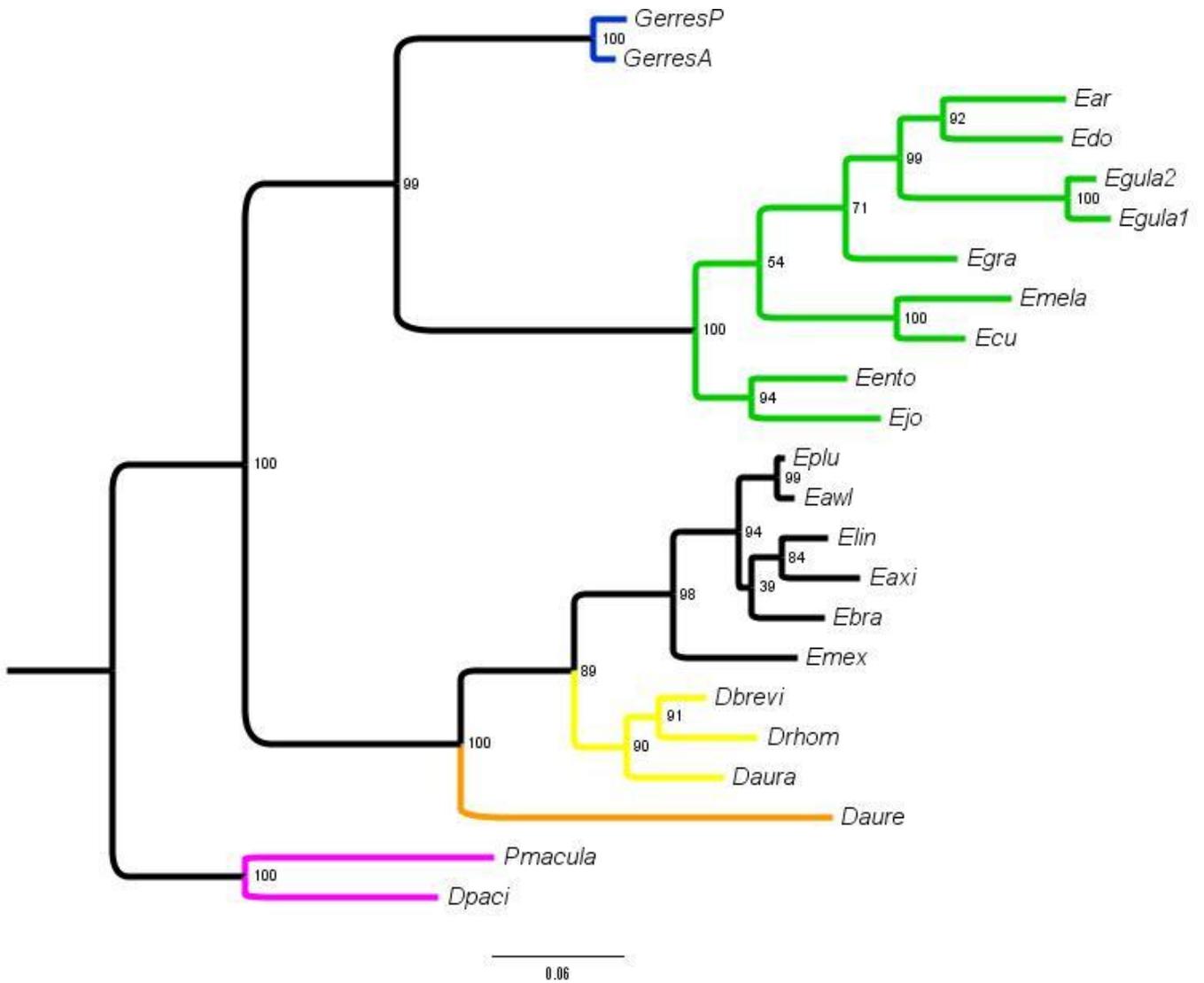


Figura 16. Árbol generado a partir del método de Máxima Verosimilitud (ML), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA (1,376 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae. Los números indican la probabilidad de las ramas.

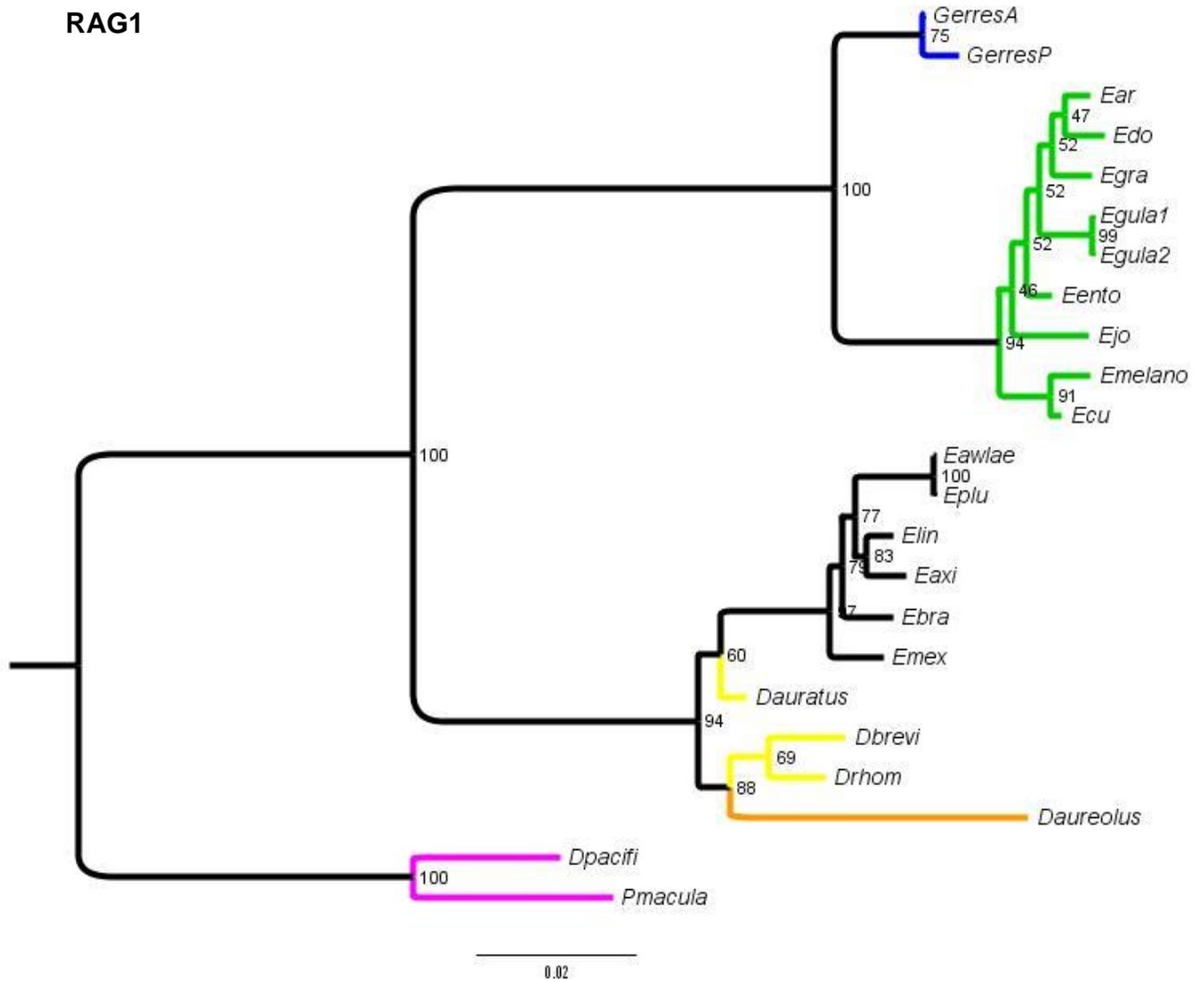


Figura 17. Árbol generado a partir del método de Máxima Parsimonia (ML), obtenido de los datos del fragmento nuclear RAG1 (635 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae. Los números indican la probabilidad de las ramas.

COI + 12SrRNA + 16SrRNA + RAG1

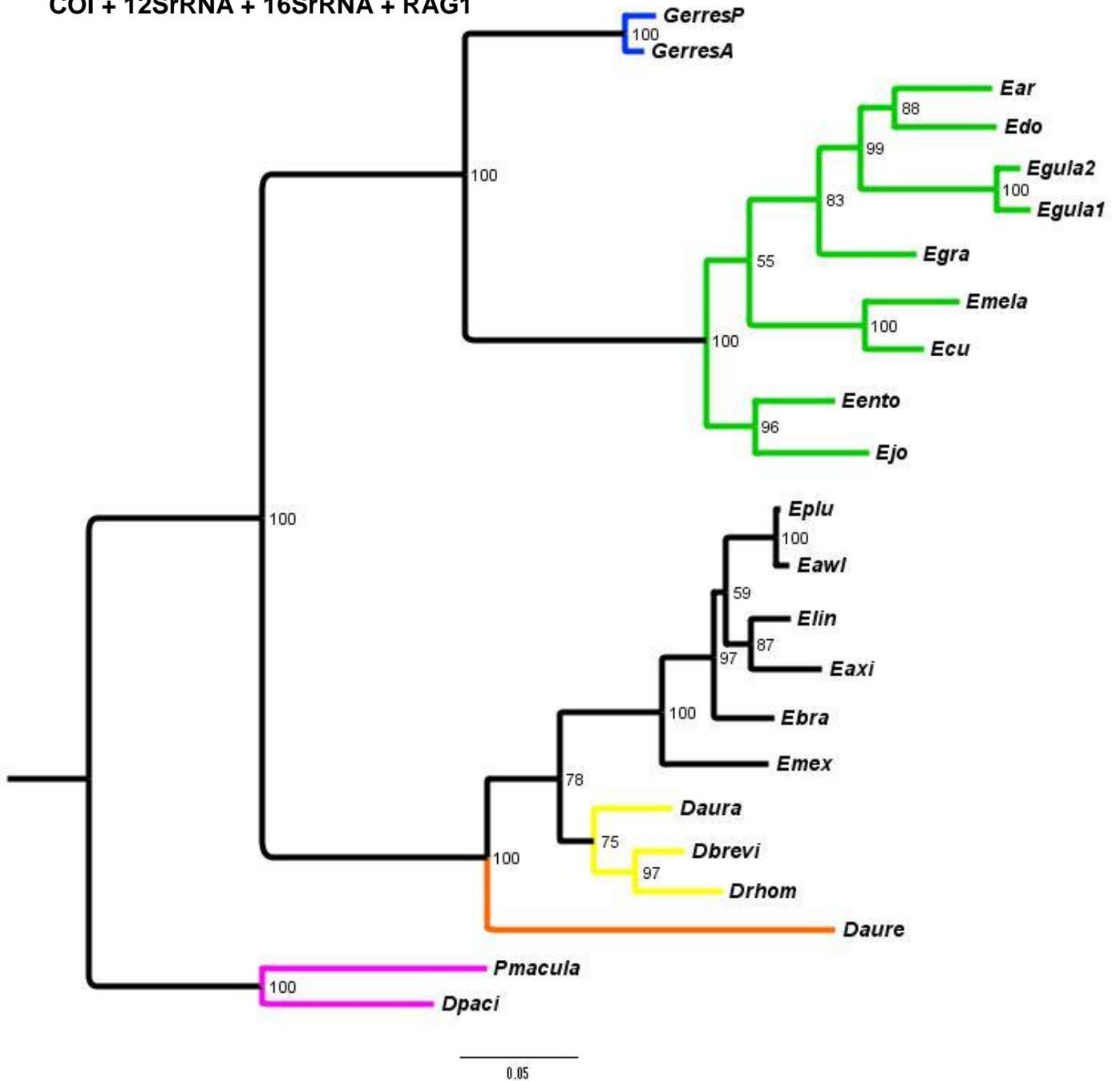


Figura 18. Árbol generado a partir del método de Máxima Verosimilitud (ML), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA y RAG1 (2,011 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae. Los números indican la probabilidad de las ramas.

### *Inferencia Bayesiana (IB)*

El análisis realizado bajo la Inferencia Bayesiana también permitió resolver de forma clara y congruente (con respecto a los antecedentes morfológicos previos) la filogenia de la familia Gerreidae, donde las topologías de los tres árboles generados (ADNmt, RAG1 y ADNmt + RAG1) fueron idénticas a las de los árboles obtenidos con ML y MP (Fig. 19, 20, 21).

Las configuraciones obtenidas mediante IB presentaron soportes altos de los remuestreos, con valores entre un 89% a 100% (ADNmt), de 69% a 100% (RAG1) y entre 93% a 100% (ADNmt + RAG1). Sólo un clado presentó un soporte por debajo del 80% (*D. auratus*, (*Diapterus brevisrostris*, *D. rhombeus*)) (Fig. 19, 20, 21).

Debido a la similitud y la robustez que presentaron las topologías obtenidas empleando diferentes métodos, se eligió el árbol generado mediante IB obtenido a partir de la matriz concatenada (ADNmt + RAG1) para ser considerado como referencia del análisis filogenético en general. De esta manera, dicho esquema en lo subsecuente se establecerá como la filogenia molecular de la familia Gerreidae, la cual representa a los cinco géneros de la familia claramente definidos (Fig. 21).

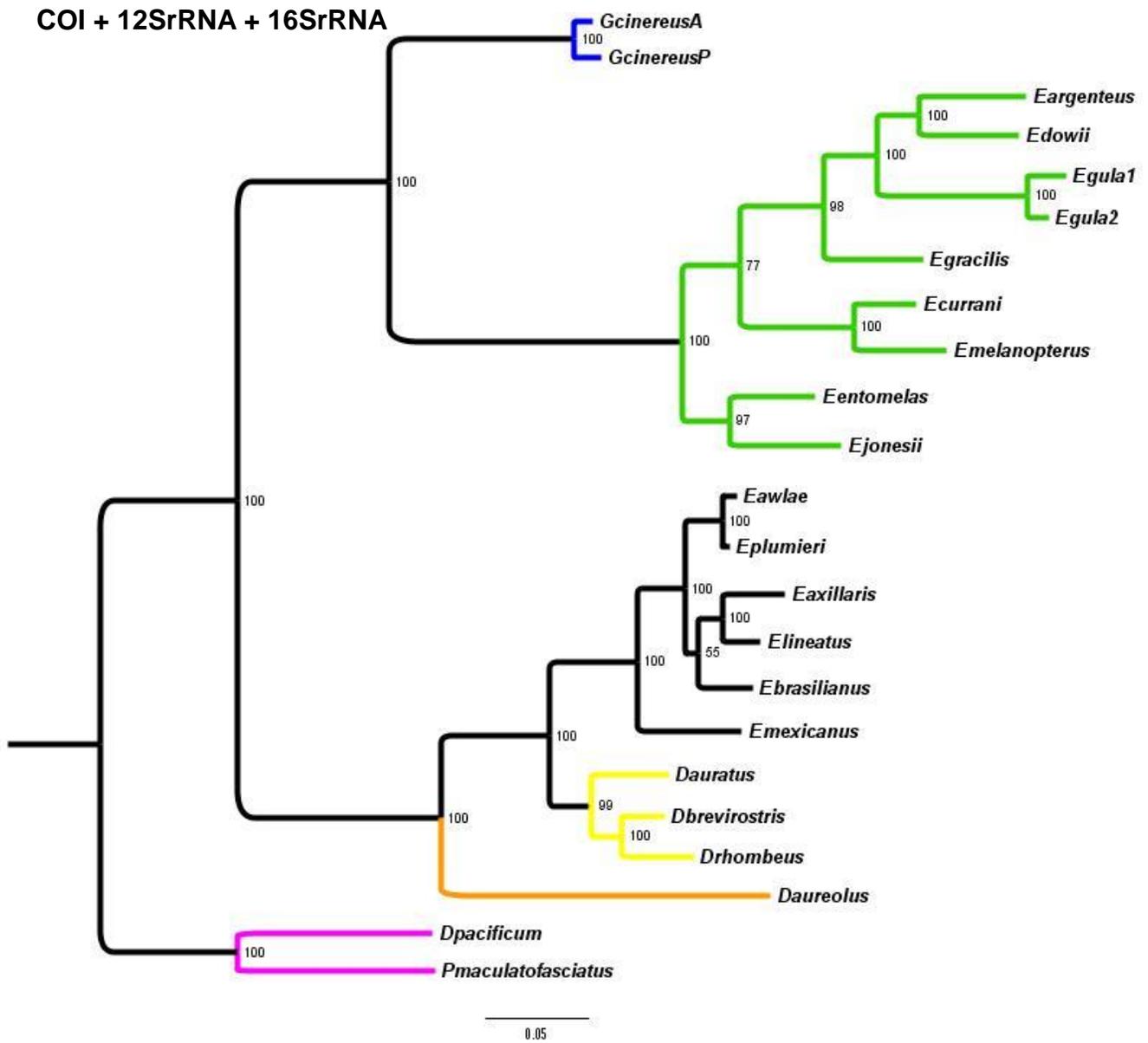


Figura 19. Árbol generado a partir del método de Inferencia Bayesiana (IB), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, y 16SrRNA (1,376 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae. Los número indican el soporte bootstrap de las ramas dado en porcentaje.



COI + 12SrRNA + 16SrRNA + RAG1

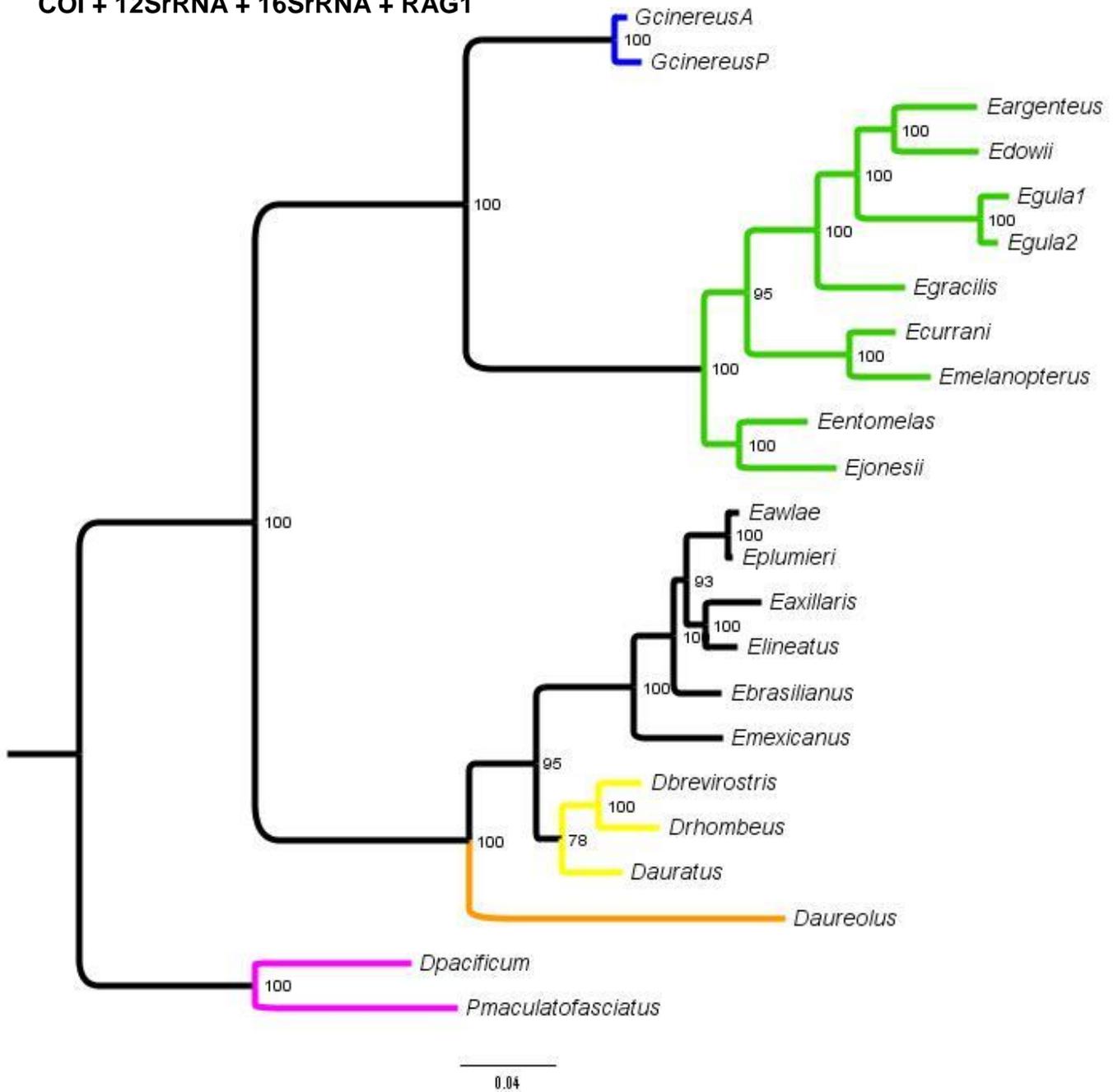


Figura 21. Árbol generado a partir del método de Inferencia Bayesiana (IB), obtenido de los datos combinados de COI, 12SrRNA, 16SrRNA y RAG1 (2,011 pb). Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae. Los número indican el soporte bootstrap de las ramas dado en porcentaje.

### Reloj molecular

La información obtenida a partir de la calibración del reloj molecular en el tiempo relativo, sugirió la presencia de un evento de especiación posterior al cierre del Istmo de Panamá. Este evento permitió la divergencia de cuatro grupos en especial dentro de la familia Gerreidae: *Eugerres awlae* y *Eugerres plumieri* (ocurrido hace 1.12 m.a.) y las dos entidades designadas como *Eucinostomus gula* y *E. cff. gula* (hace 2.97 m.a.) (Fig. 22).

Los tiempos de divergencia en el resto de las especies analizadas, sugieren la hipótesis de una serie de eventos ocurridos antes del último cierre del Istmo. De acuerdo con la calibración, el primer evento importante podría haber ocurrido hace  $\approx 57$  m.a., el cual permitió la separación entre (*Gerres* + *Eucinostomus*) y (*Diapterus* + *Deckertichthys* + *Eugerres*). Otro evento ocurrido hace  $\approx 40$  m.a. permitió la separación entre el género *Gerres* y *Eucinostomus*, y posteriormente este último género comenzó a diversificarse hace  $\approx 23$  m.a., siendo *Eucinostomus gula* la última especie en divergir hace  $\approx 2$  m.a.

Para la separación entre *Diapterus*, *Deckertichthys* y *Eugerres*, la calibración permite sugerir una fecha aproximada de divergencia entre *Deckertichthys* y (*Diapterus* + *Eugerres*) acontecida hace  $\approx 30$  m.a. y entre *Diapterus* y *Eugerres* un evento ocurrido hace  $\approx 20$  m.a. (Fig. 22).

Estos resultados permiten sugerir al grupo conformado por *Eugerres awlae* y *Eugerres plumieri*, como el más reciente dentro de la familia Gerreidae (Fig. 22).

De manera general, la calibración en el tiempo de divergencia entre las especies de la familia Gerreidae presenta diversos escenarios cuyos eventos permitieron la separación entre los gerreidos ocurridos entre  $\approx 57$  y  $\approx 1.2$  m.a., donde parece existir coherencia en asociar las divergencias genéticas presentes en la familia Gerreidae con la formación del Istmo de Panamá.

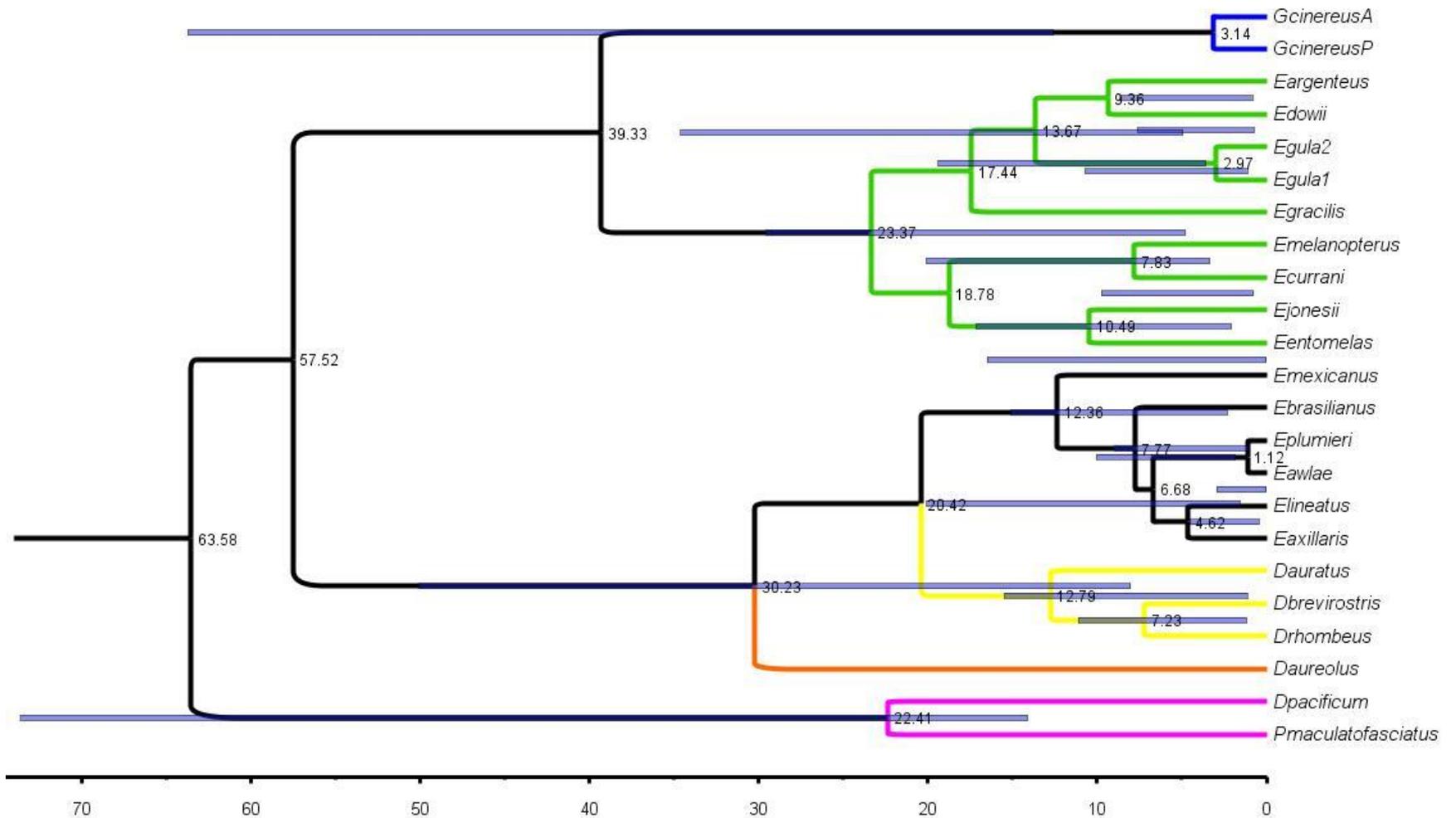


Figura 22.- Calibración del árbol en el tiempo relativo. Cronograma hipotético de los eventos de divergencia en la familia Gerreidae, obtenido de la estimación del tiempo de divergencia usando BEAST. Las barras en azul muestran la densidad posterior más alta (HPD por sus siglas en inglés; 95%), de la probabilidad posterior en la edad de los nodos. Las ramas en color representan cada uno de los género de la familia Gerreidae: azul= *Gerres*; verde= *Eucinostomus*; negro= *Eugerres*; amarillo= *Diapterus*; naranja= *Deckertichthys*; morado= familia Serranidae. Números en la escala representan millones de años.

## DISCUSIÓN

---

### Análisis moleculares

Aún cuando los peces de la familia Gerreidae representan un importante aporte en el volumen de captura de las pesquerías artesanales en varias partes del mundo (e.g. Sudáfrica, India, Australia y Latinoamérica), es poca la investigación exhaustiva que se ha realizado sobre las características biológicas de la familia (e.g. ciclo de vida, reproducción, edad y crecimiento, etc.; Kanak y Tachihara, 2006).

De igual forma, la sistemática de la familia, así como la definición y validez de determinadas especies dentro del grupo requieren de análisis detallados y profundos, debido a la poca diferenciación morfológica que se observa en algunos taxa, por lo que aún continúa el debate taxonómico de las mojarra (Ruiz-Carus y Uribe-Alcocer, 2004; Chen *et al.*, 2007).

A pesar que el conocimiento sobre la taxonomía de los Gerreidos ha avanzado, la aplicación de recientes estrategias y protocolos de análisis (e.g. herramientas moleculares) permite complementar de manera importante los estudios basados en criterios morfológicos, los cuales, en algunos casos, han presentado limitantes.

Los trabajos enfocados a la taxonomía molecular han sido escasos en el caso de la familia Gerreidae. En su mayoría, éstos corresponden a estudios realizados con los representantes del grupo distribuidos en el Indo-Pacífico y Golfo Pérsico (e.g. Chakraborty *et al.*, 2006; Asgharian *et al.*, 2010). Con respecto a las mojarra distribuidas en el continente americano, existen dos trabajos que utilizan secuencias de ADN con el objetivo de resolver algún aspecto taxonómico: el de Cázares-Carrillo (2011) y Vergara-Solana *et al.* (2014). Sin embargo, ambos trabajos se enfocaron sólo en un género (*Eucinostomus* y *Diapterus*, respectivamente). Por lo que el presente estudio se considera como el primero en evaluar el estatus taxonómico y

nomenclatural de las especies de la familia Gerreidae distribuidas en América con base en marcadores moleculares.

Algunas de las distancias inter-específicas encontradas en el presente estudio, fueron relativamente similares a las reportadas en peces marinos (e.g. Chakraborty *et al.*, 2006; Lessios, 2008; Lakra *et al.*, 2009; Cui *et al.*, 2010; Valdéz-Moreno *et al.*, 2010; Asgharian *et al.*, 2010; De La Cruz-Agüero *et al.*, 2012b; Ribeiro *et al.*, 2012; Zhang y Hanner, 2012; Liu *et al.*, 2013). Sin embargo, debido a la variación presente en las tasas de mutación entre los distintos linajes, las distancias genéticas entre diferentes grupos taxonómicos no son precisamente encontradas en los mismos órdenes de magnitud para detectar clados distintos. De manera general, las distancias genéticas intra e inter-específicas, permitieron soportar la existencia de grupos genéticos asociados a las especies de la familia Gerreidae.

Es importante mencionar que estos resultados en su mayoría fueron congruentes con los esquemas taxonómicos reportados previamente en la familia Gerreidae, pero además, permitieron detectar algunos clados inter-específicos que no habían sido detectados previamente mediante características morfológicas (e.g. *E. gula* y *E. cff. gula*) y sólo en el caso de las especies dulceacuícolas, no fue posible respaldar su validez taxonómica.

### Implicaciones taxonómicas

#### *Género Eucinostomus*

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, permitieron corroborar la validez taxonómica de nueve especies consideradas para el género *Eucinostomus* (ver Tabla 1). Desafortunadamente, no se pudieron obtener ejemplares de *Eucinostomus lefroyi* y *E. harengulus*, por lo que su validez aun debe ser corroborada.

El presente análisis reveló distancias genéticas relativamente altas entre las especies *Eucinostomus argenteus*, *E. dowii* y *E. entomelas*. Esto es importante

porque estas especies habían sido consideradas como sinónimas en el pasado, incluso *E. dowii* y *E. argenteus* en la mayoría de las claves taxonómicas se describían como una sola entidad (e.g. Bussing, 1995). Los resultados, en conjunto con análisis morfológicos y morfométricos (e.g. Zahuranec, 1967; Yáñez-Arancibia, 1980; De La Cruz-Agüero & Galván-Magaña, 1993; De La Cruz-Agüero, 2001) permitieron confirmar que *E. dowii* y *E. argenteus* son especies diferentes. Adicionalmente, De La Cruz-Agüero *et al.* (2014) mediante un análisis de morfometría geométrica detectaron diferencias estadísticas en la forma del cuerpo de las tres especies. Es importante resaltar que hasta el momento no existe evidencia que indique que *E. argenteus* se distribuye en ambas cuencas (Atlántico y Pacífico), por tanto se considera que su distribución se encuentra restringida al océano Atlántico y *E. dowii* al Pacífico.

En el caso de la especie *Eucinostomus havana*, no se incluyó en los análisis mayor información molecular sobre ella, debido a que sólo fue posible amplificar de manera exitosa dos fragmentos del ADNmt (12SrRNA y 16SrRNA), por lo que en trabajos posteriores deberá considerarse su inclusión, con la finalidad de perfeccionar los esquemas taxonómicos de este género.

Los resultados obtenidos con *Eucinostomus gula* sugieren la presencia de dos entidades evolutivas estrechamente relacionadas entre sí, una con una posible distribución restringida al Golfo de México y otra con distribución al sur del continente Americano (*E. cff. gula*), teniendo quizá como posible límite entre las dos entidades al Caribe Mexicano. Al respecto, Cázarez-Carrillo (2011) registró este mismo patrón entre *E. gula* y el denominado como *E. cff. gula*, sin embargo, no se hace mayor mención al respecto de estos resultados. Por su parte, Valdez-Moreno *et al.* (2010) registran también una separación de *E. gula* en dos grupos, mencionando que dicha separación coincide con la localidad de recolecta: un grupo corresponde a la costa noroeste de la Península de Yucatán (Golfo de México) y el otro corresponde a sitios de muestro en Quintana Roo (Caribe mexicano). Hasta este momento, se consideran como entidades genéticas distintas cuya única delimitación corresponde con su área

de distribución. En un futuro se requerirán análisis más detallados, empleando marcadores moleculares con un mayor polimorfismo que los empleados en este estudio y un mayor tamaño de muestra, con la intención de evaluar el nivel y grado de diferenciación genética, para que en conjunto con una revisión morfológica y morfométrica, se pueda resolver el estatus taxonómico de estas entidades.

#### *Género Diapterus y Deckertichthys*

Con respecto a estos dos géneros, se soportó la identidad taxonómica de las tres especies que comprenden el género *Diapterus*, y el género monoespecífico *Deckertichthys*, que Vergara-Solana *et al.* (2014) proponen.

#### *Género Gerres*

El género *Gerres* es considerado por algunos autores como un género monotípico distribuido en ambas costas del continente americano (Curran, 1942; Matheson, 1983). Por su parte, Burnes-Romo (2009) ha mostrado evidencia morfológica y merística que permiten soportar el reconocimiento de dos entidades evolutivas distintas, presentes en cada una de las cuencas. De esta manera, se sugiere reconocer a la forma del Pacífico oriental como *Gerres simillimus* Regan, 1907 y a la del Atlántico *G. cinereus* (Walbaum, 1792).

Los resultados generados por Burnes-Romo (2009) constituían el primer estudio formal sobre la identidad taxonómica del género en América desde el trabajo realizado por Regan hace más de 100 años (1906-1908). Sin embargo, debido a la escasez de análisis moleculares no fue posible detectar niveles de diferenciación genética, ni tampoco derivó en una publicación arbitrada que validaran sus hallazgos. En el presente trabajo se aporta evidencia molecular que permite darle robustez a la hipótesis que soporta la presencia de dos entidades evolutivas distintas entre los organismos del género *Gerres*.

Considerando la distancia genética entre estos grupos, la falta de evidencia que indique que entre los ejemplares de cada una de las cuencas existe flujo

genético, y las diferencias morfológicas, merísticas, óseas y genéticas analizadas por otros autores (e.g. Burnes-Romo, 2009; Valle-López, 2014; García-Rodríguez *et al.*<sup>1</sup>), se apoya la idea de que se considere al género *Gerres* distribuido en América, integrado por dos especies, *G. similimus* y *G. cinereus*, la primera de ellas confinada a la vertiente del Pacífico y la segunda a la del Atlántico.

### Género *Eugerres*

En el género *Eugerres* la menor distancia genética inter-específicas se presentó entre *Eugerres awlae* y *Eugerres plumieri* (e.g. 1.5% para COI). Además, éstas fueron las especies que presentaron la menor distancia inter-específica en toda la familia.

*Eugerres awlae* fue re-descrita y considerada como válida hace menos de diez años, con base en análisis morfométricos y merísticos (González-Acosta *et al.*, 2007). Sin embargo, en la actualidad existen algunos autores que no consideran su estatus específico (e.g. Valdéz-Moreno, 2012), y mencionan que *E. awlae* debería seguir siendo tratada como sinónimo de *Eugerres plumieri*. Estas afirmaciones pudieran ser resultado de la gran semejanza morfológica que presentan entre si estas entidades, sin embargo, González-Acosta *et al.* (2007) mencionan algunas características que permiten distinguir cada uno de estos grupos. Dichas características parecen ser suficientes al momento de designar organismos perteneciente a *E. awlae*.

Cabe mencionar que hasta el momento los resultados obtenidos en este trabajo, en conjunto con los análisis morfológicos y morfométricos previos (e.g. González-Acosta *et al.*, 2007), nos indican que no existe evidencia suficiente para considerar a *E. awlae* como especie sinónima de *E. plumieri*, y por tanto se soporta la validez taxonómica de ambas entidades.

---

<sup>1</sup>Actualmente se encuentra en prensa un estudio el cual mediante la aplicación de análisis genéticos y morfométricos permitirán darle de manera formal, la validez taxonómica a la especie *Gerres simillimus* distribuída en el Pacífico (Dr. F.J. García-Rodríguez. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S. Noviembre 2014, *com. pers.*).

No obstante, durante la realización de este trabajo, se observó que puede existir confusión al momento de determinar ejemplares de *E. plumieri*, lo que pudiera indicar que los criterios considerados para la delimitación de las mismas, no son suficientes y requieren de una revisión más detallada. Ésto derivaría en una revaloración y reestructuración de las claves de identificación, hasta ahora propuestas, a partir de análisis morfológicos y merísticos de mayor rigor.

Dentro de este contexto, se observa también la necesidad de realizar análisis que permitan entender como se distribuyen estos linajes. De acuerdo a lo registrado para *E. awlae*, esta especie parece estar restringida al Golfo de México, mientras que *E. plumieri* pudiera presentar una distribución más al sur del Caribe mexicano (comportamiento similar al observado en el complejo de especies *E. gula* y *E. cff. gula* de este trabajo). Por lo que en un futuro sería conveniente realizar análisis filogeográficos los cuales, en conjunto con diversas disciplinas (e.g. biogeografía, ecología) permitan establecer límites entre especies (*sensu* Torres-Hernández, 2014).

De la misma manera, este trabajo también corrobora la identidad taxonómica de *Eugerres axillaris* y *Eugerres lineatus*, la cual había sido objeto de duda en el pasado. Esto pudiera ser resultado también de la falta de criterios morfológicos que permitan una correcta delimitación específica entre estos organismos. Si bien los criterios considerados por Meek y Hildebran en 1925 fueron redefinidos por González-Acosta *et al.* (2005) mediante análisis morfológicos, se requiere una revisión detallada, ya que durante la elaboración de este trabajo se pudieron observar inconsistencias, las cuales dificultaban su determinación (e.g. número de branquiespinas presentes en cada especie). Así como sucedió en el caso de *E. awlae* y *E. plumieri*, existe confusión para *E. lineatus* y *E. axillaris* en cuanto a su rango de distribución, la cual parece indicar que ésta última especie presenta una distribución más restringida hacia la parte sur del Pacífico Mexicano de la que mencionan algunos autores (Bussing, 1995; González-Acosta *et al.*, 2005).

Dentro del género *Eugerres*, se considera a la especie *E. periche*, sin embargo, su validez taxonómica sigue siendo cuestionable por algunos autores (e.g. González-Acosta *et al.*, 2005). Esto debido a que sólo ha sido representada por cinco ejemplares resguardados en colecciones de museos de historia natural, con el holotipo en el Smithsonian Institution, Washington, D.C., U.S.A. y otros cuatro especímenes en el museo de Suecia. Deckert (1973) consideró esta especie como sinónimo de *E. axillaris*. Aún cuando en el presente estudio se hizo un esfuerzo por conseguir todas las especies de la familia distribuidas en América, no fue posible obtener ejemplares de esta especie, por tal motivo, no se presentan elementos que permitan concluir su validez taxonómica. Una situación similar ocurrió con la especie *Eugerres brevimanus*, ya que tampoco se pudieron obtener ejemplares en fresco. Por tal motivo, su pertinencia sigue sin resolverse bajo un soporte molecular.

La validez taxonómica de *Eugerres castroaguirrei*, no fue soportada en este estudio debido a que las comparaciones de los caracteres morfológicos y moleculares de esta especie entre *E. mexicanus*, mostraron claramente que los especímenes de ambas especies putativas no fueron diferentes, ni genética ni morfológicamente.

Todas las características diagnósticas establecidas para *E. castroaguirrei* se traslapan con las de *E. mexicanus*. Incluso la característica diagnóstica de *E. castroaguirrei* que menciona que los labios inferiores se extienden ventralmente más allá del punto medio del ojo, no llega a cumplirse en el holotipo, a juzgar por la figura 3a de González-Acosta & Rodiles-Hernández (2013: 312). Dejando de lado el considerable traslape de medidas y las inconsistencias en las características diagnósticas (no cuantificables) citadas por los autores de *E. castroaguirrei*, pareciera que las diferencias morfológicas que se pudieran observar entre los dos morfotipos, son el resultado de la plasticidad fenotípica de *E. mexicanus*. De acuerdo a Lin & Dunson (1999), la plasticidad fenotípica describe un perfil de morfotipos posibles de un genotipo fijado, el cual es afectado por la variación temporal y espacial del medio ambiente.

Esta documentado que la adaptación de los peces al estrés ambiental (altos gradientes, ambientes con flujo rápido de agua, etc.) alteran la morfología y dichas modificaciones pueden incluir alteraciones morfológicas en la forma del cuerpo, de los labios, espinas y radios, y patrones de coloración (Li *et al.*, 2013). Lo cual se ha observado en varios especímenes de *Eugerres mexicanus*.

Por lo tanto, se aportan elementos para que se llegue a considerar, que estas dos especies putativas debieran ser tratadas como sinónimos. Bajo el Principio de Prioridad de la nomenclatura zoológica *Eugerres mexicanus* (Steindachner, 1863) correspondería a la especie válida y *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta *et Rodiles-Hernández*, 2013 debería ser considerado como sinónimo junior.

Es oportuno mencionar que el estatus taxonómico de las especies que conforman la familia Gerreidae ha experimentado cambios importantes (*e.g.*, Curran, 1942; González-Acosta *et al.*, 2005, 2007a, 2007b; Vergara-Solana *et al.*, 2014) como resultados de los esfuerzos realizados por aclarar dudas sistemática de la familia. Los problemas taxonómicos han sido favorecidos por la presencia de características morfológicas similares entre las especies, las deficientes descripciones originales que se caracterizan por ser breves, limitadas y confusas en su información, la pérdida de ejemplares tipo de algunas especies (*e.g.* *Gerres*, *Eugerres*), y la falta de divulgación formal de las investigaciones realizadas. Sin embargo, las nuevas y robustas metodologías, seguirán aportando la información necesaria para tener una mejor comprensión sobre los gerreidos.

## **Análisis filogenéticos**

La sistemática de la familia Gerreidae ha tenido una historia de inestabilidad causada principalmente por la poca diferenciación de los caracteres morfológicos y la subjetividad en las descripciones originales de algunas especies (Ruiz-Carus & Uribe-Alcocer, 2003). La falta de una taxonomía resuelta conduce a una filogenia no clara.

Las escasas propuestas filogenéticas que se han sugerido para la familia Gerreidae, en su mayoría se han realizado con base en caracteres morfológicos y han considerado sólo un género determinado (e.g. De La Cruz-Agüero, 2001; González-Acosta, 2005; Álvarez-Pliego, 2009; Ortiz-Galindo, 2009; Chollet-Villalpando, 2012; Miranda-Marín, 2012).

Por su parte, aquellas propuestas que involucran análisis moleculares, ya sean solos o en conjunto con análisis morfológicos, son muy pocas y sólo contemplan un representante por género. Hay quienes trabajaron con alloenzimas (e.g. Ruiz-Carus & Uribe-Alcocer; 2003), diversos marcadores moleculares o aquellos que no incluyen todos los géneros (Espinosa *et al.*, 1993; Benítez-Cortés, 2004; Chen *et al.*, 2007; Vergara-Solana *et al.*, 2014).

Uno de los trabajos más recientes y completos que se han realizado hasta el momento, y el cual ha tenido grandes implicaciones dentro del conocimiento de la familia, es el realizado por Vergara-Solana *et al.* (2014). Mediante análisis de morfometría geométrica y datos moleculares, los autores evaluaron la taxonomía del género *Diapterus* y aportan evidencia para poder definir a *Deckertichthys* como un nuevo género monotípico dentro de los gerreidos.

Bajo este escenario, no existía hasta el momento una propuesta filogenética molecular la cual involucrara a la mayoría de las especies anfiamericanas de la familia Gerreidae. La que se propone en el presente trabajo, corresponde a la topología obtenida mediante Inferencia Bayesiana (Fig. 20) e incorpora toda la

información generada a partir de las secuencias de ADN mitocondrial (12SrRNA, 16SrRNA, COI) y nuclear (RAG1).

El árbol filogenético permitió detectar la monofilia de la familia Gerreidae con respecto a la familia Serranidae, el grupo externo considerado más cercano a los gerreidos entre los Perciformes (Chen, *et al.*, 2007). Los análisis filogenéticos previos realizados a partir de caracteres morfológicos y osteológicos indican una estabilidad a nivel de géneros (*sensu* De La Cruz-Agüero, 2001), la cual se mantuvo mediante la aplicación de análisis de caracteres moleculares.

De igual manera, se sugiere que la familia Gerreidae se encuentra integrada por dos sub-grupos principales (*Diapterus* + *Eugerres* + *Deckertichthys* y *Eucinostomus* + *Gerres*). Estos resultados concuerdan con lo registrado por Espinosa *et al.* (1993), Ruiz-Carus & Uribe-Alcocer (2003), Benitez-Cortéz (2004), Chen, *et al.* (2007), Ortíz-Galindo (2009) y Chollet-Villalpando (2012). Además se apoya en las propuestas morfológicas previas (*e.g.* Fisher, 1978; Deckert & Greenfield, 1987; Cervigon, 1993; Eschmeyer, 1998) donde mencionan que es totalmente válido delimitar a la familia en dos grupos con base en la forma del preopérculo: uno incluyendo a los géneros que presentan un preopérculo aserrado (*Diapterus* + *Eugerres* + *Deckertichthys*) y otro con aquellos que lo presentan liso (*Eucinostomus* + *Gerres*). Esta situación revela un aspecto evolutivo relevante, en términos de que la adquisición morfológica de un operculo aserrado surgió una vez que el ancestro común de estos dos grupos derivó el linaje que dio origen a *Diapterus* + *Eugerres* + *Deckertichthys*.

El género *Eucinostomus* es considerado por diversos autores como uno de los más complejos y a su vez más diversos dentro de la familia (Matheson & McEachran, 1984; De La Cruz-Agüero & Galvan-Magaña, 1993; De La Cruz-Agüero, 2013). De La Cruz-Agüero (2001) realizó la primera propuesta filogenética para este género, con base en caracteres morfológicos y osteológicos, a partir de análisis de parsimonia. Sus resultados le permiten concluir que el género *Eucinostomus* forma

un grupo monofilético con respecto a los demás géneros dentro de la familia donde *Gerres cinereus* se considera la especie hermana del género. Esta propuesta es fuertemente soportada por los análisis filogenéticos de este trabajo, los cuales confirman la estrecha cercanía que existe entre *Eucinostomus currani* y *Eucinostomus melanopterus*, cuya coloración tipo bandera (dos bandas oscuras y una blanca) en la aleta dorsal es única entre el género (Bussing, 1995).

A diferencia de la propuesta hecha por De La Cruz-Agüero (2001), los resultados del presente estudio permiten soportar que *Eucinostomus dowii* y *E. argenteus* pueden ser consideradas especies hermanas, las cuales se encuentran relacionadas a su vez con las dos entidades denominadas como *Eucinostomus gula* y *E. cff. gula*. Posteriormente se agrupa *E. gracilis* y el complejo formado por *E. entomelas* y *E. jonesii*. Una filogenia resuelta para el género podrá ser considerada hasta que pueda integrarse al análisis representantes de *Ulaema-Eucinostomus lefroyi* y *Lepidochir-Eucinostomus havana*.

Para el género *Diapterus* se han propuesto dos hipótesis filogenéticas, una hecha por Álvarez-Pliego (2009) con base en caracteres osteológicos y la otra por Vergara-Solana *et al.* (2014) con base en análisis morfométricos y moleculares. La primera propuesta establece a las especies *D. auratus* y *D. brevirostris* como especies hermanas y excluye a *Diapterus aureolus*, por lo que llegó a sugerirse que esta última especie constituía un nuevo subgénero. Posteriormente, Vergara-Solana *et al.* (2014) postula como especies hermanas a *D. brevirostris* y *D. rhombeus* cuya afinidad es cercana a *Diapterus auratus*. Debido a la inclusión en los resultados de la especie *Eugerres plumieri* entre los integrantes del género *Diapterus*, se procedió a designar un nuevo género para la especie *Diapterus aureolus* (*Deckertichthys aureolus*), ya que no se soportaba la monofilia del género. Con el empleo de marcadores similares, y considerando a la mayoría de las especies de la familia Gerreidae, nuestro planteamiento apoya la propuesta hecha por Vergara-Solana *et al.* (2014).

Quizá el género *Eugerres* sea el que tenga un mayor número de propuestas filogenéticas. El primero en hacer una propuesta fue González-Acosta (2005), quien por medio de una serie de análisis merísticos, morfológicos y osteológicos, sugiere la estabilidad taxonómica del grupo, así como las relaciones genealógicas entre las especies que lo componen. De esta manera el autor propone la siguiente topología [*E. mexicanus* - [[*E. plumieri* - *Eugerres awlae*] - [*E. axillaris* [*E. brasilianus* [*E. brevimanus* - *E. lineatus*]]]]. Sin embargo, el estudio llevado a cabo por Chollet-Villalpando (2012) a partir del análisis del tamaño, la forma y el contorno del hueso urohial, y considerando las matrices de caracteres morfológicos reportadas por otros autores (De La Cruz-Agüero, 2001; Álvarez-Pliego, 2009; González-Acosta, 2005), no encontró congruencia con la topología propuesta por González-Acosta (2005) y sugiere que es debido a que los caracteres hayan sido codificados de manera diferente. Las diferencias observadas entre la topología generada en el presente trabajo a partir del análisis molecular y la reportada por Chollet-Villalpando (2012) pueden ser debidas a que no se incluyó en el presente trabajo a la especie *E. brevimanus*. Además, se considera que los datos moleculares pudieran estar reflejando relaciones evolutivas más robustas que las que se observan con los caracteres morfológicos, ya que estos pudieran reflejar influencia de factores externos como el medio ambiente.

La propuesta filogenética más reciente sobre el género *Eugerres*, es la realizada por Miranda-Marín (2014), cuya reconstrucción filogenética mediante ML, MP e IB es generada a partir del análisis de secuencias de COI. Establece que el género *Eugerres* constituye un grupo parafilético-polifilético, donde el componente de origen dulceacuícola (*Eugerres mexicanus* – *Eugerres castroaguirrei sensu lato*) parece mostrar un origen evolutivo independiente con relación al resto de las especies. Si bien estudios previos también insinuaban que el componente dulceacuícola debía ser considerado como una entidad genérica distinta de *Eugerres* (e.g. Castro-Aguirre *et al.*, 1999), debido a una serie de diferencias morfológicas y morfométricas notables, así como su patrón de distribución dulceacuícola, la evidencia molecular no fue suficiente como para soportar de manera robusta dicha

hipótesis. De hecho, la información molecular soportó lo contrario, ya que a partir de ésta se observa que la monofilia del género se encuentra resuelta de manera óptima (Fig. 20).

Éstos resultados resaltan el conflicto que puede ocurrir cuando las propuestas filogenéticas son realizadas con base en secuencias de ADN relativamente cortas o de fragmentos no del todo representativos del esquema evolutivo del genoma mitocondrial. Lo anterior puede derivar en hipótesis filogenéticas inconsistentes y confusas y en explicaciones erróneas, ya que se podría estar enmascarando eventos de hibridación o introgresión.

El COI al ser de herencia materna, se considera que no siempre refleja un árbol específico (Chen *et al.*, 2008). Este puede ser el caso cuando se encuentran grupos parafiléticos o polifiléticos en propuesta basadas únicamente en este marcador, como ha sido implementado por algunos autores (Miranda-Marín, 2014). Además, el uso único de datos del ADNmt no permite obtener información de la historia evolutiva del genoma nuclear.

Actualmente, se sugiere el uso de marcadores moleculares de ADNmt en conjunto con marcadores de ADNn, los cuales al ser más conservados y con baja tasa de mutación (por ejemplo el 16SrRNA y RAG1) hace potencialmente útiles su uso para el estudio de divergencias profundas, tanto en peces como en diversos vertebrados (San Mauro *et al.*, 2004; Vergara-Solana, 2012).

Se corroboró a *E. awlae* y *E. plumieri* como las especies hermanas dentro del género, y las que presentan una menor diferenciación genética de toda la familia (1.5% con COI). *Eugerres lineatus* y *E. axillaris* son el otro par de especies que mantienen una estrecha relación filogenética dentro del género. Éstas muestran una mayor cercanía con *Eugerres brasilianus*, sin embargo, la falta de muestras de *E. brevimanus* no permite concluir esta agrupación de manera definitiva. Debido a que no se encontró evidencia molecular ni morfológica que permitiera considerar a

*Eugerres mexicanus* y *Eugerres castroaguirrei* como especies válidas, todas las mojarra dulceacuícolas se consideran una sola especie, *Eugerres mexicanus*.

Idealmente, para poder establecer una hipótesis filogenética suficientemente robusta, es necesario incluir el mayor número de especies que la componen. En el presente trabajo se omitieron algunas (alrededor de cinco) debido a la falta de ejemplares frescos, por lo que en lo posible deberán considerarse en trabajos posteriores. La integración de toda la información disponible, morfológica, morfométrica, molecular, osteológica, etc. permitirán tener una mejor comprensión de la historia evolutiva del grupo.

### **Tiempos de divergencia**

La estimación de los tiempos en escala evolutiva es considerada uno de los principales objetivos de los análisis filogenéticos moleculares. Por lo tanto, se considera que la calibración de las tasas de divergencia a partir de secuencias de ADN es un método importante, a partir del cual se pueden probar diversas hipótesis evolutivas (Marko, 2002; Duchêne *et al.*, 2013). Estos métodos se basan en la hipótesis del reloj molecular, la cual postula que existe una tasa constante de sustitución nucleotídica entre los linajes (Zuckerkandl & Pauling, 1962).

El reloj molecular puede ser calibrado usando diferentes tipos de evidencia, tales como la fecha de especiación a partir de eventos inferidos por los registros fósiles, o a partir de fechas estimadas de eventos biogeográficos particulares (Arbogast *et al.*, 2002). Aún cuando estos eventos son considerados como los mejores para estimar fechas de divergencia, pueden ser objeto de diferentes interpretaciones, por lo que el punto de calibración de determinado reloj molecular puede ser una fuente de errores considerables (Hillis *et al.*, 1996).

En general, los fósiles pueden ser asignados a un nodo de una rama en particular el cual nos podrá definir el límite entre los tiempos de divergencia entre las

dos ramas hermanas resultantes (Benton & Donoghue, 2007). Sin embargo, cuando el registro fósil correspondiente es inadecuado o escaso, podría conducir a resultados inexactos o imprecisos (Hedges & Kuma, 2004).

Debido a que los fósiles de los peces óseos no están bien preservados, los bajos niveles registrados en los valores de tiempos de divergencia, realizados con base en esta evidencia, pudieran subestimar los valores reales (Kumazawa *et al.*, 1999; Genner *et al.*, 2007). Diversos autores (e.g. Jackson *et al.*, 1996; Beu 2001; Roopnarine, 2001; Vermeij, 2001) consideran además que el registro fósil no proporciona evidencia que permita estimar el cese del flujo genético entre poblaciones del Pacífico y el caribe.

Aún cuando se cuenta con un registro fósil de la familia Gerreidae descrito de forma reciente (*sensu* Gaudant & Carnevale, 2015), existen diversos autores (e.g. Lessios 1979, 1998; Vawter *et al.*, 1980; Knowlton *et al.*, 1993; Palumbi, 1996; Bermingham *et al.*, 1997; Knowlton & Weigt 1998; Lessios *et al.*, 2001; Wares, 2001) que soportan la idea de que para una mejor estimación de la tasa de evolución molecular en especies fraternas, se debe asumir que el par de especies menos divergente se aisló en el momento del cierre final de la vía marítima que las separa.

Uno de los eventos geológicos del continente americano que se utiliza con mayor frecuencia para inferir tasas de divergencia en la calibración de relojes moleculares es la última emergencia del Istmo de Panamá. Se estima que ocurrió hace 3.1-3.5 ma (Keigwin 1982; Duque-Caro 1990a, 1990b; Coates & Obando 1996; L. S. Collins 1996; Coates *et al.*, 2004; Coates & Stallard, 2013) y ha sido supuesto que impidió el flujo genético entre las especies distribuidas actualmente en el océano Atlántico y el océano Pacífico (Marko, 2002).

En el presente trabajo, la calibración en el tiempo relativo se hizo bajo esa premisa: considerando el supuesto que el par de especies de la familia Gerreidae menos divergentes (*Gerres cinereus* del Atlántico y del Pacífico) se aislaron en el

momento del último cierre del Istmo de Panamá. El árbol calibrado indica diversos escenarios que sugieren una serie de eventos ocurridos antes del último cierre del Istmo y posteriores a él, los cuales permitieron la diversificación de los gerreidos.

El primer evento importante (datado hace  $\approx 57$  m.a.) favoreció que un ancestro común de los gerreidos divergiera en dos poblaciones, dando origen de esta forma a los dos grupos clasificados de acuerdo con el tipo de borde que presentan en el preopérculo (liso o aserrado). La propuesta previa sobre la historia biogeográfica de la familia hecha por De La Cruz-Agüero (2001) sugiere un evento similar el cual corresponde con el primer surgimiento del Istmo en el Oligoceno (58-37 ma) que favoreció que un protogerreido (*sensu* De La Cruz-Agüero, 2001) divergiera en esos dos grupos.

Se estima que una inundación posterior al primer levantamiento del istmo promovió el intercambio faunístico entre cuencas hace 37-24 ma, dando como resultado una alta dispersión de entidades hacia las nuevas áreas. Por su parte, Coates *et al.* (2004) estiman que el canal sufrió un cierre alrededor de los 24 ma, lo cual es congruente con el periodo estimado de tiempo para la diversificación entre los géneros de la familia inferido en el presente estudio (39 a 20 ma).

La primera aproximación que estima tiempos de divergencia mediante la calibración de relojes moleculares en la familia Gerreidae, fue la propuesta hecha por Vergara-Solana (2012) para el género *Diapterus*, quien menciona que la separación de este género con respecto a *Eugerres plumieri* se llevó a cabo hace aproximadamente 8-9.3 ma. En el presente estudio se sugiere una estimación distinta, debido a que para la calibración se empleó un par de entidades taxonómicas con menor divergencia que la empleada en Vergara-Solana (2012) (*Diapterus brevirostris*-*Diapterus rhombeus* vs. *Gerres* Pacífico-*Gerres* Atlántico). Esta consideración da como resultado una estimación más amplia en cuanto a la fecha de diversificación entre estos grupos (23-20 ma), coincidiendo con la colisión geológica que sufrió Centroamérica con la región de Sudamérica.

La configuración de la calibración en el tiempo relativo, permite soportar la idea de que antes del último cierre del istmo sucedieron diversos eventos en el mioceno (11-16.5 ma) que provocaron inundaciones y cierres al nivel de costa, lo que sugiere que la generación de los taxa se da en “pulsaciones” (Marko, 2002; Vergara-Solana, 2012).

Los grupos que registran un tiempo de divergencia específica posterior al último cierre del Istmo (*Gerres* Pacífico-*Gerres* Atlántico y *Eugerres plumieri*-*Eugerres awlae*) pudieron haber sido influenciados por otros mecanismos de especiación que dieron origen a dichos grupos (e.g. dispersión para el caso de las especies que se encuentran en la misma cuenca).

Debido al antecedente de un trabajo que utilizó puntos de calibración con fósiles para estimar la divergencia de especies fraternas de Gasterópodos a ambos lados del Istmo (Collins *et al.*, 1996), se sugiere que en lo posterior se incluya en este tipo de análisis un punto de calibración establecido con base al registro fósil de la familia.

Sin embargo, se resalta el hecho de que el cierre final del Istmo de Panamá proporcionó de alguna manera la mejor estimación de la tasa de evolución molecular para la familia Gerreidae. Debido a lo anterior, se considera que existe coherencia en asociar las divergencias genéticas presentes en la familia Gerreidae con dicho evento geológico, tal y como se ha podido establecer en diversos grupos de organismos (e.g. Cressey & Collette, 1970; Collette & Russo, 1981; Stepien *et al.*, 1997), con el fin de explicar los patrones de distribución actuales que presentan.

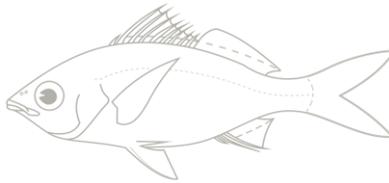
## CONCLUSIONES

---

Los resultados obtenidos en el presente estudio, basados en el análisis de cuatro marcadores moleculares (tres del ADNmt y uno del ADNn), permitieron definir la taxonomía y filogenia de la familia Gerreidae en América y obtener las siguientes conclusiones generales:

- ❖ Las distancias genéticas interespecíficas estimadas mediante el modelo de sustitución molecular de Kimura dos parámetros (K2P) oscilaron entre 1% y 24% en COI; 0.7% a 19% en 12SrRNA; 1% a 13%; en 16SrRNA; y 0.5% a 2% en RAG1.
  
- ❖ Las especies *Gerres similimus* (P), *Eucinostomus dowii* (P), *Eugerres awlae* (A) y *Eugerres axillaris* (A), deben ser consideradas como unidades evolutivas independientes de sus congéneres y en consecuencia especies válidas.
  
- ❖ Las especies *Eugerres mexicanus* y *Eugerres castroaguirrei* corresponden a una misma entidad taxonómica y por tanto, el componente duleacuícola que integran deber seguir siendo considerado por prioridad como *E. mexicanus*.
  
- ❖ Las especies *Eucinostomus currani* y *Eucinostomus melanopterus*; *Eucinostomus dowii* y *Eucinostomus argenteus*; *Eugerres awlae* y *Eugerres plumieri*, *Eugerres lineatus* y *Eugerres axillaris*; *Diapterus rhombeus* y *Diapteris brevirostris* son especies fraternas.

- ❖ La hipótesis filogenética molecular propuesta soporta que la familia Gerreidae representa un grupo monofilético, el cual se encuentra integrada por dos subgrupos principales (*Diapterus* + *Eugerres* + *Deckertichthys* y *Eucinostomus* + *Gerres*).
- ❖ El árbol calibrado en el tiempo indicó diversos escenarios que sugieren una serie de eventos ocurridos antes y posterior al último cierre del Istmo, lo cual permitió la diversificación de los gerreidos, ocurridos en un lapso de tiempo entre  $\approx 57$  a 1.2 ma.



## RECOMENDACIONES Y LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN A FUTURO

---

El presente estudio se considera como el primero en evaluar el estatus taxonómico y nomenclatural de las especies de la familia Gerreidae distribuidas en América, con base en marcadores moleculares.

Los resultados, en su mayoría, fueron congruentes con los esquemas taxonómicos reportados previamente y permitieron corroborar la validez taxonómica de 20 de las 24 especies de gerreidos que se tienen registradas para el continente americano.

Considerando lo anterior, en un futuro se requerirá incluir en los análisis a las especies: *Eucinostomus lefroyi* (*Ulaema lefroyi*), *Eucinostomus harengulus*, *Eugerres periche* y *Eugerres brevimanus*, para poder perfeccionar el esquema taxonómico completo de la familia Gerreidae en América. Dichas especies aún presentan incertidumbre sobre su nomenclatura, existencia y validez taxonómica.

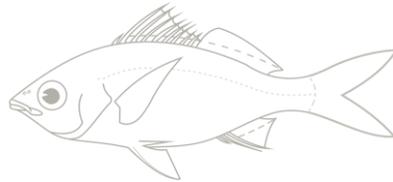
De igual manera, deberá incluirse la especie *Eucinostomus havana*, de la cual sólo dos marcadores fueron amplificados de manera exitosa (12SrRNA y 16SrRNA).

Se requiere que se realicen análisis más detallados (con marcadores moleculares con un mayor polimorfismo; mayor tamaño de muestra, análisis morfométricos, etc.), con la intención de evaluar el nivel y grado de diferenciación que existe entre *Eucinostomus gula* y *E. cff. gula*, para resolver el estatus taxonómico entre estas dos entidades.

Se sugiere reconocer la validez taxonómica de la especie del Pacífico oriental denominada como *Gerres simillimus* Regan, 1907, la cual presenta evidencia suficiente (molecular y morfológica) de que es una entidad completamente distinta de su congénere del Atlántico *G. cinereus* (Walbaum, 1792). Para esto será necesario la publicación formal de dichas evidencias.

Se requiere de una re-valoración y reestructuración de las claves de identificación, hasta ahora propuestas, a partir de análisis morfológicos y merísticos de mayor rigor para algunas entidades en específico (e.g. *Eugerres awlae*-*Eugerres plumieri*; *Eugerres axillaris*-*Eugerres lineatus*).

Finalmente, una vez resuelta de manera satisfactoria la taxonomía de la familia Gerreidae, podrá perfeccionarse la hipótesis filogenética y de tiempos de divergencia para la familia.



## BIBLIOGRAFÍA

---

- Agorreta, A., O. Domínguez-Domínguez, R.G. Reina, R. Miranda, E. Bermingham & I. Doadrio. 2013. Phylogenetic relationships and biogeography of *Pseudoxiphophorus* (Teleostei: Poeciliidae) based on mitochondrial and nuclear genes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 66(1):80–90 pp.
- Aguirre-León, A. & A. Yáñez-Arancibia. 1984. Las mojarras de la laguna de Términos: Taxonomía, biología ecología y dinámica trófica. (Pisces: Gerreidae). *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México*, 13:369–444 pp.
- Álvarez-Pliego, N. 2009. *Análisis filogenético y biogeográfico de los peces del género Diapterus Ranzani, 1842 (Percoidei:Gerreidae)*. Tesis de Doctorado, CICIMAR-IPN. La Páz, BCS, México. 129 p.
- Antuna-Mendiola, A., J.L. Castro-Aguirre, J. De la Cruz-Agüero & J.L. Ortiz-Galindo. 2003. Taxonomic revision of the genus *Gerres* in America. *Abstracts of 2003 Joint Meeting of Ichthyologists and Herpetologists*, June 26-July 1, Manaus, Brazil.
- Araújo, F.G. & A.C.A. Santos. 1999. Distribution and recruitment of mojarras (Perciformes, Gerreidae) in the continental margin of Sepetiba Bay, Brazil. *Bull. Mar. Sci.*, 65:431–439 pp.
- Arbogast, B.S., S.V. Edwards, J. Wakeley, P. Beerli & J.B. Slowinski. 2002. Estimating divergence times from molecular data on phylogenetic and population genetic timescales. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33:707–741 pp.
- Asgharian, H., E. Elahi, A. Kalirad & S. Hosseinzadeh. 2010. Sequence data on four genes suggest nominal *Gerres filamentosus* specimens from Nayband National Park in the Persian Gulf represent two distinct species. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 6:1–11 pp.
- Avise, J.C. 2004. *Molecular markers, natural history, and evolution*. Segunda edición. Sinauer. U.S.A. 684 p.
- Ayala-Pérez, L.A., J. Ramos M. & D. Flores H. 2003. La comunidad de peces de la Laguna de Términos: estructura actual comparada. *Rev. Biol. Trop.*, 51(3):783–794 pp.
- Bailey, R.M. & T.E. Moore. 1963. Request that the Internacional Comisión rule to correct homonymy in names of the family-group based on *Gerris* and *Gerres*. *Bull. Zool. Nomencl.*, 20(4):307–308 pp.
- Baird, S.F. 1855. Fishes observed on the coast of New Jersey and Long Island during the summer of 1854. *Ann. Rep. Smiths. Inst.*, 9(1854):317–337 pp.

- Benigno, E. 2013. *Las técnicas moleculares en la taxonomía y sistemática zoológicas*. Disponible en línea: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00814.pdf>
- Benítez-Cortés, O. 2004. *Contribución al estudio de la filogenia molecular de los peces de la familia Gerreidae en México*. Tesis de Maestría, CICIMAR-IPN, La Páz, BCS, México. 54 pp.
- Benton, M.J. & P.C. Donoghue. 2007. Paleontological evidence to date the tree of life. *Mol. Biol. Evol.*, 24:26–53 pp.
- Bernardi, G. & J. Lape. 2005. Tempo and mode of speciation in the Baja California disjunct fish species *Anisotremus davidsonii*. *Molecular Ecology*, 14:4085–4096 pp.
- Bernardi, G., G. Bucciarelli, D.D.R. Costagliola, R. Robertson & J.B. Heiser. 2004. Evolution of coral reef fish *Thalassoma spp.* (Labridae). 1. Molecular phylogeny and biogeography. *Marine Biology*, 144: 369–375 pp.
- Bermingham, E., S. McCafferty & A. Martin. 1997. Fish biogeography and molecular clocks: perspectives from the Panamian Isthmus. En: Kocher, T.D. & C.A. Stepien (Eds.). *Molecular Systematics of fishes*. Academic Press. San Diego. 334 p.
- Beu, A.G. 2001. Gradual Miocene to Pleistocene uplift of the Central American Isthmus: evidence from tropical American tonnoidean gastropods. *J. Paleontol.*, 75:706–720 pp.
- Bianchi, G. 1991. Demersal assemblages of the continental shelf and slope edge between the Gulf of Tehuantepec (Mexico) and the Gulf of Papagayo (Costa Rica). *Marine Ecology Progress Series*, 73:121–140 pp.
- Bickford, D., D.J. Lohman, N.S. Sodhi, P.K.L. Ng, R. Meier, K. Winker, K.K. Ingram & I. Das. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 22:148–55 pp.
- Branco, C.W.C., T. Aguiaro, F. A. Esteves & E. P. Caramaschi. 1997. Food sources of the Teleost *Eucinostomus argenteus* in two coastal lagoons of Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 32:33–40 pp.
- Burnes-Romo, L.A. 2009. *Estatus taxonómico de Gerres cinereus (Walbaum, 1792), (Teleostei: Gerreidae)*. Tesis de Maestría, CICIMAR-IPN, La Paz, BCS, México. 89 p.
- Bussing, W.A. & M.S. López. 1993. *Peces demersales y pelágicos costeros del Pacífico de Centro América meridional*. Spec. Pub. Rev. Biol. Trop. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Bussing, W.A. 1995. Gerreidae. En: W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter & V.H. Niem (Eds.). *Guía FAO para la identificación de especies para los*

- finas de la pesca. Pacífico Centro-Oriental*. Vols. II y III, Partes 1 y 2: 647–1813 pp. Roma, Italia.
- Byrkjedal, I., D.J. Rees & E. Willassen. 2007. Lumping lumpsuckers: molecular and morphological insights into the taxonomic status of *Eumicrotremus spinosus* (Fabricius, 1776) and *Eumicrotremus eggvinii* Koefoed, 1956 (Teleostei: Cyclopteridae). *Journal of Fish Biology*, 71:111–131 pp.
- Carpenter, K.E. (ed). 2002. *The living marine resources of the Western Central Atlantic*, Volumen 3: Bony fishes part 2 (Opistognathidae to Molidae), sea turtles and marine mammals. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes and American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication No. 5. 1–600 pp. Roma, Italia.
- Carranza, S. 2002. Capítulo XI. Los métodos moleculares en el estudio de la sistemática y filogenia de los Anfibios y Reptiles ibéricos. En: Pleguezuelos, J.M. (Ed). 2004. *Atlas y libro rojo de los anfibios y reptiles de España*. Editorial ICONA (Organismo Autónomo Parques Nacionales). 585 p.
- Carvalho, G.R. & T.J. Pitcher. 1995. *Molecular genetics in fisheries*. Chapman and Hall, London.
- Castro-Aguirre J.L. 1978. *Catálogo sistemático de los peces marinos que penetran a las aguas continentales de México, con aspectos zoogeográficos y ecológicos*. Serie Cient. No. 19, INP-Depto. de Pesca. México. 298 p.
- Castro-Aguirre J.L., H. Espinosa-Pérez & J.J. Schmitter-Soto. 1999. *Ictiofauna estuarino lagunar y vicaria de México*. LIMUSA Editores, México.
- Cázarez-Carrillo, D.E. 2011. *Descripción de la larva Eucinostomus jonesii (Pisces: Gerreidae) mediante métodos morfológicos y genéticos (Códigos de barra)*. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Chetumal, Quintana Roo, México. 59 p.
- Chakraborty, A., M.N. Venugopal, K. Hidaka & Y. Iwatsuki. 2006. Genetic differentiation between two colour morphs of *Gerres erythrourus* (Perciformes: Gerreidae) from the Indo-Pacific region. *Ichthyol. Res.*, 53:185–188 pp.
- Chávez-Comparan, J.C. & M.G. Hamann. 1989. Dieta de las mojarras, *Gerres cinereus* y *Diapterus peruvianus* (Pisces: Gerreidae) en la laguna de Cuyutlán, Colima, México, durante verano. *Ciencias Marinas*, 15(3):71–80 pp.
- Chen, W.-J., C. Bonillo & G. Lecointre. 2003. Repeatability of clades as a criterion of reliability: a case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26:266–288 pp.

- Chen, W.-J., R. Ruiz-Carus & G. Ortiz. 2007. Relationships among four genera of mojarras (Teleostei: Perciformes: Gerreidae) from the western Atlantic and their tentative placement among percomorph fishes. *Journal of Fish Biology*, 70(supplement B):202–218 pp.
- Chen, W.-J., M. Miya, K. Saitoh & R.L. Mayden. 2008. Phylogenetic utility of two existing and four novel nuclear gene loci in reconstructing Tree of Life of ray-finned fishes: the order Cypriniformes (Ostariophysi) as a case study. *Gene*, 423:125–34 pp.
- CONAPESCA. 2014. *Carta Nacional pesquera*. Disponible en línea en: [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/consulta\\_especifica\\_por\\_produccion](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/consulta_especifica_por_produccion)
- Cui, Z., Y. Liu, J. Liu & W. Luan. 2010. Molecular identification of Pampus fishes (Perciformes, Stromateidae). *Ichthyological Research*, 57:32–39 pp.
- Curran, H.W. 1942. *A systematic revision of the gerreid fishes referred to the genus Eucinostomus with a discussion of their distribution and speciation*. Tesis de Doctorado. University of Michigan. Ann Arbor. 183 p.
- Cuvier, G. & M. Valenciennes. 1830. *Histoire naturelle des poissons*. Tomo 6:1–559 pp. París.
- Coates, A.G. & J.A. Obando. 1996. *The geologic evolution of the Central American Isthmus*. 21–56 pp.
- Coates, A.G., L.S. Collins, M-P. Aubry & W.A. Berggren. 2004. The geology of the Darien, Panama, and the late Miocene-Pliocene collision of the Panama arc with northwestern South America. *GSA Bulletin*, 116 (11/12):1327–1344 pp. doi: 10.1130/B25275.1
- Coates, A.G. & R.F. Stallard. 2013. How old is the Isthmus of Panama?. *Bulletin of Marine Science*, 89(4):801–813 pp.
- Collette, B.B. & J.L. Russo. 1985. Morphology, systematics and biology of the Spanish mackerels (*Scomberomorus*, Scombridae). *U.S. Fish. Bull.*, 82:545–692 pp.
- Collins, T. 1996. *Molecular comparisons of transisthmian species pairs: rates and patterns of evolution*. 303–334 pp.
- Cox, A.J. & P.D. Hebert. 2001. Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Mol. Ecol.*, 10(2):371–386 pp.
- Cranston, K. & B. Rannala B. 2005. Closing the gap between rocks and clocks. *Heredity*, 94:461–462 pp.
- Cressey, R.F. & B.B. Collette. 1970. Copepods and needlefishes: a study in host-parasite relationships. *U.S. Fish. Bull.*, 68:347–432 pp.

- De La Cruz-Agüero, J. 2001. *Sistemática y biogeografía de las especies del género Eucinostomus (Teleostei: Gerreidae)*. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN., La Paz, B.C.S. México. 181 p.
- De La Cruz-Agüero, J. 2013. The caudal skeleton of mojarras from genus *Eucinostomus* (Perciformes: Gerreidae) and related species. *J. Ichthyol.*, 53(11):994–1006 pp.
- De La Cruz-Agüero, J. & F. Galván-Magaña. 1993. Morphological discrimination of *Eucinostomus* spp. from the Pacific coast of Mexico. *Bull. of Mar. Sci.*, 52: 819–824 pp.
- De La Cruz-Agüero, J. & J.G. Chollet-Villalpando. 2012. *Catálogo sinóptico del hueso urohial de las especies de la familia Gerreidae de México*. En: Del Moral-Flores, L.F., J.A. Martínez-Pérez, J. Franco-López, A.J. Ramírez-Villalobos & J.L. Tello-Musi (eds). Investigación ictiológica en México. Temas selectos en honor al Dr José Luis Castro Aguirre. Universidad Nacional Autónoma de México. Cap. Los peces como modelo de estudio. 57–73 pp.
- De La Cruz-Agüero, J., F.J. García-Rodríguez, G. De La Cruz-Agüero & B.P. Díaz-Murillo. 2012a. Identification of gerreid species (Actinopterygii: Perciformes: Gerreidae) from the Pacific coast of Mexico based on sagittal otolith morphology analysis. *Acta Ichthyol Piscat.*, 42(4):297–306 pp.
- De La Cruz-Agüero, J., F.J. García-Rodríguez, V.M. Cota-Gómez, F.N. Melo-Barrera & R. González-Armas. 2012b. Morphometric and molecular data on two mitochondrial genes of a newly discovered chimaeran fish (*Hydrolagus melanophasma*, Chondrichthyes). *Ocean. Sci. J.*, 47(3):147–153 pp.
- Deckert, G.D. 1973. *A systematic revisión of the genera Diapterus and Eugerres: with the description of a new genus Schizopterus (Pisces: Gerreidae)*. Tesis de Maestría, Northern Illinois University. USA. 74 p.
- Deckert, G.D. & D.W. Greenfield. 1987. A review of the western Atlantic species of the genera *Diapterus* and *Eugerres* (Pisces: Gerreidae). *Copeia*:182–194 pp.
- Denadai, M.R., F.B. Santos, E. Bessa, W.S. Fernández, C.C. Paschoal & A. Turra. 2012. Diets of *Eucinostomus argenteus* (Baird & Girard, 1855) and *Diapterus rhombeus* (Cuvier, 1829) (Perci- formes: Gerreidae) in Caraguatatuba Bay, southeastern Brazil. *Panamian JAS*, 7:143–155 pp.
- Díaz-Ruíz, S., A. Aguirre-León & E. Cano-Quiroga. 2006. Evaluación ecológica de las comunidades de peces en dos sistemas lagunares estuarinos del sur de Chiapas, México. *Hidrobiológica*, 16:197–210 pp.

- Drummond, A.J. & A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolution Biology*, 7:214 p.
- Drummond, A.J., B. Ashton, S. Buxton, M. Cheung, A. Cooper, C. Duran, M. Field, J. Heled, M. Kearse, S. Markowitz, R. Moir, S. Stones-Havas, S. Sturrock, T. Thierer, & A. Wilson. 2011. *Geneious v5.4*. <http://www.geneious.com/>.
- Duchêne, S., M. Molak & S.Y.W. Ho. 2014. ClockstaR: choosing the number of relaxed-clock models in molecular phylogenetic analysis. *Bioinformatics*, 30 (7):1017–1019 pp.
- Duque-Caro, H. 1990a. The Choco Block in the northwestern corner of South America: structural, tectonostratigraphic, and paleogeographic implications. *J. S. Am. Earth Sci.*, 3:71–84 pp.
- Duque-Caro, H. 1990b. Neogene stratigraphy, palaeoceanography, and palaeobiology in northwest South America and the evolution of the Panama seaway. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 777:203–234 pp.
- Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*, 5:1–19 pp.
- Eschmeyer, W.N. (Ed). 2015. *Catalog of fishes: Genera, species, references*. Versión electrónica. Último día de acceso 27/03/2015. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
- FAO. 2007. Molecular markers – a tool for exploring genetic diversity. En: B. Rischkowsky & D. Pilling (eds). *The state of the World's animal genetic resources for food and agriculture*. Roma: Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. 359–379 pp.
- FAO. 2011. *The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)*. Departamento de Pesca, Roma.
- Farris, J.S. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Systematic Zoology*, 19:83–92 pp.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:783–791 pp.
- Ferguson, A. & J. E. Thorpe. 1991. Biochemical genetics and taxonomy of fish. the Fisheries Society of the British Isles Symposium held at the Queen's University of Belfast, Northern Ireland, 22-26 July 1991. *Journal of Fish Biology*, 39(Suppl. A):359–366 pp.
- Ferguson, A., J.B. Taggart, P.A. Prodohl, O. McMeel, C. Thompson, C. Stone, P. McGinnity & R.A. Hynes. 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations, with special reference to *Salmo*. *Journal of Fish Biology*, 47:103–126 pp.

- Ferraris, J.D. y S.R. Palumbi (eds). 1996. *Molecular Zoology: Advances, Strategies, and Protocols*. New York, Wiley. 580 p.
- Frankham, R., J.D. Ballou & D.A. Briscoe. 2002. *Introduction to conservation genetics*. London: Cambridge Univ. Press. 644 p.
- Froese, R. & D. Pauly. 2014. *FishBase*. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org). Versión (11/2014).
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 3:294–299 pp.
- Gaudant, J. & G. Carnevale. 2015. *Parisaticthys aquensis n. gen., n. sp.*: un nouveau poisson fossile (Teleostei, Gerreidae) de l'Oligocène supérieur d'Aix-en-Provence (Bouches-du-Rhône, France). *Geodiversitas*, 37(1):109–118 pp.
- Genner, M.J., O. Seehausen, D.H. Lunt, D.A. Joyce, P.W. Shaw, G.R. Carvalho & G.F. Turner. 2007. Age of cichlids: new dates for ancient lake fish radiations. *Mol. Biol. Evol.*, 24:1269–1282 pp.
- Goloboff, P., J. Farris & K. Nixon. 2003. *T.N.T.: Tree analysis using new technology*. Programa y documentación: [www.zmuc.dk/public/phylogeny](http://www.zmuc.dk/public/phylogeny).
- González Acosta, A.F. 2005. *Estudio sistemático y biogeográfico del género Eugerres (Perciformes: Gerreidae)*. Tesis de Doctorado, CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México. 206 p.
- González Acosta, A.F. & R. Rodiles-Hernández. 2013. New species of *Eugerres* from the Usumacinta Province, México and Guatemala with a redescription of *E. mexicanus* (Steindachner, 1863) (Teleostei: Gerreidae). *Neotropical Ichthyology*, 11(2):307–318 pp.
- González Acosta, A.F., J. De La Cruz-Agüero & J.L. Castro Aguirre. 2005. A review of eastern pacific species of the genus *Eugerres* (Perciformes: Gerreidae). *Bulletin of Marine Science*, 76(3):661–673 pp.
- González Acosta, A.F., J. De La Cruz-Agüero & J.L. Castro Aguirre. 2007. A review of the marine western Atlantic fish species of the genus *Eugerres* (Perciformes: Gerreidae). *Bulletin of Marine Science*, 80(1):109–124 pp.
- González Acosta, A.F., P. Béarez, N. Álvarez-Pliego, J. De La Cruz-Agüero & J.L. Castro Aguirre. 2007. On the taxonomic status of *Diapterus peruvianus* (Cuvier, 1830) and reinstatement of *Diapterus brevirostris* (Sauvage, 1879) (Teleostei: Gerreidae). *Cybium*, 31(3):369–377 pp.

- Greenfield, D.W. & J.E. Thomerson. 1997. *Fishes of the continental waters of Belize*. University Press of Florida. 368 p.
- Greig, T.W., M.K. Moore, C.M. Woodley & J.M. Quattro. 2005. Mitochondrial gene sequences useful for species identification of western North Atlantic Ocean sharks. *Fish. Bull.*, 103:516–523 pp.
- Guerra-García, J.M., F. Espinosa & J.C. García-Gómez. 2008. Trends in Taxonomy today: an overview about the main topics in Taxonomy. *Zoologica Baetica*, 19:15–49 pp.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95–98 pp.
- Hanner, R., R. Floyd, A. Bernard, B.B. Collette & M. Shivji. 2011a. DNA barcoding of billfishes. *Mitochondrial DNA*, 22(Suppl 1):1–10 pp.
- Hanner, R., S. Becker, N.V. Ivanova & D. Steinke. 2011b. FISH-BOL and seafood identification: geographically dispersed case studies reveal systemic market substitution across Canada. *Mitochondrial DNA*, 22(Suppl 1):106–22 pp.
- Hastings, W.K. 1970. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. *Biometrika*, 57:97–109 pp.
- Hedges, S.B. & S. Kumar. 2003. Genomic clocks and evolutionary timescales. *Trends Genet.*, 19:200–206 pp.
- Herbert, P.D.N., S. Ratnasingham & J.R. de Waard. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 270:S96–S99 pp.
- Herbert, P.D.N., E.H. Penton, J.M. Burns, D.H. Janzen & W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101:14812–14817 pp.
- Hernández-Gómez, R.E., M.A. Perera-García, J.A. De La Cruz-Narváez, L.M. Gómez-Díaz-D., A. Castillo-Dominguez & J.V. H. Mendiola-Campuzano. 2013. *Manual sobre la aclimatación de la mojarra blanca Eugerres mexicanus (Steindachner, 1863)*. Editorial Juárez Universidad de Tabasco. México. 49 p.
- Hillis, D.M, C. Moritz & B.K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. Segunda edición. Sinauer Associates, Inc. U.S.A. 655 pp.
- Huelsenbeck, J.P., F. Ronquist, R. Nielsen & J.P. Bollback. 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science*, 294:2310–2314 pp.

- Iqbal, K.M., J. Ohtomi & H. Suzuki. 2007. Reproductive biology of the Japanese silver-biddy, *Gerres equulus*, in western Kyushu, Japan. *Fish. Res.*, 83:145–150 pp.
- Jackson, J.B.C., A.F. Budd & A.G. Coates (Eds). 1996. *Evolution and Environment in Tropical America*. Chicago: Univ. Chicago Press. 425 pp.
- Johns, G & J. Avise. 1998. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. *Mol. Biol. Evol.*, 15:1481–1490 pp.
- Kanak, M.K. & K. Tachihara. 2006. Age and growth of *Gerres sp.* (Perciformes: Gerreidae) in Okinawa Island of Southern Japan. *Fisheries Science*, 72:932–938 pp.
- Keigwin, L.D. 1982. Isotopic paleoceanography of the Caribbean and East Pacific: role of Panama uplift in late Neogene time. *Science*, 217:350–352 pp.
- Kimura, M. 1980. A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16:111–120 pp.
- Knowlton, N. & L.A. Weigt. 1998. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 265:2257–2263 pp.
- Knowlton, N., L.A. Weigt, L.A. Solórzano, D.K. Mills & E. Bermingham. 1993. Divergence in proteins, mitochondrial DNA, and reproductive compatibility across the Isthmus of Panama. *Science*, 260(5114):1629–1632 pp.
- Kocher, T.D. & C.A. Stepien. 1997. *Molecular systematics of fishes*. San Diego, California, U.S.A. Academic Press. 329 p.
- Kocher, T.D., W.K. Thomas, A. Meyer, S.V. Edwards, S. Pääbo, F.X. Villablanca & A. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 86:6196–6200 pp.
- Kumazawa, Y., M. Yamaguchi & M. Nishida. 1999. Mitochondrial molecular clocks and the origin of euteleostean biodiversity: Familial radiation of Perciforms may have predated the Cretaceous/Tertiary boundary. En: Kato, M. (ed). *The biology of biodiversity*. Springer-Verlag, Hong Kong. 35–52 pp.
- Lakra, W.S., M. Goswami & A. Gopalakrishnan. 2009. Molecular identification and phylogenetic relationships of seven Indian *Sciaenids* (Pisces: Perciformes, Sciaenidae) based on 16S rRNA and cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial genes. *Molecular Biology Reports*, 36:831–839 pp.

- Lara, A., J.L. Ponce de León, R. Rodríguez, D. Casane, G. Côté, L. Bernatchez & E. García-Machado. 2010. DNA barcoding of Cuban freshwater fishes: evidence for cryptic species and taxonomic conflicts. *Molecular Ecology Resources*, 10:421–430 pp.
- Lessios, H.A. 2008. The great american schism: Divergence of marine organisms after the rise of the Central American Isthmus. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 39:63–91pp.
- Lessios, H.A., B.D. Kessing & J.S. Pearse. 2001. Population structure and speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin *Diadema*. *Evolution*, 55:955–975 pp.
- Li, J., L. Huang, T. Sato, L. Zou, K. Jiang, T. Yahara & Y. Kano. 2013. Distribution pattern, threats and conservation of fish biodiversity in the East Tiaoxi, China. *Environmental Biology of Fishes*, 96:519–533 pp.
- Li, C. & G. Ortí. 2007. Molecular phylogeny of Clupeiformes (Actinopterygii) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44:386–98 pp.
- Lin, H.C. & W.A. Dunson. 1999. Phenotypic plasticity in the growth of the self-fertilizing hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Journal of Fish Biology*, 54:250–266 pp.
- López, J.A., W-J. Chen & G. Ortí. 2004. Esociform Phylogeny. *Copeia*, 2004:449–464 pp.
- López-Martínez, J., E. Herrera-Valdivia, J. Rodríguez-Romero & S. Hernández-Vázquez. 2010. Peces de la fauna de acompañamiento en la pesca industrial de camarón en el Golfo de California, México. *Revista de Biología Tropical*, 58:925–942 pp.
- López-Peralta, R.H. & C.A.T. Arcila. 2002. Diet composition of fish species from the southern continental shelf of Colombia. *Naga World Fish Center Quarterly*, 25:23–29 pp.
- Lu, R. & G.H. Rank. 1996. Use of RAPD analyses to estimate population genetic parameters in the alfalfa leaf-cutting bee, *Megachile rotundata*. *Genome*, 39:655–663 pp.
- Marko, P.B. 2002. Fossil calibration of molecular clocks and the divergence times of geminate species pairs separated by the Isthmus of Panama. *Molecular Biology and Evolution*, 19:2005–2021 pp.
- Martínez-Guevara, A., F.J. García-Rodríguez & J. De La Cruz-Agüero. 2014. DNA sequence data analysis supports the taxonomic status of *Eucinostomus dowii* (Gill 1863) within the genus (Gerreidae: Perciformes). *Journal of Ichthyology*, Vol. 54, No. 10:872–881 pp.
- Matheson, R.E. 1983. *Taxonomic studies of the Eucinostomus argenteus complex (Pisces: Gerreidae)*. Tesis de Doctorado. Texas A&M, College Station. USA. 194 p.

- Matheson, R.E. & J.D. McEachran. 1984. Taxonomic studies of the *Eucinostomus argenteus* complex (Pisces: Gerreidae): preliminary studies of external morphology. *Copeia* (3):893–902 pp.
- Mayr, E., E.G. Linsley & R.L. Usinger. 1953. *Methods and principles of systematic zoology*. New York: McGraw-Hill. 336 p.
- Meier, R. 2008. DNA Sequences in taxonomy. Opportunities and challenges. En: Wheeler, Q.D. (eds). *The new taxonomy*. Systematics Association Special Volumes. CRC Press. 256 p.
- Meyer, A. 1993. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. *Biochem Mol Biol Fishes*, 2:1–38 pp.
- Meyer, A. 1994. Shortcomings of the cytochrome b gene as a molecular marker. *Trends in Ecology and Evolution*, 9(8):278–280 pp.
- Miranda-Marín, M.I. 2014. *Filogenia molecular del género Eugerres Jordan y Evermann, 1927 (Teleostei: Gerreidae)*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México. 92 p.
- Morgan, G.J. 1998. Emile Zuckerkandl, Linus Pauling, and the Molecular Evolutionary Clock, 1959–1965. *Journal of the History of Biology*, 31:155–178 pp.
- Nelson, J.S. 2006. *Fishes of the World*. Hoboken, New Jersey: JohnWiley & Sons, Inc. 601 p.
- Nelson, J.S., E.W. Crossman, H. Espinosa-Pérez, L.T. Findley, C.R. Gilbert, R.N. Lea & J.D. Williams. 2004. *Common and scientific names of fishes from United States, Canada and Mexico*. Bethesda: American Fisheries Society. Spec. pub., 29. 6th edit., 386 p.
- Palumbi, S.R. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. En: Hillis, D. M., C. Mortiz, & B.K. Mable (eds.). *Molecular Systematics*. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 205–247 pp.
- Philips, W. & J. V. Escalant. 1995. Caracterización molecular de los recursos fitogenéticos. En: *CATIE, Resúmenes de la 2ª. Semana Científica, 4-7 de diciembre*. Turrialba, Costa Rica. 4–6 p.
- Pontes-Franco, T., L. Mitrano-Neves, T. Pires-Teixera & F. Gerson-Araujo. 2011. Patterns of spatial distribution of five species of mojarras (Actinopterygii: Gerreidae) in a small tropical estuary in south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*: 1–9 p.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25:1253-1256 pp.

- Posada, D. & K.A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9): 817-818 pp.
- Puckridge, M., N. Andreakis, S.a. Appleyard & R.D. Ward. 2013. Cryptic diversity in flathead fishes (Scorpaeniformes: Platycephalidae) across the Indo-West Pacific uncovered by DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 13:32–42 pp.
- Rambaut, A. 2014 *FigTree v1.4.2* University of Edinburgh, Edinburgh, UK. Programa y documentación disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Rambaut, A. & A.J. Drummond. 2007. *Tracer v1.4*. Programa y documentación disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Rannala, B. & Z. Yang. 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: A new method of phylogenetic inference. *Journal of Molecular Evolution*, 43: 304– 311 pp.
- Ribeiro, A.C., F.C.T. Lima & E.H.L. Pereira. 2012. A New Genus and Species of a Minute Suckermouth Armored Catfish (Siluriformes: Loricariidae) from the Rio Tocantins Drainage, Central Brazil: The Smallest Known Loricariid Catfish. *Copeia*, (4):637–647 pp.
- Ronquist, F. & J.P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19:1572-1574 pp.
- Roopnarine, P.D. 2001. A history of diversification, extinction, and invasion in tropical America as derived from species-level phylogenies of chionine genera (Family Veneridae). *J. Paleontol.*, 75:644–657 pp.
- Rosso, E., A.M. Magraban, M. González & M. Díaz de Astarloa. 2012. DNA barcoding Neotropical fishes: recent advances from the Pampa Plain, Argentina. *Molecular Ecology Resources*, 12:999–1011 pp.
- Rozen, S. & H. Skaletsky. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol. Biol.*, 132:365–386 pp.
- Ruiz-Carus, R. & M. Uribe-Alcocer. 2003. Phylogenetic assessment of *Eucinostomus gula*, *Eugerres plumieri*, and *Diapterus auratus* (Pisces; Gerreidae) based on allozyme and mtDNA analyses. *Caribbean Journal of Science*, 39:109–115 pp.
- Ruiz-Carus, R. & M. Uribe-Alcocer. 2004. Karyotype analysis of *Eucinostomus argenteus*, *E. gula*, *E. harengulus*, and *Eugerres plumieri* (Teleostei, Gerreidae) from Florida and Puerto Rico. *Environmental Biology of Fishes*, 67:269–276 pp.
- Saitou, N. & M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4:406–425 pp.

- Stelbrink, B., T. von Rintelen, G. Cliff & J. Kriwet. 2010. Molecular systematics and global phylogeography of angel sharks (genus *Squatina*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54:395–404 pp.
- Stepien, C.A. 1995. Population genetic divergence and geographic patterns from DNA sequences: Examples from marine and fresh-water fishes. En: Nielsen, J. (eds). *Evolution and the Aquatic Ecosystem: Defining Unique Units in Population Conservation*. American Fisheries Soc. Symposium, Bethesda, M. D. 263-287 pp.
- Stepien, C.A., A.K. Dillon, M.J. Brooks, K.L. Chase & A.N. Hubers. 1997. The Evolution of Blennioid Fishes Based on an Analysis of Mitochondrial 12SrDNA. En: Kocher, T.D. & C.A. Stepien (eds). 1997. *Molecular sistematics of fishes*. Capítulo 15. San Diego, California, U.S.A.: Academic Press. 245–270 pp.
- Swofford, D., G. Olsen, P. Waddell & D. Hillis. 1996. *Phylogenetic inference*. En: Hillis, D., C. Mortiz & B.K. Mable (ed). *Molecular Systematics*. Sunderland, MA: Sinauer. 407–514 pp.
- Tamura, K. & M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.*, 10:512–526 pp.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method. *Mol. Biol. Evol.*, 28:2731–2739 pp.
- Tapia-García .M. & G. Ayala-Pérez. 1996. Clave para la determinación de las especies de mojarras en México (Pisces: Gerreidae). *Rev. Biol. Trop.*, 44(3)/45(1):519–526 pp.
- Tavera-Vargas, J.J. 2012. *Evolución, filogenia y biogeografía de la subfamilia Haemulinae (Percoidei: Haemulidae) en el nuevo mundo*. Tesis de Doctorado. CIBNOR. La Paz. B.C.S. México. 116 p.
- Thorne, J.T., H. Kishino & I.S. Painter. 1998. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Mol. Biol. Evol.*, 15:1647–1657 pp.
- Torres-Hernández, E. 2014. *Filogeografía de Axoclinus storeyae (Teleostei: Tripterygiidae) en el Pacífico Mexicano*. Tesis de Mestría. UMICH. Morelia, Michoacán. México. 60 p.
- Valdez-Moreno, M.E., L. Vásquez-Yeomans, M. Elías-Gutiérrez, N.V. Ivanova & P.D.N. Herbert. 2010. Using DNA barcodes to connect adults and early life stages of marine fishes from the Yucatan Peninsula, Mexico: potential in fisheries management. *Marine and Freshwater Research*, 61:665–671 pp.

- Valdez-Moreno, M.E., C. Quintal-Lizama, R. Gómez-Lozano & M. del C. García-Rivas. 2012. Monitoring an Alien invasion: DNA Barcoding and the identification of Lionfish and their prey on coral reefs of the Mexican Caribbean. *PLoS ONE*, (7):e36636. doi:10.1371/journal.pone.0036636
- Valle-López, F.L. 2014. *Relación de la longitud del otolito Sagitta versus Longitud peso corporal en especies selectas de mojarras (Perciformes: Gerreidae)*. Tesis de Licenciatura. UABCS, Paz, B.C.S. México. 48 p.
- Vawter, A.T., R. Rosenblatt & G.C. Gorman. 1980. Genetic divergence among fishes in the eastern Pacific and the Caribbean:support for the molecular clock. *Evolution*, 34:705–711 pp.
- Vélez-Zuazo, X. & I. Agnarsson. 2011. Shark tales: A molecular species-level phylogeny of sharks (Selachimorpha, Chondrichthyes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58:207–217 pp.
- Vergara-Solana, F.J. 2012. *Sistemática del género Diapterus Ranzani, 1842 (Perciformes: Gerreidae). Análisis morfométricos y moleculares*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S. México. 112 p.
- Vergara-Solana, F.J., F.J. García-Rodríguez, J.J. Tavera, E. De Luna & J. De La Cruz-Agüero. 2014. Molecular and morphometric systematics of *Diapterus* (Perciformes, Gerreidae). *Zoologica Scripta*, 43(4):338–350 pp.
- Vermeij, G.J. 2001. Distribution, history, and taxonomy of the Thais clade (Gastropoda: Muricidae) in the Neogene of tropical America. *J. Paleontol.*, 75:697–705 pp.
- Yang, Z. 2002. *Molecular clock*. En: M. Pagel (ed). Oxford Encyclopedia of Evolution. Oxford University Press, Oxford. 747-750 pp.
- Yang, Z. & B. Rannala. 2006. Bayesian estimation of species divergence times under a molecular clock using multiple fossil calibrations with soft bounds. *Molecular Biology and Evolution*, 23(1):212–226 pp.
- Yañez-Arancibia, A. 1980. *Taxonomía, ecología y estructura de las comunidades de peces en lagunas costeras con bocas efímeras del Pacífico de México*. Cen. Cien. Mar y Limnol. Pub. Esp. No. 2. UNAM, México, D.F.
- Ward, R.D. & M. Grewe. 1995. Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries. En: Carvalho, G.R. & T.J. Pitcher (eds). *Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman & Hall. London. 29-54 pp.
- Ward, R.D., T.S. Zemlak, B.H. Innes, P.R. Last & P.D.N. Herbert. 2005. DNA barcoding. Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc.*, 1–11 pp.

- Wares, J.P. & C.W. Cunningham. 2001. Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*, 12:2455–2469 pp.
- Watanabe, S., J. Aoyama, S. Hagihara, B. Ai, R.V. Azanza & K. Tsukamoto. 2013. *Anguilla huangi* Teng, Lin, and Tzeng, 2009, is a junior synonym of *Anguilla luzonensis* Watanabe, Aoyama, and Tsukamoto, 2009. *Fisheries Science*, 79:375–383 pp.
- Weigt, L.A., C.C. Baldwin, A. Driskell, D.G. Smith, A. Ormos & E.A. Reyier. 2012. Using DNA Barcoding to assess caribbean reef fish biodiversity: Expanding taxonomic and geographic coverage. *PLoS ONE*, (7):e41059. doi:10.1371/journal.pone.0041059.
- Wilches, A.V. 2004. *Descripción de algunas herramientas moleculares y sus aplicaciones*. Guatemala: Universidad Rafael Landívar, Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente. Serie técnica No. 15. 25 p.
- Xia X & Lemey P. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. En: Lemey, P.S. M, A. Vandamme & C. Ebooks (eds). *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Cambridge University Press. 611–626 pp.
- Xia X & Z. Xie. 2001. DAMBE: Software Package for Data Analysis in Molecular Biology and Evolution. *The Journal of Heredity*, 92(4):371-373 pp.
- Zahuranec, B.V. 1967. *The gerreid fishes of the genus Eucinostomus in Eastern Pacific*. Tesis de Maestría. University of California, La Jolla, California. 164 p.
- Zane, L., L. Bargelloni & T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11:1–16 pp.
- Zar, J. H. 2010. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall/Pearson, Upper Saddle River, N.J. 960 pp.
- Zenger, K.R., A.J. Stow, V. Peddemors, D.A. Briscoe & R.G. Harcourt. 2006. Widespread utility of highly informative AFLP molecular markers across divergent shark species. *Journal of Heredity*, 97:607–611 pp.
- Zhang, D.X. & G.M. Hewitt. 1997. Insect mitochondrial control region: a review of its structure, evolution and usefulness in evolutionary studies. *Biochemical Systematics and Ecology*, 25:99–120 pp.
- Zhang, D.X., L. Huang & H. Huo. 2004. Larval identification of *Lutjanus* Bloch in Nansha coral reefs by AFLP molecular method. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 298(1):3–20 pp.
- Zhang, D.X. & X. Liu. 2006. The phylogenetic relationship of the family Lutjanidae based on analyses of AFLP and mitochondrial 12S rRNA sequences. *Chinese Science Bulletin*, 51(S2):143–148 pp.

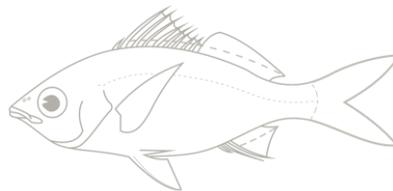
Zhang, D.X. & R. Hanner. 2012. Molecular approach to the identification of fish in the South China Sea. *PLoS ONE*, 7(2):e30621. doi:10.1371/journal.pone.0030621.g001.

Zuckerlandl, E. & L. Pauling. 1962. Molecular disease, evolution, and genetic heterogeneity. En: Kasha, M. & B. Pullman (eds). *Horizons in Biochemistry*. Academic Press, New York. 189–225 pp.

## **BASES DE DATOS EN LÍNEA DE ACCESO PÚBLICO**

**BoldSystem.**- <http://www.boldsystems.org/>

**GenBank.**- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>



## GLOSARIO

---

### A

**ADN.-** Abreviatura de Ácido desoxirribonucleico. Es la molécula que codifica la información genética. Se trata de una doble cadena que se mantiene unida por puentes de hidrógeno entre pares de bases de nucleótidos. Los cuatro tipos de nucleótidos del ADN contienen las bases nitrogenadas: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). En la naturaleza, los pares de bases se forman sólo entre A y T y entre G y C; por lo tanto, la secuencia de cada cadena individual se puede deducir a partir de su compañera.

**ADNmt.-** Abreviatura de Ácido desoxirribonucleico mitocondrial. El ADN mitocondrial se encuentra en las mitocondrias (organelos que se encuentran en el citoplasma de la célula eucariota) y está organizado en forma de una doble hélice. El genoma mitocondrial es informativo acerca del parentesco porque, en muchas especies de animales, es heredado por la madre, sin que haya recombinación con el genoma paterno. Es también una molécula pequeña que se presenta en abundantes cantidades en varias células. En los peces, el genoma mitocondrial es haploide, es decir, en el momento de la fecundación las únicas mitocondrias que pasaran a formar parte del cigoto son las provenientes del óvulo. En los animales, el DNA mitocondrial (mtDNA) es típicamente una molécula circular, con un rango de 15 a 20 mil pares de bases de largo. Codifica para diversas proteínas implicadas en el transporte de electrones (Citocromo b, Citocromo Oxidasa Subunidad I, etc.), más de 20 ARN de transferencia (tARN) y dos ARN ribosómicos (12S rARN y 16S rARN).

**ADNn.-** Abreviatura de Ácido desoxirribonucleico nuclear. En comparación al genoma mitocondrial, el genoma nuclear de las células eucariotas tienen el ADN empaquetado en cromosomas. El genoma nuclear eucariota contiene una cantidad enorme de ADN con valores comprendidos entre los mil y diez mil millones de pares de bases. Una buena proporción del ADN nuclear es del tipo no codificante y por tanto no tiene una función determinada clara. A diferencia de las mitocondrias, las células eucariotas acostumbran a ser diploides (es decir, tienen dos conjuntos de genes, uno proveniente del padre y otro de la madre) y en general, cada progenitor contribuye con aproximadamente la misma cantidad de ADN en la descendencia.

**Aloenzimas.-** Formas genéticamente distintas de una enzima que puede dar lugar a diferentes propiedades.

**Árbol filogenético.-** Una representación gráfica de la relación ancestro-descendiente entre organismos o secuencias genéticas. Las secuencias son la punta de las ramas y éstas están conectadas por sus secuencias ancestro.

**ARN.-** Abreviatura de ácido ribonucleico.

## *B*

**BLAST.-** Programa informático de alineamiento de secuencias de tipo local, ya sea de ADN, ARN o de proteínas. Por lo general, se utiliza cuando una nueva secuencia es obtenida para compararla con otras secuencias que han sido previamente caracterizadas, para así poder inferir su función.

**bp.-** Abreviatura de "pares de bases" (nucleótidos).

**Búsqueda heurística.-** Dado un árbol de partida que contiene todas las secuencias de interés, se realiza un intercambio de ramas para generar árboles alternativos con la intención de encontrar un mejor árbol bajo un criterio de optimización dado. Si se encuentra un árbol óptimo, el proceso comienza de nuevo, parando sólo si se encuentra un óptimo local.

**Búsqueda exhaustiva.-** examina todos los árboles posibles y garantiza regresar al mejor árbol. Sólo se recomienda para un número pequeño de secuencias (< 20).

## *C*

**Caracter.-** Cualquier rasgo o atributo de una especie que puede ser observado o cuantificado.

**Código de barras.-** Técnica para identificar especies. Un Barcode se puede considerar como una secuencia corta de ADN, de una localidad uniforme del genoma, usada para identificar especies. La región de gen que está siendo utilizada como Barcode estándar para casi todos los grupos de animales es el gen mitocondrial citocromo c oxidasa sub unidad 1 (COI).

## *D*

**Delección.-** pérdida de alguna parte del gen.

**Dendograma.-** Un diagrama de árbol que representa una hipótesis.

**Dispersión.-** De acuerdo a Brown y Lomolino (1998), todos los organismos tienen la capacidad de moverse de sus sitios de nacimiento hacia nuevos sitios. Dicho movimiento es normal y forma parte del ciclo de vida de casi todos las plantas y animales. Estos autores

mencionan también que la dispersión es un término ecológico que se refiere a la distribución espacial de los organismos dentro de poblaciones locales.

**Diversidad genética (heterocigosidad esperada).**- Una medida de la variación genética en una población. Se calcula a partir del cuadrado de frecuencias. Se refiere a la variación de genes y genotipos entre las especies y dentro de ellas.

## *E*

**Electroforesis:** En acetato polarizado, gel de agarosa o de acrilamida a través del cual se corre proteínas o ADN. El material se separa por peso o polaridad y permite distinguir las variantes.

**Especie (concepto biológico).**- Se define como especie a un grupo de organismos que se reproducen entre si y cuya descendencia será fértil.

**Especie (concepto fenético).**- Define a una especie en general por un carácter definido en particular o caracteres que comparten por los miembros de un grupo, es decir por los atributos fenéticos compartidos. Una especie será un grupo de organismos similares feneticamente y de distinta forma a otros grupos de organismos.

**Especies crípticas.**- Todas aquellas especies morfológicamente similares (Knowlton, 1986 y 1993).

**Especies crípticas.**- Dos o más especies distintas, clasificadas erróneamente como una sola (Bickford *et al.*, 2007).

**Especies fraternas.**- Poblaciones naturales morfológicamente similares o idénticas y que se encuentra aisladas reproductivamente entre sí (Mayr, 1963).

## *F*

**Fenotipo.**- Son las características, generalmente observables, de un individuo, cuyo resultado se debe a la interacción entre el genotipo y el ambiente. El aspecto de un individuo.

**Filogenia.**- La expresión de las relaciones evolutivas entre los miembros de un grupo o a partir de un ancestro común y el cambio observado en los caracteres observados.

**Filogeografía.**- Es el campo de estudio concerniente con los principios y los procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes genealógicos. Involucra componentes históricos, filogenéticos y las distribuciones espaciales de linajes genéticos (Avice, 2001).

**Flujo genético.**- Es el desplazamiento de genes de una población a otra, haciendo que sean más similares. la migración genética es el principal agente del flujo de genes.

## *G*

**Genotipo.-** Es la constitución genética de un organismo o el conjunto de genes de un individuo.

## *H*

**Homocigoto.-** Son aquellos individuos cuyos alelos de un determinado locus son idénticos.

**Heterocigoto.-** Son aquellos individuos cuyos alelos de un determinado locus son diferentes.

## *I*

**Ictiofauna.-** Fauna correspondiente al grupo de los peces.

**Inserción.-** adición de uno o más nucleótidos extras a un gen.

## *M*

**Morfología.-** Parte de la biología que se encarga del estudio de la forma de los seres orgánicos y de las modificaciones o transformaciones que experimenta.

## *P*

**PCR.-** Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR por sus siglas en inglés), es una técnica que permite amplificar o copiar segmentos concretos de ADN.

**Primers.-** Iniciadores. Pequeñas secuencias de nucleótidos, de 8 a 20 pb), los cuales reconocen sitios concretos en el genoma total.

## *R*

**Reloj molecular.-** Es una técnica para datar la divergencia de dos especies, la cual deduce el tiempo pasado a partir del número de diferencias entre dos secuencias de ADN.

## *S*

**Sistemática.-** Disciplina de la biología que se dedica a caracterizar la diversidad y organizar el conocimiento acerca de esta diversidad a través de la estimación de las relaciones filogenéticas entre los organismos (Holder y Lewis, 2003).

## T

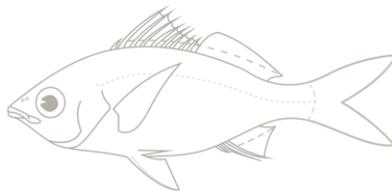
**Taxonomía.-** La teoría y la práctica de la descripción y ordenamiento de la biodiversidad en un esquema jerárquico, de acuerdo con sus relaciones filogenéticas.

**Transición.-** Es una de las substituciones nucleotídicas, la cual se refiere a la sustitución de una purina (adenina o guanina) por otra purina o una pirimidina (timina o citosina) por otra pirimidina. En todos los fragmentos de ADN, está sustitución es la que ocurre más frecuentemente (Nei y Kumar, 2000).

**Transversión.-** Se refiere al cambio entre una purina y una pirimidina (Graur y Li, 2000).

## V

**Vicarianza.-** Para Erwin (1981), la vicarianza es “meramente” la separación en dos o más grupos aislados de los recursos genéticos a disposición de una especie, por algunos mecanismos externos o intrínsecos que permiten que dos o más grupos diferencialmente seleccionados por agentes externos. La resolución a la cual se puede observar esta separación dependerá del nivel taxonómico a estudiar.



# ANEXOS

## Anexo 1

### BASE DE DATOS DE LOS EJEMPLARES ANALIZADOS

Se muestran los datos de los organismos analizados en el presente trabajo. CI = Colección Ictiológica-CICIMAR-IPN, La Paz, BCS, México; CIB = Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C., La Paz, BCS, México; CPUM = Colección de Peces de la Universidad Michoacana, Morelia, Michoacán, México; ECOSUR = El Colegio de la Frontera Sur Unidad Chetumal, Quintana Roo, México; LBP = Laboratório de Biologia e Genética de Peixes -UNESP, Botucatu, Brasil.

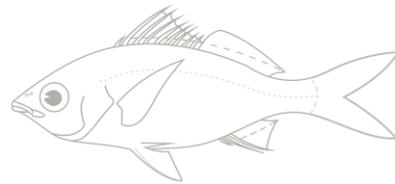
Familia	Género	Especie	Localidad	Fecha de recolección	Colección	Clave colección CI	ID secuenciación	COI	12S	16S	RAG1
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-1	<i>D aureolus 1 Nay</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	16/12/2009	CI	Daure-011209-2	<i>D aureolus 2 Nay</i>	0	1	1	1
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-5	<i>D aureolus 5 Nay</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-7	<i>D aureolus 7 Nay</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-8	<i>D aureolus 8 Nay</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-9	<i>D aureolus 9 Nay</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-10	<i>D aureolus 10 Nay</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-11	<i>D aureolus 11 Nay</i>	0	1	1	0
Gerreidae	<i>Deckertichthys</i>	<i>aureolus</i>	Matanché, Nayarit	15/12/2009	CI	Daure-011209-12	<i>D aureolus 12 Nay</i>	0	1	1	0
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>auratus</i>	La Mancha, Veracruz	30/03/2009	CI	Dau-300309-1	<i>D auratus 9 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>auratus</i>	La Mancha, Veracruz	30/03/2009	CI	Dau-300309-2	<i>D auratus 1 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>auratus</i>	La Mancha, Veracruz	30/03/2009	CI	Dau-300309-3	<i>D auratus 11 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>auratus</i>	La Mancha, Veracruz	30/03/2009	CI	Dau-300309-4	<i>D auratus 2 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>auratus</i>	La Mancha, Veracruz	01/04/2009	CI	Dau-010409-1	<i>D auratus 4 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>brevirostris</i>	Mazatlán, Sinaloa	11/03/2009	CI	Db-110309-1	<i>D brevirostris 1 Maz</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>brevirostris</i>	Mazatlán, Sinaloa	11/03/2009	CI	Db-110309-2	<i>D brevirostris 2 Maz</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>brevirostris</i>	Mazatlán, Sinaloa	11/03/2009	CI	Db-110309-3	<i>D brevirostris 3 Maz</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>brevirostris</i>	Mazatlán, Sinaloa	11/03/2009	CI	Db-110309-4	<i>D brevirostris 4 Maz</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>brevirostris</i>	Mazatlán, Sinaloa	11/03/2009	CI	Db-110309-5	<i>D brevirostris 5 Maz</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>brevirostris</i>	Mazatlán, Sinaloa	17/11/2009	CI	Db-171109-4	<i>D brevirostris 11 Maz</i>	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>rhombeus</i>	La Mancha, Veracruz	30/03/2009	CI	Drho-300309-1	<i>D rhombeus 8</i>	1	1	1	1

Gerreidae	<i>Diapterus</i>	<i>rhombus</i>	La Mancha, Veracruz	30/03/2009	CI	Drho-010409-1	<i>D rhombus 7</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	01/05/2011	CI	Ear-010511-1	<i>E argenteus 1 Ter</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	01/05/2011	CI	Ear-010511-3	<i>E argenteus 3 Ter</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	01/05/2011	CI	Ear-010511-4	<i>E argenteus 4 Ter</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	01/05/2011	CI	Ear-010511-5	<i>E argenteus 5 Ter</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	02/05/2011	CI	Ear-020511-2	<i>E argenteus 6 Ter</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	02/05/2011	CI	Ear-020511-3	<i>E argenteus 7 Ter</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	02/05/2011	CI	Ear-020511-4	<i>E argenteus 8 Ter</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	02/05/2011	CI	Ear-020511-5	<i>E argenteus 9 Ter</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	01/05/2011	CI	Ear-010511-7	<i>E argenteus 10 Ter</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Lag. De Términos, Camp	01/05/2011	CI	Ear-010511-20	<i>E argenteus 11 Ter</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>argenteus</i>	Tampico, Tamaulipas	17/01/2012	CIB	Ear-170112-1	<i>E argenteus 9 Tamp</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>currani</i>	Santa Rosalía, BCS	01/01/2012	CI	Ec-010112-1	<i>E currani 1 Rosa</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>currani</i>	Acapulco, Guerrero	17/10/2011	CI	Ec-171011-1	<i>E currani 1 Aca</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>currani</i>	Acapulco, Guerrero	17/10/2011	CI	Ec-171011-2	<i>E currani 2 Aca</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>currani</i>	La Paz, BCS	02/08/2011	CI	Ec-020811-1	<i>E currani 1 Lap</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>currani</i>	La Paz, BCS	02/08/2011	CI	Ec-020811-2	<i>E currani 2 Lap</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	Acapulco, Guerrero	23/03/2009	CI	Ed-230909-1	<i>E dowii 1 Aca</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	Acapulco, Guerrero	23/03/2009	CI	Ed-230909-2	<i>E dowii 2 Aca</i>	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	Acapulco, Guerrero	23/03/2009	CI	Ed-230909-3	<i>E dowii 3 Aca</i>	0	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	Acapulco, Guerrero	23/03/2009	CI	Ed-230909-4	<i>E dowii 4 Aca</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	La Paz, BCS	28/08/2010	CI	Ed-280810-1	<i>E dowii 1 Lap</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	La Paz, BCS	28/08/2010	CI	Ed-280810-5	<i>E dowii 2 Lap</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>dowii</i>	Galápagos, Ecuador	06/02/2008	CPUM	18394-Ed-060208-1	<i>E dowii 1 Gal</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	La Paz, BCS	28/08/2010	CI	Ee-280810-2	<i>E entomelas 1 Lap</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	La Paz, BCS	28/08/2010	CI	Ee-280810-3	<i>E entomelas 2 Lap</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	La Paz, BCS	28/08/2010	CI	Ee-280810-4	<i>E entomelas 3 Lap</i>	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	La Paz, BCS	02/08/2011	CI	Ee-020811-1	<i>E entomelas 4 Lap</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	La Paz, BCS	02/08/2011	CI	Ee-020811-2	<i>E entomelas 5 Lap</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	La Paz, BCS	02/08/2011	CI	Ee-020811-3	<i>E entomelas 6 Lap</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	Santa Rosalía, BCS	01/01/2012	CI	Ee-010112-1	<i>E entomelas 1 Rosa</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	Santa Rosalía, BCS	01/01/2012	CI	Ee-010112-2	<i>E entomelas 2 Rosa</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	Mazatlan, Sinaloa	12/03/2009	CI	Ee-120309-1	<i>E entomelas 1 Maz</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>entomelas</i>	Mazatlan, Sinaloa	12/03/2009	CI	Ee-120309-2	<i>E entomelas 2 Maz</i>	1	0	0	0

Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gracilis</i>	La Paz, BCS	30/06/2011	CI	Eg-300611-1	<i>E gracilis 2 Lap</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gracilis</i>	La Paz, BCS	30/07/2011	CI	Eg-300710-1	<i>E gracilis 4 Lap</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gracilis</i>	Santa Rosalía, BCS	06/04/2012	CI	Eg-060412-2	<i>E gracilis 1 Rosa</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gracilis</i>	La Paz, BCS	30/06/2011	CI	Eg-300611-7	<i>E gracilis 3 Lap</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gula</i>	Isla Margarita, Ven	20/10/2010	LBP	LBP 11931_62062	<i>E gula 1 Ven</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gula</i>	Isla Margarita, Ven	20/10/2010	LBP	LBP 11931_62063	<i>E gula 2 Ven</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gula</i>	Isla Margarita, Ven	20/10/2010	LBP	LBP 11931_62064	<i>E gula 3 Ven</i>	1	1	0	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gula</i>	Tampico, Tamaulipas	15/10/2012	CIB	Egu-151012-1	<i>E gula 6 Tamp</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gula</i>	Chelem, Yucatán	24/11/2012	CI	Egu-241112-1	<i>E gula 8 Yuc</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>gula</i>	Mandinga, Veracruz	22/07/2013	CI	Egu-220713-1	<i>E gula 10 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>havana</i>	Chetumal, Qroo	----	ECOSUR	ECOCH-6552_MX412	<i>E havana 1 Qroo</i>	0	1	1	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>jonesii</i>	Lag. De Términos, Camp	01/05/2011	CI	Ejo-010511-2	<i>E jonesii 2 Ter</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>jonesii</i>	Isla Mujeres, Yucatán	29/04/2008	CPUM	18809-Ejo-290408-1	<i>E jonesii 2 Isla</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>melanopterus</i>	Boca del Río, Veracruz	01/04/2009	CI	Em-010409-1	<i>E melanopterus 1 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>melanopterus</i>	Boca del Río, Veracruz	01/04/2009	CI	Em-010409-4	<i>E melanopterus 4 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>melanopterus</i>	Liberia, África	26/01/1940	CAS	CAS:SU (ICH)-15932	<i>E melanopterus 5 Lib</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>melanopterus</i>	Isla Aguada, Camp	01/12/2012	CI	Em-011212-1	<i>E melanopterus 2 Camp</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eucinostomus</i>	<i>melanopterus</i>	Mandinga, Veracruz	22/07/2012	CI	Em-220713-2	<i>E melanopterus 6 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	La Mancha, Veracruz	31/12/2011	CI	Eaw-311211-1	<i>E awlae 1 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	La Mancha, Veracruz	31/12/2011	CI	Eaw-311211-2	<i>E awlae 2 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	La Mancha, Veracruz	31/12/2011	CI	Eaw-311211-3	<i>E awlae 3 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	La Mancha, Veracruz	18/02/2011	CI	Eaw-180211-1	<i>E awlae 4 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	La Mancha, Veracruz	18/02/2011	CI	Eaw-180211-2	<i>E awlae 5 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	La Mancha, Veracruz	31/12/2011	CI	Eaw-311211-11	<i>E awlae 6 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	La Mancha, Veracruz	31/12/2011	CI	Eaw-311211-12	<i>E awlae 7 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	Mandinga, Veracruz	23/07/2013	CI	Eaw-230713-1	<i>E awlae 8 Ver</i>	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>awlae</i>	Isla Aguada, Camp	01/12/2012	CI	Eaw-011212-1	<i>E awlae 9 Camp</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>axillaris</i>	Popoyuta, Michoacán	29/04/2006	CPUM	11011-Eax-290406-2	<i>E axillaris 1 Mich</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>brasilianus</i>	Guarujá, Brazil	13/09/2010	LBP	HRCB: 46896	<i>E brasilianus 1 Ven</i>	1	1	0	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>brasilianus</i>	Guarujá, Brazil	13/09/2010	LBP	HRCB: 46897	<i>E brasilianus 2 Ven</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>brasilianus</i>	Guarujá, Brazil	13/09/2010	LBP	HRCB: 46898	<i>E brasilianus 3 Ven</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	22/03/2013	CI	Emx-220313-1	"E castroaguirrei" 3 Tab	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	22/03/2013	CI	Emx-220313-4	"E castroaguirrei" 1 Tab	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	22/03/2013	CI	Emx-220313-8	"E castroaguirrei" 2 Tab	1	0	0	0

Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	26/04/2012	CI	Emx-260412-8	"E castroaguirrei" 4 Tab	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	22/03/2013	CI	Emx-220313-5	"E castroaguirrei" 5 Tab	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	Santa Rosalía, BCS	13/03/2012	CI	EI-130312-1	<i>E lineatus</i> 1 Rosa	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	Santa Rosalía, BCS	13/03/2012	CI	EI-130312-2	<i>E lineatus</i> 2 Rosa	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	San Lucas, BCS	01/01/2012	CI	EI-010112-1	<i>E lineatus</i> 3 Lucas	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	San Lucas, BCS	01/01/2012	CI	EI-010112-2	<i>E lineatus</i> 4 Lucas	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	Mazatlan, Sinaloa	19/05/2011	CI	EI-190511-1	<i>E lineatus</i> 5 Maz	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	Mazatlan, Sinaloa	19/05/2011	CI	EI-190511-2	<i>E lineatus</i> 6 Maz	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	Mazatlan, Sinaloa	19/05/2011	CI	EI-190511-3	<i>E lineatus</i> 7 Maz	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	Mazatlan, Sinaloa	19/05/2011	CI	EI-190511-4	<i>E lineatus</i> 8 Maz	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	La Paz, BCS	03/08/2013	CI	EI-030813-3	<i>E lineatus</i> 9 Lap	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	La Paz, BCS	03/08/2013	CI	EI-030813-1	<i>E lineatus</i> 10 Lap	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>lineatus</i>	Puerto Chale, BCS	03/10/2013	CI	EI-031013-1	<i>E lineatus</i> 11 Chale	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	26/04/2012	CI	Emx-260412-7	<i>E mexicanus</i> 6 Tab	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	26/04/2012	CI	Emx-260412-11	<i>E mexicanus</i> 7 Tab	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	26/04/2012	CI	Emx-260412-13	<i>E mexicanus</i> 8 Tab	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	26/04/2012	CI	Emx-260412-6	<i>E mexicanus</i> 9 Tab	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>mexicanus</i>	Tenosique, Tabasco	26/04/2012	CI	Emx-260412-12	<i>E mexicanus</i> 10 Tab	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>plumieri</i>	Chetumal, Qroo	22/11/2011	CI	Ep-221111-1	<i>E plumieri</i> 3 Qroo	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>plumieri</i>	Chetumal, Qroo	22/11/2011	CI	Ep-221111-2	<i>E plumieri</i> 4 Qroo	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>plumieri</i>	Chetumal, Qroo	22/11/2011	CI	Ep-221111-3	<i>E plumieri</i> 5 Qroo	1	0	0	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>plumieri</i>	Anzoategui, Venezuela	08/01/2008	CPUM	16687-Ep-080108-3	<i>E plumieri</i> 3 Ven	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Eugerres</i>	<i>plumieri</i>	Miranda, Venezuela	07/01/2008	CPUM	16648-Ep-070108-1	<i>E plumieri</i> 4 Ven	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Mazatlan, Sinaloa	17/11/2009	CI	Gc-171109-1	<i>G cinereus</i> 5 Maz	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Mazatlan, Sinaloa	17/11/2009	CI	Gc-171109-3	<i>G cinereus</i> 2 Maz	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Mazatlan, Sinaloa	17/11/2009	CI	Gc-171109-5	<i>G cinereus</i> 3 Maz	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Puerto Ángel, Oaxaca	06/10/2011	CI	Gc-061011-1	<i>G cinereus</i> 1 Oax	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Puerto Ángel, Oaxaca	06/10/2011	CI	Gc-061011-4	<i>G cinereus</i> 4 Oax	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	La Paz, BCS	02/08/2011	CI	Gc-020811-3	<i>G cinereus</i> 3 Lap	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Galápagos, Ecuador	29/01/2008	CPUM	18047-Gc-290108-9	<i>G cinereus</i> 1 Gal	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Chetumal, Qroo	23/11/2011	CI	Gc-231111-1	<i>G cinereus</i> 1 Che	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Chetumal, Qroo	23/11/2011	CI	Gc-231111-2	<i>G cinereus</i> 2 Che	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Chetumal, Qroo	23/11/2011	CI	Gc-231111-3	<i>G cinereus</i> 3 Che	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Chetumal, Qroo	23/11/2011	CI	Gc-231111-4	<i>G cinereus</i> 4 Che	1	1	1	0

Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Veracruz	01/04/2009	CI	Gc-010409-1	<i>G cinereus 1 Ver</i>	1	1	1	0
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Veracruz	01/04/2009	CI	Gc-010409-2	<i>G cinereus 2 Ver</i>	1	1	1	1
Gerreidae	<i>Gerres</i>	<i>cinereus</i>	Isla Margarita, Ven	12/01/2008	CPUM	16768-Gc-120108-2	<i>G cinereus 1 Ven</i>	1	1	1	1
Serranidae	<i>Diplectrum</i>	<i>pacificum</i>	Pescadero, BCS	12/09/2014	CI	Dpa-120914-1	<i>D pacificum 1 Pes</i>	1	1	1	1
Serranidae	<i>Paralabrax</i>	<i>maculatofasciatus</i>	Pescadero, BCS	12/09/2014	CI	Pma-120914-1	<i>P maculatofasciatus 1 pes</i>	1	1	1	1



## Anexo 2

### NÚMEROS DE ACCESO EN GENBANK

Especie	Números de acceso			
	COI	12SrRNA	16SrRNA	RAG1
<i>Deckertichthys aureolus</i>	KJ468680.1	KJ468672.1	KJ468676.1	KJ468684.1
<i>Diapterus auratus</i>	KJ468679.1	KJ468671.1	KJ468675.1	KJ468683.1
<i>Diapterus brevirostris</i>	KJ468681.1	KJ468673.1	KJ468677.1	KJ468685.1
<i>Diapterus rhombeus</i>	KJ468682.1	KJ468674.1	KJ468678.1	KJ468686.1
<i>Eucinostomus argenteus</i>	KJ622140.1-147.1 KT1001478-1480	KJ622114.1-117.1	KJ622127.1-130.1	KJ622163.1-164.1
<i>Eucinostomus dowii</i>	KJ622148.1-152.1	KJ622118.1-123.1	KJ622131.1-136.1	KJ622166.1-169.1
<i>Eucinostomus entomelas</i>	KJ622153.1162.1	KJ622124.1-126.1	KJ622137.1-139.1	KJ622170.1-171.1
<i>Eugerres brasilianus</i>	JQ365349.1-365353.1			
<i>Eugerres mexicanus</i>	KM014793-14800			KM014801- 14808

### ARTÍCULOS DERIVADOS DEL PRESENTE TRABAJO

La información generada en este trabajo permitió la elaboración de dos artículos científicos. El primero de ellos fue publicado en el *Journal of Ichthyology*, y el segundo artículo ha sido sometido para su publicación en el *Acta Ichthyologica et Piscatoria*:

- 1.- **Martínez-Guevara, A., F.J. García-Rodríguez & J. De La Cruz-Agüero.** 2014. DNA sequence data analysis supports the taxonomic status of *Eucinostomus dowii* (Gill 1863) within the genus (Gerreidae: Perciformes). *Journal of Ichthyology*, 54 (10):872–881 pp.
- 2.- **Martínez-Guevara A., García-Rodríguez F.J., Cota-Gomez V.M., Hernández-Gómez R.E., Perera-García M.A., De La Cruz-Agüero J.** 0000. *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013 is a junior synonym of *Eugerres mexicanus* (Steindachner, 1863). *Acta Ichthyol. Piscat.*, 00(0): 00–00.

# DNA Sequence Data Analysis Supports the Taxonomic Status of *Eucinostomus dowii* within the Genus (Perciformes: Gerreidae)<sup>1</sup>

A. Martínez-Guevara, F. J. García-Rodríguez, and J. De La Cruz-Agüero

Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Colección Ictiológica, Avenida Instituto Politécnico Nacional s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, B.C.S. 23096 Mexico

e-mail: ffgarcia@ipn.mx

Received January 24, 2014

**Abstract**—Since its description in 1855, the specific composition of the gerreid genus *Eucinostomus* Baird has been controversial. At present, there are different views concerning the occurrence of *Eucinostomus* species in the Eastern Pacific. For instance, the Dow’s mojarra *Eucinostomus dowii* (Gill, 1863) has been considered by some authors as a synonym of *E. argenteus* Baird and Girard, 1855. The silver mojarra *E. argenteus* is a typical inhabitant of coastal systems along the Atlantic Ocean, and this species has also been mistakenly identified as the dark-spot mojarra *E. entomelas* Zahuranec in Yáñez-Arancibia, 1980, another Eastern Pacific species. In this study, the DNA fragments from mitochondrial (COI, 12SrRNA and 16SrRNA) and nuclear (RAG1) genes were sequenced for the three gerreid species including *Eucinostomus dowii*, *E. argenteus*, and *E. entomelas*. The analysis of DNA sequence variation allowed identification of a significant genetic distance among these fishes, and support that the three taxa are not synonymous to each other and should be considered different evolutionary entities.

**Keywords:** molecular taxonomy, species delimitation, mojarra, Eastern Pacific Ocean

**DOI:** 10.1134/S0032945214100105

## INTRODUCTION

The fishes of the family Gerreidae, commonly known as mojarra or silver-biddies, are compressed silvery schooling fish with strongly protrusible mouths and a deeply forked caudal fin. They are typical members of the tropical and subtropical coastal ichthyofauna most often associated with mud and sand bottoms. They also inhabit rocky or vegetated bottoms that have numerous sandy patches and sometimes occur in inland waters (Castro-Aguirre, 1978; Kerschner et al., 1985; Teixeira and Helmer, 1997).

In the Gerreidae family, eight genera are recognized but taxonomic status of more than 50 nominal species have not yet been revised. Some gerreid taxa in the Neotropics are still treated by some authors as species *inquirendae* (e.g., validity and/or generic assignment uncertain or questionable). This includes species of the genera *Ulaema*, *Eugerres*, *Gerres* and *Eucinostomus* (De La Cruz-Agüero et al., 2012a).

The genus *Eucinostomus*, proposed about 160 years ago by Baird and Girard (Baird, 1855) and redefined later by Jordan (1895), exhibits a taxonomic composition which has changed considerably throughout time (Matheson and McEachran, 1984). The diagnosis by Jordan (1895) was based on a variety of critical characters, such as serrated or smooth inferior margins of the

preopercle and preorbital bone, the first and second interhaemal bones fused to form a cylindrical structure, meristics, morphometric proportions, as well as body and snout coloration. Nevertheless, subtle differences among species, overlapping of morphometric characters, and the process of color loss, have often prevented the correct identification of species (De La Cruz-Agüero, 2013). This has made *Eucinostomus* become one of the most taxonomically complex gerreid genus along the American coasts (Matheson and McEachran 1984; De La Cruz-Agüero and Galván-Magaña, 1993; De La Cruz-Agüero, 2013).

Other issues that influenced taxonomic uncertainty in the genus is loss and poor condition of the type material, inadequate or incomplete original descriptions, and failure on publishing taxonomic revisions contained in dissertations by Curran (1942); Zahuranec (1967); Matheson (1983; partially) and De La Cruz-Agüero (2001; partially).

According to Froese and Pauly (2013), ten species are recognized as valid: *E. argenteus* Baird and Girard, 1855; *E. gula* (Cuvier and Valenciennes, in Quoy and Gaimard, 1824); *E. harengulus* Goode and Bean, 1879; *E. havana* (Nichols, 1912); *E. jonesii* (Günther, 1879) and *E. melanopterus* (Bleeker, 1863) present in the Atlantic Ocean (the latter species also occurs along the west coast of tropical Africa); *E. currani* Zahuranec in Yáñez-Arancibia, 1980; *E. dowii* (Gill,

<sup>1</sup> The article is published in the original.

1863); *E. entomelas* Zahuranec in Yáñez-Arancibia, 1980, and *E. gracilis* (Gill, 1862) in the Pacific Ocean.

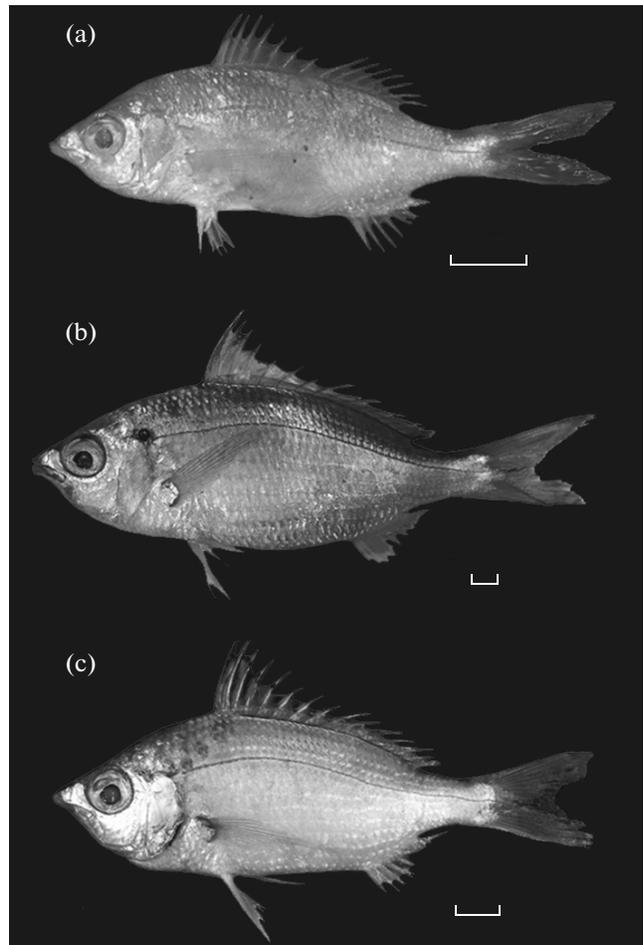
Over the last sixty years, validity of *Eucinostomus* species and their exact geographic distribution have been controversial, its recognition has been assigned to the arbitration of the various authors who have studied it (e.g., Curran, 1942; Miller and Lea, 1972; Bussing and Lopez, 1993; Allen and Robertson, 1994; Bussing, 1995; Tapia and Ayala, 1996; De La Cruz-Agüero et al., 1997; Greenfield and Thomerson, 1997; Grove and Lavenberg, 1997; Murdy et al., 1997; Schmitter-Soto, 1998).

*Eucinostomus argenteus* (Fig. 1a) is the only species in the genus that has been cited in both coasts of the American continent (e.g., Miller and Lea, 1972; Bussing, 1995; González-Armas et al., 2008; Denadai et al., 2012; Rábago-Quiroz et al., 2012), although several authors, based in morphological and morphometric comparisons, have denied its occurrence in the Pacific Ocean (e.g., Zahuranec, 1967; De La Cruz-Agüero and Galván-Magaña, 1993; De La Cruz-Agüero et al., 2011; De La Cruz-Agüero, 2013).

Curran (1942) suggested that the Pacific species *E. dowii* (Fig. 1b) should be treated as a synonym of the Atlantic species *E. argenteus*. However, a further re-examination carried out by Zahuranec (1967) showed that the materials used by Curran (1942) contained a species mixture, two of them considered by him to be new to science, *E. entomelas* (Fig. 1c) and the Pacific flagfin *E. currani* Zahuranec in Yáñez-Arancibia 1980, which led to assert that "...until Atlantic material has been so analyzed, *E. dowii* is provisionally treated as distinct from any of the Atlantic forms..." (Zahuranec, 1967. p. 16).

*Eucinostomus entomelas* and *E. dowii* exhibit a large overlap in morphological and meristic characteristics and sympatric distribution (Jiménez-Rosenberg, 1998). According to Bussing (1995) and Tapia and Ayala (1996), the character that allows discrimination of these species is the presence of an evident black blotch on the body wall inside the upper corner of the opercle in *E. entomelas*, but they also added that older specimens of *E. dowii* may as well have a series of small black spots at the angle of the gill chamber. Jiménez-Rosenberg (1998) notes that the black blotch is observed in individuals larger than 30 mm standard length (*SL*), making discrimination difficult in small specimens. An osteological revision found no differences in larvae and juveniles of both species (Jiménez-Rosenberg, 1998), emphasizing the need to clarify the taxonomy of these species.

This study evaluates the specific integrity of *Eucinostomus dowii*, *E. argenteus* and *E. entomelas*, using four molecular markers based on DNA sequences. These markers have been useful for studying interspecific relationships in many marine fish and used for species identification where boundaries between species cannot be resolved by morphological characters



**Fig. 1.** Lateral view of the three studied species of *Eucinostomus*: (a) *E. argenteus* Baird and Girard, 1855; (b) *E. dowii* (Gill, 1863), (c) *E. entomelas* Zahuranec in Yáñez-Arancibia, 1980. Scale: 10 mm.

(Chang et al., 2006; Asgharian et al., 2010; Gomes et al., 2012; Domingues et al., 2013).

## MATERIALS AND METHODS

**Sampling and identification.** Specimens and muscle tissue belong to the Ichthyologic Collection (CI) of CICIMAR-IPN at La Paz, Baja California Sur (B.C.S.), Mexico, which are available upon request (see details on the CI website: <http://coleccion.cicimar.ipn.mx>).

A total of 24 adult specimens were examined and sequenced (Table 1). Six specimens, identified as *E. dowii*, were collected in Bahía de La Paz (B.C.S.) and Acapulco harbor (Guerrero, Mexico) between September 2009 and August 2011. Ten specimens of *E. entomelas* were collected in Bahía de La Paz, Santa Rosalía harbor (B.C.S.) and Mazatlán harbor (Sinaloa, Mexico) between March 2009 and January 2012; and eight specimens of *E. argenteus* captured in Atlantic

**Table 1.** Voucher information and collecting locality for each of the 24 individual specimens analysed in this study (see GenBank accession codes in text)

Specimen ID	Collection (CI) code	Species	Collecting locality (México)
Ea 1 Te	Ear-010511-1	<i>Eucinostomus argenteus</i>	Laguna de Terminos, Camp
Ea 3 Te	Ear-010511-3	Ibid.	Ibid.
Ea 4 Te	Ear-010511-4	"	"
Ea 5 Te	Ear-010511-5	"	"
Ea 6 Te	Ear-020511-2	"	"
Ea 7 Te	Ear-020511-3	"	"
Ea 8 Te	Ear-020511-4	"	"
Ea 9 Te	Ear-020511-5	"	"
Ed 1 Ac	Ed-230909-1	<i>E. dowii</i>	Acapulco, Gro
Ed 2 Ac	Ed-230909-2	Ibid.	Ibid.
Ed 3 Ac	Ed-230909-3	"	"
Ed 4 Ac	Ed-230909-4	"	"
Ed 1 Lp	Ed-280810-1	"	La Paz, B.C.S.
Ed 2 Lp	Ed-280810-5	"	Ibid.
Ee 1 Lp	Ee-280810-2	<i>E. entomelas</i>	"
Ee 2 Lp	Ee-280810-3	Ibid.	"
Ee 3 Lp	Ee-280810-4	"	"
Ee 4 Lp	Ee-020811-1	"	"
Ee 5 Lp	Ee-020811-2	"	"
Ee 6 Lp	Ee-020811-3	"	"
Ee 1 Mz	Ee-120309-1	"	Mazatlan, Sin
Ee 2 Mz	Ee-120309-2	"	Ibid.
Ee 1 Ro	Ee-120112-1	"	Santa Rosalia, B.C.S.
Ee 2 Ro	Ee-120112-2	"	Ibid.

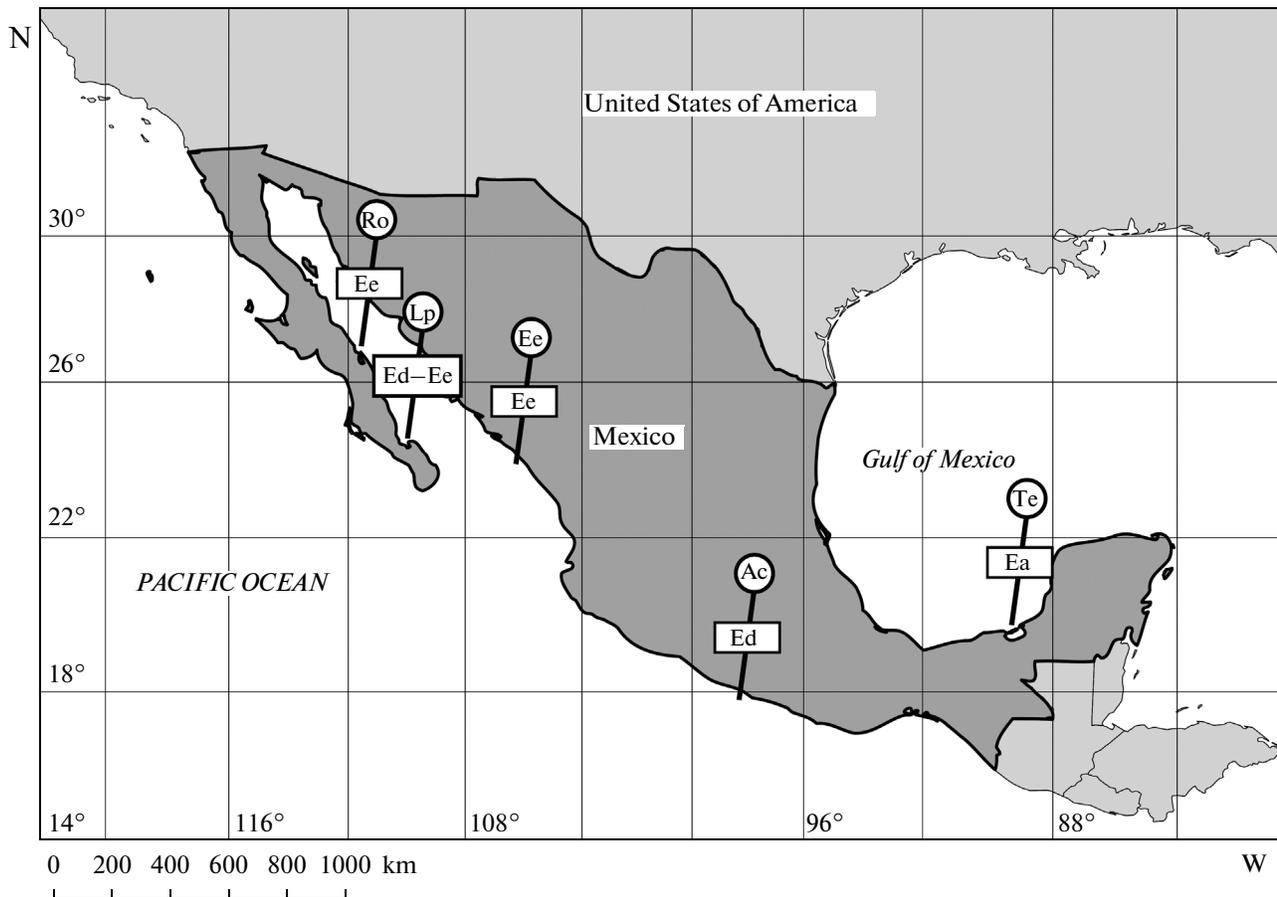
coastal waters, in Laguna de Términos (Campeche, Mexico) (Fig. 2) between May 2011 and October 2012.

The specimens were captured by local fishermen and by the authors with a capture permit granted to the authors' institution. Taxonomic identification was made with taxonomic keys and the original diagnosis and descriptions of the species and revision studies of the genus (e.g., Baird, 1855; Gill, 1863; Curran, 1942; Zahuranec, 1967; Matheson, 1983; De La Cruz-Agüero, 2001). A sample of muscle tissue was obtained from each specimen and stored in 96% ethanol. Voucher specimens were fixed in 10% formaldehyde, preserved in 50% ethanol, and deposited and catalogued in the Ichthyologic Collection (CI) of CICIMAR-IPN.

Additionally, two sequences of *E. argenteus* were obtained from GenBank (accession numbers GU440320 and AY958609); the specimens were captured in the Eastern Pacific Ocean.

**DNA extraction, amplification and sequencing.** Total genomic DNA was purified using a Qiagen® extraction kit (catalog no. Q01-69506, Hilden, Ger-

many). Three fragments of the mtDNA (12SrRNA, 16SrRNA, and COI) and one partial gene of nDNA (RAG1) were amplified by PCR using respectively the primers L1091-H1478 (Kocher et al., 1989), 16Sar-L-16Sbr-H (Palumbi, 1996), FishF1-FishR1 (Ward et al., 2005), and DauraRAG1F1-DauraRAG1R1 (Vérgara-Solana, 2012). In all cases, the amplification was carried out in a volume of 35 µL containing: 3.5 µL PCR buffer (10×, Invitrogen®, Carlsbad, CA), 0.7 µL dNTP mix (10 mM), 1.68 µL of each primer (10 µM), 2.8 µL of MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0.35 µL *Taq* DNA polymerase (5U/µL) (Invitrogene), and 0.7 µL of total DNA. The PCR setup for 12SrRNA and 16SrRNA was: 94°C for 2 min, 35 cycles at 94°C for 1 min each, 58°C for 1 min, 72°C for 1 min, and final extension at 72°C for 4 min. For COI the PCR setup was: initial denaturation step at 94°C for 2 min, 35 cycles at 94°C for 30 s each, 54°C for 30 s, 72°C for 1 min, and final extension at 72°C for 10 min. Amplification of RAG1 was: initial denaturation at 94°C for 4 min, 30 cycles at 95°C for 45 s each, 66.5°C for 30 s, 72°C for 1 min, and final extension at 72°C for 4 min. The PCR products were visualized on 1% agarose gels prior to puri-



**Fig. 2.** Sampling locations of the three species of *Eucinostomus* (*E. argenteus* = Ea; *E. dowii* = Ed; *E. entomelas* = Ee) in the States of Mexico: Baja California Sur (Lp = Bahía de La Paz; Ro = Santa Rosalía harbor), Sinaloa (Mz = Mazatlán harbor), Guerrero (Ac = Acapulco harbor) and Campeche (Te = Laguna de Términos).

fication and sequencing, using forward and reverse primers for each gene (Macrogen, Seoul, Korea).

**Sequence analysis.** The DNA sequences were manually verified, edited, and aligned using Sequencher 4.5 and Geneious Pro 5.4 software (Drummond et al., 2011). All sequences were aligned using the MUSCLE algorithm (Edgar, 2004) integrated in the MEGA5 software (Tamura et al., 2011). The sequences were deposited in the GenBank (accession numbers KJ622114–KJ622171). The genetic distances among and within species were estimated using the Kimura two-parameter (K2P) substitution model (Kimura, 1980). To eliminate the effect of intraspecific variation, the net distance was estimated (Tamura et al., 2011). A Neighbor–Joining (NJ) tree of K2P distances was constructed for each gene to provide a graphic representation of the divergence among species. The robustness of the internal branches in the trees was supported by 1000 bootstrap replications (Felsenstein, 1985). This analysis was performed with MEGA5 (Tamura et al., 2011).

## RESULTS

The four genes supported tree taxonomic groups. The aligned COI data set was 620 bp with 497 conserved sites (80.16%), with 123 variable sites (19.83%) and 122 parsimony informative sites (19.67%). All specimens of *E. dowii* had identical COI haplotypes. *E. entomelas* and *E. argenteus* had two and five haplotypes, respectively. The mean overall distance was 10.7%. Between *E. dowii* and *E. argenteus*, genetic divergence was 13.4% (Table 2).

12SrRNA amplification produced sequences of 429 bp containing 362 conserved sites (84.38%) and 67 variable sites (15.61%) all of them parsimony informative sites. Each species was represented by only one haplotype. The mean overall distance in this gene was 7.6%. Between *E. dowii* and *E. argenteus*, genetic divergence was 7.7%, while *E. entomelas* was 13.9% and 13.3% divergent between *E. argenteus* and *E. dowii*, respectively (Table 2).

We obtained a length of aligned 16SrRNA sequences of 600 bp and it contained 522 conserved sites (87%) and 78 variable sites (13%), including one

**Table 2.** Genetic distances of the four genes (mean  $\pm$  S.E.) within species (in diagonal) and between species (below diagonal) of *Eucinostomus* spp. given in percentages

Genes	<i>E. argenteus</i>	<i>E. dowii</i>	<i>E. entomelas</i>
<b>COI</b>			
<i>E. argenteus</i>	0.5 $\pm$ 0.001		
<i>E. dowii</i>	13.4 $\pm$ 0.017	0.000 $\pm$ 0.000	
<i>E. entomelas</i>	16.6 $\pm$ 0.019	15.8 $\pm$ 0.017	0.1 $\pm$ 0.001
Mean overall distance	10.7 $\pm$ 0.011		
<b>12SrRNA</b>			
<i>E. argenteus</i>	0.0 $\pm$ 0.000		
<i>E. dowii</i>	7.70 $\pm$ 0.013	0.0 $\pm$ 0.000	
<i>E. entomelas</i>	13.9 $\pm$ 0.019	13.3 $\pm$ 0.018	0.0 $\pm$ 0.000
Mean overall distance	7.6 $\pm$ 0.009		
<b>16SrRNA</b>			
<i>E. argenteus</i>	0.2 $\pm$ 0.001		
<i>E. dowii</i>	4.3 $\pm$ 0.009	0.0 $\pm$ 0.000	
<i>E. entomelas</i>	12.5 $\pm$ 0.015	12.5 $\pm$ 0.015	0.0 $\pm$ 0.000
Mean overall distance	6.2 $\pm$ 0.007		
<b>RAG</b>			
<i>E. argenteus</i>	0.2 $\pm$ 0.002		
<i>E. dowii</i>	0.5 $\pm$ 0.003	0.2 $\pm$ 0.001	
<i>E. entomelas</i>	1.2 $\pm$ 0.005	1.0 $\pm$ 0.004	0.2 $\pm$ 0.002
Mean overall distance	0.70 $\pm$ 0.002		

parsimony informative site. Only *E. argenteus* had more than one haplotype and differed from *E. dowii* by 4.3%.

*E. entomelas* had a genetic divergence, with the other two species of about 12.5%. The mean overall distance was 6.2% (Table 2).

A similar pattern to that observed in the three mitochondrial genes occurred in the more conserved nuclear fragment of RAG1. It was composed of 576 bp containing 566 conserved sites (98.26%) with ten variable sites (1.73%) including nine parsimony informative sites. RAG1 Kimura two parameters distances indicate 0.5% divergence between *E. dowii* and *E. argenteus* and the mean overall distance was 0.7% (Table 2).

The topologies of Neighbor–Joining trees obtained by each of the four molecular markers at the species level were similar in all cases containing well supported groupings for the three species. Genetic distances of COI, 12SrRNA, 16SrRNA, and RAG1, treating the three clades as distinct species (Fig. 3), where net distance between *E. dowii* and *E. argenteus* indicate high levels of genetic differentiation (Table 2).

In the COI and 16S data set analyses were two sequences quoted as belonging to *E. argenteus* in the GenBank (accession numbers GU440320 and AY958609) from specimens taken in Puerto Escon-

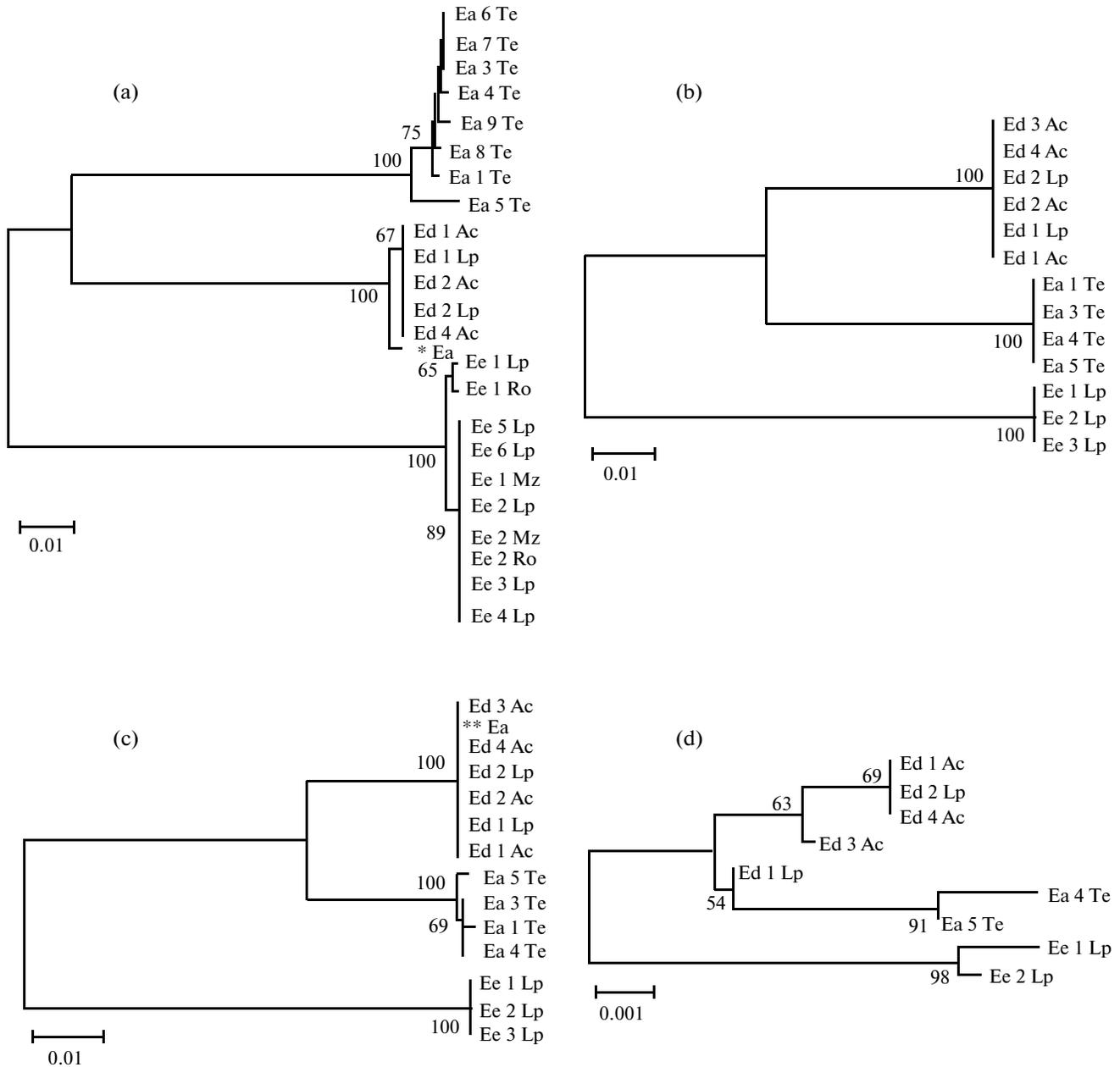
dido harbor (B.C.S., Mexico) are grouped with our samples of *E. dowii*.

We found fixed differences in each species for the four genes. For the COI, we found 108 differences at least in one species (Table 3) and for the 16SrRNA, 12SrRNA and RAG1, these were 76, 67, and 7, respectively (data not shown).

## DISCUSSION

The results provide strong evidence that *E. dowii* is a valid species in the genus *Eucinostomus* based in the analysis of four molecular markers. This study, together with previous analyses of morphological and morphometric comparisons (e.g., Zahuranec, 1967; Yáñez-Arancibia, 1980; De La Cruz-Agüero and Galván-Magaña, 1993; De La Cruz-Agüero, 2001), confirmed that *E. dowii* and *E. argenteus* are different species.

Proposing synonymization of *E. dowii* with *E. argenteus* (Curran, 1942), besides the species mixture already mentioned, probably occurred because the original description of the latter species was brief and based on juvenile specimens (34 mm standard length in the holotype), and with no illustrations (see Baird, 1855). Subsequent emendation by one of the co-authors (C.F. Girard) includes mistakenly an illus-



**Fig. 3.** Unrooted neighbor-joining trees obtained using partial sequences: (a) COI, (b) 12SrRNA, (c) 16SrRNA, (d) RAG1 of *Eucinostomus* species in this study. Numbers beside the branch indicate bootstrap values above 50%. Scale bar is according to the Kimura (1980) two-parameter distance. Letters correspond to the localities of capture and species names (Fig. 2). \*GU440320.1 and \*\*AY958609.1 are from the GenBank.

tration of the Jenny mojarra *E. gula*, and perhaps was also based on a mixture of individuals of several species, as noted by Curran (1942).

Another factor that influenced this situation is the somewhat cumbersome and subjective taxonomic keys based on body and fin coloration, proportions of body depth and standard length, and relative lengths of the head and pelvic fin (e.g., Anonymous, 1976; Bussing, 1995; Tapia and Ayala, 1996). The aforementioned process of loss of coloration and overlap of morpho-

metric characters have often prevented the correct identification of species (De La Cruz-Agüero and Galvan-Magaña, 1993), in addition, the most used identification keys, as previously cited, continue to consider *E. argenteus* as a valid species for the Pacific Ocean (e.g., González-Armas et al., 2008; Denadai et al., 2012; Rábago-Quiroz et al., 2012).

Regarding *E. entomelas* and *E. dowii*, although Jiménez-Rosenberg (1998) shows no significant differences between them, her conclusions can be linked



Our results showed that COI mtDNA, 12SrRNA, 16SrRNA, and RAG1 are robust molecular markers for establishing species delimitations between species of the genus *Eucinostomus*. Estimates of mean genetic distance of the genes (COI = 10.7%; 12SrRNA = 7.6%; 16SrRNA = 6.2%; RAG1 = 0.7%) were sufficient to discriminate between individuals of different species of mojarras. These values correspond well to other studies of molecular identification of marine fish (e.g., Lakra et al., 2009; Cui et al., 2010; Valdez-Moreno et al., 2010; Ribeiro et al., 2012; Zhang and Hanner, 2012; Liu et al., 2013). Divergence values in species included in the family Gerreidae show that the amount of sequence divergence of 16SrRNA of two co-generic species (*Gerres* genus) was 4.9–5.3% (Chakraborty et al., 2006). However, genetic distance between species associated with substitution rates can vary. For example, Asgharian et al. (2011) shows the mean Kimura two-parameters distances within the genus for COI from eight bar coding projects of marine fishes, including Mexican marine fishes (12.87%), ranges from 3.70 to 16.05%. De La Cruz-Agüero et al. (2012b) reports an estimated average genetic distance for 12SrRNA between chimera *Hydrolagus* species at 3.45%. Lessios (2008) indicates that the mean distance between sister clades of several fishes on either side of Central America, for instance, for the sergeant majors *Abudefduf troschelii* (Pacific) and *A. saxatilis* (Atlantic), the average genetic distance for RAG1 was 0.3%.

Currently, *E. dowii* and *E. argenteus* inhabit the Pacific and Atlantic basins, respectively. We have no evidence for *E. argenteus* in the Eastern Pacific. *E. dowii* has previously been considered a synonym of *E. argenteus* in most taxonomic keys (see above), therefore it is understandable why researchers such as Hastings and Burton (unpublished material) and Byrne et al. (unpublished material) used the specific name of *E. argenteus* in the GenBank database (accession numbers GU440320 and AY958609, respectively) for specimen that are actually *E. dowii* (Fig. 2). This observation underlines the fact that sequences published in a public-access collection need to be re-examined in some cases. These data should be taxonomically accurate or at least not misleading to be useful in future research, as recommended by Bridge et al. (2003).

It is interesting note that a genus described in 1855 shows taxonomical problems that can be resolved by molecular techniques, highlighting the benefits of these tools along with traditional morphological data. Although our study showed that species *E. dowii* and *E. argenteus* have recognizable and accentuated genetic distance, classification of the genus *Eucinostomus* will not be resolved without systematic studies that include all recognized species and throughout the range of the species, including morphometric, osteological, and genetic investigations.

## CONCLUSIONS

In conclusion, molecular approaches reveal that specimens belonging to the Gerreidae family, and here recognized as *Eucinostomus argenteus*, *E. dowii*, and *E. entomelas* show significant genetic distance, as would be expected between any pair of nominal marine fish species (e.g., Ward et al., 2005). Evidence from the partial sequences of four genes support previous morphological and morphometric comparisons (e.g., Zahuranec, 1967; Yáñez-Arancibia, 1980; de la Cruz-Agüero and Galván-Magaña, 1993; de la Cruz-Agüero, 2001, 2013) that the three taxa are not synonymous to each other and should be considered different evolutionary entities. We have no evidence for *E. argenteus* in the Eastern Pacific, nevertheless, *E. dowii* should be considered as a valid species in the taxonomic keys. Until the molecular taxonomy of the genus and the family is explored, phylogenetic analyses may be performed using a combination of molecular characters; thus our findings provide new molecular information on its variation, which will be useful for future research.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to many colleagues and technicians for their encouragement and assistance, especially those from CI-CICIMAR. Also thanks to Ira Fogel and Mariana Díaz Santana-Iturríos for his assistance in preparing the manuscript in English. AMG is a recipient of a fellowship and grants from CONACYT, BEIFI and COFAA-IPN. FJGR and JDA are fellows of the Comisión para el Fomento de las Actividades Académicas (COFAA-IPN), Estímulo al Desempeño de los Investigadores (EDI-IPN), and Sistema Nacional de Investigadores (SNI-CONACyT). This study was partly funded by the Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP-IPN). The fish species in this study are scientific samples with no commercial value, and they are not listed or registered in any section of the country (Norma Oficial Mexicana-NOM-094), or in the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) as endangered or subject to special protection. The specimens were treated with concern for reducing potential suffering.

## REFERENCES

- Allen, G. and Robertson, D.R., *Fishes of the Tropical Eastern Pacific*, Honolulu, USA: Univ. of Hawaii Press, 1994.
- Asgharian, H., Elahi, E., Kalirad, A., and Sahafi, H.H., Sequence data on four genes suggest nominal *Gerres filamentosus* specimens from Nayband National Park in the Persian Gulf represent two distinct species, *Int. J. Agric. Biol.*, 2010, vol. 6, pp. 1–11.
- Asgharian, H., Sahafi, H.H., Ardalan, A.A., Shekarriz, S., and Elahi, E., Cytochrome *c* oxidase subunit 1 barcode data of fish of the Nayband National Park in the Persian Gulf and analysis using meta-data flag several cryptic species,

- Mol. Ecol. Res.*, 2011, vol. 11, pp. 461–72. doi: 10.1111/j.1755-0998.2011.02989.x
- Baird, S.F., Fishes observed on the coast of New Jersey and Long Island during the summer of 1854, *Annu. Rep. Smithsonian Inst.*, 1855, vol. 9, pp. 317–337.
- Bridge, P.D., Roberts, P.J., Spooner, B.M., and Panchal, G., On the unreliability of published DNA sequences, *New Phytol.*, 2003, vol. 160, pp. 43–48. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00861.x
- Bussing, W.A. and López, M.S., Peces demersales y pelágicos costeros del Pacífico de Centro América meridional, Special Publication, *Rev. Biol. Trop.*, 1993, p. 164.
- Bussing, W.A. Gerreidae, in *Guía Para la Identificación de Especies Para los Fines de la Pesca, Pacífico Centro-Oriental, Vertebrados-Parte 1*, Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., et al., Eds., Rome: FAO, 1995, vol. 2, pp. 114–1128.
- Castro-Aguirre, J.L., *Catálogo Sistemático de los Peces Marinos que Penetran a las Aguas Continentales de México, con Aspectos Zoogeográficos y Ecológicos*, México: Dirección General del Instituto Nacional de Pesca, Serie Científica 19, 1978.
- Catálogo de Peces Marinos Mexicanos*, México, D.F.: Secretaría de Industria y Comercio, Instituto Nacional de Pesca, 1976.
- Chakraborty, A., Venugopal, M.N., Hidaka, K., and Iwatsuki, I., Genetic differentiation between two colour morphs of *Gerres erythrourus* (Perciformes: Gerreidae) from the Indo-Pacific region, *Ichthyol. Res.*, 2006, vol. 53, pp. 185–188.
- Chang, C., Shao, Y., and Kao, H., Molecular identification of two sibling species of *Puntius* in Taiwan, *Zool. Stud.*, 2006, vol. 45, pp. 149–156.
- Cui, Z., Liu, Y., Liu, J., and Luan, W., Molecular identification of *Pampus* fishes (Perciformes, Stromateidae), *Ichthyol. Res.*, 2009, vol. 57, pp. 32–39. doi: 10.1007/s10228-009-0119-9
- Curran, H.W., A systematic revision of the gerreid fishes referred to the genus *Eucinostomus* with a discussion of their distribution and speciation, *Ph.D. Dissertation*, Ann Arbor, USA: Univ. of Michigan, 1942, p. 183.
- De La Cruz-Agüero, J., Sistemática y biogeografía de las especies del género *Eucinostomus* (Teleostei: Gerreidae), *Ph.D. Dissertation*, La Paz BCS, México: CICIMAR-IPN, 2001, p. 228. <http://www.biblioteca.cicimar.ipn.mx/oasis/>
- De La Cruz-Agüero, J., The caudal skeleton of mojarra from genus *Eucinostomus* (Perciformes: Gerreidae) and related species, *J. Ichthyol.*, 2013, vol. 53, no. 11, pp. 994–1006. doi: 10.1134/S0032945213110106
- De La Cruz-Agüero, J. and Galván-Magaña, F., Morphological discrimination of *Eucinostomus* spp. from the Pacific coast of Mexico, *Bull. Mar. Sci.*, 1993, vol. 52, no. 2, pp. 819–824.
- De La Cruz-Agüero, J., Arellano-Martínez, M., Cota-Gómez, V.M., and De La Cruz-Agüero, G., *Catálogo de los Peces Marinos de Baja California Sur*, México: CICIMAR-IPN y CONABIO, 1997, p. 346.
- De La Cruz-Agüero, J., García-Rodríguez, F.J., Cota-Gómez, V.M., et al., Length–weight relations of selected species of the family Gerreidae (Actinopterygii: Perciformes) from the Mexican coast, *Acta Ichthyol. Piscat.*, 2011, vol. 41, no. 1, pp. 67–69.
- De La Cruz-Agüero, J., García-Rodríguez, F.J., De La Cruz-Agüero, G., and Díaz-Murillo, B.P., Identification of gerreid species (Actinopterygii: Perciformes: Gerreidae) from the Pacific coast of Mexico based on sagittal otolith morphology analysis, *Acta Ichthyol. Piscat.*, 2012a, vol. 42, no. 4, pp. 297–306. doi: 10.3750/AIP2012.42.4.03
- De La Cruz-Agüero, J., García-Rodríguez, F.J., Cota-Gómez, V.M., et al., Morphometric and molecular data on two mitochondrial genes of a newly discovered chimaeran fish (*Hydrolagus melanophasma*, Chondrichthyes), *Ocean. Sci. J.*, 2012b, vol. 47, no. 3, pp. 147–153. <http://dx.doi.org/10.1007/s12601-012-0014-6>
- Denadai, M.R., Santos, F.B., et al., Diets of *Eucinostomus argenteus* (Baird & Girard, 1855) and *Diapterus rhombeus* (Cuvier, 1829) (Perciformes: Gerreidae) in Caraguatatuba Bay, southeastern Brazil, *Pan-Am. J. Aquat. Sci.*, 2012, vol. 7, pp. 143–155.
- Domingues, R.R., De Amorim, A.F., and Hilsdorf, A.W.S., Genetic identification of Carcharhinus sharks from the southwest Atlantic Ocean (Chondrichthyes: Carcharhiniformes), *J. Appl. Ichthyol.*, 2013, vol. 29, pp. 738–742. doi: 10.1111/jai.12154
- Drummond, A.J., Ashton, B., Cheung, M., et al., Geneious ver. 5.4, 2011. <http://www.geneious.com/>
- Edgar, R.C., MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity, *BMC Bioinform.*, 2004, vol. 5, pp. 1–19. doi: 10.1186/1471-2105-5-113
- Felsenstein, J., Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 1985, vol. 39, pp. 783–791.
- Froese, R. and Pauly, D., FishBase, 2013. <http://www.fishbase.org>. Cited August, 2013.
- GenBank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Cited August, 2013.
- Gill, T.N., Descriptive enumeration of a collection of fishes from the western coast of Central America, presented to the Smithsonian Institution by Capt. John Dow, *Proc. Acad. Nat. Sci. Phil.*, 1863, vol. 4, pp. 162–180.
- Gomes, P.B., Schama, R., and Solé-Cava, A.M., Molecular and morphological evidence that *Phymactis papillosa* from Argentina is, in fact, a new species of the genus *Bunodosoma* (Cnidaria: Actiniidae), *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 2012, vol. 92, no. 5, pp. 895–910. doi: 10.1017/S0025315411002049
- González-Armas, R., Funes-Rodríguez, R., and Amador-Buenrostro, A., Estructura de la comunidad de larvas de peces en una montaña submarina del Golfo de California, *Hidrobiológica*, 2008, vol. 18, suppl. 1, pp. 77–88.
- Greenfield, D.W. and Thomerson, J.E., *Fishes of the Continental Waters of Belize*, Miami, USA: Univ. Press of Florida, 1997.
- Grove, J.S., and Lavenberg, R.J., *The Fishes of the Galapagos Islands*, California, USA: Stanford Univ. Press, 1997.
- Jiménez-Rosenberg, P., Descripción del desarrollo larvario de *Eucinostomus gracilis* y larvario juvenil de *Eucinostomus dowii* y *Diapterus peruvianus*, *MSc Thesis*, La Paz BCS, México: CICIMAR-IPN, 1998, p. 98. <http://www.biblioteca.cicimar.ipn.mx/oasis/>
- Jordan, D.S., The fishes of Sinaloa, Proceedings of the California Academy of Sciences, 1895, vol. 2, no. 5, pp. 377–514.

- Kerschner, B.A., Peterson, M.S., and Gilmore, R.G., Ecotopic and ontogenetic trophic variation in mojarra (Pisces: Gerreidae), *Estuaries*, 1985, vol. 8, no. 3, pp. 311–322.
- Kimura, M., A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *J. Mol. Evol.*, 1980, vol. 16, pp. 111–120.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., et al., Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, vol. 86, pp. 6196–6200. doi: 10.1073/pnas.86.16.6196
- Lakra, W.S., Goswami, M., and Gopalakrishnan, A., Molecular identification and phylogenetic relationships of seven Indian Sciaenids (Pisces: Perciformes, Sciaenidae) based on 16S rRNA and cytochrome *c* oxidase subunit I mitochondrial genes, *Mol. Biol. Rep.*, 2009, vol. 36, pp. 831–839. doi: 10.1007/s11033-008-9252-1
- Lessios, H.A., The great american schism: Divergence of marine organisms after the rise of the Central American Isthmus, *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 2008, vol. 39, pp. 63–91. doi: 1543-592X/08/1201-006320.00
- Liu, M., Li, J.-L., Ding, S.-X., and Liu, Z.-Q., *Epinephelus moara*: a valid species of the family Epinephelidae (Pisces: Perciformes), *J. Fish. Biol.*, 2013, vol. 82, pp. 1684–1699. doi: 10.1007/s10641-012-0036-z
- Matheson, R.E., Taxonomic studies of the *Eucinostomus argenteus* complex (Pisces: Gerreidae), *Ph.D. Dissertation*, Texas, USA: A&M Univ. Coll., 1983.
- Matheson, R.E. and McEachran, J.D., Taxonomic studies of the *Eucinostomus argenteus* complex (Pisces: Gerreidae): Preliminary studies of external morphology, *Copeia*, 1984, pp. 893–902.
- Miller, D.J. and Lea, R.N., *Guide to the Coastal Marine Fishes of California*, Calif. Dep. Fish Game, 1972, vol. 157, p. 249.
- Murdy, E.O., Birdsong, R.S., and Musick, J.A., *Fishes of the Chesapeake Bay*, Washington, D.C.: Smithsonian Inst. Press, 1997.
- Palumbi, S.R., Nucleic acids II: the polymerase chain reaction, in *Molecular Systematics*, Millis, D.M., Mortiz, C., and Mable, B.K., Eds., Sunderland, MA: Sinauer Assoc., 1996, pp. 205–247.
- Rábago-Quiroz, C.H., López-Martínez, J., Valdez-Holguína, J.E., et al., Fish assemblages in the bycatch of bottom shrimp trawls on the west side of the Gulf of California, Mexico, *Mar. Biol. Res.*, 2012, vol. 8, no. 9, pp. 865–876. http://dx.doi.org/10.1080/17451000.2012.692161
- Ribeiro, A.D.O., Caires, R.A., Mariguela, T.C., et al., DNA barcodes identify marine fishes of São Paulo State, Brazil, *Mol. Ecol. Res.*, 2012, vol. 12, pp. 1012–1020. doi: 10.1111/1755-0998.12007
- Schmitter-Soto, J.J., *Catálogo de los Peces Continentales de Quintana Roo*, Mexico: El Colegio de la Frontera Sur, 1998.
- Tamura, K., Peterson, D., et al., MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method, *Mol. Biol. Evol.*, 2011, vol. 28, pp. 2731–2739.
- Tapia, G.M. and Ayala, P.G., Clave para la determinación de las especies de mojarra en México (Pisces: Gerreidae), *Rev. Biol. Trop.*, 1996, vols. 44–45, pp. 519–526.
- Teixeira, R.L. and Helmer, J.L., Ecology of young mojarra (Pisces: Gerreidae) occupying the shallow waters of a tropical estuary, *Rev. Brasil Biol.*, 1997, vol. 57, pp. 637–646.
- Valdez-Moreno, M., Vásquez-Yeomans, L., Elías-Gutiérrez, M., et al., Using DNA barcodes to connect adults and early life stages of marine fishes from the Yucatan Peninsula, Mexico: potential in fisheries management, *Mar. Freshwater Res.*, 2010, vol. 61, pp. 665–671.
- Vérgara-Solana, F.J., Sistemática del género *Diapterus ranzani*, 1842 (Perciformes: Gerreidae). Análisis morfométricos y moleculares, *MSc Thesis*, La Paz BCS, México: CICIMAR-IPN, 2012, p. 112. http://www.biblioteca.cicimar.ipn.mx/oasis/
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., et al., DNA barcoding Australia's fish species, *Phil. Trans. R. Soc. B*, 2005, vol. 360, pp. 1847–1857. doi: 10.1098/rstb.2005.1716
- Yáñez-Arancibia, A., *Taxonomía, Ecología y Estructura de las Comunidades de Peces en Lagunas Costeras con Bocas Efímeras del Pacífico de México*, Centro de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, sp. issue 2, 1980.
- Zahuranec, B.V., The gerreid fishes of the genus *Eucinostomus* in the Eastern Pacific, *MSc Thesis*, La Jolla, CA: Univ. of California, 1967.
- Zhang, J. and Hanner, R., Molecular approach to the identification of fish in the South China Sea, *PLoS One*, 2012, vol. 7, pp. 1–9. doi: 10.1371/journal.pone.0030621

**Running title:** Taxonomic status of *Eugerres castroaguirrei*

*Eugerres castroaguirrei* **González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013** is a junior synonym of *Eugerres mexicanus* (Steindachner, 1863)

Adriana MARTÍNEZ-GUEVARA<sup>1</sup>, Francisco Javier GARCÍA-RODRÍGUEZ<sup>1</sup>, Víctor Manuel COTA-GÓMEZ<sup>1</sup>, Raúl Enrique HERNÁNDEZ-GÓMEZ<sup>2</sup>, Martha Alicia PERERA-GARCÍA<sup>2</sup>, and José DE LA CRUZ-AGÜERO\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Colección Ictiológica. Avenida IPN s/n, Colonia Playa Palo de Santa Rita, La Paz, Baja California Sur 23096, México.

<sup>2</sup> Ingeniería en Acuacultura, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, km 1 carretera Tenosique-Estapilla, Tenosique, Tabasco, 86901, México.

Correspondence: \*Dr. José De La Cruz-Agüero, Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Colección Ictiológica, Avenida Instituto Politécnico Nacional s/n, Colonia Playa Palo de Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, México 23096. Phone: 52 (612) 122 5344 ext. 82407. E-mails: (JDA) [jcruz@ipn.mx](mailto:jcruz@ipn.mx); (AMG) [amtzguevara@gmail.com](mailto:amtzguevara@gmail.com); (FJGR) [fjgarcia@ipn.mx](mailto:fjgarcia@ipn.mx); (VMCG) [vcotag@ipn.mx](mailto:vcotag@ipn.mx); (REHG) [raul.hernandez@ujat.mx](mailto:raul.hernandez@ujat.mx); (MAPG) [martha.perera@ujat.mx](mailto:martha.perera@ujat.mx).

Martínez-Guevara A., García-Rodríguez F.J., Cota-Gomez V.M., Hernández-Gómez R.E., Perera-García M.A., De La Cruz-Agüero J. 0000. *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013 is a junior synonym of *Eugerres mexicanus* (Steindachner, 1863). Acta Ichthyol. Piscat. 00 (0): 00–00.

**Background.** The Lacandon mojarra, *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013 was described from the Grijalva-Usumacinta River basin of south-eastern Mexico and northern Guatemala. According to the diagnosis of the new species, *E. castroaguirrei* differs from the only other freshwater Gerreidae the Mexican mojarra, *E. mexicanus* (Steindachner, 1863) by the combination of certain morphological characters. However, a comparison of materials obtained in Usumacinta River using the description and diagnosis provided by species' authors yielded contradictory results. Therefore, the objective of this paper is to clearly determine if *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* are subjective synonyms applying morphological and molecular analyses.

**Materials and methods.** A total of 20 specimens (8 for molecular analyses) were selected in this study. The fish were collected at the Recreo locality (17°28'52'' N and 91°25'17'' W) on the Usumacinta River at Tenosique, Tabasco, Mexico. Biometric data were analyzed as proportions to the standard length, body depth, head length, and three other body proportions, as stated in the original description of *E. castroaguirrei*. We used Friedman's test to compare our biological materials with those used in the new species description. Molecular genetics comparisons on both putative freshwater gerreid species were made based on fragments of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene and nuclear recombination-activating protein 1 (RAG1) gene by polymerase chain reaction (PCR).

**Results.** Neither the non-parametric Friedman's test nor the Nemenyi's procedure showed differences among individuals for both putative species in multiple pair-wise comparisons of morphological measurements and proportions. Moreover, the genetic divergence from COI gene and RAG1 gene indicated that all individuals exhibited almost identical sequences, with intra- and inter-specific pair-wise genetic distances of  $0.00\% \pm 0.000\%$  for both markers.

**Conclusion.** Our morphological and molecular genetics analyses demonstrated that *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* are subjective synonyms and according to the Principle of Priority in zoological nomenclature, *Eugerres mexicanus* (Steindachner, 1863) is the valid species name, and *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013 is a junior synonym.

**Keywords:** Gerreidae, *Eugerres*, taxonomy, synonymy, morphology, COI, RAG1 nDNA

## INTRODUCTION

The Neotropical gerreid genus *Eugerres* Jordan et Evermann, 1927 has long been recognized as comprising at least six marine and brackish water species (Froese and Pauly 2014), in addition to the only freshwater member of Gerreidae: the white or Mexican mojarra, *Eugerres mexicanus* (Steindachner, 1863). Recently, a new freshwater species, the Lacandon mojarra, *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013 from the Grijalva-Usumacinta River basin of south-eastern Mexico and northern Guatemala was described (González-Acosta and Rodiles-Hernández 2013).

As stated by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013), both of these restricted freshwater gerreid species are distinguishable from their marine estuarine congeners by the dorsal fin origin which is posterior to the insertion of the pectoral and pelvic fins, and possess a shorter and broad based supraoccipital crest. According to the new species diagnosis, *E. castroaguirrei* differs from *E. mexicanus* by the combination of the following characteristics: length of second dorsal-fin spine 23.2%–34.2% SL (vs. 18.9%–43.3% SL in *E. mexicanus*), length of second anal-fin spine 11.1%–20.6% SL (vs. 16.7%–30.2% SL), orbit diameter 23.3%–31.5% HL (vs. 26.5%–45.3% SL), pelvic-fin spine in the first pelvic-fin ray length 49.7%–65.0% SL (vs. 42.3%–78.2% SL), depressed second dorsal-spine extends to base of third or fourth dorsal-fin rays (vs. extends to base of fifth and sixth dorsal-fin rays), depressed second anal-fin spine extends to base of third or fourth anal fin-rays (vs. extends to base of eighth anal fin-ray), and lower lips ventrally extending to midpoint of eye (vs. not reaching anterior margin of the orbit).

However, a comparison of materials obtained in the Usumacinta River (Tenosique, Tabasco), using the measurements, description and diagnosis of type materials provided by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013) yielded contradictory results. From these results, it is likely that *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* are subjective synonyms. Therefore, this confusion about having both *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* as names for the same freshwater gerreid species should be taxonomically solved.

The aim of the present study is to determine accurately whether *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* are the same species. The two putative species are evaluated by statistical analyses of morphological characters, using the measurements taken by the authors' species and analysing the sequence divergence of a fragment of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene and nuclear recombination-activating protein 1 (RAG1) gene to compare the genetic distance between them.

## MATERIALS AND METHODS

**Fish collection.** Considering the entire sample caught, a total of 20 specimens (8 for molecular analyses) were selected in this study. The fish were collected in April 26, 2012 and March 22, 2013, using a seine net with a mesh size of  $4 \times 4$  cm, 80 m long and 3m wide, at the Recreo locality ( $17^{\circ}28'52''$  N and  $91^{\circ}25'17''$  W) in Usumacinta River, at Tenosique Municipality, Tabasco State, Mexico. All fish ranging in size from 155.0 to 183.0 millimetres (mm) standard length (SL); mean = 167.8 mm, were preserved in a 10% formalin solution, but first, a small piece of muscle tissue from the pectoral left side was preserved in 96% ethanol, being held in the Ichthyologic Collection (CI) of CICIMAR-IPN: CICIMAR-CI 8810–11, where available on request (see details on the CI website: <http://coleccion.cicimar.ipn.mx>).

Identification of the collected specimens was carried out under a stereomicroscope according to the morphological characteristics described in the reference diagnosis by Deckert and Greenfield (1987) and the criteria established by Castro-Aguirre et al. (1999) for the species *E. mexicanus*. It is to be noted here that González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013) did not include a dichotomous key for species identification and that all measurable diagnostic characters figured for *E. castroaguirrei* are overlapped with those of *E. mexicanus* (see herein Introduction and González-Acosta and Rodiles-Hernández, 2013: 309–310). For this reason, fish were selected from the whole sample analyzed within a range of similar size, with body proportions equivalent to those mentioned as diagnostic for *E. castroaguirrei*. Moreover, we used those non-measurable morphological characters indicated as diagnostic ones by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013) (excluding lower lips ventrally extending to midpoint of eye, see below) to group the two morphotypes, i.e., body oblong and laterally tucker in *E. castroaguirrei* (vs. deep and laterally compressed in *E. mexicanus*), dorsal-fin origin posterior to the insertion of the pectoral and pelvic fins (vs. anterior to the insertion of the pectoral and pelvic fins), depressed second dorsal-spine extends to base of third or fourth dorsal-fin rays (vs. depressed second dorsal-spine extends to base of fifth or sixth dorsal-fin rays), and depressed second anal-fin spine extends to base of third or fourth anal fin-rays and not reaching the distal point of last anal-fin ray (vs. depressed second anal-fin spine extends to base of eighth anal fin-ray and reaching the distal point of last anal-fin ray). It is relevant to emphasize that from the whole analyzed sample, not all specimens were consistent with the totality of these non-measurable characteristics mentioned by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013) as diagnostic. Hence, the selected specimens include only those that covered all such characteristics.

**Morphological comparisons.** Morphological measurements were taken to the nearest mm according to González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013) criterion. A total of 11 linear body measurements were taken from which 15 body proportions were derived, corresponding to those used in the new species description. Biometric data were analyzed as proportions to standard length (% SL; five body proportions), body depth (% BD; two body proportions), head length (% HL; five body proportions), and three other body proportions, as suggested in the original description of *E. castroaguirrei*. Definition of the measurements, proportions, and their abbreviations are shown in Table 1 and Fig. 1 by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013). In addition to the collected specimens, comparisons include 42 specimens of *E. castroaguirrei* (six type materials, plus 35 non-type specimens; SL: 114.6 to 241.7 mm; mean = 201.0 mm) and 125 specimens of *E. mexicanus* (three type materials, plus 122 non-type specimens; SL: 43.7 to 193.0 mm; mean = 146.4 mm), such as reported in the description of the new species (i.e. Table 1; in González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013)).

Because of the nature and sample size of both data sets, we used Friedman's test (Ft) to compare our biological materials (body measures and body proportions) with those used in *Eugerres castroaguirrei* species descriptions (including type materials). Ft is a non-parametric test used to compare repeated observations on the same subjects belonging to three or more paired groups. It is also called non-parametric randomized block analysis of variance. However, Ft test makes no assumptions about data distribution (i.e. normality or equality of variance), as opposed to parametric repeated measures ANOVA, or a paired t-test (Zar 2010). The *post-hoc* test used was the Nemenyi's procedure analogous to Tukey test, but using ranked sums instead of means. Considering the fact that there were multiple comparisons among the specimens, the Bonferroni correction was used (i.e., significance level divided by the number of tests or comparisons). A probability of  $P < 0.05$  was used as statistical significance criterion.

**Molecular genetics comparisons.** Genomic DNA was extracted from pectoral muscle tissue samples of each selected specimen ( $n = 8$ ; five specimens for the species *E. mexicanus* and three for the putative species *E. castroaguirrei*; see Fig. 1) using the QIAGEN DNeasy Blood and Tissue kit following the manufacturer's protocol. The mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene and nuclear recombination-activating protein 1 (RAG1) gene were amplified by polymerase chain reaction (PCR) using the primers FishF1 and FishR1 (Ward et al. 2005) and DauraRAG1F1-DauraRAG1R1 (Vergara-Solana et al. 2014), respectively. Reaction was made using a 35 $\mu$ L volume containing: 1X of PCR Buffer (-MgCl<sub>2</sub>), 0.2 mM of

dNTP mix, 0.48  $\mu\text{M}$  of each primer, 4 mM of  $\text{MgCl}_2$ , and 0.05  $\text{U}\cdot\mu\text{L}$  of Taq DNA polymerase (Invitrogen). An amount of 0.7  $\mu\text{L}$  of total DNA was included to each reaction. Thermal cycler conditions for COI amplification consisted of an initial denaturation step at 94°C for 2 min, followed by 35 cycles at 94°C for 30 sec, 54°C for 30 sec, 72°C for 1 min and final extension step at 72°C for 10 min. The PCR setup for RAG1 was denaturation at 95°C for 4 min, and 35 cycles each with 95°C for 1 min, 62°C for 1min, 72°C for 1 min and final extension step at 72°C for 4 min. PCR products were purified and sequenced using forward and reverse primers for each gene (Macrogen, Seoul, Korea). Sequences were arranged and edited using Geneious Pro version 5.6.7 (Biomatters Ltd., Auckland, New Zealand). Multiple alignments using the MUSCLE algorithm (Edgar 2004) were made and tree constructions, as well as the calculation of pair-wise genetic distances were conducted using the MEGA software version 5 (Tamura et al. 2011).

Genetic distances among and within species for COI and RAG1 genes, were based on the Kimura 2-parameter substitution model (K80, Kimura 1980). Neighbour Joining (NJ; Saitou and Nei 1987) trees for both molecular genetic markers were also based on K80 model and generated using 1,000 bootstrap replicates (Felsenstein 1985). New sequences were deposited in GenBank (Accession numbers, COI: KM014793 – KM014800; RAG1: KM014801 – KM014808). The COI and RAG1 sequences of the putative *E. castroaguirrei* and *E. mexicanus* were analysed together with those specimens from their marine Atlantic congeners, the stripped mojarra *Eugerres plumieri* (Cuvier, 1830) (accession numbers for COI: GU225264.1, GU225263.1, and GU225262.1; for RAG1: EF095665 and JX189821.2); and the Brazilian mojarra *Eugerres brasiliensis* (Cuvier, 1830) (accession numbers for COI: JQ365353.1, JQ365351.1, and JQ365350.1).

## RESULTS

**Morphological comparisons.** Friedman's test (Ft) was used to compare data of each specimen for all measurements and proportions in both data sets, i.e., our specimens and *E. mexicanus*, and *E. castroaguirrei* specimens by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013; i.e. their Table 1). The Ft's Q statistics were  $Q_c = 5.991$  (critical) and  $Q_o = 5.778$  (observed) ( $P < 0.056$ ,  $\alpha = 0.05$ ; d.f. = 2). The *P*-value suggested that the probability of making an error in rejecting the null hypothesis was 5.56%. Hence, the null hypothesis that there was no difference among specimens was then accepted, i.e., the samples were not significantly different. An additional test, but without considering the inclusion of the dorsal

and anal spines, increases the probability of acceptance of the null hypothesis, i.e., the risk of rejecting the null hypothesis when it is true is 69.51% ( $Q_c = 0.727$ ,  $Q_o = 5.991$ ;  $P < 0.695$ ,  $\alpha = 0.05$ ). The Nemenyi's procedure did not show differences among individuals in multiple pair-wise comparisons either (Table 1). Similar results (i.e., there were no significant differences among the compared groups) were obtained by calculating independent Ft tests considering different body plan proportions of Table 1 by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013), i.e., percent of standard length, percent of body depth, percent of head length, and other body proportions.

**Molecular and genetic comparisons.** *Eugerres mexicanus* and *E. castroaguirrei* could not be distinguished from each other with COI and RAG1 sequences (Fig. 1). Based on 670 bp that contain 669 conserved sites and only one variable site, the intra-specific genetic variation for the COI was 0.1% in *E. mexicanus* and it was absent in *E. castroaguirrei*. The variable nucleotide site found represents a polymorphic site in *E. mexicanus* not a divergent site between both putative species (i.e. all individuals of *E. castroaguirrei* exhibited haplotypes found in *E. mexicanus*). Species clades were not supported by high bootstrap values of 100% (Table 2 and Fig. 1). Since inter-specific pair-wise genetic distance between *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* was null, these two putative species could not be separated from one another (Fig. 1). Among the four analysed *Eugerres* species, including the congeners *E. brasiliensis* and *E. plumieri*, overall inter-specific pair-wise genetic distances ranged from 0.0% to 15.4%. Thus, the differences between *E. mexicanus* - *E. castroaguirrei* analysed specimens, in relation to the found among freshwater specimens and others from its congeners, allowed the discrimination of only three species-groups (i.e. species; Table 2 and Fig. 1).

Similarly on the RAG1 level (based on 673 bp), *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* could not be differentiated from each other, because sequences were identical in the two putative species (Table 2, Fig. 1). Inter-specific differences among the four analysed *Eugerres* species ranged from 0.0% to 2.1% with the largest difference among *E. plumieri* and both putative freshwater species (2.1%) (Table 2 and Fig. 1).

## DISCUSSION

The comparisons using morphological and molecular or genetic characters in this study, clearly demonstrate that specimens of *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* were not

different neither genetically nor in their morphological characters, hence they should be considered to be the same species.

Although as aforementioned, all measurable diagnostic characters figured for *E. castroaguirrei* are overlapped with those of *E. mexicanus*, our selected specimens were chosen because meet most non-measurable diagnostics characters of the new species, excluding lower lips ventrally extending to midpoint of eye, which is a lacking characteristic even in the holotype!, judging from figure 3a in González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013: 312). Regarding the considerable overlap in measurable and inconsistencies for non-measurable diagnostics characters cited as such by new species' authors, it would appear that morphological differences are the result of phenotypic plasticity in *Eugerres mexicanus*. Phenotypic plasticity describes a profile of potential morphotypes from a fixed genotype affected by temporal and spatial variation of the environment (Lin and Dunson 1999). Such events are quite common in nature and environmental cues often result in behaviour or morphological development appropriate to local conditions (Adkinson 1995; see also below).

Morphological comparison procedures herein calculated did not show differences among individuals of the different groups in multiple pair-wise comparisons. The differences were less significant when analyses exclude the dorsal and anal spines. We observed a great variability in the length of these structures among the analysed specimens. Thereon numerous studies have shown that fish exhibit considerable morphometric variation throughout its distributional range that often results from competition for resources in heterogeneous environments or from spatial or temporal heterogeneity in predation intensity (Milano et al. 2002). Also, variability in morphometric traits of freshwater fish has been related to factors likely associated with colonization history (i.e. geography, direction of drainage, river basin, latitude) and current selection pressures (Milano et al. 2006). The adaptation of fish to environmental stress such as high-gradient, rapid flowing habitats is well known to alter the morphology and such modifications can include morphological alteration in their lips, body shape, and other associated structures (i.e. spines and rays) and colour patterns (Li et al. 2013). Adaptation to benthic life both morphologically and physiologically, for instance as in the Puyen grande *Galaxias platei* Steindachner, 1898, entails several body modifications such as thickening of the upper and lower mouth lips (Matthews 1998), just as observed in several specimens of the Mexican mojarra *Eugerres mexicanus*.

The genetic data obtained from this study also support the taxonomic identity of *Eugerres* spp. Divergence values in species, including organisms of the family Gerreidae, show that the amount of sequence divergence of COI ranges from 3.70% to 16.05%

(Asgharian et al. 2011). However, given that *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* shows a null genetic distance for COI and RAG1, we cannot support the existence of both species. In contrast, *E. brasiliensis* and *E. plumieri* recorded high divergence values corresponding to previous results for the family Gerreidae (i.e. Chakraborty et al. 2006, Chen et al. 2007; Asgharian et al. 2010, Vergara-Solana et al. 2014). In this context, others authors have recommended the synonymization of morphologically very similar taxa based in identical gene sequences and low COI genetic variation (i.e. Carr et al. 1999, Byrkjedal et al. 2008), highlighting that morphological data and complementary molecular approaches allow to solve complex taxonomical situations where an unclear differentiation among species exists.

Taxonomy of Gerreidae species has been both confusing and an active issue of discussion among ichthyologists (i.e. De La Cruz-Agüero et al. 2012). Currently, eight genera are recognized in the family, nonetheless the taxonomic status of more than 50 nominal species has not yet been revised and some gerreid taxa are still treated by some authors as species *inquirendae* [i.e. validity and/or generic assignment uncertain or questionable, Vergara-Solana et al. (2014)]. The recent descriptions of new species in the family Gerreidae [(i.e., Liu and Yan (2009), Iwatsuki et al. (2012)], including the proposal of a new genus (Vergara-Solana et al. 2014), provides encouraging expectations in resolving its taxonomic problems. However, these initiatives must be implemented with the maximum rigor, avoiding adding more taxonomic uncertainty in a group of fish taxonomically very complex.

In conclusion, we have demonstrated clearly that *E. mexicanus* and *E. castroaguirrei* are the same species, and according to the Principle of Priority of the Code of Zoological Nomenclature (IZCN 1999), *E. mexicanus* (Steindachner, 1863) is the valid species name, and *Eugerres castroaguirrei* González-Acosta et Rodiles-Hernández, 2013 is a junior synonym.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by grants from the Secretaria de Investigacion y Posgrado, Instituto Politecnico Nacional (SIP-IPN 20131432). J.D.A., F.J.G.R, and V.M.C.G. are fellows of Comisión de Operacion y Fomento de Actividades Académicas (COFAA-IPN) and Estímulo al Desempeño de los Investigadores (EDI-IPN). J.D.A. and F.J.G.R also thank the Sistema Nacional de Investigadores (SNI-CONACyT) for grants. AMG is a recipient of student fellowships from PIFI-IPN, COFAA-IPN and CONACyT. Also thanks to M. Diaz-Santana for her assistance in preparing the manuscript in English. A.M.G. is grateful to J.

Martínez-Moreno, M. J. Guevara-Rodríguez, M. N. Velez and family Hernández-Gómez for their support and hospitality at Tenosique, Tabasco.

## REFERENCES

- Adkison M. D.** 1995. Population differentiation in Pacific salmon: local adaptation, genetic drift, or the environment? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **52**: 2762–2777. DOI: 10.1139/f95-865.
- Asgharian H., Elahi E., Kalirad A., Sahafi H. H.** 2010. Sequence data on four genes suggest nominal *Gerres filamentosus* specimens from Nayband National Park in the Persian Gulf represent two distinct species. *International Journal of Agriculture and Biology* **6**: 1–11.
- Asgharian H., Sahafi H. H., Ardalan A. A., Shekarriz S., Elahi E.** 2011. Cytochrome c oxidase subunit 1 barcode data of fish of the Nayband National Park in the Persian Gulf and analysis using meta-data flag several cryptic species. *Molecular Ecology Resources* **11** (3): 461–72. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2011.02989.x.
- Byrkjedal I., Rees D. J., Christiansen J. S., Fevolden S. E.** 2008. The taxonomic status of *Theragra finnmarchica* Koefoed, 1956 (Teleostei: Gadidae): perspectives from morphological and molecular data. *Journal of Fish Biology* **73** (5): 1183–1200. DOI:10.1111/j.1095-8649.2008.01958.x
- Carr S. M., Kivlichan D. S., Pepin P., Crutcher D. C.** 1999. Molecular systematics of gadid fishes: implications for the biogeographic origins of Pacific species. *Canadian Journal of Zoology* **77**: 19-26. DOI:10.1139/298-194.
- Castro-Aguirre J. L., Espinosa-Pérez H. S., Schmitter-Soto J. J.** 1999. Ictiofauna estuarino-lagunar y vicaria de México. Editorial Limusa-Noriega, México, D.F.
- Chakraborty A., Venugopal M. N., Hidaka K., Iwatsuki Y.** 2006. Genetic differentiation between two color morphs of *Gerres erythrourus* (Perciformes: Gerreidae) from the Indo-Pacific region. *Ichthyological Research* **53** (2): 185–188. DOI:10.1007/s10228-005-0324-0
- Chen W.J., Ruiz-Carus R. R., Ortí G.** 2007. Relationships among four genera of mojarras (Teleostei: Perciformes: Gerreidae) from the western Atlantic and their tentative placement among percomorph fishes. *Journal of Fish Biology* **70** (Suppl. sb): 202–218. DOI:10.1111/j.1095-8649.2007.01395x
- De La Cruz-Agüero J., García-Rodríguez F. J., De La Cruz-Agüero G., Díaz-Murillo B.P.** 2012. Identification of gerreid species (Actinopterygii: Perciformes: Gerreidae)

- from the Pacific coast of Mexico based on sagittal otolith morphology analysis. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* **42** (4): 297–306. DOI:10.3750/AIP2012.42.4.03
- Deckert G. D., Greenfield D. W.** 1987. A review of the western Atlantic species of the genera *Diapterus* and *Eugerres* (Pisces: Gerreidae). *Copeia* **1987** (1): 182–194. DOI: 10.2307/1446051
- Edgar R. C.** 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* **32**: 1792–1797. DOI: 10.1093/nar/gkh340
- Felsenstein J.** 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39** (4): 783–791. DOI: 10.2307/2408678
- Froese R., Pauly D. (Eds).** 2014. FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org), version (04/2014)
- González-Acosta A. F., Rodiles-Hernández R.** 2013. New species of *Eugerres* from the Usumacinta Province, México and Guatemala with a redescription of *E. mexicanus* (Steindachner, 1863) (Teleostei: Gerreidae). *Neotropical Ichthyology* **11** (2): 307–318. DOI: 10.1590/S1679-62252013000200009.
- ICZN** (International Commission on Zoological Nomenclature). 1999. International Code of Zoological Nomenclature, 4th edn. Available at <http://www.nhm.ac.uk/hosted-sites/iczn/code/>
- Iwatsuki Y., Pogonoski J. J., Last P.** 2012. Revision of the genus *Parequula* (Pisces: Gerreidae) with a new species from southwestern Australia. *Zootaxa* **3425**: 42–54.
- Kimura M.** 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16** (2): 111–120. DOI: 10.1007/BF01731581.
- Li J., Huang L., Sato T., Zou L., Jiang K., Yahara T., Kano Y.** 2013. Distribution pattern, threats and conservation of fish biodiversity in the East Tiaoxi, China. *Environmental Biology of Fishes*. **96** (4): 519–533. DOI:10.1007/s10641-012-0036-z
- Lin H. C., Dunson W. A.** 1999. Phenotypic plasticity in the growth of the self-fertilizing hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Journal of Fish Biology* **54**: 250–266. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1999.tb00828.x
- Liu J., Yan Y.** 2009. A new species, *Gerres septemfasciatus* (Perciformes: Gerreidae) from the Chinese coastal waters of the South China Sea. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* **27** (3): 555–557. DOI:10.1007/s00343-009-9259-z
- Matthews W. J.** 1998. *Patterns in Freshwater Fish Ecology*. Chapman & Hall, Norwell, Massachusetts.

- Milano D., Cussac V. E., Macchi P. J., Ruzzante D. E., Alonso M.F., Vigliano P. H., Denegri M. A.** 2002. Predator associated morphology in *Galaxias platei* in Patagonian lakes. *Journal of Fish Biology* **61**(1): 138–156. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb01742.x
- Milano D., Ruzzante D. E., Cussac V. E., Macchi P. J., Ferriz R. A., Barriga J. P., Aigo J. C., Lattuca M. E., Walde S. J.** 2006. Latitudinal and ecological correlates of morphological variation in *Galaxias platei* (Pisces, Galaxiidae) in Patagonia. *Biological Journal of the Linnean Society* **87** (1): 69–82. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2006.00556.x
- Saitou N., Nei M.** 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4** (4): 406–425.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S.** 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* **28** (10): 2731–2739. DOI: 10.1093/molbev/msr121
- Vergara-Solana F. J., García-Rodríguez F. J., Tavera J. J., De Luna E., De La Cruz-Agüero J.** 2014. Molecular and morphometric systematics of *Diapterus* (Perciformes, Gerreidae). *Zoologica Scripta* **00**: 000–000. DOI:10.1111/zsc.12054
- Ward R. D., Zemplak T. S., Innes B. H., Last P. R., Hebert P. D. N.** 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* **360** (1492): 1847–1857. DOI: 10.1098/rstb.2005.1716
- Zar J. H.** 2010. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall/Pearson, Upper Saddle River, N.J.

Received: 00 XXXX 0000

Accepted: 00 XXXX 0000

Published electronically: 00 XXXX 0000

**Table 1**

Nemenyi's procedure, a post-hoc test of the Friedman's test, among specimens of *E. mexicanus* caught in present study (*E. mexicanus* 1) and those reported by González-Acosta and Rodiles-Hernández (2013) (type materials: *E. castroaguirrei* and *E. mexicanus* 2), using body measures and body proportions. Pair-wise differences among groups above diagonal, *P* values below diagonal.

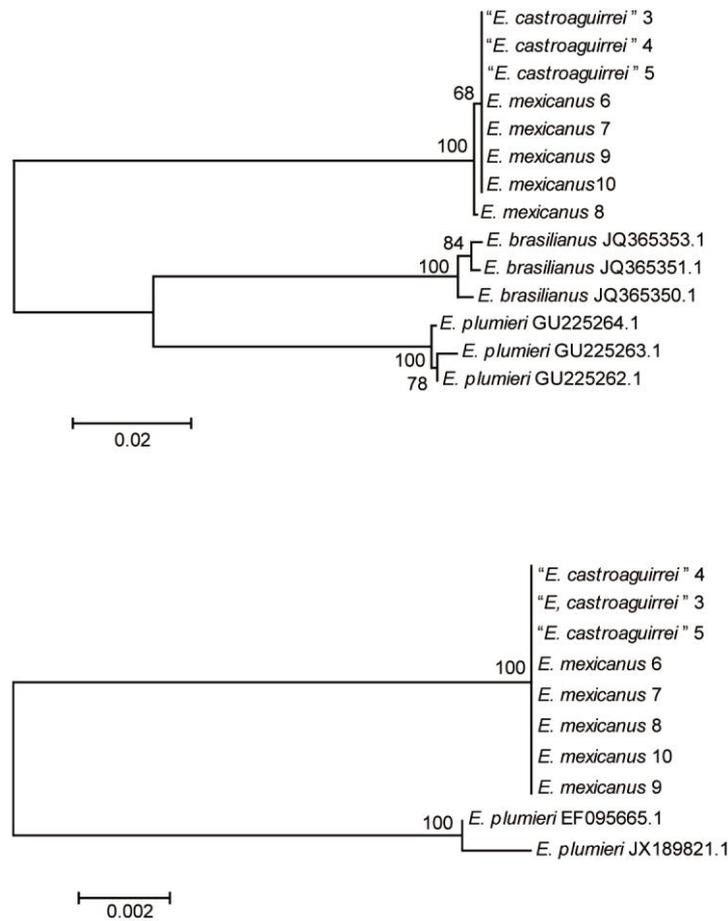
Pair wise comparisons of body measures and proportions	<i>E. castroaguirrei</i>	<i>E. mexicanus</i> 2	<i>E. mexicanus</i> 1
<i>E. castroaguirrei</i>	-	0.778	0.222
<i>E. mexicanus</i> 2	0.051	-	0.556
<i>E. mexicanus</i> 1	0.783	0.218	-

Bonferroni corrected significance level: 0.0167;  $\alpha = 0.05$ . Critical difference: 0.7812

**Table 2**

Mean ( $\pm$  S.E.) pair-wise genetic K80-distances (Kimura2-parameter; Kimura, 1980) for the investigated species of *Eugerres spp.* based on COI and RAG1. Distances are presented as percentages.

	<i>E. mexicanus</i>	<i>E. castroaguirrei</i>	<i>E. brasilianus</i>	<i>E. plumieri</i>
<b>COI</b>				
<i>E. mexicanus</i>	0.1 $\pm$ 0.000			
<i>E. castroaguirrei</i>	0.00 $\pm$ 0.000	0.00 $\pm$ 0.000		
<i>E. brasilianus</i>	15.4 $\pm$ 0.017	15.4 $\pm$ 0.018	0.5 $\pm$ 0.002	
<i>E. plumieri</i>	14.9 $\pm$ 0.017	15.0 $\pm$ 0.017	10.0 $\pm$ 0.013	0.3 $\pm$ 0.002
Distance overall mean:	9.2 $\pm$ 0.009			
<b>RAG1</b>				
<i>E. mexicanus</i>	0.00 $\pm$ 0.000			
<i>E. castroaguirrei</i>	0.00 $\pm$ 0.000	0.00 $\pm$ 0.000		
<i>E. plumieri</i>	2.1 $\pm$ 0.006	2.1 $\pm$ 0.006	n/a	0.01 $\pm$ 0.001
Distance overall mean:	0.8 $\pm$ 0.002			



**Fig. 1.** Molecular genetics analyses of *Eugerres* spp based on Neighbour Joining methods, Kimura 2-parameter model and 1,000 bootstrap replicates for COI (above) and RAG1 (below). Putative species *E. castroaguirrei* shown in quotation marks; note that the Genbank accession numbers cited in the text correspond to *E. mexicanus*. Only *E. plumieri* was included in the RAG1 analysis because we did not find more sequences of this gene reported for other *Eugerres* species. Numbers beside the branch indicate bootstrap values above 50%. Scale bar according to Kimura2-parameter model (K80). Code beside *E. brasiliensis* and *E. plumieri* represents the Genbank accession numbers.