



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

**Caracterización molecular de peces de los ordenes
Labriformes y Perciformes en los arrecifes rocosos del
mar tropical del Perú**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en
Hidrobiología y Pesquería

AUTOR

Enzo Paolo ZAVALA CANCHO

ASESORES

Dr. Jorge RAMIREZ MALAVER

Dr. Ricardo BRITZKE (Coasesor)

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Zavala, E. (2022). *Caracterización molecular de peces de los ordenes Labriformes y Perciformes en los arrecifes rocosos del mar tropical del Perú*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Enzo Paolo Zavala Cancho
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72852306
URL de ORCID	No aplica
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Jorge Luis Ramírez Malaver
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	43352480
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-8138-9203
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Ricardo Britzke Britzke
Tipo de documento de identidad	Carné de extranjería emitido en Perú
Número de documento de identidad	BR / 001314410
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-1042-2544
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Giovanna Elizabeth Sotil Caycho
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25836223
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Max Hidalgo del Águila

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07758954
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Guillermo Odilón Álvarez Béjar
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	067554707
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Jorge Luis Ramírez Malaver
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	43352480
Datos de investigación	
Línea de investigación	A.1.1.3. Diversidad Genética
Grupo de investigación	Evolución molecular de la Biota en el Perú –EMBPE
Agencia de financiamiento	Perú. Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (Fondecyt). Proyectos de Investigación Básica 2019 – 01. Contrato 363-2019.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Urbanización: Ciudad Universitaria Calle: Av. República de Venezuela Latitud: -12.059777 Longitud: -77.082241
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Setiembre 2020 – octubre 2021
URL de disciplinas OCDE	Biología marina, Biología de agua dulce, Limnología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.00 Genética, Herencia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.07



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN HIDROBIOLOGÍA Y PESQUERÍA
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS)**

Siendo las 09:02 horas del 24 de agosto de 2022, en el Salón de Grados Virtual de la Facultad de Ciencias Biológicas cuya dirección electrónica fue <https://meet.google.com/gpw-ymmk-mtg>, y en presencia del Jurado formado por los profesores que suscriben, se inició la sesión para optar al **Título Profesional de Biólogo con mención en Hidrobiología y Pesquería** de ENZO PAOLO ZAVALA CANCHO.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° UNMSM-20220000662, el titulado expuso su tesis: **“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE PECES DE LOS ORDENES LABRIFORMES Y PERCIFORMES EN LOS ARRECIFES ROCOSOS DEL MAR TROPICAL DEL PERÚ”**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota **18**, calificativo: **Aprobado con mención honrosa**.

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional de Biólogo con mención en Hidrobiología y Pesquería** a ENZO PAOLO ZAVALA CANCHO y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 11:00 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 24 de agosto de 2022.

Mg. GIOVANNA SOTIL CAYCHO
(PRESIDENTA)

Dr. JORGE RAMIREZ MALAVER
(ASESOR)



Firmado digitalmente por ALVAREZ
BEJAR Guillermo Odilon FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 24.08.2022 11:02:35 -05:00

Mg. GUILLERMO ALVAREZ BEJAR
(MIEMBRO)

Blgo. MAX HIDALGO DEL AGUILA
(MIEMBRO)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

INFORME DE EVALUACION DE ORIGINALIDAD

ESCUELA PROFESIONAL : CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL : Mag. RAFAEL SIMÓN OSWALDO LA ROSA LOLI
OPERADOR DEL PROGRAMA INFORMATICO DE SIMILITUDES: Feedback Studio

DOCUMENTO EVALUADO* : **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE PECES DE LOS ORDENES LABRIFORMES Y PERCIFORMES EN LOS ARRECIFES ROCOSOS DEL MAR TROPICAL DEL PERÚ**

AUTOR DEL DOCUMENTO** : ZAVALA CANCHO ENZO PAOLO
FECHA DE RECEPCIÓN DEL DOCUMENTO : 04/agosto/2022
FECHA DE APLICACIÓN DEL SISTEMA INFORMATICO : 04/agosto/2022
SOFTWARE UTILIZADO :
TURNITIN (X)
ITHENTICATE ()
OTRO

CONFIGURACION DEL PROGRAMA DE SIMILITUDES
Excluye textos entrecomillados (X)
Excluye bibliografía (X)
Excluye cadenas menores a 40 palabras (X)
Otro criterio () (especificar)

PORCENTAJE DE SIMILITUDES *** : CUATRO (04%)

FUENTES ORIGINALES DE LAS SIMILITUDES ENCONTRADAS **** :

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE PECES DE LOS ORDENES
LABRIFORMES Y PERCIFORMES EN LOS ARRECIFES ROCOSOS
DEL MAR TROPICAL DEL PERÚ

INFORME DE ORIGINALIDAD

4%	4%	1%	0%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

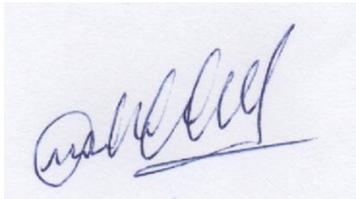
1	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	creativecommons.org Fuente de Internet	1%

OBSERVACIONES: Ninguna

CALIFICACION DE ORIGINALIDAD:

Documento cumple criterios de originalidad sin observaciones (x)
Documento cumple criterios de originalidad con observaciones ()
Documento no cumple criterios de originalidad ()

FECHA DEL INFORME : 04/agosto/2022



FIRMA DEL EVALUADOR



UNMSM

Firmado digitalmente por LA ROSA
LOLI Rafael Simon Oswaldo FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 06.08.2022 20:48:14 -05:00

FIRMA DEL DIRECTOR EP

* Tesis para grado o título de pregrado

** Apellidos y nombres completos

*** En letras y números

**** Indicarlas en orden decreciente y su respectivo porcentaje

RESUMEN

Una fracción de la costa norte del Perú es el final de una extensa región marina conocida como Provincia de Panamá; con características predominantemente tropicales y temperaturas cercanas a los 30 °C. En esta región se encuentran los únicos arrecifes rocosos que se conocen en el territorio peruano. Como resultado, es notable la presencia de una gran ictiofauna de origen tropical que, en ciertas ocasiones, pueden movilizarse hasta la costa central del Perú. Sin embargo, esta diversidad no es conocida del todo debido a la dificultad de muestreo e identificación de peces, como sucede con la familia Labridae y muchas familias del orden Perciformes. Así, se propone el uso del Código de barras de ADN para el estudio taxonómico y filogenético de la ictiofauna de la región. Se secuenció un fragmento del gen de la subunidad I de la Citocromo oxidasa (COI) de 82 muestras de peces procedentes de Isla de Foca, Talara y Tumbes. La identificación morfológica se hizo usando claves de identificación de la literatura; mientras que la identificación molecular a partir de la comparación de nuestras secuencias con las de las bases de datos BOLD y NCBI. Se calcularon las distancias intra e interespecíficas basado en el método NJ y el modelo K2P y se construyó un árbol basado en el método de inferencia bayesiana para la delimitación de MOTUs usando los modelos GMYC, PTP y bPTP. Hubo concordancia entre la identificación morfológica y molecular para los peces Labriformes, mientras que las familias Chaetodontidae, Serranidae y Oplegnathidae del orden Perciformes tuvieron errores asociados a vacíos de información y falta de actualización de registros. En los Perciformes, se observaron valores de variación interespecífica cercanos al 2% en la familia Kyphosidae debido a su reciente especiación; en los Labriformes, se observó una distancia intraespecífica mayor a 2% en *Halichoeres dispilus*. La delimitación de MOTUs no varió entre los modelos; sin embargo, dos modelos (PTP y bPTP) resolvieron un MOTU adicional para la especie *H. dispilus*. Comparándola con registros del BOLD, se mostró su similitud genética con especímenes de los Galápagos, dando indicios de una posible especiación ecológica parapátrica dentro del Pacífico Oriental Tropical. Pese a las limitantes observadas en este estudio, el Código de barras de ADN a partir del gen COI se presentó como una herramienta eficiente para la identificación molecular, la cual concordó con la taxonomía actual; siendo indispensable su uso para el reforzamiento de los estudios de biodiversidad.

Palabras clave: Código de barras de ADN, Arrecifes rocosos, Delimitación de especies, Análisis de distancias

ABSTRACT

A fraction of the Northern coast from Peru is the end of an extensive marine región known as The Panama Province; with predominantly tropical characteristics and temperatures close to 30 °C. In this region there are the only rocky reefs known in Peruvian territory. As a result of these two factors, there is a big tropical biodiversity, with fishes of the Panamá Province which in some occasions can move until the central coast of Perú. However, this diversity is not totally known due to the difficulty of sampling and identifying fish, as is the case with the Labridae family and many families of the Perciformes order. Hence, it is proposed the use of the DNA barcoding for the taxonomic and phylogenetic study of the fish biodiversity in this region. The fragment of the gene of cytochrome oxidase subunit I (COI) from 82 samples of rocky reef fishes from Foca Island, Talara and Tumbes were sequenced. The morphological identification was realized using identification keys available in literature; while the molecular identification was conducted comparing our sequences with the sequences from the database of the BOLD and NCBI. Intra- and interspecific distances were calculated based on the NJ method and the K2P model, and a tree based on the Bayesian inference method was constructed for MOTU delimitation using the GMYC, PTP, and bPTP models. Our results showed a concordance between morphological and molecular identification in fishes of Labriformes order, while the families Chaetodontidae, Serranidae and Oplegnathidae of Perciformes order had mistakes associated with information gaps and lack of updating of records in the databases. For the Perciformes, it was observed values near to 2% in samples from the Kyphosidae family, because of their recent speciation. In Labriformes, it was observed an intraspecific distance value above 2% in *Halichoeres dispilus*. The MOTU's delimitation did not vary significantly between the models. Nevertheless, the PTP and bPTP models resolved an extra MOTU for the species *H. dispilus*. When we compared this sample with the other records from the BOLD Systems, we noticed that this specimen was related with specimens from Galápagos Archipelago; given us an evidence of a parapatric ecological speciation of this species in the Tropical Eastern Pacific. Despite the limitations observed in this study, the DNA barcode from the COI gene was presented as an efficient tool for molecular identification, which was consistent with traditional taxonomy and its use is essential for the reinforcement of biodiversity studies.

Keywords: DNA barcoding, Rocky reefs, Species delimitation, Genetic distance analysis

TABLA DE CONTENIDOS

I.	INTRODUCCIÓN	5
I.1	Descripción de la realidad problemática	8
I.2	Definición del problema	9
I.3	Objetivos.....	10
I.4	Justificación e Importancia de la investigación	11
I.5	Limitaciones de la Investigación	11
II.	REVISION LITERARIA	12
II.1	Antecedentes	12
II.2	Definición de términos	17
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
III.1	Colecta e identificación de los ejemplares.....	20
III.2	Amplificación, secuenciación parcial del gen COI.....	23
III.3	Verificación de la identidad taxonómica	26
III.4	Análisis filogenéticos y de distancia.....	26
III.5	Delimitación de especies.....	27
IV.	RESULTADOS	28
IV.1	Identidad Taxonómica	29
IV.2	Análisis filogenético y de distancias.....	35
IV.3	Delimitación de especies	40
V.	DISCUSION.....	43
V.1	Identidad taxonómica y análisis de distancia: caso familia Kyphosidae	45
V.2	Análisis de distancia y delimitación de especies: caso <i>Halichoeres dispilus</i>	50
V.3	Métodos de delimitación.....	53
VI.	CONCLUSIONES.....	56
VII.	RECOMENDACIONES	56
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
IX.	ANEXOS	71

I. INTRODUCCIÓN

El orden Perciformes es el grupo predominante de todos los vertebrados, tanto en cuerpos de agua dulce tropicales y subtropicales (Galvis *et al.*, 2006), como en ecosistemas marinos de todo el mundo (Nelson, 1994). Con 2 subórdenes, 62 familias, 365 géneros y 2248 especies (), es el grupo más grande y diversificado de los peces teleósteos (Nelson *et al.*, 2016) pese a que, en los últimos años, muchas de sus familias han sido reubicadas (a nivel de orden como *incertae sedis*), esto a partir de estudios basados en filogenias inferidas usando datos moleculares (Betancur-R *et al.*, 2017).

Muchas familias de peces de arrecife (rocosos o coralinos) han sido colocadas en el orden Perciformes, siendo las más características *sensu* Nelson *et al.* (2016) las familias Serranidae, Chaetodontidae, Lutjanidae, Pomacanthidae y Mullidae (Bellwood & Wainwright, 2002). Algunas de sus especies son de importancia comercial en el Perú, como la cabrilla *Paralabrax humeralis* (Serranidae), el cherlo *Acanthistius pictus* (Serranidae) y la chita *Anisotremus scapularis* (Haemulidae), las cuales pueden encontrarse en arrecifes rocosos o próximos a estos.

El orden Labriformes por su parte, resulta ser un grupo relativamente nuevo entre los peces teleósteos dado que en el pasado se encontraba agrupado dentro del orden Perciformes como el suborden Labroidei (Kaufman & Liem, 1982; Nelson, 2006). En un principio, con aproximadamente 1800 especies, la monofilia de los Labroidei se basó en modificaciones dentro de la región faríngea, con la formación de mandíbulas faríngeas a partir de los 5tos ceratobranquiales en los arcos branquiales (Nelson, 1967). Así, la “faringognatia” de los Labroidei se basó en 3 modificaciones dentro de la región faríngea: (I) una mandíbula faríngea inferior formada a partir de la unión o fusión de los quintos huesos ceratobranquiales; (II) una musculatura que conecta directamente la cara inferior

del neurocráneo con la mandíbula faríngea inferior; y (III) una diartrosis entre la superficie dorsal de los huesos de la mandíbula faríngea superior con la parte inferior del neurocráneo. (Kaufman & Liem, 1982; Stiassny & Jensen, 1987). No obstante, además de los Labroidei, Liem & Greenwood (1981) y Kaufman & Liem, (1982) describieron también para los Anabantidae, Kyphosidae, Carangidae, Sciaenidae y Cyprinodontidae la presencia de mandíbulas faríngeas muy similares a las de estos. Sin embargo, la hipótesis de la monofilia de los Labroidei se vio reforzada a partir de estudios de morfología funcional; los cuales diferenciaron los mecanismos de acción de sus mandíbulas faríngeas versus las de otros peces percomorfos.

Como resultado, muchos autores (Rosen & Patterson, 1990; Johnson 1993, por ejemplo) cuestionaron la monofilia de este grupo; sin otra evidencia morfológica que de soporte a esta hipótesis. Estudios moleculares rechazaron también la hipótesis, mas no se resolvían las relaciones entre las familias que lo conformaban. No fue hasta Wainwright *et al.* (2012), que a partir de evidencia molecular obtenida de 10 loci nucleares, permitió su separación del resto de los Perciformes y la reubicación de muchas familias percomorfas dentro de las “Series Ovalentaria” y, a diferencia de las seis familias que Kaufman & Liem (1982) y Nelson (2006) agruparon en el pasado, se encuentra conformado solamente por tres familias: Odacidae, Labridae y Scaridae (Nelson *et al.*, 2016) en el orden Labriformes (5 – 10% del total de peces vivientes en la actualidad) con registros de las dos últimas familias para el mar peruano.

Dentro del nuevo orden de los Labriformes, la familia Labridae es la segunda familia más grande de peces marinos, y una familia ecológica y morfológicamente diversa en formas, colores y tamaños (Westneat & Alfaro, 2005; Parenti & Randall, 2010; Nelson *et al.*, 2016). Viven en una gran variedad de ambientes costeros que van desde pozos de marea y arrecifes hasta fondos de arena. Características estructurales del cráneo, particularmente

en la dentición y las mandíbulas le permite tener una amplia variedad de presas que van desde el zooplancton y crustáceos ectoparásitos, hasta peces y moluscos bivalvos (Parenti & Randall, 2010). Estos peces presentan un comportamiento reproductivo atípico, denominado protoginia, un tipo de reversión sexual que les permite ser hembras en sus estadios juveniles para posteriormente convertirse en machos. Además, exhiben muchos patrones de coloración que varían de acuerdo con el estadio en el ciclo de vida, con manchas simulando ojos falsos. Es importante recalcar que la diversidad estructural y ecológica de los Labridae ha atraído la atención de los biólogos que estudian la ecología, la historia de la vida y la biomecánica de esta familia (Westneat & Alfaro, 2005).

Por su parte, los peces de la familia Scaridae (comúnmente denominados “Peces Loro” por la estructura de la boca) son peces herbívoros; lo que les confiere un rol importante en el control del crecimiento de las comunidades algales en arrecifes, con modificaciones en la región del cráneo (ligamentos, tejido conectivo y musculaturas) que les permite excavar y raspar superficies duras (rocas y sustratos de carbonato) con algas, bacterias y detritos (Gobalet, 2018). Asimismo, comparten la protoginia como estrategia reproductiva y a su vez, los patrones de coloración son muy diversos y esenciales para su identificación, estando relacionados con la edad y sexo del organismo (Nelson *et al.*, 2016); lo que los convierte en organismos modelo ideales (*Scarus* y *Chlorurus*, dos géneros de peces Scaridae) en estudios de radiación adaptativa basada en la selección natural e impulsada por la selección sexual (Streelman & Danley, 2003; citados por Choat *et al.*, 2012, Kazancıoğlu *et al.*, 2015). Un comportamiento especial que exhiben estos peces, junto con algunos peces Labridae (Videler *et al.*, 1999), es la segregación de una mucosa transparente alrededor de todo su cuerpo formando un capullo durante las noches, los cuales pueden encontrarse vacíos durante el día, (Winn, 1955); como un mecanismo de defensa sensorial frente a sus depredadores. Envolviéndose en el capullo son capaces de

reducir los olores que su cuerpo emana, disminuyendo así su vulnerabilidad (Langerhans, 2007; Cerny, 2007).

Es importante recalcar que diversos análisis filogenéticos (Westneat & Alfaro, 2005; Betancur-R *et al.*, 2017) han señalado que los peces loro estarían agrupados dentro de un Labridae monofilético como “Scarinae”, junto a los Odacidae (Choat *et al.*, 2012); sin embargo, para los propósitos de este estudio, se les referirá como Scaridae y Labridae *sensu* Nelson *et al.* (2016); como familias del orden Labriformes.

Pese a la gran diversidad de peces que pueden hallarse en el Mar Tropical del Perú, las especies de las familias Labridae y Scaridae, así como de muchas familias del Orden Perciformes, no han sido descritas en su totalidad; las cuales son muy comunes en arrecifes rocosos, hábitats únicos, poco abundantes y casi exclusivos de la costa norte del Perú, en los departamentos de Piura y Tumbes (Hooker, 2009; Hooker, 2011). De tal forma., esta investigación busca poner en práctica el uso del gen marcador COI como herramienta para la identificación taxonómica de los peces de arrecife de la costa norte del Perú y el estudio de sus relaciones filogenéticas.

I.1 Descripción de la realidad problemática

Aproximadamente el 51% de la superficie de la Tierra está cubierta por océanos y, a pesar de que se considera que los ecosistemas marinos albergan muchas más formas de vida que los terrestres, el conocimiento y esfuerzos de exploración de la biodiversidad marina es muy inferior al realizado para la conservación de la biodiversidad terrestre (Figueroa, 2005; Duarte, 2006). Dentro de los océanos, el Sistema de la Corriente de Humboldt del Norte (NHCE en inglés) es uno de los sistemas marinos más ricos y productivos del

planeta (Chávez *et al.*, 2008; Taylor, 2008). Esta importante fracción de la Corriente de Humboldt corresponde a las aguas del mar peruano.

De esta manera, el mar peruano ha sido clasificado de manera tradicional en dos provincias biogeográficas diferenciadas por la influencia de la Corriente de Humboldt: La provincia peruano – chilena (en el Perú, representado por el centro y sur) y la provincia panameña, ubicada al norte del país (Morrone, 2001). De manera similar, Spalding *et al.* (2007) clasifica las aguas en tres ecorregiones: Guayaquil, Perú central y Humboldtiana. Las provincias ubicadas al centro y sur del Perú se caracterizan por los altos valores de biomasa de recursos hidrobiológicos y productividad primaria pero con pocas especies, mientras que en la región tropical, la cantidad de especies de peces e invertebrados es numerosa, esto como resultado de la confluencia de un complejo sistema de interacciones entre variables atmosféricas y oceánicas que influyen en su presencia y distribución, dando lugar a una significativa diversidad biológica marina y costera existente en la provincia panameña (Hooker, 2009; MINAM, 2010).

Adicionalmente, se estima que el mayor número de las aproximadamente 10.000 especies de peces en mares poco profundos viven en aguas cálidas templadas o tropicales, donde las temperaturas medias durante las temporadas más frías no descienden por debajo de 18°C (Bone & Moore, 2008).

I.2 Definición del problema

Los ecosistemas marinos son una fuente de recursos de importancia económica directa, que proveen diversos bienes y servicios ambientales. Por ejemplo, la diversidad genética presente se refleja hoy en una importante fuente de recursos y su potencialidad para la farmacia y biotecnología (Munro *et al.*, 1999). Sin embargo, son las actividades humanas la principal causa del deterioro de los ecosistemas marinos y la pérdida de la biodiversidad

marina (Figuerola, 2005; Mancera *et al.*, 2013), como sucede en el Mar tropical del Perú (Hooker, 2011), afectando a sus especies residentes (Hooker, 2009).

I.3 Objetivos

Objetivo general:

- Caracterizar molecularmente a las especies de peces Labriformes y Perciformes presentes en los arrecifes rocosos del Mar Tropical del Perú.

Objetivos específicos:

- Identificar molecularmente MOTUs a través de la técnica de DNA Barcoding a las especies de peces Labriformes y Perciformes presentes en los arrecifes rocosos.
- Determinar la concordancia entre la identificación molecular con la identificación morfológica tradicional presente en la literatura.
- Generar un banco de secuencias nucleotídicas del gen citocromo oxidasa subunidad I (COI) de las especies de peces Labriformes y Perciformes colectadas en los arrecifes rocosos.

I.4 Justificación e Importancia de la investigación

Los peces del Mar tropical del Perú tienen una amplia distribución dentro del POT (Pacífico Oriental Tropical) alcanzando el Golfo de California (México) siendo también de importancia comercial. Según la IUCN (International Union for Conservation of Nature), los peces que habitan arrecifes son aprovechados tanto para su uso ornamental en acuarios (destacando a las familias Labridae, Haemulidae, Lutjanidae, atractivas por su coloración); así como su explotación pesquera, destacando a los peces de la familia Serranidae del Orden Perciformes, que corresponden a una fracción significativa de la pesca en pequeña escala en la región norteña (Aburto *et al.*, 2008). Asimismo, el interés de estos peces desde un punto de vista económico y turístico son relevantes en las zonas costeras (Chávez *et al.*, 2008).

Es notable la fragilidad que estos ecosistemas pueden exhibir como respuesta a las actividades pesqueras que indirectamente pueden ser perjudicadas mediante la desestabilización de las cadenas tróficas, afectando a las demás comunidades presentes (Sonnenholzner *et al.*, 2009). De esta manera, es necesaria la promoción de estrategias de conservación a lo largo del tiempo, para la cual es indispensable la correcta identificación y descripción de especies para el conocimiento básico-aplicado así, para el aprovechamiento y promoción sustentable de recursos hidrobiológicos. Por eso, antes que nada, para cuidar y conservar la biodiversidad de nuestro mar, primero tenemos que llegar a conocerla, llenando los vacíos científicos, y a valorarla, proponiendo nuevas medidas de conservación.

I.5 Limitaciones de la Investigación

En el Perú, la biodiversidad biológica marina se concentra en el ecosistema de surgencias costeras peruano, las áreas marinas someras de la costa peruana norteña y el ecosistema de manglar del norte. (Tarazona *et al.*, 2003). Por su parte, los arrecifes rocosos son uno

de los principales hábitats que contribuyen en albergar una alta biodiversidad marina (Msangameno, 2016). Sin embargo, se cree que muchas de estas especies de arrecife no han sido descritas para nuestro mar dada la dificultad de su captura bien por su tamaño o la dificultad de acceso a las áreas descritas (Vildoso *et al.*, 1999) y a la plasticidad fenotípica de muchas de las especies que coexisten (Hooker, 2009), haciendo que exista un vacío en el conocimiento en estos ambientes.

Por lo tanto, teniendo en cuenta que estos peces pueden presentar tallas pequeñas, diferentes patrones de coloración; importantes al momento de su identificación y variables dependiendo la edad y el sexo (Westneat & Alfaro, 2005); y las zonas donde habitan son de difícil acceso para sus colectas, se propone incorporar métodos moleculares (DNA barcode) que refuercen la identificación de estas especies.

II. REVISION LITERARIA

II.1 Antecedentes

La costa norte del Perú, en los departamentos de Piura y Tumbes, las islas Lobos de tierra y Lobos de afuera, esconden bajo sus aguas una alta biodiversidad con un gran número de especies de procedencia tropical debido a la transición y mezcla de masas de agua de origen ecuatorial y tropical (MINAM, 2010). Otro evento conocido como El Niño, tiene un efecto de tropicalización en el ambiente. Así, el calentamiento de las aguas influye en el comportamiento de las especies pelágicas y demersales costeras, que migran a otras zonas o cerca del fondo, en busca de condiciones más favorables, conllevando a un incremento del número de especies ícticas en la comunidad y de la diversidad biológica (GEF, 2002). Hooker (2009), reconoce como límite natural a Cabo Blanco para la fauna Panámica; sin embargo, en veranos intensos se les puede observar en Isla Foca y la Bahía de Sechura, las cuales junto a

las Bahías de Samanco (Áncash) y Pucusana (Lima) son reconocidas como “localidades refugio”; a raíz de los eventos de El niño 1997-98, pudiendo permanecer en estas hasta la intensificación del invierno.

La ictiofauna marina del Perú ha sido documentada en numerosas publicaciones entre las que destacan Chirichigno (1962, 1963a, 1963b, 1969, 1973, 1978, 1987); Chirichigno y Iwamoto (1977), Chirichigno & McEachran (1979), Chirichigno & Vélez (1998); Chirichigno & Cornejo (2001), Hooker (1990, 1993, 2000) y Vildoso *et al.* (1999), entre otros.

Así, tanto el “Cuarto Informe Nacional sobre Diversidad Biológica” (MINAM, 2010) como el “Catálogo comentado de peces marinos del Perú” (Chirichigno & Cornejo 2001) datan 1070 de especies de peces marinos, de las cuales 393 pertenecen al orden de los Perciformes, lo cual corresponde a un 37 % de las especies de peces marinos del mar peruano y a su vez el grupo más abundante en nuestro mar. No obstante, según el “Sexto Informe Nacional sobre Diversidad Biológica” (MINAM, 2019), presentan un registro actualizado de 1090 especies de peces marinos en los ecosistemas marinos tanto de aguas frías como tropicales.

Por otro lado, no existen registros del orden Labriformes dentro del documento, dado que en el pasado este grupo fue incluido dentro del Orden Perciformes bajo la categoría de suborden Labroidei, agrupando 6 familias (Cichlidae, Embiotocidae, Labridae, Odacidae, Pomacentridae y Scaridae). En la actualidad, este nuevo orden solamente agrupa a 3 familias: Odacidae, Labridae y Scaridae; mientras que las familias Pomacentridae y Embiotocidae se encuentran *incertae sedis* a nivel de orden en Ovalentaria (Wainwright *et al.*, 2012) y la familia Cichlidae en el orden Cichliformes (Nelson *et al.*, 2016; Betancurt *et al.*, 2017). De esta manera, para el

“Catálogo comentado de peces marinos del Perú” de Chirichigno & Cornejo (2001) se tienen registradas 13 especies de peces Labriformes, para las familias Labridae y Scaridae, mientras que para la familia Odacidae no existen registros dado a que esta no se ha sido descrita dentro del Pacífico Oriental y es solamente encontrada en el Océano Índico, específicamente en las costas de Australia y registros de endemismos en Nueva Zelanda (Nelson *et al.*, 2016).

Hooker (2009), en su trabajo discutió sobre 14 especies de peces tropicales, con 11 registros nuevos para el Perú, procedente de colectas y registros entre los años 1985 y 2007, de las cuales 4 pertenecían al orden Perciformes (*Cirrhitis rivulatus*, *Cirrhitichthys oxycephalus*, *Prognathodes carlhubbsi* y *Cephalopholis panamensis*) y 2 al orden Labriformes (*Thalassoma lucasanum* y *Thalassoma grammaticum*), siguiendo la clasificación mostrada en Nelson *et al.* (2016). Según el IUCN y el STRI, de las especies mencionadas anteriormente, todas excepto *Cirrhitichthys oxycephalus* tienen a los arrecifes rocosos como su hábitat principal.

Como resultado, dada la reubicación de muchas de sus familias, se tiene registrado un total de 114 especies de peces Perciformes y 15 especies de peces Labriformes (*sensu* Nelson *et al.*, 2016), para el Perú.

De manera tradicional, se han utilizado tanto las claves taxonómicas para la identificación de peces, como las de Chirichigno (1974) y Chirichigno & Vélez (1998) mediante la observación de caracteres morfológicos y merísticos (número de espinas en aletas, número de escamas en la línea lateral, etc.); y el uso de guías y catálogos para el reconocimiento de las mismas. Sin embargo, estas pueden presentar dificultades al momento de examinar los diferentes estadios de vida (e incluso de diferente sexo) que presentan durante su desarrollo. En los últimos años, métodos de

identificación se han ido reforzado acudiendo a la información genética, la cual no exhibe cambios con respecto a los estadios de vida y/o sexo.

El análisis de la secuencia de ADN se ha utilizado durante años para ayudar a la identificación de especies, pero se han utilizado diferentes secuencias (rRNA, mtDNA, nDNA etc.) para diferentes grupos taxonómicos; por lo que Hebert *et al.* (2003), propuso el uso del gen que codifica el Citocromo oxidasa subunidad I (COI), como un sistema de identificación universal para animales, incluyendo a los peces.

En estudios filogenéticos, el código de barras de ADN puede ser un punto de partida para la selección óptima de taxones, y se pueden agregar secuencias de códigos de barras al conjunto de datos de secuencias para el análisis filogenético. En las investigaciones de genética de poblaciones, los códigos de barras de ADN pueden proporcionar una primera señal del alcance y la naturaleza de las divergencias de población y facilitan los estudios comparativos de la diversidad de la población en muchas especies (Ward *et al.*, 2005; Hajibabaei *et al.*, 2007).

Para los peces, se ha implementado esta técnica para la secuenciación e identificación obteniéndose resultados satisfactorios. Ward *et al.* (2005) utilizó el ADN barcoding para la identificación en peces marinos de Australia concluyendo que es una herramienta eficaz para su uso en la identificación de especies de peces. La técnica ha sido eficiente también para la identificación de especies crípticas (Jacobina *et al.*, 2019); las cuales son muy similares en apariencia, no distinguibles morfológicamente, aisladas reproductivamente y de amplia distribución producto de procesos recientes de diferenciación. Sin embargo, también hace hincapié en la necesidad de requerir cuidadosos análisis morfológicos y que vayan de la mano con el ADN barcoding.

Adicionalmente, los códigos de barras han demostrado ser una herramienta satisfactoria al momento de identificar especies de peces con alto grado de dimorfismo sexual, como suele suceder en la familia Labridae. Por ejemplo, Sarhan *et al.* (2019) utilizó el gen COI para la identificación de dos especies de peces; *Cheilinus lunulatus* (Forsskål, 1775) y *Halichoeres hortulanus* (Lacepède, 1801) en el Mar Rojo, el cual mostró un 100% de similitud entre machos y hembras de ambas especies, tras haber hecho una exhaustiva comparación morfológica y morfométrica entre individuos de ambos sexos. Así, los códigos de barras proporcionan nuevas ideas sobre la diversidad de peces, lo que permite también identificaciones basadas en ADN de larvas, juveniles (Valdez *et al.*, 2010) y especímenes desconocidos cada vez más precisos (Weigt *et al.*, 2012) y, si se incrementa su aplicación, muchas especies previamente no reconocidas podrían ser reveladas.

Dentro de estas especies, los peces de arrecifes reciben especial atención dado que estos han pasado por muchos eventos de radiaciones adaptativa y son una fracción importante de la diversidad de los océanos en el mundo (Westneat & Alfaro, 2005). Según Jiménez (1999), la mayor parte de los trabajos sobre comunidades de peces de arrecife provienen del Caribe, Australia y el Mar Rojo. En el Pacífico oriental tropical, el Golfo de California, se considera un punto de acceso a la biodiversidad marina mundial dada la gran cantidad de especies que albergan, esto como consecuencia a una alta concentración de arrecifes rocosos y su alta complejidad topográfica. (Sánchez *et al.*, 2015; Aburto & Balart, 2001).

Estos hábitats albergan una alta riqueza (colores, tamaños) de diferentes especies (no solo de peces), sirviendo como refugio y áreas de reproducción para estos, dado que generalmente estos hábitats ocurren en medio de la interfase del mar y la tierra, al igual que muchos ecosistemas intermareales (Jiménez, 1999; Aburto & Balart, 2001,

Msangameno, 2016). La importancia de estos ambientes radica en su capacidad de soporte de una gran variedad de especies de peces, invertebrados y algas, así como también en suplir alimento y protección en las costas frente a las tormentas, el fuerte oleaje y el transporte de sedimentos (Msangameno, 2016).

En comparación con las zonas de estudio mencionadas, en el Perú los trabajos sobre peces de arrecifes son insuficientes. Existen arrecifes rocosos de agua tropicales ubicados en localidades, por ejemplo, como “El Ñuro” en el departamento de Piura, los cuales están conformados por formaciones rocosas con plataformas bajas planas inclinadas y roquedales; con cuevas largas que sirven como refugio de la fauna; y en “Punta sal” en el departamento de Tumbes, que consta de áreas rocosas en planicies arenosas o rocosas con roquedales costeros (Hooker, 2011). Hooker (2009) es una recopilación de trabajos (Hooker, 1990, 1993, 2000) sobre colectas realizadas desde el año 1989 hasta el 2007, donde se describe la ictiofauna asociada a estas áreas, probando la insuficiencia de investigaciones y la necesidad de llenar los vacíos de información

II.2 Definición de términos

Arrecife; el término arrecife dependerá de la perspectiva en la que se esté trabajando. Desde un punto de vista ecológico, un arrecife puede ser cualquier estructura sumergida que provee de un substrato duro que permite el desarrollo de la vida marina; pudiendo ser coralinos, rocosos (Jiménez, 1999) o también ampliarse mediante una plétora de estructuras artificiales como muelles, rompeolas, diques y malecones que funcionan como arrecifes artificiales (Msanganemo, 2016).

Arrecife rocoso; dominados por formaciones rocosas de diferentes orígenes (como rocas sedimentarias, rocas ígneas, etc.), los arrecifes rocosos surgen como producto

de la erosión marina y la acción combinada de las olas y el nivel de mar en áreas con bajo aporte de sedimento (Ruwa, 1996; Sánchez *et al.*, 2015), la cual originan una variedad de micro hábitats tales como pozas, cuevas, grietas y cañones. La naturaleza de estos está relacionada con su modo de formación y sus propiedades físicas determinan los patrones de asentamiento y establecimiento de organismos marinos en estos (Msanganemo, 2016).

DNA Barcoding; esta técnica se basa en la premisa de que una secuencia estandarizada puede distinguir a los individuos de una especie debido a que la variación genética interespecífica excede la variación intraespecífica dentro de las especies (Hebert *et al.*, 2003). La secuencia del código de barras de cada muestra desconocida se compara con una biblioteca de secuencias de códigos de barras de referencia de individuos de identidad conocida. La identificación se da si la secuencia de un espécimen coincide estrechamente con una en la biblioteca de códigos de barras. De lo contrario, el nuevo registro puede conducir a una nueva secuencia de código de barras para una especie determinada (es decir, un nuevo haplotipo o variante geográfica), o puede sugerir la existencia de una especie nueva.

Delimitación de especies; pese a que la técnica del DNA barcode es utilizada para aportar información que conlleve a la descripción de nuevas especies, por sí sola no puede utilizarse para tal cometido. De tal manera, existen muchos enfoques moleculares que pueden utilizarse para delimitar especies. La delimitación de especies es el proceso de determinar qué grupos de organismos individuales constituyen poblaciones diferentes de una sola especie y cuáles constituyen especies diferentes (Rannala & Ziheng Yang, 2020). En la actualidad existen diversos enfoques moleculares que pueden usarse para la delimitación de nuevas especies,

como lo son el GMYC (Fujisawa & Barraclough, 2013), PTP, bPTP (Zhang *et al.*, 2013) y el ABDG (Puillandre *et al.*, 2012).

Especies crípticas; de manera general, se les reconoce como aquellas especies que son morfológicamente similares (misma coloración, formas, estructuras, etc.), reproductivamente aisladas, de reciente especiación y que solo pueden separarse a partir de otras fuentes, como lo es el análisis de secuencias de ADN. No obstante, Bickford *et al.* (2007) no consideran el aislamiento reproductivo como un carácter esencial, dado que no existe un único y mejor concepto de especie (en este caso, aplicar solamente el concepto biológico de especie); más en su lugar, consideran que dos o más especies son "crípticas" si están, o han sido, clasificadas como una sola especie nominal porque son, al menos superficialmente, morfológicamente indistinguibles.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Previo a la realización de las colectas, se elaboró una lista de especies de peces de los órdenes Labriformes y Perciformes; *sensu* Nelson *et al.* (2016), que habitan o están asociadas a arrecifes rocosos; y descritas para el Pacífico Oriental Tropical (ver Anexo 1), para su uso como referencia durante las colectas. La autorización para efectuar la captura de especies hidrobiológicas fue concedida por el Ministerio de Producción mediante la resolución directoral N° 00432-2020-PRODUCE/DGPCHDI.

III.1 Colecta e identificación de los ejemplares

Área y métodos de captura

Las colectas se realizaron en los arrecifes rocosos presentes dentro de las áreas propuestas por Hooker *et al.* (2011) para la creación de las Reserva Nacional “Mar tropical del Perú” (Anexo 2): Isla Foca (Paita – Piura); El Ñuro y Cabo Blanco (Talara – Piura), en los meses de abril y setiembre del 2020; y Punta Sal (Contralmirante Villar - Tumbes), durante abril del 2021. En la tabla 1 resume los puntos de colecta, y sus respectivas coordenadas geográficas (ver Anexo 3).

Tabla 1: Puntos de muestreo con las localidades donde se colectaron el material biológico

Localidad	Estación de muestreo	Coordenadas geográficas	
		Latitud	Longitud
Paita (Sector: Isla Foca)	FOCA01	-5,21377	-81,20317
	FOCA02	-5,20869	-81,21036
	FOCA03	-5,20281	-81,20943
	FOCA04	-5,21432	-81,20596
	FOCA05	-5,20076	-81,20929
Talara (Sector: Cabo Blanco - El Ñuro)	VELEROS	-4,17939	-81,13947
	BAJO VELEROS	-4,17700	-81,14638
	PLATAFORMA	-4,16405	-81,16785
	VICHAYITO	-4,14260	-81,11250
	CABO BLANCO	-4,25960	-81,24670
	QUEBRADA VERDE	-4,22660	-81,20900
	TALARA 1	-4,40500	-81,26030
TALARA 2	-4,44340	-81,27640	
Tumbes (Sector: Arrecifes de Punta Sal)	PUNTA SAL	-3,95351	-80,96366
	CANOAS DE PUNTA SAL	-3,94477	-80,94021
	PUNTA MERO	-3,80343	-80,88149
	ACAPULCO	-3,70783	-80,79099

Las capturas se realizaron usando un compresor de aire para buceo (Figura 1), para acceder zonas donde los arrecifes se encontraron a una profundidad mayor a los 5 metros; así como también a través de buceo con snorkel para profundidades menores.

Se empleó redes de mano para la captura de ejemplares pequeños (< 15 cm de longitud total); mientras que, para ejemplares de mayor tamaño, se empleó arpones artesanales para facilitar su captura. Se revisaron también los desembarques en los puertos y caletas, dentro de las áreas de estudio, para seleccionar especies que fueran de interés para la investigación.



Figura 1. Compresor de aire para buceo. El tubo del regulador se conecta a la compresora por uno de los orificios y se bombea aire al momento de encenderlo

La preservación y transporte de ejemplares se realizó siguiendo las recomendaciones de Lambarri & Espinoza (2018) en su manual de “Métodos de Colecta y Preservación de Peces”. Así, individuos con longitud total mayor a 15 cm fueron inyectados (cabeza, branquias, tórax y abdomen) con una solución de formol al 10% (formol al 40% + agua destilada) y los más pequeños fijados en alcohol a 96°, para luego ser envueltos en gasas con alcohol a 96° y enviadas desde el departamento de Piura, hasta el Laboratorio de Sistemática Molecular y Filogeografía de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Cada ejemplar recibió un código de muestra durante las colectas (REEF001, por ejemplo) y se colocaron en frascos con alcohol de 70° para su preservación durante la identificación morfológica.

Identificación morfológica

Se tomaron fotografías de los ejemplares tan pronto fueron colectados, esto antes de su preservación, para capturar la coloración respectiva de cada organismo y sean de apoyo durante la identificación. Esto se realizó extendiendo cada pez sobre una superficie de tecnopor usando alfileres y, de ser necesario, se sumergieron en una pequeña pecera con agua (Figura 2).



Figura 2. Captura de imágenes de peces para la identificación morfológica

Se empleó todo tipo de literatura como claves de identificación (Baldwin & McCosker, 2001; Knudsen & Clements, 2013), revisiones (Gomon, 2006), informes y/o catálogos (Bussing & López, 2005; Chávez *et al.*, 2008; Robertson & Allen, 2015) con información de las familias de peces en cuestión. Se utilizaron principalmente la “Clave de Identificación de peces marinos del Perú” (Chirichigno & Vélez, 1998), el “Catálogo comentado de peces marinos del Perú” (Chirichigno & Cornejo, 2001) y la descripción de algunas especies de peces tropicales realizadas por Hooker (2009). Los especímenes se depositaron en la colección del departamento de Ictiología del Museo de Historia Natural de la UNMSM.

III.2 Amplificación, secuenciación parcial del gen COI

Los análisis moleculares fueron realizados los laboratorios de Sistemática Molecular y Filogeografía (LSMF) y de Bioinformática y Genómica de la Biodiversidad (LBGB) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y el Laboratorio Costero de Tumbes (LCT – IMARPE). Se colectó aproximadamente 1 cm³ de tejido muscular del lado derecho o de la aleta pectoral derecha de cada ejemplar o *voucher* (Figura 3); el cual fue almacenado en microtubos conteniendo alcohol al 96° a 20 °C (Lambarri & Espinoza, 2018). Este procedimiento se realizó tras la captura del ejemplar y previo a su fijación. La extracción del ADN se realizó utilizando el Kit Promega de extracción Wizard SV Genomic, siguiendo las especificaciones del fabricante.



Figura 3. Toma de tejidos del ejemplar. El corte se realizó en el lado derecho, a la altura de la aleta pectoral o a la altura de la primera aleta dorsal.

Se cuantifico la cantidad de DNA extraído (ng/ μ L) utilizando un espectrofotómetro NanoDrop y para la evaluación de la calidad de la extracción se utilizó el índice de absorbancia A260/A280.

La amplificación del segmento del gen COI se realizó utilizando los primers Fish F1 5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC -3', Fish F2 5'- TCG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC -3', Fish R1 5'- TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA -3' y Fish R2 5'-ACT TCA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA -3', descritos por Ward *et al.* (2005).

Para cada muestra, se preparó en un tubo eppendorf de 0.1 ml una solución para PCR; con 7.925 μ l de agua destilada, 1.875 μ l de dNTP (8 mM), 1.5 μ l de buffer 10X, 0.3 μ l de MgCl₂ (25 mM), 0.6 μ l de cada primer (10 mM), 0.2 μ l de abm Taq DNA polimerasa (Cat. No. G009) (5U/ μ l) y 2 μ l de DNA extraído (15 μ l en total). Los tubos se colocaron en un termociclador BIO-RAD T100 Thermal cycler donde se realizó la amplificación; la cual consistió de una desnaturalización inicial de DNA por 5 min a 92 °C y 35 ciclos de desnaturalización por 45s a 92 °C, hibridación por 45s a 48 - 56°C, extensión por 45s a 72 °C y una extensión final por 5 min a 72 °C (Figura 4).



Figura 4. Arriba: tubos eppendorf con solución de PCR listos para ser amplificados. Abajo: Termociclador Thermal cycler, indicando los ciclos de la PCR.

Los segmentos de ADN amplificados se visualizaron en gel de agarosa al 1% con Buffer TAE 1X y teñido con SYBR Safe DNA gel stain. Los amplificados positivos (Figura 5) fueron almacenadas a -20°C hasta su purificación, la cual se realizó utilizando AmpliClean™ Cleanup kit; con perlas magnéticas. Los amplicones purificados fueron enviados a Macrogen Korea para ser secuenciados en ambos sentidos de la cadena (Forward y Reverse).

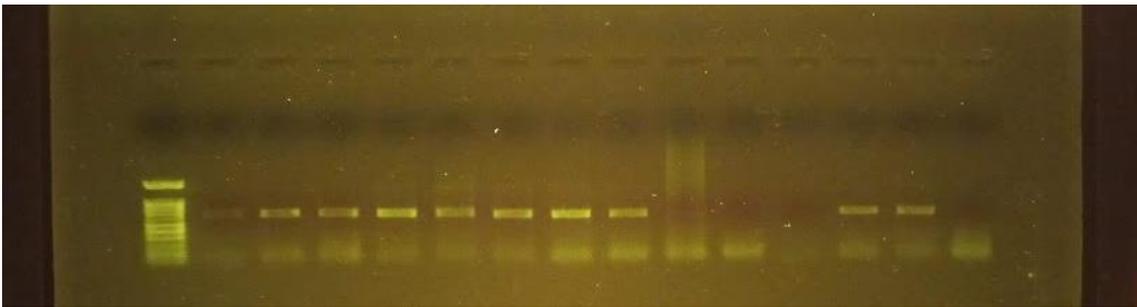


Figura 5. Gel de agarosa. Se visualizan el *ladder* (a la izquierda) y al medio de cada carril una banda de 650pb aprox. (reacción positiva). Las bandas tenues en la parte inferior de cada carril corresponden al exceso de primers en la solución.

Los electroferogramas obtenidos fueron ensamblados utilizando el software CodonCode v.9.0.2 (CodonCode Corporation, www.codoncode.com), donde se editaron las secuencias mediante el recorte de las zonas correspondientes a los primers, regiones de baja calidad e impurezas (Figura 6). Como resultado, se obtuvieron secuencias de 655pb para cada muestra, las cuales se almacenaron en la base pública del BOLD Systems (Ratnasingham & Hebert, 2007), el cual reúne de forma práctica: información de los vouchers, registros de la colecta, identificadores responsables de las muestras, fotos, mapas de colecta, primers usados, electroferogramas y las secuencias consenso; donde se generaron los códigos de barras de las especies depositadas.

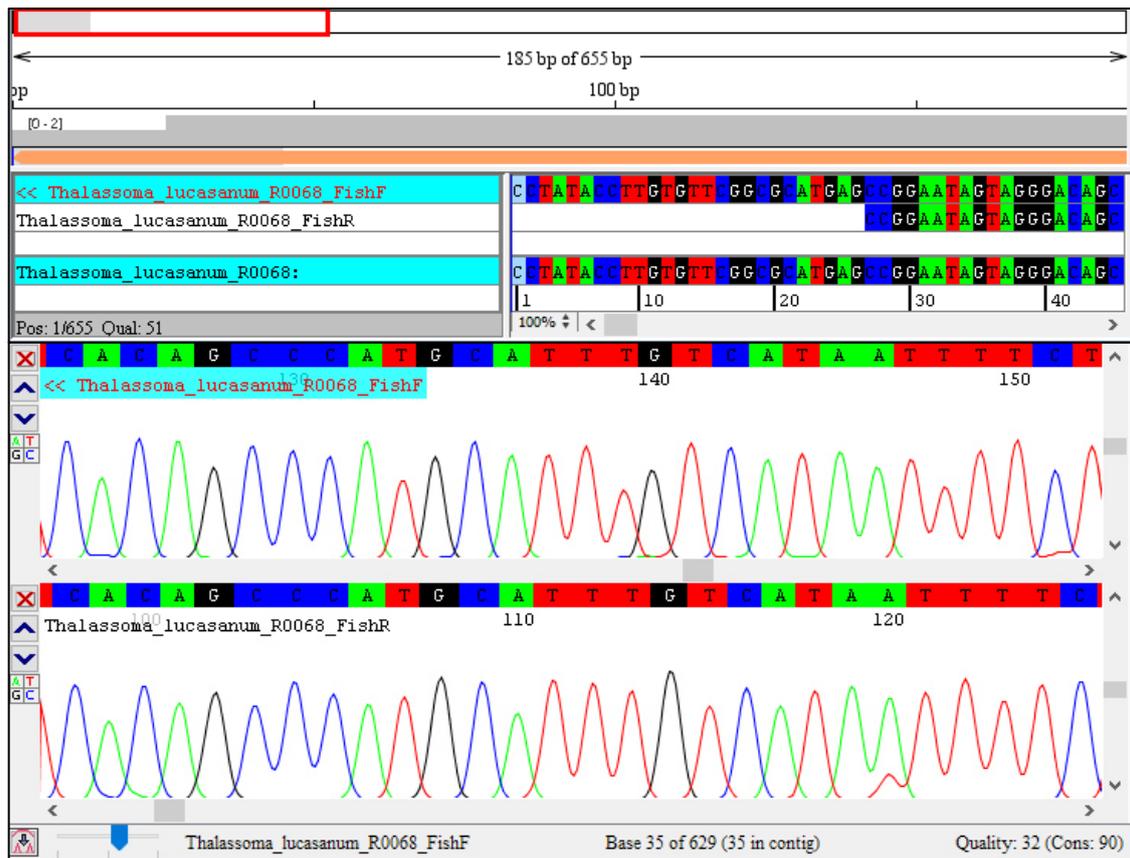


Figura 6. Edición de secuencias en el programa CodonCode v.9.0.2. Arriba: secuencias Forward, Reverse (*Reverse complement*) y su consenso. Abajo: Electroferogramas de cada sentido de la secuencia

III.3 Verificación de la identidad taxonómica

La identificación molecular se realizó a partir de las secuencias de 655pb obtenidas para cada muestra; utilizando las herramientas en el BOLD Systems con la información pública disponible (Species level) y también a través de la herramienta BLASTn, disponible en la base de datos pública del NCBI con el fin de corroborar la concordancia entre la identificación morfológica y uso del gen COI como herramienta para la identificación.

III.4 Análisis filogenéticos y de distancia

Las secuencias de 655pb se alinearon usando la herramienta ClustalW (Thompson *et al.*, 1994); acoplado al software BioEdit v.7.0.5.3 (Hall, 1999). El alineamiento se usó para

la construcción de un árbol con el método evolutivo de “Neighbor joining” (NJ) y con el modelo de sustitución de Kimura 2-parámetros (K2P) (Kimura, 1980); usando 1000 réplicas de *bootstrap* a través del programa MEGA X (Kumar *et al.*, 2018). Las distancias genéticas se calcularon utilizando el modelo de sustitución Kimura 2-parámetros K2P mediante el uso del paquete Spdel (<http://github.com/jolobito/SPdel>), con el cual se confeccionó una matriz de datos con los valores de máxima distancia intraespecífica, mínima distancia interespecífica y la especie más próxima (vecino más cercano).

Además, se realizó una construcción filogenética a partir del método de Inferencia Bayesiana. Se utilizó el modelo HKY+I+G (Hasegawa *et al.*, 1985), seleccionado a través del programa jModelTest 2.1.10 (Darriba *et al.*, 2012). El árbol se generó siguiendo el modelo de Birth-Death a través del software BEAST v2.6.2 (Drummond *et al.*, 2012) basado en 150 millones de réplicas; con un muestreo cada 30000 árboles. La convergencia de las cadenas de Markov se revisaron con el programa Tracer v1.7.1 (Drummond *et al.*, 2012), donde todos los valores de tamaño de muestra efectiva (ESS, siglas en inglés) estuvieron por encima de 200. Se realizó un *burn-in* del 10%, y se trabajó con los árboles restantes para la obtención de un consenso, donde se empleó la probabilidad posterior como valor de soporte de las ramas. El árbol obtenido se visualizó utilizando el programa FigTree v1.4.3 (Rambaut & Drummond, 2016).

III.5 Delimitación de especies.

Se aplicaron tres algoritmos ampliamente usados para la delimitación de especies: el proceso del árbol de Poisson (PTP), el proceso del árbol de Poisson bayesiano (bPTP) (Zhang *et al.*, 2013) y el modelo coalescente de Yule mixto generalizado (GMYC) (Fujisawa & Barraclough, 2013), a través del paquete Spdel (<https://github.com/jolobito/SPdel>). La congruencia entre la delimitación MOTUs se evaluó comparando los grupos inferidos a partir de cada algoritmo implementado.

IV. RESULTADOS

Se colectaron 82 ejemplares de peces de arrecifes rocosos, de los cuales se identificó morfológicamente un total de 31 especies: 6 del orden Labriformes y 25 del orden Perciformes. En la Tabla 2 se presentan el nombre, la familia y el número de ejemplares colectados de cada especie.

Tabla 2. Especies de arrecifes rocosos tropicales colectadas para este estudio (el nombre de la especie presentado aquí se basó en la identificación morfológica)

Orden	Familia	Especie	Número de ejemplares
Labriformes	Labridae	<i>Bodianus diplotaenia</i>	7
Labriformes	Labridae	<i>Decodon melasma</i>	1
Labriformes	Labridae	<i>Halichoeres dispilus</i>	7
Labriformes	Labridae	<i>Halichoeres notospilus</i>	1
Labriformes	Labridae	<i>Thalassoma lucasanum</i>	4
Labriformes	Scaridae	<i>Nicholsina denticulata</i>	6
Perciformes	Serranidae	<i>Alphestes immaculatus</i>	2
Perciformes	Serranidae	<i>Alphestes multiguttatus</i>	2
Perciformes	Serranidae	<i>Cephalopholis panamensis</i>	1
Perciformes	Serranidae	<i>Cratinus agassizii</i>	5
Perciformes	Serranidae	<i>Epinephelus labriformis</i>	1
Perciformes	Serranidae	<i>Hyporthodus acanthistius</i>	1
Perciformes	Serranidae	<i>Mycteroperca xenarcha</i>	1
Perciformes	Serranidae	<i>Paralabrax callaensis</i>	3
Perciformes	Serranidae	<i>Paranthias colonus</i>	1
Perciformes	Serranidae	<i>Pronotogrammus multifasciatus</i>	1
Perciformes	Serranidae	<i>Serranus huascarii</i>	2
Perciformes	Serranidae	<i>Serranus psittacinus</i>	2
Perciformes	Chaetodontidae	<i>Chaetodon humeralis</i>	5
Perciformes	Chaetodontidae	<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	4
Perciformes	Pomacanthidae	<i>Pomacanthus zonipectus</i>	3
Perciformes	Haemulidae	<i>Anisotremus interruptus</i>	3
Perciformes	Haemulidae	<i>Microlepidotus brevipinnis</i>	1
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus argentiventris</i>	1
Perciformes	Gerridae	<i>Gerres simillimus</i>	1
Perciformes	Centropomidae	<i>Centropomus nigricensis</i>	2
Perciformes	Cirrhitidae	<i>Cirrhitus rivulatus</i>	1
Perciformes	Oplegnathidae	<i>Oplegnathus insignis</i>	2
Perciformes	Cheilodactylidae	<i>Cheilodactylus variegatus</i>	5
Perciformes	Kyphosidae	<i>Kyphosus elegans</i>	2
Perciformes	Kyphosidae	<i>Kyphosus vaigiensis</i>	3

Es importante recalcar que las muestras de *Centropomus nigricensis* y *Gerres simillimus* fueron identificadas rápidamente en campo, solamente con la preservación del tejido para su identificación molecular. El resto de las muestras, fueron fotografiadas, preservadas y transportadas para su identificación morfológica. Todas las especies, con excepción de *Kyphosus elegans* (Kyphosidae: Perciformes), están descritas por Chirichigno & Cornejo (2001) en su “Catalogo comentado de Peces Marinos del Perú” y Hooker (2009), como registros para el Perú.

IV.1 Identidad Taxonómica

En la tabla 3 se presentan el código de ejemplar, la especie reconocida a partir de la identificación morfológica y al lado la identificación a partir del gen COI señalando la especie identificada de acuerdo al porcentaje de identidad (%ID) más alto alcanzado, tanto para el BOLD Systems como el NCBI.

Tabla 3. Identificación molecular a partir del gen COI usando las herramientas del BOLS system y NCBI. El/los nombre(s) de la(s) especie(s) corresponden al porcentaje de identidad (%ID) más alto alcanzado. (En rojo, las especies donde hubo discrepancia entre ambas identificaciones)

Código	Especie	NCBI (BLASTn)		BOLD Systems	
		ID especie	% ID	ID especie	% ID
REEF0146	<i>Alphestes inmaculatus</i>	<i>A. inmaculatus</i>	99.69	<i>A. inmaculatus</i>	100
REEF0109	<i>Alphestes inmaculatus</i>	<i>A. inmaculatus</i>	100	<i>A. inmaculatus</i>	100
REEF0152	<i>Alphestes multiguttatus</i>	<i>A. multiguttatus</i>	99.39	<i>A. multiguttatus</i>	100
REEF0170	<i>Alphestes multiguttatus</i>	<i>A. multiguttatus</i>	99.39	<i>A. multiguttatus</i>	99.69
REEF0113	<i>Anisotremus interruptus</i>	<i>A. interruptus</i>	99.54	<i>A. interruptus</i>	100
REEF0041	<i>Anisotremus interruptus</i>	<i>A. interruptus</i>	99.69	<i>A. interruptus</i>	100
REEF0075	<i>Anisotremus interruptus</i>	<i>A. interruptus</i>	99.85	<i>A. interruptus</i>	100
REEF0060	<i>Bodianus diplotaenia</i>	<i>B. diplotaenia</i>	99.69	<i>B. diplotaenia</i>	100
REEF0064	<i>Bodianus diplotaenia</i>	<i>B. diplotaenia</i>	100	<i>B. diplotaenia</i>	100
REEF0077	<i>Bodianus diplotaenia</i>	<i>B. diplotaenia</i>	100	<i>B. diplotaenia</i>	100
REEF0079	<i>Bodianus diplotaenia</i>	<i>B. diplotaenia</i>	99.69	<i>B. diplotaenia</i>	100
REEF0099	<i>Bodianus diplotaenia</i>	<i>B. diplotaenia</i>	100	<i>B. diplotaenia</i>	100
REEF0101	<i>Bodianus diplotaenia</i>	<i>B. diplotaenia</i>	99.54	<i>B. diplotaenia</i>	99.85
REEF0163	<i>Bodianus diplotaenia</i>	<i>B. diplotaenia</i>	99.85	<i>B. diplotaenia</i>	100
REEF0130	<i>Centropomus nigricensis</i>	<i>C. viridis/</i> <i>C. nigricensis</i>	100 99.85	<i>C. viridis/</i> <i>C. nigricensis</i>	100 100
REEF0131	<i>Centropomus nigricensis</i>	<i>C. viridis/</i> <i>C. nigricensis</i>	100 99.85	<i>C. viridis/</i> <i>C. nigricensis</i>	100 100
REEF0063	<i>Cephalopholis panamensis</i>	<i>C. cruentata</i>	95.11	<i>C. panamensis</i>	100

REEF0048	<i>Chaetodon humeralis</i>	<i>C. ocellatus</i>	95.07	<i>C. humeralis</i>	100
REEF0112	<i>Chaetodon humeralis</i>	<i>C. ocellatus</i>	95.22	<i>C. humeralis</i>	100
REEF0125	<i>Chaetodon humeralis</i>	<i>C. ocellatus</i>	95.12	<i>C. humeralis</i>	100
REEF0175	<i>Chaetodon humeralis</i>	<i>C. ocellatus</i>	95.07	<i>C. humeralis</i>	100
REEF0197	<i>Chaetodon humeralis</i>	<i>C. ocellatus</i>	95.07	<i>C. humeralis</i>	100
REEF0052	<i>Cheilodactylus variegatus</i>	<i>C. variegatus</i>	99.69	<i>C. variegatus</i>	99.69
REEF0057	<i>Cheilodactylus variegatus</i>	<i>C. variegatus</i>	100	<i>C. variegatus</i>	100
REEF0080	<i>Cheilodactylus variegatus</i>	<i>C. variegatus</i>	100	<i>C. variegatus</i>	100
REEF0083	<i>Cheilodactylus variegatus</i>	<i>C. variegatus</i>	99.85	<i>C. variegatus</i>	100
REEF0085	<i>Cheilodactylus variegatus</i>	<i>C. variegatus</i>	99.24	<i>C. variegatus</i>	99.67
REEF0074	<i>Cirrhitus rivulatus</i>	<i>C. rivulatus</i>	99.83	<i>C. rivulatus</i>	100
REEF0050	<i>Cratinus agassizii</i>	<i>C. agassizii</i>	99.85	<i>C. agassizii</i>	100
REEF0062	<i>Cratinus agassizii</i>	<i>C. agassizii</i>	99.85	<i>C. agassizii</i>	100
REEF0082	<i>Cratinus agassizii</i>	<i>C. agassizii</i>	99.85	<i>C. agassizii</i>	100
REEF0087	<i>Cratinus agassizii</i>	<i>C. agassizii</i>	99.54	<i>C. agassizii</i>	99.69
REEF0110	<i>Cratinus agassizii</i>	<i>C. agassizii</i>	99.85	<i>C. agassizii</i>	100
REEF0027	<i>Decodon melasma</i>	<i>D. melasma</i>	100	<i>D. melasma</i>	100
REEF0171	<i>Epinephelus labriformis</i>	<i>E. labriformis</i>	100	<i>E. labriformis</i>	100
REEF0127	<i>Gerres simillimus</i>	<i>G. simillimus</i>	100	<i>G. cinereus/ G. simillimus</i>	100 100
REEF0007	<i>Halichoeres dispilus</i>	<i>H. dispilus</i>	98.01	<i>H. dispilus</i>	100
REEF0008	<i>Halichoeres dispilus</i>	<i>H. dispilus</i>	98.01	<i>H. dispilus</i>	100
REEF0024	<i>Halichoeres dispilus</i>	<i>H. dispilus</i>	97.08	<i>H. dispilus</i>	100
REEF0037	<i>Halichoeres dispilus</i>	<i>H. dispilus</i>	98.01	<i>H. dispilus</i>	100
REEF0038	<i>Halichoeres dispilus</i>	<i>H. dispilus</i>	98.01	<i>H. dispilus</i>	100
REEF0071	<i>Halichoeres dispilus</i>	<i>H. dispilus</i>	98.01	<i>H. dispilus</i>	100
REEF0173	<i>Halichoeres dispilus</i>	<i>H. dispilus</i>	97.85	<i>H. dispilus</i>	100
REEF0157	<i>Halichoeres notospilus</i>	<i>H. notospilus</i>	100	<i>H. notospilus</i>	100
REEF0227	<i>Hyporthodus acanthistius</i>	<i>H. acanthistius</i>	100	<i>H. acanthistius</i>	100
REEF0236	<i>Hyporthodus acanthistius</i>	<i>H. acanthistius</i>	100	<i>H. acanthistius</i>	100
REEF0010	<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	<i>Heniochus monoceros</i>	88.18	<i>J. nigrirostris</i>	99.68
REEF0065	<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	<i>Heniochus monoceros</i>	88.63	<i>J. nigrirostris</i>	100
REEF0178	<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	<i>Heniochus monoceros</i>	88.63	<i>J. nigrirostris</i>	100
REEF0179	<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	<i>Heniochus monoceros</i>	88.79	<i>J. nigrirostris</i>	100
REEF0084	<i>Kyphosus elegans</i>	<i>K. cinerascens</i>	99.69	<i>K. elegans/ K. cinerascens</i>	100 99.69
REEF0115	<i>Kyphosus elegans</i>	<i>K. cinerascens</i>	99.85	<i>K. elegans/ K. cinerascens</i>	100 99.85
REEF0081	<i>Kyphosus vaigiensis</i>	<i>K. vaigiensis/ K. incisor</i>	99.08 99.08	<i>K. vaigiensis</i>	100
REEF0097	<i>Kyphosus vaigiensis</i>	<i>K. vaigiensis/ K. incisor</i>	99.24 99.24	<i>K. vaigiensis</i>	100
REEF0114	<i>Kyphosus vaigiensis</i>	<i>K. vaigiensis/ K. incisor</i>	98.78 98.78	<i>K. vaigiensis</i>	99.84
REEF0076	<i>Lutjanus argentiventris</i>	<i>L. argentiventris</i>	100	<i>L. argentiventris</i>	100
REEF0093	<i>Microlepidotus brevipinnis</i>	<i>M. brevipinnis</i>	99.83	<i>M. brevipinnis</i>	100
REEF0098	<i>Mycteroperca xenarcha</i>	<i>M. xenarcha</i>	100	<i>M. xenarcha</i>	100
REEF0039	<i>Nicholsina denticulata</i>	<i>N. denticulata</i>	99.23	<i>N. denticulata</i>	100

REEF0073	<i>Nicholsina denticulata</i>	<i>N. denticulata</i>	99.54	<i>N. denticulata</i>	99.69
REEF0102	<i>Nicholsina denticulata</i>	<i>N. denticulata</i>	99.08	<i>N. denticulata</i>	99.84
REEF0106	<i>Nicholsina denticulata</i>	<i>N. denticulata</i>	100	<i>N. denticulata</i>	100
REEF0128	<i>Nicholsina denticulata</i>	<i>N. denticulata</i>	99.69	<i>N. denticulata</i>	100
REEF0129	<i>Nicholsina denticulata</i>	<i>N. denticulata</i>	99.23	<i>N. denticulata</i>	100
REEF0018	<i>Oplegnathus insignis</i>	<i>O. woodwardi</i>	89.26	<i>O. insignis</i>	100
REEF0019	<i>Oplegnathus insignis</i>	<i>O. woodwardi</i>	89.26	<i>O. insignis</i>	100
REEF0012	<i>Paralabrax callaensis</i>	<i>Paralabrax humeralis</i>	97.40	<i>P. callaensis</i>	100
REEF0013	<i>Paralabrax callaensis</i>	<i>Paralabrax humeralis</i>	97.40	<i>P. callaensis</i>	100
REEF0032	<i>Paralabrax callaensis</i>	<i>Paralabrax humeralis</i>	97.40	<i>P. callaensis</i>	100
REEF0184	<i>Paranthias colonus</i>	<i>P. colonus</i>	99.23	<i>P. colonus</i>	100
REEF0047	<i>Pomacanthus zonipectus</i>	<i>P. zonipectus</i>	99.69	<i>P. zonipectus</i>	99.85
REEF0059	<i>Pomacanthus zonipectus</i>	<i>P. zonipectus</i>	100	<i>P. zonipectus</i>	100
REEF0124	<i>Pomacanthus zonipectus</i>	<i>P. zonipectus</i>	100	<i>P. zonipectus</i>	100
REEF0030	<i>Pronotogrammus multifasciatus</i>	<i>Pronotogrammus martinicensis</i>	87.98	<i>P. multifasciatus</i>	100
REEF0023	<i>Serranus huascarii</i>	<i>Serranus notospilus</i>	86.66	<i>S. huascarii</i>	100
REEF0155	<i>Serranus psittacinus</i>	<i>Serranus chionaraia</i>	85.43	<i>S. psittacinus</i>	100
REEF0159	<i>Serranus psittacinus</i>	<i>Serranus chionaraia</i>	85.43	<i>S. psittacinus</i>	100
REEF0160	<i>Serranus psittacinus</i>	<i>Serranus chionaraia</i>	85.43	<i>S. psittacinus</i>	100
REEF0068	<i>Thalassoma lucasanum</i>	<i>T. lucasanum</i>	100	<i>T. lucasanum</i>	100
REEF0069	<i>Thalassoma lucasanum</i>	<i>T. lucasanum</i>	99.84	<i>T. lucasanum</i>	99.84
REEF0070	<i>Thalassoma lucasanum</i>	<i>T. lucasanum</i>	99.69	<i>T. lucasanum</i>	99.84
REEF0072	<i>Thalassoma lucasanum</i>	<i>T. lucasanum</i>	99.85	<i>T. lucasanum</i>	99.84

Para la mayoría de las muestras, la identificación usando el gen COI concordó con la identificación morfológica. Dado que algunas especies no presentaron registros en la plataforma del NCBI para nuestro marcador, la herramienta BLASTn mostró como resultado otra especie más parecida (es decir, con el porcentaje de identidad más alto). Esto se observó en muestras de *Cephalopholis panamensis* (*Cephalopholis cruentata* – 95.11%), *Chaetodon humeralis* (*Chaetodon ocellatus* – 95.07%), *Johnrandallia nigrirostris* (*Heniochus monoceros* – 88.79%), *Pronotogrammus multifasciatus* (*Pronotogrammus martinicensis* - 87.98%), *Oplegnathus insignis* (*Oplegnathus woodwardi* – 89.26%), *Serranus huascarii* (*Serranus notospilus* – 86.66%) y *Serranus psittacinus* (*Serranus chionaraia* – 85.43%). Sin embargo, los casos más resaltantes se observaron en especies donde la identificación morfológica y molecular no coincidieron utilizando tanto el BOLD Systems como el NCBI; donde se obtuvieron valores de %ID

por encima de 99% para más de una especie, como sucedió en especies de las familias Centropomidae, Gerreidae y Kyphosidae del orden Perciformes.

De esta manera, las muestras REEF0130 Y REEF0131, identificadas como *Centropomus nigricensis* (Perciformes: Centropomidae), fueron identificadas como *Centropomus viridis* tanto por el BOLD como el NCBI. Igualmente, se observó que las muestras REEF0084, REEF0115, identificadas como *Kyphosus elegans* y REEF0081, REEF0097, REEF0114; identificadas como *Kyphosus vaigiensis*, fueron identificadas también como *Kyphosus cinerascens* y *Kyphosus incisor*, respectivamente, por ambas bases de datos. Por su parte, la muestra REEF0127 (*Gerres simillimus*), fue identificada solamente por el BOLD Systems como *Gerres cinereus*.

Podemos especular, a partir de estos casos, que se cometieron errores durante la identificación morfológica de nuestras muestras. Para corroborar esto, se analizaron las secuencias del gen COI de *K. elegans* y *K. cinerascens* del BOLD y NCBI junto a nuestras secuencias de la familia Kyphosidae, utilizando el método de agrupamiento NJ con el modelo K2P (Kimura, 1980) y el método de Inferencia Bayesiana con el modelo evolutivo HKY (Hasegawa, *et al.*, 1985).

El marcador diferenció 2 grupos: una rama con muestras de *K. vaigiensis* y otra con las muestras de *K. cinerascens* de China, Australia y Taiwán; mientras que las secuencias de *K. elegans* quedaron dispersas junto a la rama de *K. cinerascens*, sin formar un grupo único. (Figura 7). Por su parte, en la inferencia bayesiana se formaron 3 ramas, una para cada especie (Figura 8). Aquí, las muestras de *K. cinerascens* se agruparon en un solo clado con un soporte del 99%. Las muestras de *K. elegans* también se agruparon en una sola rama; pero con un valor de bajo soporte (34%).

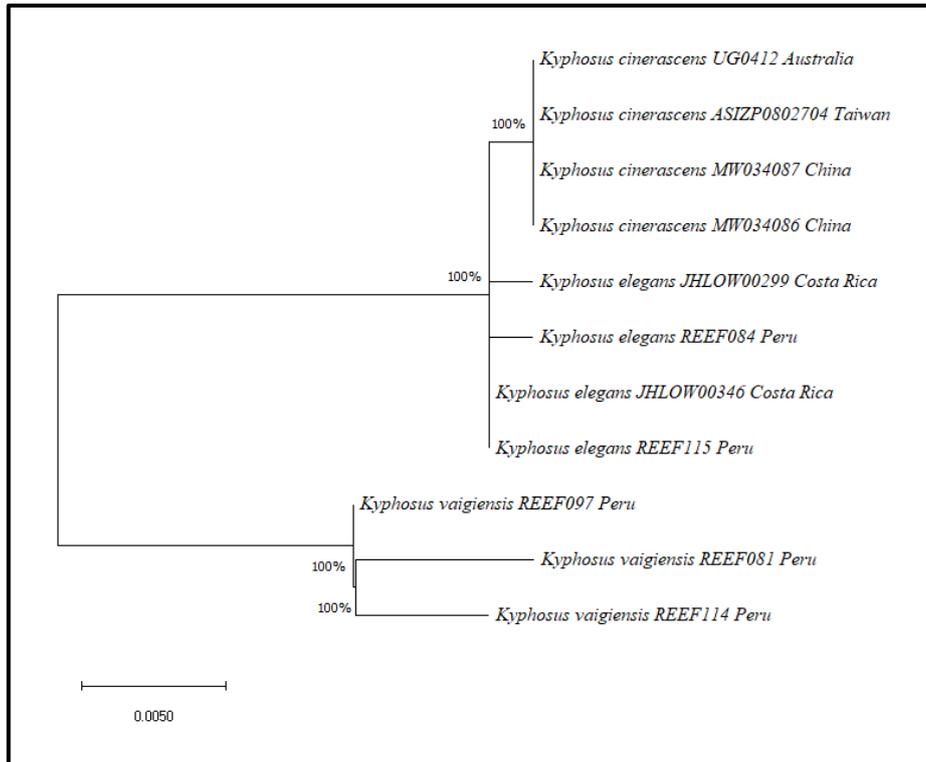


Figura 7. Árbol NJ obtenido a partir del gen COI y el modelo de sustitución K2P para nuestras muestras de la familia Kyphosidae y las muestras de *K. cinerascens* y *K. elegans* del BOLD y el NCBI. (Los valores en los nodos corresponden al soporte de *bootstrap* para las ramas).

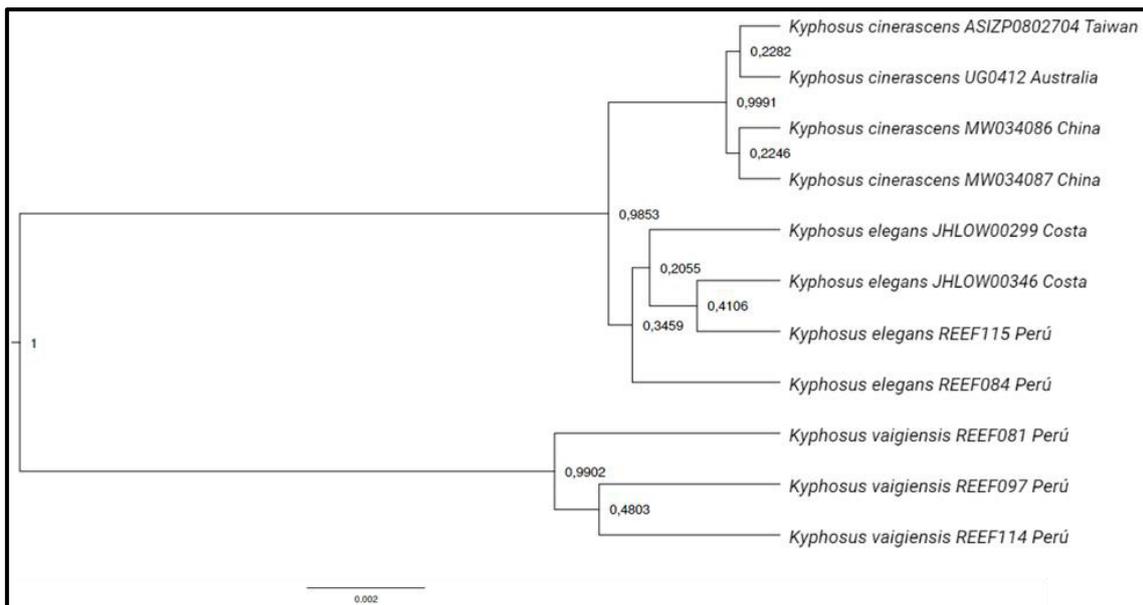


Figura 8. Árbol de Inferencia Bayesiana obtenido a partir del modelo evolutivo HKY para las nuestras muestras de la familia de Kyphosidae y de las bases de datos. (Los valores en los nodos corresponden al soporte de probabilidad posterior para las ramas)

Adicionalmente, se revisó los *vouchers* de las muestras REEF084 y REEF115, comparando sus fotos con imágenes de *K. cinerascens* de la literatura. La diferencia más notoria observada fueron las aletas dorsal y anal elevadas en fotografías de *K cinerascens* (Figura 9). En fotografías en fresco, se pueden apreciar el mismo carácter y variaciones en la coloración externa entre los individuos (ver Anexo 4).

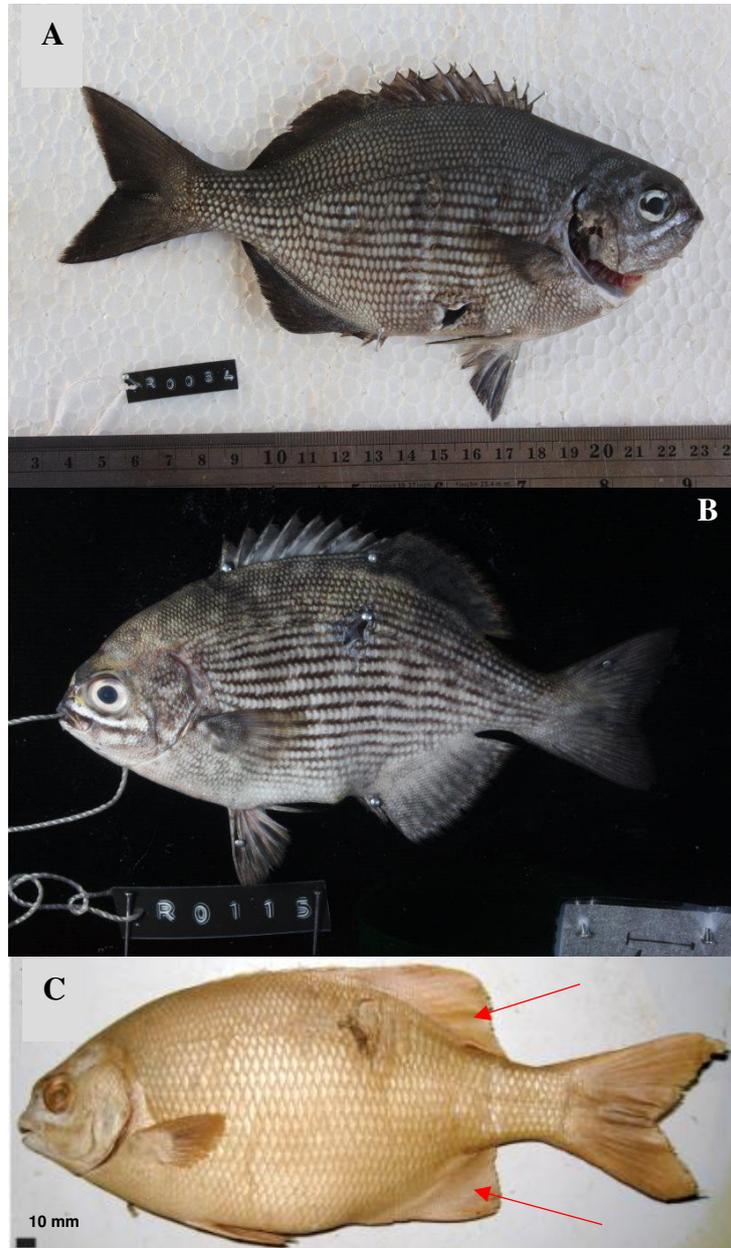


Figura 9. A: Muestra REEF0084 – *K. elegans*, con coloración gris –plateada. B: Muestra REEF0115 – *K. elegans*, coloración con manchas blancas irregulares en el cuerpo. C: Paratipo de *Pachymetopon squamosum*. (Sinónimo de *K. cinerascens* - Tomado de Knudsen & Clements, 2013). (Las flechas indican las aletas dorsal y anal elevadas)

IV.2 Análisis filogenético y de distancias

El árbol obtenido a partir del método Neighbor-J con el modelo K2P (Kimura, 1980) se puede observar en el Anexo 5. La tabla 4, que se generó por el paquete Spdel, presenta los valores de distancia alcanzados y el vecino más próximo de cada especie identificada.

Tabla 4. Distancias genéticas obtenidas a partir del método K2P. (Mean Intra: distancia intraespecífica promedio, Max Intra: máxima distancia intraespecífica, NN: Nearest Neighbor o Vecino más cercano, DtoNN: distancia al vecino más cercano o distancia interespecífica).

Espece	Mean Intra	Max Intra	NN	DtoNN
<i>Alphestes immaculatus</i>	0.31	0.31	<i>Alphestes multiguttatus</i>	6.94
<i>Alphestes multiguttatus</i>	0.92	0.92	<i>Alphestes immaculatus</i>	6.94
<i>Anisotremus interruptus</i>	0.20	0.31	<i>Microlepidotus brevipinnis</i>	15.70
<i>Bodianus diplotaenia</i>	0.26	0.61	<i>Paralabrax callaensis</i>	17.81
<i>Centropomus nigricensis</i>	0.000	0.00	<i>Decodon melasma</i>	21.21
<i>Cephalopholis panamensis</i>	NaN	0.00	<i>Paranthias colonus</i>	18.85
<i>Chaetodon humeralis</i>	0.58	1.23	<i>Anisotremus interruptus</i>	20.93
<i>Cheilodactylus variegatus</i>	0.43	0.92	<i>Oplegnathus insignis</i>	14.96
<i>Cirrhitus rivulatus</i>	NaN	0.00	<i>Oplegnathus insignis</i>	17.70
<i>Cratinus agassizii</i>	0.12	0.31	<i>Paralabrax callaensis</i>	12.08
<i>Decodon melasma</i>	NaN	0.00	<i>Paranthias colonus</i>	20.94
<i>Epinephelus labriiformis</i>	NaN	0.00	<i>Mycteroperca xenarcha</i>	15.70
<i>Gerres simillimus</i>	NaN	0.00	<i>Mycteroperca xenarcha</i>	19.21
<i>Halichoeres dispilus</i>	0.80	2.49	<i>Halichoeres notospilus</i>	14.63
<i>Halichoeres notospilus</i>	NaN	0.00	<i>Halichoeres dispilus</i>	14.63
<i>Hyporthodus acanthistius</i>	0.15	0.15	<i>Alphestes multiguttatus</i>	12.07
<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	0.46	0.92	<i>Oplegnathus insignis</i>	21.06
<i>Kyphosus elegans</i>	0.15	0.15	<i>Kyphosus vaigiensis</i>	2.50
<i>Kyphosus vaigiensis</i>	0.82	1.23	<i>Kyphosus elegans</i>	2.50
<i>Lutjanus argentiventris</i>	NaN	0.00	<i>Kyphosus elegans</i>	16.03
<i>Microlepidotus brevipinnis</i>	NaN	0.00	<i>Anisotremus interruptus</i>	15.70
<i>Mycteroperca xenarcha</i>	NaN	0.00	<i>Hyporthodus acanthistius</i>	12.49
<i>Nicholsina denticulata</i>	0.66	1.27	<i>Bodianus diplotaenia</i>	20.77
<i>Oplegnathus insignis</i>	0.000000	0.00	<i>Kyphosus elegans</i>	14.84
<i>Paralabrax callaensis</i>	0.10	0.15	<i>Cratinus agassizii</i>	12.08
<i>Paranthias colonus</i>	NaN	0.00	<i>Alphestes immaculatus</i>	16.89
<i>Pomacanthus zonipectus</i>	0.20	0.31	<i>Cirrhitus rivulatus</i>	19.73
<i>Pronotogrammus multifasciatus</i>	NaN	0.00	<i>Kyphosus vaigiensis</i>	20.35
<i>Serranus huascarii</i>	NaN	0.00	<i>Paralabrax callaensis</i>	17.17
<i>Serranus psittacinus</i>	0.101900	0.15285	<i>Paralabrax callaensis</i>	19.15
<i>Thalassoma lucasanum</i>	0.383205	0.46013	<i>Halichoeres notospilus</i>	17.30

Aquí podemos observar que para las secuencias identificadas como *Halichoeres dispilus* (Labridae: Labriformes) se observó una variación intraespecífica máxima por encima del 2% (2.49%); mientras que las especies *Kyphosus elegans* y *Kyphosus vaigiensis* (Kyphosidae: Perciformes) presentaron la menor distancia interespecífica (2.50%).

Para poder interpretar estos resultados, se graficaron los valores de máxima distancia intraespecífica (eje x) vs las mínimas distancias interespecíficas (eje y); con un límite de corte del 2%, dividiendo la gráfica en 4 cuadrantes (Ver figura 10). Según Hebert *et al.* (2004), los cuadrantes se definen como: (I) distancia intraespecífica <2%; distancia interespecífica >2%, conforme con la actual taxonomía; (II) distancia intraespecífica >2%; distancia interespecífica >2%; probablemente especies diferentes, candidatas a división taxonómica; (III) distancia intraespecífica <2%; distancia interespecífica <2%; reciente divergencia, hibridación o sinonimia; (IV) distancia intraespecífica >2%; distancia interespecífica <2%, probablemente una identificación errónea.

De esta manera, un gran número de especies se ubicaron en el cuadrante (I), lo cual nos podría indicar que la identidad taxonómica de estas fue conforme. Sin embargo, hay que aclarar que para 12 especies se trabajó únicamente con un ejemplar, por lo que para esos casos no fue posible calcular un valor de distancia intraespecífica; mientras que para aquellas muestras con más de un ejemplar que resultaron en el primer cuadrante, podemos decir que la identificación mediante el uso del código de barras fue correcta. Por su parte, el caso más resaltante fue el de *Halichoeres dispilus*, que ubicándose en el cuadrante (II) nos indicaría una posible separación taxonómica entre sus especímenes que habitan en el POT.

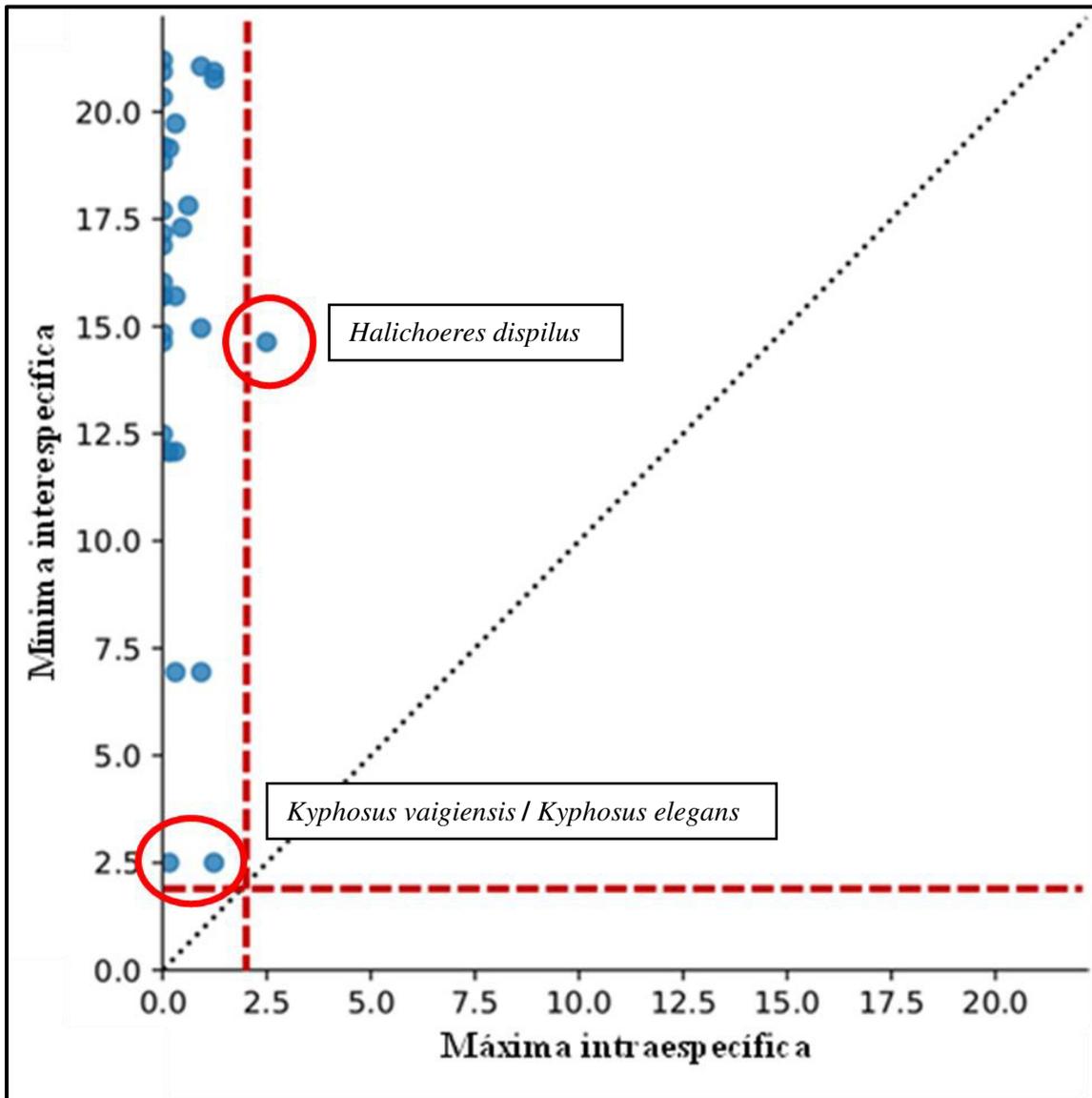


Figura 10. Máxima distancia intraespecífica vs Mínima distancia interespecífica. En círculo se señalan los casos correspondientes a los valores más cercanos al 2%.

Se procedió a realizar una construcción filogenética con el método de NJ y el modelo K2P (Kimura, 1980) utilizando las muestras de *Halichoeres dispilus* disponibles en el BOLD Systems (ver Figura 11). El árbol obtenido nos muestra 3 grupos definidos: el primero que corresponde a todas las muestras correspondientes al archipiélago de los Galápagos (Insular); agrupadas junto con la muestra REEF0024 de Isla Foca; un segundo clado con una muestra de *H. dispilus* procedente de Baja California y el último con muestras procedentes de las costas de Panamá y nuestras muestras del norte del Perú (Panámica).

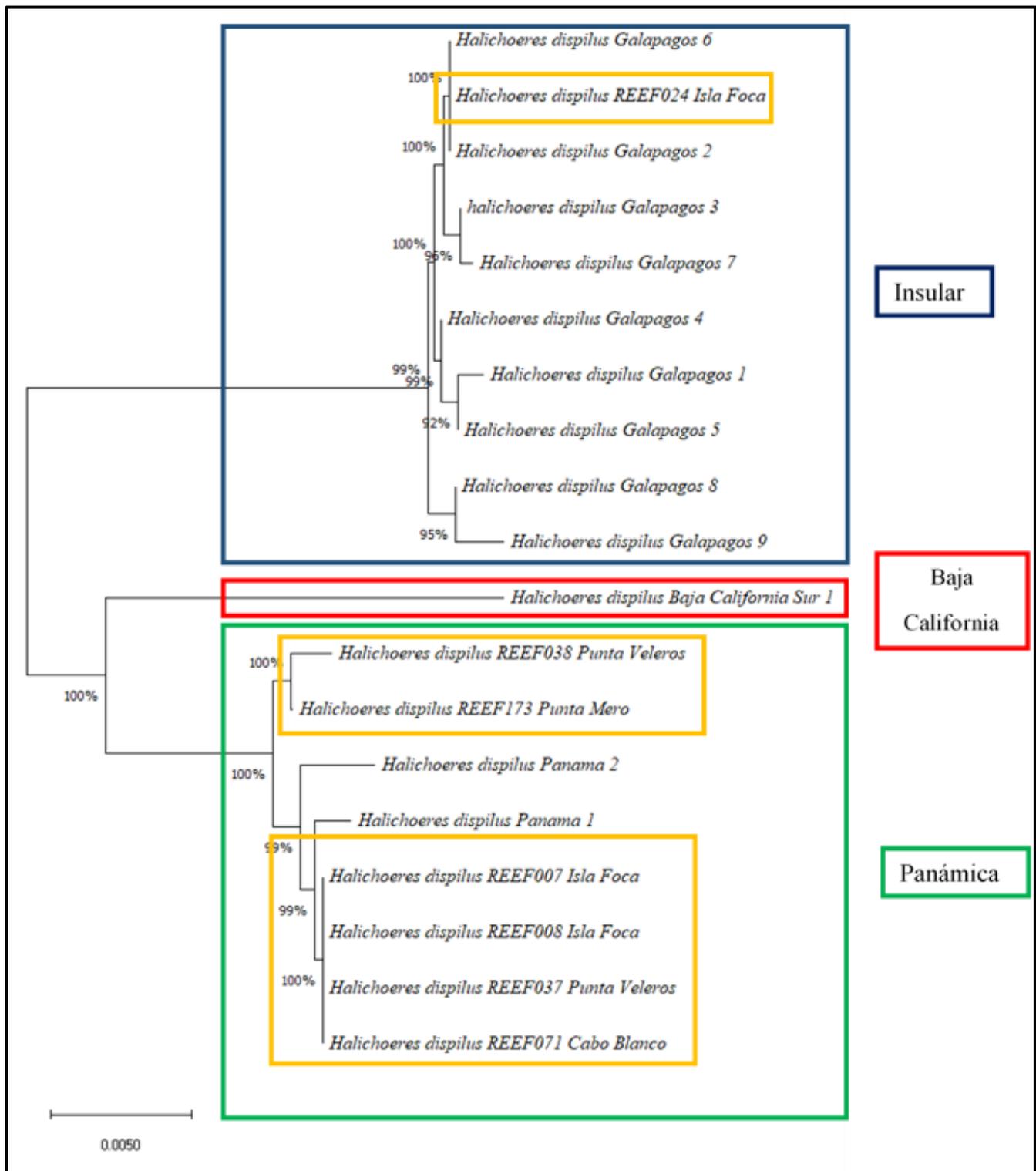


Figura 11. Árbol obtenido por el método NJ con el modelo K2P en MEGA X. En amarillo: muestras provenientes de las colectas; En azul: muestras de *H. dispilus* insulares; En rojo: muestras de *H. dispilus* de Baja California; En verde: muestras de *H. dispilus* de la provincia Panámic. (Los valores en los nodos corresponden al soporte de *bootstrap* para las ramas.

Se compararon las fotografías de los especímenes de *H. dispilus* para observar diferencias externas en su coloración; entre la muestra REEF024 y el resto de muestras colectadas en Perú (Figura 12). Desafortunadamente, no se pudo realizar el mismo análisis para las muestras de los Galápagos, Panamá y Baja California debido a que sus registros en el BOLD Systems no contaban con fotografías de los *vouchers*.



Figura 12. Muestras de *Halichoeres dispilus*. Arriba a la izquierda: adultos de *H. dispilus*. Arriba a la derecha: individuos juveniles de *H. dispilus*. Abajo: Muestra REEF0024, colectada en Isla Foca y agrupada junto a las muestras del archipiélago de los Galápagos (Por su coloración corresponde a un espécimen juvenil, sin marcadas diferencias con las demás muestras de juveniles).

IV.3 Delimitación de especies

El árbol obtenido a partir de la inferencia bayesiana sirvió para la realización de los diferentes análisis de delimitación. Los MOTUs resultantes variaron dependiendo del modelo implementado (Figuras 13, 14 y 15).

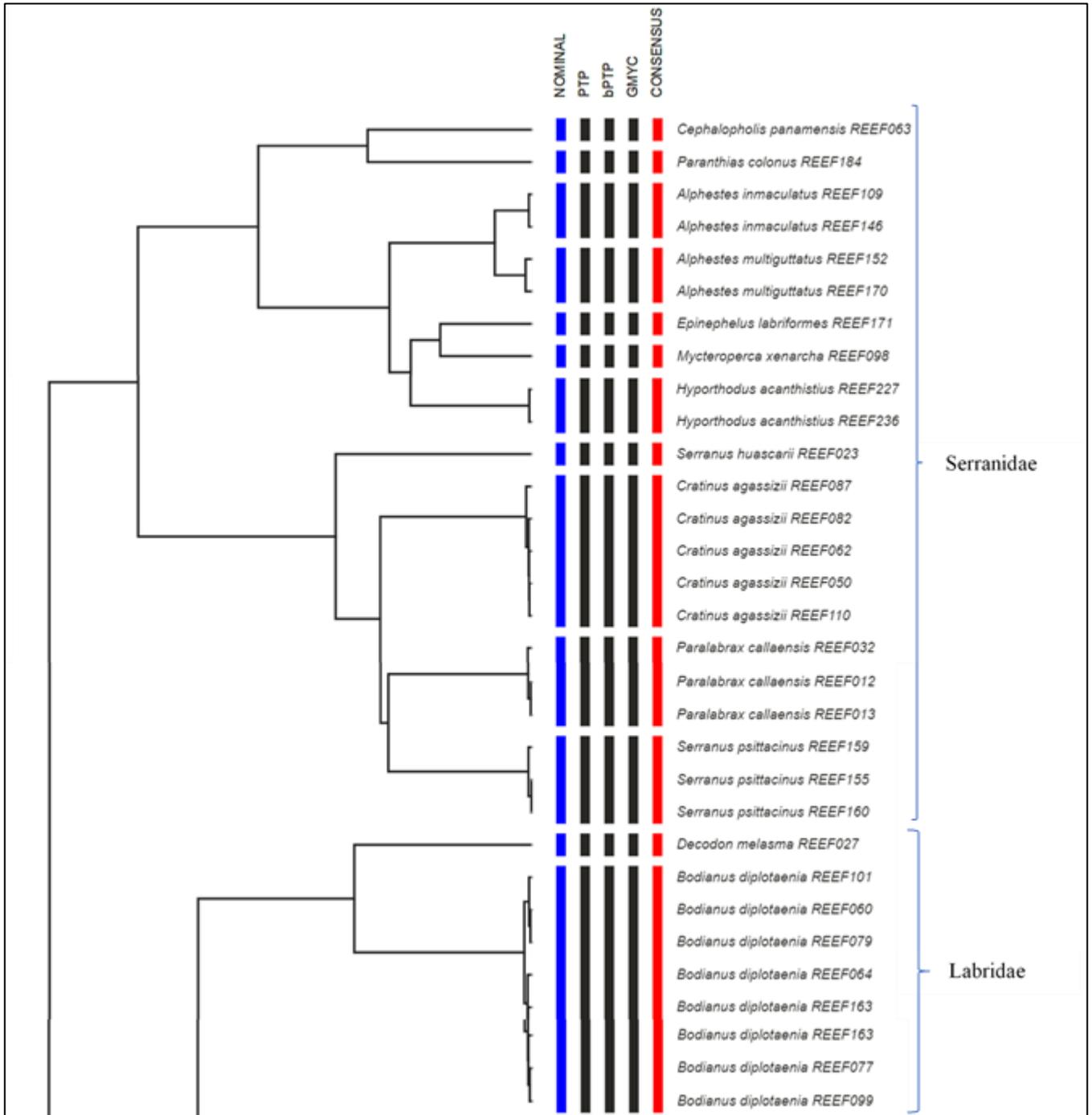


Figura 13. Árbol de Inferencia Bayesiana que muestra el agrupamiento de MOTUs obtenidos por los análisis de delimitación de especies de las familias Serranidae y Labridae

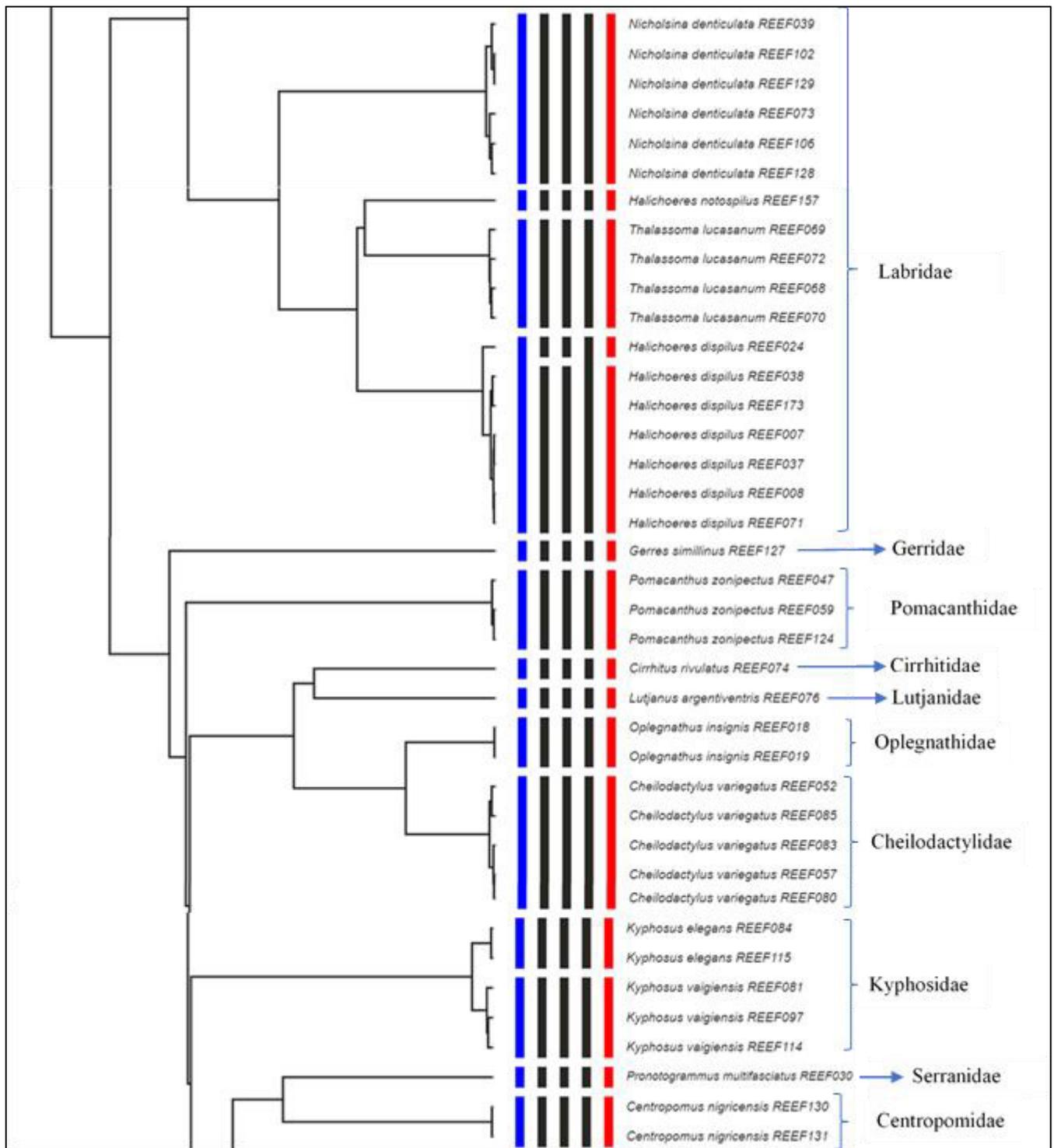


Figura 14. Árbol de Inferencia Bayesiana que muestra el agrupamiento de MOTUs obtenidos por los análisis de delimitación de especies de las familias Labridae (cont.), Pomacanthidae, Gerreidae, Cirrhitidae, Lutjanidae, Oplegnathidae, Cheilodactylidae, Kyphosidae y Centropomidae.

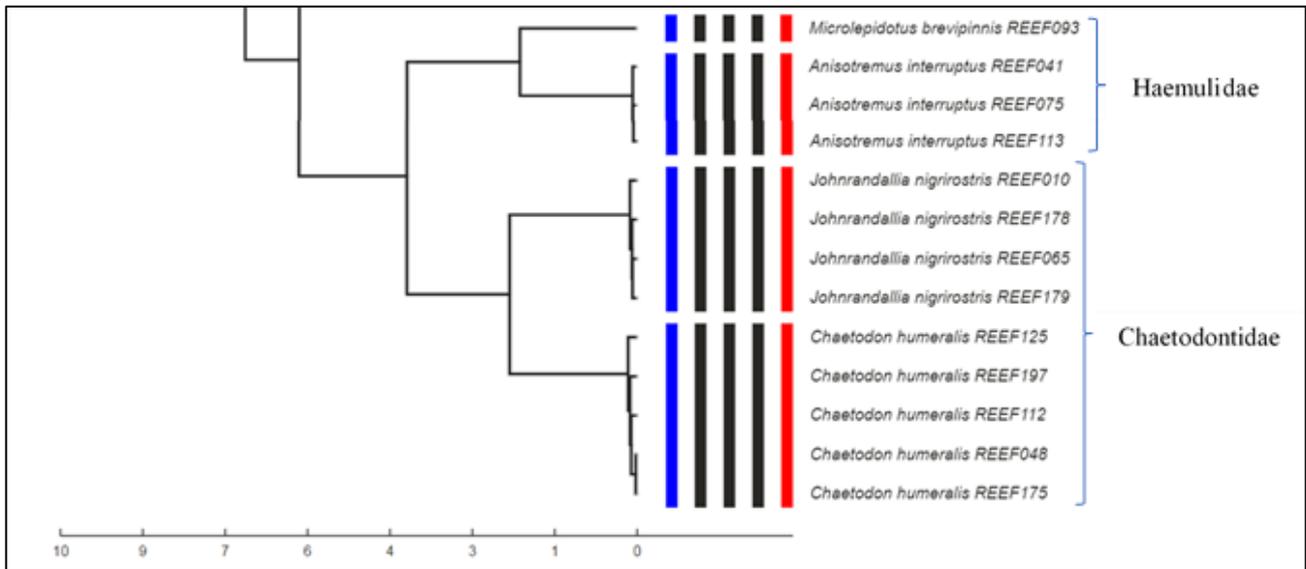


Figura 15. Árbol de Inferencia Bayesiana que muestra el agrupamiento de MOTUs obtenidos por los análisis de delimitación de especies de las familias Haemulidae y Chaetodontidae.

Para el modelo GMYC, se resolvieron 31 MOTUs. Por su parte, a partir de los modelos de bPTP y PTP, se resolvieron 32 MOTUs, con un soporte para el MOTU adicional del 0.516 y 1.0 respectivamente. El MOTU adicional resuelto se formó a partir de la muestra REEF0024 – *Halichoeres dispilus*; el cual se agrupó con el resto de las muestras de la misma especie para el GMYC, pero no para el resto de los modelos (Figura 14). Es importante indicar que la muestra REEF0024 fue colectada en Isla Foca (Paita – Piura), junto con otras muestras de la misma localidad y en general, de la costa norte del Perú.

V. DISCUSION

Los peces son el grupo más grande de vertebrados, con una notable diversidad de rasgos morfológicos y adaptaciones biológicas que permiten la colonización de variedad de hábitats y distinción de otras especies (Nelson *et al.*, 2016). Sin embargo, la gran cantidad de variaciones intraespecíficas o superposiciones interespecíficas convierten en un desafío la identificación de peces para los taxónomos cuando se evalúan estructuras comunitarias con biotas ricas, como suceden en los arrecifes de aguas tropicales (Allen & Adrim, 2003, Dominici & Wolf, 2006). De esta manera, los sesgos que pueden presentarse durante la identificación basada en la morfología, pueden complementarse con un enfoque molecular para el reconocimiento de especies (Zhang & Hanner, 2011).

En este trabajo, la identificación para los peces de los órdenes Labriformes y Perciformes mediante el gen mitocondrial COI, en su mayoría, concordó con la identificación morfológica de los mismos, pudiendo así validar su uso como un marcador eficiente para la identificación de peces de arrecifes. De las 31 especies analizadas en este trabajo, 7 especies representaron nuevos registros para las bases de datos del NCBI; mientras que 4 especies mostraron problemas durante su identificación.

Dada la precisión del método para el resto de las muestras, existen 2 probables explicaciones para las muestras REEF0130 y REEF0131 (*Centropomus*): (I) Error en la identificación tanto de nuestras muestras y/o en las de las bases de datos: al ser especies muy semejantes es usual confundirlas o (II) Especies de divergencia reciente, por lo que el DNA Barcoding no puede distinguirlas. La taxonomía del género *Centropomus* en el Atlántico y el Pacífico fue exhaustivamente revisada por De Figueiredo-Filho *et al.* (2021), mediante el análisis morfológico, morfométrico y molecular de sus representantes. En su trabajo, quedó evidenciada la existencia de una elevada sobreposición de caracteres morfológicos (número de escamas en la línea lateral, número

de branquias en los arcos branquiales, longitud total) en las especies de este género, lo cual puede con llevar a muchos errores durante su identificación; mientras que, molecularmente, no se resolvieron las relaciones filogenéticas de muchos de sus representantes, resaltando el caso de *C. nigrescens* y *C. viridis*, las cuales fueron agrupadas dentro de un mismo MOTU al realizar la delimitación de especies utilizando el gen COI (ver Anexo 6). En base a esto, los autores señalan que la gran similitud de estos peces se asociaría a eventos de reciente especiación, relacionadas con adaptaciones locales.

Para la muestra REEF0127 (*G. simillimus*) se observó un 100% de similitud en el BOLD Systems para *G. simillimus* y *G. cinereus*. El estado taxonómico del género *Gerres* en el Neotrópico estuvo en debate desde que Regan (1907), designó que los individuos que habitaban el POT eran distintos a aquellos que habitaban el Atlántico occidental; encontrándose dos morfotipos en ambas costas del continente. No fue hasta Burnes (2009), quien en su Tesis de Maestría hizo una revisión morfológica, merística y morfométrica de los individuos a ambos lados del continente, encontrado evidencia que soporta la hipótesis de Regan (1907). Más adelante, saldría a la luz la evidencia molecular que permitiría su separación formal en 2 especies. García *et al.*, (2019), usando diferentes marcadores nucleares y mitocondriales, resolvería las relaciones filogenéticas entre individuos de ambas partes. Por ejemplo, a partir del gen COI y usando el modelo K2P, el árbol obtenido (ver Anexo 7.) a partir del método NJ fue capaz de mostrar una clara separación de dos clados (con un 2.26% de diferenciación), uno correspondiente al POT: *G. simillimus* y otro al Atlántico occidental: *G. cinereus*, descrita ahora desde el Caribe y las Antillas hasta la costa de Brasil (Robertson *et al.* 2019).

A partir de esto, es necesaria la actualización de la información taxonómica en las bases de datos del BOLD y el NCBI. De manera similar, en el “Catálogo Comentado de Peces

Marinos del Perú” de Chirichigno & Cornejo (2001), aparece registrada la especie *G. cinereus* y, dado que *G. simillimus* es la única especie del Género *Gerres* descrita para el POT, debería de ser revisada tanto morfológicamente como molecularmente para corroborar y finalmente actualizar la data con el nombre apropiado.

V.1 Identidad taxonómica y análisis de distancia: caso familia Kyphosidae

La familia Kyphosidae corresponde a una importante fracción de las comunidades de peces de arrecifes (rocosos y coralinos) que, al ser peces herbívoros, consumen las comunidades de macroalgas tanto en arrecifes tropicales y templados (Knudsen & Clements, 2016). No obstante, la falta de diferenciación de caracteres morfológicos ha complicado tanto su identificación como la evaluación taxonómica de sus especies. Como resultado, diversos autores (Knudsen & Clements, 2013; Sakai & Nakabo, 2014) han presentado contradicciones respecto al número de especies válidas que albergan dentro de la familia y de los caracteres morfológicos y merísticos que permitan su identificación; lo que conduce a errores de identificación, sinonimia y cuestiones sobre su distribución espacial (Valencia, 2016; Bañon *et al.*, 2017; Valencia, 2018).

Knudsen & Clements (2013) describieron en total 11 especies válidas de peces kyphósidos; de las cuales *Kyphosus azureus*, *Kyphosus elegans*, *Kyphosus ocyurus* y *Kyphosus vaigiensis* pueden encontrarse el Pacífico Oriental. Más adelante, en su posterior trabajo (Knudsen & Clements, 2016), se determinó que muchas especies (*Kyphosus vaigiensis*, principalmente) pueden presentar una distribución en todos los océanos tropicales (pan tropical), un factor que explicaría los errores de identificación de esta familia.

Para la identificación morfológica, se utilizó la clave confeccionada por Knudsen & Clements (2013) y las descripciones ofrecidas por los autores; para la identificación de las muestras REEF0084, REEF0115 (identificadas como *K. elegans*), REEF0081,

REEF0097, REEF0114 (identificadas como *K. vaigiensis*) de la familia Kyphosidae dentro del POT. La identificación molecular del primer par de muestras, a partir del gen COI, mediante las herramientas del BOLD Systems concordó con la misma realizada con las claves de identificación (100% identidad con *K. elegans*); sin embargo, se obtuvo también un valor del 99.89% para la especie *K. cinerascens*, cosa que también sucedió mediante la herramienta BLASTn del NCBI, que lanzó como resultado a la misma especie con un alto porcentaje de identidad (99.69%). De manera similar, las construcciones filogenéticas (NJ y bayesiano) agruparon las secuencias de *K. cinerascens*, con un alto valor de soporte en su nodo (100% de soporte de *bootstrap* y 99% de probabilidad posterior, respectivamente), y separadas de las muestras de *K. elegans*; las cuales estuvieron dispersas junto a la rama de *K. cinerascens* en el NJ pero se agruparon en una rama en el análisis bayesiano; pudiendo ser considerados grupos recíprocamente monofiléticos pero, al no estar soportada la rama de *K. elegans* (0.349 de prob. posterior), no es posible llegar a una conclusión, desde el punto de vista filogenético. En cambio, desde el punto de vista de identificación, al no mezclarse en la construcción bayesiana, podemos afirmar que son especies diferentes e identificables por el gen COI.

Morfológicamente, *K. cinerascens* y *K. elegans* comparten un número similar de banquiespinas (25-30 y 24 -27, respectivamente) (Knudsen & Clements, 2016). Sin embargo, un carácter que permitió la distinción entre ambas especies fue la gran elevación de las aletas anal y dorsal; observable en las fotos de *K. cinerascens*, pero ausente en las muestras REEF0084 y REEF0115. Knudsen & Clements (2013) comentan que estos caracteres hacen a *K. cinerascens* uno de las chopas más distintivas de la familia Kyphosidae.

Por otro lado, tomando en cuenta la coloración externa, *K. elegans* es plateado más uniforme o marrón bronceado u ocasionalmente, pardo o gris uniforme y moteado con

manchas blancas distribuidas irregularmente por todo el cuerpo (Knudsen & Clements, 2013), siendo este último carácter observable en la muestra REEF115. Este cambio de color corresponde a un comportamiento territorial agresivo que solo esta especie y los juveniles de *Kyphosus sectatrix* pueden presentar (Knudsen & Clements, 2013). A partir de nuestras comparaciones y las descripciones ofrecidas por estos autores, podemos afirmar, morfológicamente, que las muestras REEF0084, REEF0115 pertenecen a *K. elegans* y no a *K. cinerascens*.

Knudsen *et al.* (2019) determinaron que la familia Kyphosidae se formó como resultado de una reciente especiación; colonizando en primera instancia regiones de alta latitud, para luego desplazarse a los ambientes tropicales durante el mioceno desde el Indopacífico y finalmente diversificarse en las demás regiones del mundo durante el plioceno; posterior al cierre del Istmo de Panamá (3.1 a 3.5 millones de años); y el pleistoceno, hace aproximadamente 2.6 millones de años.

Esta reciente especiación nos explica el porqué de la gran similitud entre *K. elegans* y *K. cinerascens* y el porqué del menor valor de distancia interespecífica que en este estudio se obtuvo entre *K. elegans* y *K. vaigiensis* (2.50 %). El caso de *K. elegans* y *K. cinerascens*, en términos del trabajo de Hebert *et al.* (2004), se podría interpretar también como una reciente especiación o como un posible caso de hibridación. Entre las limitantes más importantes para el Código de Barras de DNA, se ha demostrado su incapacidad al momento de analizar híbridos y especies que naturalmente se hibridizan (Popa *et al.*, 2016). Sin embargo, no existen en la literatura casos de hibridación entre especies del género *Kyphosus*.

La distribución de *K. elegans* en el Pacífico este ha sido de discusión a través de los años. Knudsen & Clements (2013) señalaron a *Kyphosus sandwicensis*, descrito para el Pacífico centro-sur en la Isla de Pascua, como un sinónimo junior de *K. elegans*; lo cual ampliaría

su distribución hasta el Pacífico Central. Sin embargo, Valencia (2016) en su trabajo no encontró evidencia genética que lo relacione con *K. elegans*, en su lugar, las muestras de *K. sandwicensis* en las Islas de Pascua y el archipiélago Juan Fernández estarían más relacionadas a *K. sectatrix* y *K. bigibbus*; sin descartar la posibilidad de que se trate de una nueva especie. Por su parte, *K. cinerascens* habita arrecifes rocosos tropicales (<25m) en el Indo-Pacífico y el Pacífico occidental (Knudsen & Clements, 2013); con registros en el gran Caribe dentro del Atlántico tropical occidental (Robertson *et al.*, 2019) y una gran expansión hasta el Pacífico central en la isla de Hawái (ver Anexo 8); sin registros en la costa occidental centro americana.

Dado que ambas especies no comparten una misma distribución, la hibridación entre *K. cinerascens* y *K. elegans* no sería posible, siendo esta última una especie endémica del POT. A esto se le añade los pocos registros de peces con la facultad de cruzar la “Barrera del Pacífico Este” (Ekman, 1953; Briggs, 1961), una de las mayores barreras biogeográficas que separa la fauna del POT de la región biogeográfica del Indo-Pacífico aproximadamente 5000 km (Bellwood & Wainwright, 2002); y mantener una conectividad genética a ambos lados del Pacífico; la cual actúa como una barrera en una sola dirección (este a oeste) (Lessios & Robertson, 2006). De las especies transpacíficas, solamente se ha registrado a *Kyphosus ocyurus*, de la familia Kyphosidae, con la capacidad de desplazarse a través de la barrera y reportada a ambos lados del Pacífico (Robertson *et al.*, 2004).

Adicionalmente, a raíz de los registros de *K. cinerascens* dentro del Atlántico occidental en las costas de México, Belice, Brasil y diferentes zonas dentro del Caribe (Knudsen & Clements, 2013; Robertson *et al.*, 2019), Knudsen & Clements (2016) proponen que esta especie, junto a *K. elegans*, serían especies gemelas o “geminata species” (Jordan, 1908), especies poco diferenciadas morfológicamente que evolucionaron a partir de un ancestro

común y que surgieron a partir de procesos de vicarianza y, para este caso, halladas ambos lados del Istmo de Panamá. Robertson & Cramer (2009) resaltan que muchas de las especies formadas a partir del cierre del Istmo de Panamá serían endémicas a las provincias de Cortez y de Panamá, con énfasis en esta última, lo cual se ajustaría mejor a la descripción de Robertson & Allen (2015) para su distribución: “Desde la región sur del golfo de California a las costas de Panamá, con ocasionales registros en las Islas oceánicas”; reforzando así la hipótesis de *K. elegans* como especie endémica del POT.

En total, se han descrito 2 especies de peces kyphósidos para el Perú: *K. vaigiensis*, registrada como *Kyphosus analogus* (Jordan, 1885), sinónimo junior de esta especie (Knudsen & Clements, 2013), en el “Catálogo Comentado de los Peces Marinos del Perú” de Chirichigno & Cornejo (2001); y *K. ocyurus*, bajo el nombre de *Sectator ocyurus* (Jordan & Evermann, 1898), sinónimo de esta especie, en la “Clave para Identificar los Peces Marinos del Perú” de Chirichigno & Vélez (1998). Sin embargo, pese a no tener registros y/o menciones en los trabajos de Chirichigno (1998, 2001), Allen *et al.* (2010), indican como especie residente en el Perú a *K. elegans* en su ficha técnica del IUCN; contradictorio a los trabajos de Knudsen & Clements (2013) y Robertson & Allen (2015), que solo lo reportan hasta Panamá y Ecuador, respectivamente; lo cual podría sugerir a *K. elegans* como un nuevo registro para el Perú.

Así, en base a las descripciones morfológicas y distribucionales discutidas en la parte superior y los análisis moleculares realizados, los registros de *K. cinerascens* del BOLD y el NCBI no estarían relacionados a errores o falta de actualización en sus bases de datos (como sucedió con las muestras de *Centropomus* y *Gerres*); y una reciente especiación sería la hipótesis más apropiada para explicar la gran similitud entre *K. elegans* y *K. cinerascens*.

Finalmente, para las muestras REEF0081, REEF0097 y REEF0114 (*K. vaigiensis*), identificadas como *Kyphosus incisor* por la herramienta BLASTn del NCBI; Knudsen & Clements (2013), señalan que esta nominación corresponde a un sinónimo junior de *K. vaigiensis*, descrito en el Océano Atlántico por Norman (1935), por lo que la identificación a partir de los códigos de barras fue correcta; y lo más apropiado sería la actualización en las bases de datos con el nombre del sinónimo senior.

V.2 Análisis de distancia y delimitación de especies: caso *Halichoeres dispilus*

Halichoeres es el género más grande dentro de la familia Labridae, donde muchas de sus especies se encuentran entre la ictiofauna más común en los mares tropicales poco profundos, alcanzando una gran diversidad y desarrollo en el Indo-Pacífico (Randall & Böhlke, 1965) y el Neotrópico (Barber & Bellwood, 2005). Presentan coloraciones muy llamativas y son habitantes comunes de los arrecifes rocosos (Figura 16), coralinos y otros fondos duros, donde se les observa muy activos en horas diurnas en busca de los invertebrados bentónicos que constituyen el componente principal de su dieta (Garzón, 2004).

Actualmente, este género contiene 80 especies válidas (Parenti & Randall, 2010); donde Robertson & Allen (2015) describen un total de 12 especies dentro del POT de las cuales solamente 2 especies: *Halichoeres notospilus* y *Halichoeres dispilus* han sido descritas por Chirichigno & Cornejo (2001) en el “Catálogo Comentado de los Peces Marinos del Perú”. *Halichoeres dispilus* es una especie con variables patrones de coloración; principalmente rojizo o verduzco con manchas en la base de la aletas caudal y dorsal; variable dependiendo el estadio de vida (Robertson & Allen, 2005) e incluso con la capacidad de tornarse azul (Baldwin & McCosker, 2001), lo que puede conllevar a dificultades al momento de su identificación.



Figura 16. Cardumen de *Halichoeres dispilus* en los arrecifes rocosos de Cabo Blanco (El Alto, Talara- Piura)

En nuestro estudio, los resultados obtenidos de los análisis de distancias genéticas (>2% de variación intraespecífica), delimitación de especies (2 MOTUs) y el análisis filogenético con el método NJ del gen COI de las muestras de *Halichoeres dispilus* disponibles del BOLD y nuestras muestras, nos indican que podría estar sucediendo una diferenciación entre individuos de *Halichoeres dispilus* en el POT, como resultado de la amplia distribución que puede tener esta especie, desde el Golfo de California hasta la Bahía Independencia en Ica (Chirichigno & Cornejo, 2001).

Casos similares se han observado entre especies del género *Halichoeres* en el Atlántico occidental, las cuales proveen un excelente modelo para evaluar la relación que puede existir entre la estructura genética y la diferenciación de color de peces de comunidades de arrecifes (Rocha, 2004). Con la intención de resolver los patrones evolutivos en peces de arrecife, Rocha (2005) analizó el mtDNA (Citocromo b) de 5 especies con genéricas de lábridos: *Halichoeres bivittatus*, *Halichoeres poeyi*, *Halichoeres radiatus*, *Halichoeres brasiliensis* y *Halichoeres maculipinna*.; tanto en el Caribe como a ambos lados del Atlántico occidental, separadas por la desembocadura de los ríos Amazonas y

Orinoco. Para estas especies, los resultados de particiones genéticas fueron mucho mayores dentro de las provincias biogeográficas que entre provincias. Por ejemplo, en *H. bivittatus*, poblaciones encontradas en arrecifes alejados de la costa en Belice y Santa Cruz en las Antillas menores mantuvieron una homogeneidad genética, pese a estar separadas 2430 km; mientras que en sus poblaciones en las Bahamas tropicales y la zona subtropical de Florida, separadas solo por 300 km, se observó una divergencia del 3.4%. Entonces, si las barreras biogeográficas no son las que conducen estas variaciones entre poblaciones de peces del género *Halichoeres*, ¿Qué fue lo que causó la diferenciación genética entre sus linajes? Rocha (2004) sugiere que estaría sucediendo una especiación ecológica parapátrica (impulsada por una “selección divergente de rasgos entre poblaciones o sub poblaciones en entornos contrastantes”). De esta manera, las diferencias ambientales entre localidades en el Caribe (caracterizado por aguas claras y sedimentos compuestos de CaCO₃) y la costa brasileña (con aporte sedimentario de los ríos y gran turbidez por corrientes y vientos) son las que generarían la presión selectiva en especies insulares vs especies continentales del Atlántico occidental.

De manera similar (ver Anexo 9), para *H. dispilus* se observó una menor variación genética entre los individuos colectados en Baja California Sur, Panamá y Perú (localidades costeras, afectadas por los ríos efluentes, vientos y corrientes); que entre las muestras de Perú y del archipiélago de los Galápagos (localidades separadas aproximadamente por 1200 km); formándose tres linajes: uno correspondiente a especímenes insulares y dos a especímenes continentales. Robertson & Cramer (2009), en su modelo de subdivisión de provincias biogeográficas dentro del POT (Cortez, Panámica e Islas oceánicas), destacan también que pese a las grandes masas de agua que separan las islas oceánicas del continente, no funcionarían como una barrera biogeográfica efectiva y, en muchos casos, serían las diferencias ambientales las

implicadas en la formación de endemismos y diferenciación entre fauna insular y fauna continental. Sin embargo, además del archipiélago de los Galápagos, *Halichoeres dispilus* también puede encontrarse en las Isla Cocos (Baldwin & McCosker, 2001; Bussing & López, 2005), Islas Revillagigedo, Clipperton, y Malpelo (Víctor & Wellington, 2000; Robertson & Allen, 2015), por lo que sería necesario incluir muestras de las localidades mencionadas para poder afirmar este proceso de diferenciación, con la posibilidad de subdivisión de tres diferentes linajes de *Halichoeres dispilus*.

Adicionalmente, Rocha (2004) evaluó la relación entre los diferentes patrones de coloración y la divergencia genética en poblaciones de 3 especies del género *Halichoeres* usando el citocromo b de *H. cyanocephalus*, *H. garnoti* y *H. maculipinna* nuevamente, en diferentes provincias biogeográficas. Sin embargo, los resultados fueron inconsistentes para individuos de *H. garnoti*; mientras que para las demás especies si se pudo observar ligeras variaciones en la coloración que podrían estar relacionadas a la partición genética observada (2.3% para *H. cyanocephalus* y 6.5% en *H. maculipinna*).

Para nuestras muestras, no se observaron diferencias en la coloración entre los individuos de diferente procedencia insular (muestra REEF024) y continental (resto de muestras); pese a la variación genética observada. Entre los teleósteos, principalmente los Labridae, la pigmentación no suele ser un confiable criterio taxonómico y evidencia filogenética; con una notoria disociación entre la diferenciación genética y las variaciones cromáticas en muchas de sus especies (da Motta *et al.*, 2020).

V.3 Métodos de delimitación

Respecto a la delimitación de especies, no se observaron diferencias significativas respecto al número MOTUs obtenido a partir de los modelos GMYC (31), PTP (32) y bPTP (32); sin embargo, fueron estos dos últimos modelos los que dividieron el MOTU de *H. dispilus* en 2 diferentes MOTUs. El modelo GMYC anteriormente ha sido criticado

por asumir que las especies son monofiléticas y comprenden una única y no estructurada población; a partir de esto se considera como la estructura geográfica dentro de las especies afecta su capacidad de delimitar especies (Fujisawa & Barraclough, 2013) Sin embargo, los autores en las simulaciones realizadas en su trabajo mostraron que el GMYC podía delimitar poblaciones “parcialmente aisladas”, como especies diferentes.

Este último inciso podría explicar porque el modelo no fue capaz de reconocer 2 MOTUs para las secuencias de *Halichoeres dispilus*, donde notamos que puede existir flujo génico entre poblaciones de los Galápagos e Isla Foca (y en general, con la Provincia Peruana de aguas frías). Víctor & Wellington (2000) destacan la gran capacidad de dispersión larval que pueden tener los peces Labridae en el POT, siendo la larga duración de su larva pelágicas responsable de la amplia distribución dentro de la región.

El modelo PTP es descrito como un modelo simple, rápido, fiable y a diferencia de su contraparte (el GMYC), no necesita de un árbol ultramétrico de entrada para su realización. (Zhang *et al.*, 2013). En el GMYC la precisión del árbol ultramétrico es indispensable para la delimitación de especies. Por su parte, el PTP solo depende de un árbol enraizado, donde se modelan los eventos de delimitación en términos del número de sustituciones nucleotídicas. A partir de sus simulaciones, Zhang *et al.* (2013) sugieren que el PTP supera al GMYC al momento de delimitar especies, ajustándose mejor al concepto filogenético de especie y sugiriendo su uso para el análisis de locus simple.

Por su parte, se observó que la técnica del Código de Barras de DNA puede presentar algunos inconvenientes para ciertos grupos taxonómicos, los cuales pueden atribuirse no solo a la hibridación, sino también a la reciente especiación (Bhattacharya *et al.*, 2015), las dificultades en la identificación, falta de actualización de las bases de datos; como se pudo observar en la familia Kyphosidae. Estos casos deben de recibir especial atención

para su uso; como el desarrollo de un marcador secundario que mejore la identificación y solidifique su uso (Zhang & Hanner, 2011).

Pese a esto, su capacidad de identificar correctamente quedó evidenciada a partir de nuestros resultados y, pese a que todavía existen limitantes durante su uso, el Código de Barras de ADN se presenta como una importante y eficaz herramienta para los estudios de Biodiversidad (Bhattacharya *et al.*, 2015). El Perú es un país mega-diverso, con una alta diversidad de Ecosistemas, especies y recursos genéticos, donde es necesaria la comprensión de esta diversidad biológica para el aprovechamiento de los recursos y servicios ecosistémicos que se nos brindan (MINAM, 2019); sobre todos los peces de nuestro mar, uno de los ecosistemas más ricos y productivos del planeta (Chávez *et al.*, 2008; Taylor, 2008).

VI. CONCLUSIONES

- De las 31 especies identificadas morfológicamente, 29 concordaron con la identificación realizada a partir de las secuencias del gen COI obtenidas para cada una de ellas, permitiendo así la caracterización molecular de las mismas.
- Se identificó un total de 31 MOTUs con el modelo GMYC y 32 MOTUs para los modelos PTP y bPTP, siendo este MOTU adicional evidencia de una posible especiación parapátrica de *Halichoeres dispilus* en el POT; mientras que el resto de MOTUs se mantuvieron acorde a la taxonomía actual.
- *Kyphosus elegans* es una especie diferente a *Kyphosus cinerascens*, siendo su similitud genética resultado de su reciente especiación y, dado que no se encontraron registros objetivos de su presencia en el Perú, procedemos a reportarla según estos hallazgos.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar de un meticuloso análisis morfológico y contar con información actualizada de los taxones de interés para la verificación de la identidad taxonómica
- Analizar las poblaciones *Halichoeres dispilus* dentro del POT para verificar si realmente está sucediendo una diferenciación entre especímenes insulares y continentales; usando otros marcadores moleculares y otro tipo de análisis (redes de haplotipos y/o SNPs).
- Dado que muchos Kyphosidae presentan una distribución pan-tropical, se recomienda hacer una revisión y actualización de registros para las especies de esta familia que pueden encontrarse dentro del POT.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aburto, O., B. Erisman, V. Valdez-Ornelas y G. Danemann (2008). Commercially Important Serranid Fishes from the Gulf of California: Ecology, Fisheries, and Conservation. *Ciencia y Conservación* 2008 (1). 1-23.
- Aburto, O. & Balart, E. (2001). Community Structure of Reef Fish in Several Habitats of a Rocky Reef in the Gulf of California. *Marine Ecology*, 22(4), 283-305. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0485.2001.01747.x>
- Allen, G., Robertson, R., Rivera, F., Edgar, G. & Merlen, G. (2010). *Kyphosus elegans*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2010: e.T183849A8187876. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T183849A8187876.en>. Accessed on 14 July 2022.
- Alleyne, H. & Macleay, W. (1877) *The ichthyology of the Chevert expedition. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 1, 321–359. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.12420>
- Baldwin, C. & McCosker, J. (2001). Wrasses of the Galápagos Islands, with the description of a new deepwater species of *Halichoeres* (Perciformes: Labridae). *Revista de Biología Tropical*, 49 (Supl. 1).
- Bañón, R., Barros-García, D., & de Carlos, A. (2017). Integrative taxonomy supports the presence of two species of *Kyphosus* (Perciformes: Kyphosidae) in Atlantic European waters. *Scientia Marina*, 81(4), 467–475. <https://doi.org/10.3989/scimar.04601.08A>

- Barber, P. & Bellwood, D. (2005). Biodiversity hotspots: evolutionary origins of biodiversity in wrasses (Halichoeres: Labridae) in the Indo-Pacific and new world tropics. *Molecular Phylogenetics And Evolution*, 35(1), 235-253. Doi: 10.1016/j.ympev.2004.10.004
- Bellwood, D & Wainwright, P. (2002). The History and Biogeography of Fishes on Coral Reefs. 10.1016/B978-012615185-5/50003-7.
- Betancur-R, R., Wiley, E., Arratia, G., Acero, A., Bailly, N., & Miya, M. (2017). Phylogenetic classification of bony fishes. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0958-3>
- Bhattacharya, M., Sharma, A., Patra, B., Sharma, G., Seo, E. & Nam, J. (2015). DNA barcoding to fishes: current status and future directions. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(4), 2744-2752. DOI: 10.3109/19401736.2015.1046175
- Bickford, D., Lohman, D., Sodhi, N., Ng, P., Meier, K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. & Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 22, 148–155. doi:10.1016/j.tree.2006.11.004
- Bone, Q. & Moore, R. (2008). *Biology of fishes* (3rd Ed). Taylor & Francis, New York.
- Burnes, L. (2009). Estatus Taxonómico de *Gerres cinereus* (Walbaum, 1792), (Teleostei: Gerreidae). [Tesis de Maestría no publicada]. *Instituto Politécnico Nacional*.
- Bussing, W. & López, M. (2005). Fishes of Cocos Island and Reef Fishes of the Pacific Coast of Lower Central America. *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 53 (2), 118-124. ISSN–0034–7744.
- Cerny, E. (2007). Distribution of Ultraviolet-Absorbing Sunscreen Compounds Across the Body Surface of Two Species of Scaridae. *Independent Study Project (ISP) Collection*. 147.

- Chávez, J., Galeana, G., Manzo, I. & Salinas, J. (2008). Catálogo de peces de arrecifes rocosos-coralinos de Punta Carrizales, Colima, México. *Facultad de Ciencias Marinas: México*. Universidad de Colima.
- Chirichigno, N. (1962). Algunos peces nuevos y poco conocidos de la fauna marina del Perú. *Serv. Pesq. Perú* 1-29.
- Chirichigno, N. (1963). Nuevas especies de "Rayas" para la fauna del Perú. *Serv. Pesq. Perú* 1-13.
- Chirichigno, N. (1963). Estudio de la Fauna Ictiológica de los Esteros y Partes bajas de los ríos del Departamento de Tumbes (Perú). Ministerio de Agricultura. Sector Pesquería.
- Chirichigno, N. (1969). *Ctenosciaena peruviana* nov. sp. Una nueva especie de Sciaenidae de la costa del Perú. *Inst. Mar del Perú*. Lima Ser. Inv. Esp. 18.
- Chirichigno, N. (1973). Nuevas especies de peces de los géneros *Mustelus* (Fam. Triakidae), *Raja* (Fam. Rajidae) y *Schedophilus* (Fam. Centrolophidae). *Informes Inst. Mar del Perú*. 1-40.
- Chirichigno, N. (1978). Nuevas adiciones a la ictiofauna marina del Perú. Informe N° 46. *Instituto del mar del Perú*. Callao-Perú. 109 p.
- Chirichigno, F. (1987). *Medialuna ancietae* nov. sp. Un pez nuevo del mar peruano. *Biología* Lima. 89-95.
- Chirichigno F. & Iwamoto, T. (1977). *Coryphaenoides delsolari* a new species of macrourid fish from the Pacific coast of South America. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 519-528.
- Chirichigno, F. & McEachran, J. (1979). *Urolophus tumbesensis*, a new stingray from the coast of Peru (Batoidea: Urolophidae). *Copeia* 709-713

- Chirichigno, N. & Vélez, J. (1998). Clave para identificar los peces marinos del Perú. *Instituto del Mar del Perú. Publicación Especial*, Callao – Perú.
- Chirichigno, N. & Cornejo, R. (2001). Catálogo comentado de los peces marinos del Perú. *Instituto del Mar del Perú. Publicación especial*. Callao -Perú.
- Choat, J., Klanten, O., Van Herwerden, L., Robertson, D. & Clements, K. (2012). Patterns and processes in the evolutionary history of parrotfishes (Family Labridae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 107, 529-557.
- Cowman, P. & Bellwood, D. (2013). Vicariance across major marine biogeographic barriers: temporal concordance and the relative intensity of hard versus soft barriers. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1768), 20131541. Doi: 10.1098/rspb.2013.1541
- Da Motta-Neto, C., Shibatta, O., de Souza, A., de Souza Rosa, R., & Molina, W. (2020). Inconspicuous genetic and morphological patterns challenge the taxonomic status of endemic species *Bodianus insularis* (Labridae). *Zoologischer Anzeiger*, 286, 43-51. Doi: 10.1016/j.jcz.2020.03.004
- De Figueiredo-Filho, J., Marceniuk, A., Feijó, A., Siccha, R., Ribeiro, G., Oliveira, C. & Rosa, R. (2021). Taxonomy of *Centropomus* (Lacépède, 1802) (Perciformes: Centropomidae), with focus on the Atlantic species of the genus *Zootaxa*, 4942(3), pp.301-338.
- Drummond, A. & Suchard, M. & Xie, D. & Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* 22. 1185-1192.
- Duarte, C. (2006). *La exploración de la biodiversidad marina* (p. 13-14). Bilbao: Fundación BBVA.

Figuroa, J. (2005). Valoración de la biodiversidad: perspectiva de la economía ambiental y la economía ecológica. *Interciencia*, 30(2) ,103-107. ISSN: 0378-1844. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=339/33910109>.

Fujisawa, T. & Barraclough, T. (2013). Delimiting Species Using Single-locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Datasets. *Systematic biology*. 62. 10.1093/sysbio/syt033.

Galvis, G., Mojica, J., Duque, S., Castellanos, C., Sánchez, P., Duarte, P., Arce, M., Gutiérrez, A., Jiménez, L., Santos, M., Vejarano, S., Arbeláez, F., Prieto, E. & Leiva, M. (2006). Peces del medio Amazonas. Región de Leticia. Serie de Guías Tropicales de Campo N° 5. *Conservación Internacional*. Editorial Panamericana, Formas e Impresos. Bogotá, Colombia. 548 pp.

García, F., Chollet, J., Martínez, A., & De La Cruz, J. (2019). Supporting the existence of two isolated evolutionary lineages of Gerres (Perciformes: Gerreidae) in America. *Zoologica Scripta*, 48(4), 466-481. Doi: 10.1111/zsc.12352

Garzón, J. (2016). Presence of the yellowcheek wrasse *Halichoeres Cyanocephalus* (Pisces: labridae) in shallow reefs of the colombian caribbean. *Bulletin Of Marine And Coastal Research*, 33. Doi: 10.25268/bimc.invemar.2004.33.0.275

GEF. ONUDI, IMARPE & IFOP. (2002). Manejo Integrado del Gran Ecosistema Marino de la Corriente de Humboldt; Módulo II: Recursos y Pesquerías. (Informe de Avance).

GitHub - jolobito/SPdel: Comparing species delimitation methods and statistics for DNA Barcoding data sets. (2022). Retrieved 5 January 2022, from <https://github.com/jolobito/SPdel>

- Gobalet, K. (2018). Cranial Specializations of Parrotfishes, Genus *Scarus* (Scarinae, Labridae) for Scraping Reef Surfaces. En Hoey, A. & Bonaldo, R. (Ed.), *Biology of Parrotfishes* (2-10). Taylor & Francis Group.
- Gomon, M. (2006). A revision of the labrid fish genus *Bodianus* with descriptions of seven new species. *Records Of The Australian Museum, Supplement*, 30, 1-133. Doi: 10.3853/j.0812-7387.30.2006.1460
- Hajibabaei, M., Singer, G., Hebert, P., & Hickey, D. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23(4), 167-172. Doi: 10.1016/j.tig.2007.02.001.
- Hall, T. (1999) BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hebert, P., Cywinska, A., Ball, S. & deWaard, J. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *The Royal Society*, 270, 313–321. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1691236/pdf/12614582.pdf>.
- Hebert, P., Stoeckle, M., Zemplak, T. & Francis, C. (2004). Identification of Birds through DNA Barcodes. *Plos Biology*, 2(10), e312. Doi: 10.1371/journal.pbio.0020312
- Hooker, Y. (1990). Primer Registro de *Johnrandallia nigrirostris*, Gill 1862, en el Perú. *Boletín de Lima*. N° 68: 69-71.
- Hooker, Y. (1993). Zonación de los peces del Litoral Rocoso en el Área Comprendida entre las Localidades de Cabo Blanco y Los Órganos. [Tesis para obtener el Grado de Bachiller en Ciencias Biológicas]. Universidad Nacional De Trujillo.

- Hooker, Y. (2000). *Microspathodon dorsalis* (Pisces: Pomacentridae) y *Prionurus laticlavus* (Pisces: Acanthuridae), dos nuevos registros para el mar peruano. *Inf. Prog. Inst. Mar del Perú*. N° 117.
- Hooker, Y. (2009). Nuevos registros de peces costeros tropicales para el Perú. *Rev. Peru. biol.*, 16(1): 33 - 41. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195014940003>.
- Hooker, Y., More, A. & Ubillus, O. (2011). Propuesta de Creación de la Reserva Nacional Isla Foca. Informe SERNANP.
- Jacobina, U., Torres, R., De Mello Affonso, P., Dos Santos, E., Calado, L., & De Araújo Bitencourt, J. (2020). DNA barcoding reveals cryptic diversity and peculiar phylogeographic patterns in mojarras (Perciformes: Gerreidae) from the Caribbean and South-western Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 100(2), 277-283. Doi: 10.1017/S0025315419001206
- Jiménez, S. (1999). Abundancia y estructura comunitaria de peces de arrecife rocoso en la zona de Isla Cerralvo, B.C.S., México [Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias]. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- Jordan, D.S. (1885). A list of the fishes known from the Pacific coast of tropical America, from the Tropic of Cancer to Panama. *Proceedings of the United States National Museum*, 8, 361–394. <http://dx.doi.org/10.5479/si.00963801.8-526.361>.
- Jordan, D. & Evermann, B. (1898). The fishes of North and Middle America: a descriptive catalogue of the species of fish-like vertebrates found in the waters of North America, north of the Isthmus of Panama. Part II. *Bulletin of the United States National Museum*, 47.

- Jordan, D. (1908). The Law of Geminate Species. *The American Naturalist*, 42(494), 73-80. Doi: 10.1086/278905
- Kaufman, L. & Liem, F. (1982). Fishes of the suborder Labroidei (Pisces: Perciformes): Phylogeny, Ecology and Evolutionary Significance. *BREVIORA: Museum of Comparative Zoology*, 472: 1-19.
- Kazancıoğlu, E., Near, T., Hanel, R., & Wainwright, P. (2009). Influence of sexual selection and feeding functional morphology on diversification rate of parrotfishes (Scaridae). *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1672), 3439-3446. Doi: 10.1098/rspb.2009.0876
- Knudsen, S. & Clements, K. (2013). Revision of the fish family Kyphosidae. *Zootaxa* Vol. 3751(1). (1-101). Doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3751.1>
- Knudsen, S. & Clements, K. (2016). World-wide species distributions in the family Kyphosidae (Teleostei: Perciformes). *Molecular Phylogenetics And Evolution*, 101, 252-266. Doi: 10.1016/j.ympev.2016.04.037
- Knudsen, S., Choat, J. & Clements, K. (2019). The herbivorous fish family Kyphosidae (Teleostei: Perciformes) represents a recent radiation from higher latitudes. *Journal Of Biogeography*, 46(9), 2067-2080. Doi: 10.1111/jbi.13634
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol.* 2018; 35:1547–1549. Doi: 10.1093/molbev/msy096.
- Lambarri, M. & Espinosa, H. (2018). Métodos de Colecta y Preservación de Peces: Manual de Campo y Laboratorio, Universidad Nacional Autónoma de México.

- Langerhans, Brian. (2007). Evolutionary consequences of predation: Avoidance, escape, reproduction, and diversification. *Predation in Organisms: A Distinct Phenomenon*. 177-220. 10.1007/978-3-540-46046-6_10.
- Lessios, H., & Robertson, D. (2006). Crossing the impassable: genetic connections in 20 reef fishes across the eastern Pacific barrier. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1598), 2201-2208. Doi: 10.1098/rspb.2006.3543.
- Liem K. & Greenwood P. (1981). A functional approach to the phylogeny of the pharyngognath teleosts. *Amer. Zool.* 21:83–101
- Mancera, J., Gavio, B. & Lasso, J. (2013). Principales amenazas a la Biodiversidad Marina. *Actualidades Biológicas*, 35(99), 111-133.
- MINAM. (2010). Cuarto Informe Nacional sobre la aplicación del Convenio de Diversidad Biológica. Dirección General de Diversidad Biológica.
- Morrone, J. (2001). Biogeografía de América Latina y el Caribe. M & T– Manuales & Tesis. SEA, vol. 3. Zaragoza, 148 pp.
- Msangameno, D. (2016). Intertidal and nearshore rocky reefs: Western Indian Ocean. 10.18356/a67173a0-en.
- Munro, M., Blunt, J., Dumdei, E., Hickford, S., Lill, R., & Li, S. (1999). The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. *Journal of Biotechnology*, 70(1-3), 15-25. Doi: 10.1016/s0168-1656(99)00052-8.
- Nelson, G. (1967). Gill aches of some teleostean fishes of the families Girellidae, Pomacentridae, Embiotocidae, Labridae and Scaridae. *J. Nat. Hist.*, 1: 289-293.

- Nelson, J. (2006). *Fishes of the World*, (4th Ed). John Wiley & Sons, New Jersey. 601 p.
- Nelson, J., Grande, T. & Wilson, M. (2016). *Fishes of the World*, (5th Ed.). John Wiley & Sons, New Jersey. 10.1002/9781119174844.
- Norman, J. (1935). The carangid fishes of the genus *Decapterus* Bleeker. *Annals and Magazine of Natural History* (Series 10), 16, 252–264.
- Parenti, P. & Randall, J. (2010). Checklist of the species of the families Labridae and Scaridae: an update. *Smithiana Bulletin*, 13, 29 - 44.
- Popa, G., Dudu, A., Barbalata, T., Georgescu, S. & Costache, M. (2016). Advantages and Limitations of DNA Barcoding in Identifying Commercially Exploited Fish Species. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*. 2016. 45-49.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S. & Achaz, G. (2012), ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21: 1864-1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>.
- Rannala, B. & Yang, Z. (2020). Species Delimitation. In Scornavacca, C., Delsuc, F., and Galtier, N., editors, *Phylogenetics in the Genomic Era*, chapter No.5.5, pp.5.5:1– 5.5:18.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular ecology notes*. 7. 355-364. 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x.
- Randall, J. E., & Böhlke, J. E. (1965). Review of the Atlantic Labrid Fishes of the Genus *Halichoeres*. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 117, 235–259. <http://www.jstor.org/stable/4064604>
- Robertson, D., Grove, J., & McCosker, J. (2004). Tropical Transpacific Shore Fishes. *Pacific Science*, 58(4), 507-565. Doi: 10.1353/psc.2004.0041

- Robertson, R. & Cramer, K. (2009). Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 380, 1-17. Doi: 10.3354/meps07925
- Robertson, R. & Allen, G. (2015). Peces Costeros del Pacífico Oriental Tropical: Sistema de Información en línea. Versión 2.0 *Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales*, Balboa, República de Panamá.
- Robertson, R., Peña, E., Posada, J. & Claro, R. (2019). Peces Costeros del Gran Caribe: sistema de Información en línea. Version 2.0 *Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales*, Balboa, República de Panamá.
- Rocha, L. (2004). Mitochondrial DNA and Color Pattern Variation in Three Western Atlantic Halichoeres (Labridae), with the Revalidation of Two Species. *Copeia*, 2004(4), 770-782. Doi: 10.1643/cg-04-106.
- Rocha, L., Robertson, D., Roman, J. & Bowen, B. (2005). Ecological speciation in tropical reef fishes. *Proceedings of The Royal Society: Biological Sciences*, 272(1563), 573-579. Doi: 10.1098/2004.3005.
- Sanchez, A., Aburto, O., Erisman, B., Jiménez, V. & Hinojosa, G. (2015). Rocky Reefs: Preserving Biodiversity for the Benefit of the Communities in the Aquarium of the World. 10.1007/978-3-319-23763-3_11.
- Sarhan, M., Azab, A., Khalaf-Allah, H. & Afifi, M. (2019). DNA barcoding supports sexual dimorphism in two Labrid species; *Cheilinus lunulatus* and *Halichoeres hortulanus* (Family Labridae) in Red Sea, Egypt. *The Egyptian Journal Of Aquatic Research*, 45(4), 395-401. Doi: 10.1016/j.ejar.2019.10.002.

- Sonnenholzner, J., Ladah, L., & Lafferty, K. (2009). Cascading effects of fishing on Galápagos rocky reef communities: reanalysis using corrected data. *Marine Ecology Progress Series*, 375, 209-218. Doi: 10.3354/meps07890.
- Spalding, M., Fox, H., Allen, G., Davidson, N., Ferdaña, Z., Finlayson, M., Halpern, B., Jorge, M., Lombana, A., Lourie, S., Martin, K., McManus, E., Molnar, J., Recchia, C. & Robertson, J. (2007). Marine Ecoregions of the World: a bioregionalization of coast and shelf areas. *BioScience* 57 (7): 573- 583.
- Stiassny, M. & Jensen, J. (1987). Labroid Intrarelationships revisited Morphological Complexity, Key Innovations, and the Study of Comparative Diversity. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 151: 269-319.
- Tarazona, J., Gutierrez, D. & Indacochea, A. (2003). Overview and challenges of marine biodiversity research in Perú. *Gayana* 67(2): 206-231.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D. G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* (Online) 25, 4876-4882.
- Victor, B., & Wellington, G. (2000). Endemism and the pelagic larval duration of reef fishes in the eastern Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 205, 241-248. Doi: 10.3354/meps20524.
- Valdez, M., Vásquez, L., Elías, M., Ivanova, N., & Hebert, P. (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(6), 655. Doi: 10.1071/mf09222.

- Valencia, E. (2016). Conectividad entre las Isla de Pascua y la Isla Salas y Gómez: diferenciación genético poblacional del pez de importancia cultural *Kyphosus sandwicensis* (Sauvage, 1880). [Tesis de Maestría]. Universidad de Chile.
- Valencia, O., Domínguez, O., López, A., Martínez, J. & Ayala, A. (2018). Partial albinism in the Revillagigedo sea chub *Kyphosus sectatrix* (Perciformes: Kyphosidae) from Clarion Island, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89(2), 572-575. Doi: <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.2.2242>
- Videler, H., Geertjes, G., & Videler, J. (1999). Biochemical characteristics and antibiotic properties of the mucous envelope of the queen parrotfish. *Journal of Fish Biology*, 54(5), 1124-1127. Doi: 10.1111/j.1095-8649.1999.tb00864.x.
- Vildoso, A., Vélez, J., Chirichigno, N. & Chirinos, A. (1999). Diversidad de peces marinos del Perú. *Bol. Inst. Mar Perú*, 18(1-2). 49-76.
- Wainwright, P., Smith, L., Price, S., Tang, K., Sparks, J. & Ferry, L. (2012). The Evolution of Pharyngognath: A Phylogenetic and Functional Appraisal of the Pharyngeal Jaw Key Innovation in Labroid Fishes and Beyond. *Systematic Biology*, 61(6), 1001-1027. Doi: 10.1093/sysbio/sys060
- Ward, R., Zemplak, T., Innes, B., Last, P. & Hebert, P. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 360: 1847–1857. Recuperado de www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1609232/pdf/rstb20051716.pdf.
- Weigt, L., Baldwin, C., Driskell, A., Smith, D. & Ormos, A. (2012). Using DNA Barcoding to Assess Caribbean Reef Fish Biodiversity: Expanding Taxonomic and Geographic Coverage. *PLoS ONE* 7(7): e 41059. Doi: 10.1371/journal.pone.0041059.

- Westneat, M., Alfaro, M., Wainwright, P., Bellwood, D., Grubich, J. & Fessler, J. (2005). Local phylogenetic divergence and global evolutionary convergence of skull function in reef fishes of the family Labridae. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1567), 993-1000. Doi: 10.1098/rspb.2004.3013
- Westneat, M., & Alfaro, M. (2005). Phylogenetic relationships and evolutionary history of the reef fish family Labridae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 36(2), 370-390. Doi: 10.1016/j.ympev.2005.02.001.
- Winn, H. (1995). Formation of mucus envelope at night by Parrotfishes. *The American Museum of Natural History*, New York.
- Zhang, J. & Hanner, R. (2011). DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes from Japan. *Biochemical Systematics And Ecology*, 39(1), 31-42. Doi: 10.1016/j.bse.2010.12.017

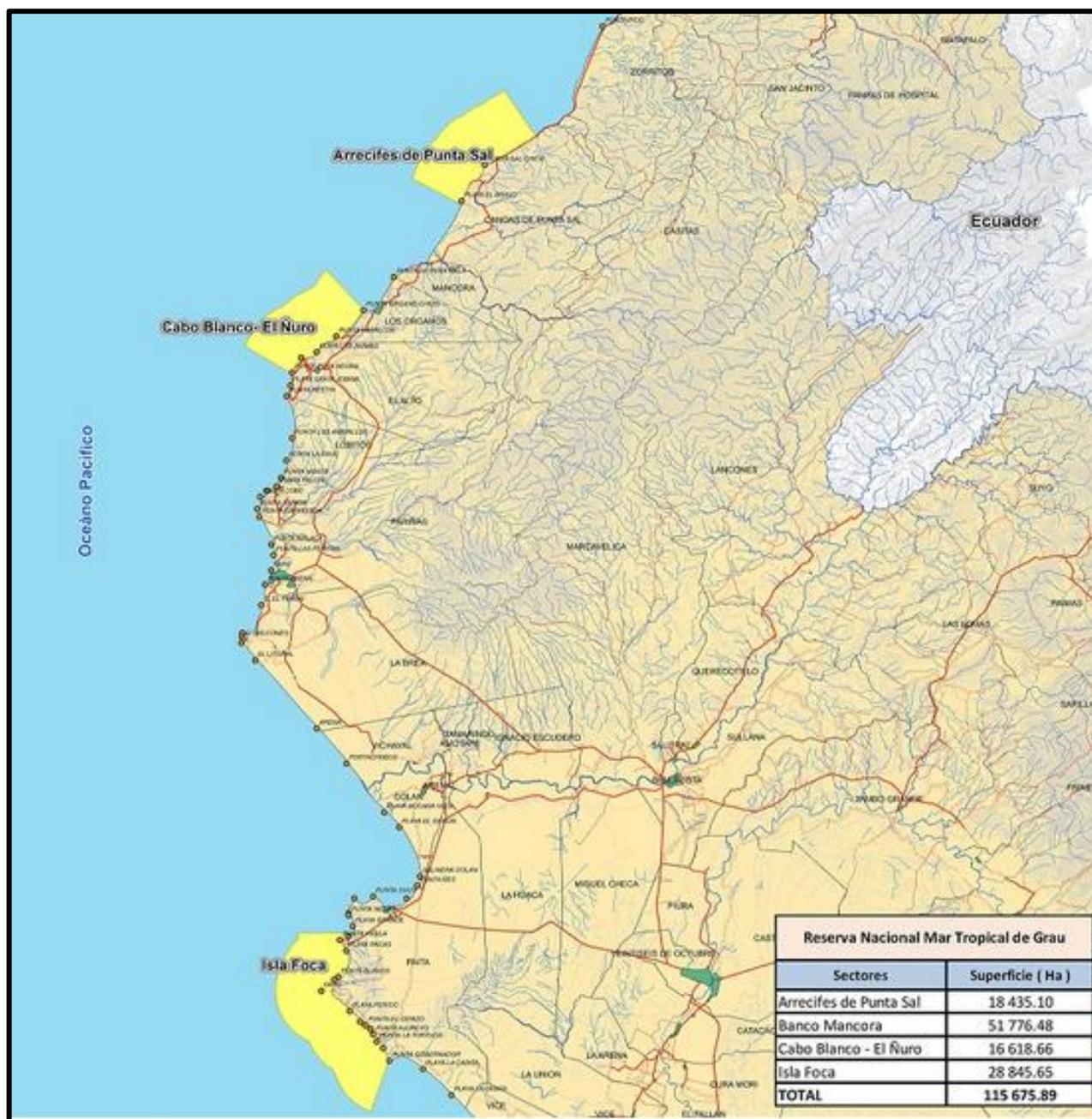
IX. ANEXOS

Anexo 1: Lista de peces de arrecifes rocosos tropicales descritos para la costa norte del Perú y el Pacífico Oriental Tropical (Fuente: Chirichigno & Cornejo, 2001; Hooker, 2009; Robertson & Allen, 2015)

Peces tropicales de arrecifes rocosos en el POT (Lista preliminar)				
Orden	Familia	Especie	Nombre común	¿Colectado?
Labriformes	Labridae	<i>Bodianus diplotaenia</i>	Gallo - vieja colorada	Si
Labriformes	Labridae	<i>Bodianus eclancheri</i>	Lobero - vieja negra	No
Labriformes	Labridae	<i>Decodon melasma</i>	Doncella manchada	Si
Labriformes	Labridae	<i>Halichoeres dispilus</i>	Señorita - doncella	Si
Labriformes	Labridae	<i>Halichoeres notospilus</i>	Señorita - señorita listada	Si
Labriformes	Labridae	<i>Thalassoma grammaticum</i>	-	No
Labriformes	Labridae	<i>Thalassoma lucasanum</i>	Viejita cabeza azul	Si
Labriformes	Scaridae	<i>Nicholsina denticulata</i>	popocho	Si
Labriformes	Scaridae	<i>Scarus perrico</i>	-	No
Perciformes	Oplegnathidae	<i>Oplegnathus insignis</i>	Loro	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Alphestes immaculatus</i>	Mero - cherne	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Alphestes multiguttatus</i>	-	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Acanthistius pictus</i>	Cherlo	No
Perciformes	Serranidae	<i>Cephalopholis colonus</i>	-	No
Perciformes	Serranidae	<i>Cephalopholis panamensis</i>	Mero de Peña	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Epinephelus analogus</i>	Murique moteado	No
Perciformes	Serranidae	<i>Epinephelus itajara</i>	Mero ojo chiquito	No
Perciformes	Serranidae	<i>Epinephelus labriformis</i>	Murique	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Epinephelus quinquefasciatus</i>	-	No
Perciformes	Serranidae	<i>Hemanthias peruanus</i>	Doncella	No
Perciformes	Serranidae	<i>Hemanthias signifer</i>	Princesa	No
Perciformes	Serranidae	<i>Hemilutjanus macrophthalmos</i>	Ojo de uva	No
Perciformes	Serranidae	<i>Hyporthodus niphobles</i>	Mero manchado	No
Perciformes	Serranidae	<i>Hyporthodus acanthistius</i>	Mero colorado	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Mycteroperca olfax</i>	Mero - cabrillejo	No
Perciformes	Serranidae	<i>Mycteroperca xenarcha</i>	Mero cola de retama	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Paranthias colonus</i>	Cabinza roja	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Paralabrax humeralis</i>	cabrilla fina	No
Perciformes	Serranidae	<i>Paralabrax loro</i>	-	No
Perciformes	Serranidae	<i>Paralabrax callaensis</i>	cabrilla fina	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Pseudogramma thaumasia</i>	-	No
Perciformes	Serranidae	<i>Rypticus bicolor</i>	-	No
Perciformes	Serranidae	<i>Rypticus nigripinnis</i>	Jabón	No
Perciformes	Serranidae	<i>Serranus huascarii</i>	-	Si
Perciformes	Serranidae	<i>Serranus psittacinus</i>	-	Si
Perciformes	Priacanthidae	<i>Cookeolus japonicus</i>	-	No
Perciformes	Priacanthidae	<i>Pristigenys serrula</i>	Semáforo	No

Perciformes	Chaetodontidae	<i>Chaetodon humeralis</i>	Mariposa	Si
Perciformes	Chaetodontidae	<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	-	Si
Perciformes	Chaetodontidae	<i>Prognathodes carlhubbsi</i>	-	No
Perciformes	Pomacanthidae	<i>Holacanthus passer</i>	Pez ángel	No
Perciformes	Pomacanthidae	<i>Pomacanthus zonipectus</i>	Pez ángel	Si
Perciformes	Haemulidae	<i>Anisotremus caesius</i>	Burro - Roncador	No
Perciformes	Haemulidae	<i>Anisotremus interruptus</i>	Burrito	Si
Perciformes	Haemulidae	<i>Anisotremus taeniatus</i>	-	No
Perciformes	Haemulidae	<i>Genyatremus pacifici</i>	Zapato negro	No
Perciformes	Haemulidae	<i>Genyatremus dovii</i>	Sargo	No
Perciformes	Haemulidae	<i>Anisotremus scapularis</i>	Chita	No
Perciformes	Haemulidae	<i>Haemulon peruanus</i>	-	No
Perciformes	Haemulidae	<i>Haemulon steindachneri</i>	Chivilico	No
Perciformes	Haemulidae	<i>Haemulon scudderi</i>	Chivilico	No
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus aratus</i>	Pargo raicero	No
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus argentiventris</i>	Pargo blanco - Parvo	Si
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus colorado</i>	Pargo colorado	No
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus guttatus</i>	Pargo lunarejo	No
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus jordani</i>	Pargo rojo	No
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus novemfasciatus</i>	Pargo negro	No
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus peru</i>	Estrella	No
Perciformes	Mullidae	<i>Mulloidichthys dentatus</i>	San Pedro rojo	No
Perciformes	Cirrhitidae	<i>Cirrhitus rivulatus</i>	Mero mapa	Si
Perciformes	Kyphosidae	<i>Kyphosus ocyurus</i>	Chopa	No
Perciformes	Kyphosidae	<i>Kyphosus vaigiensis</i>	Chopa amarilla	Si

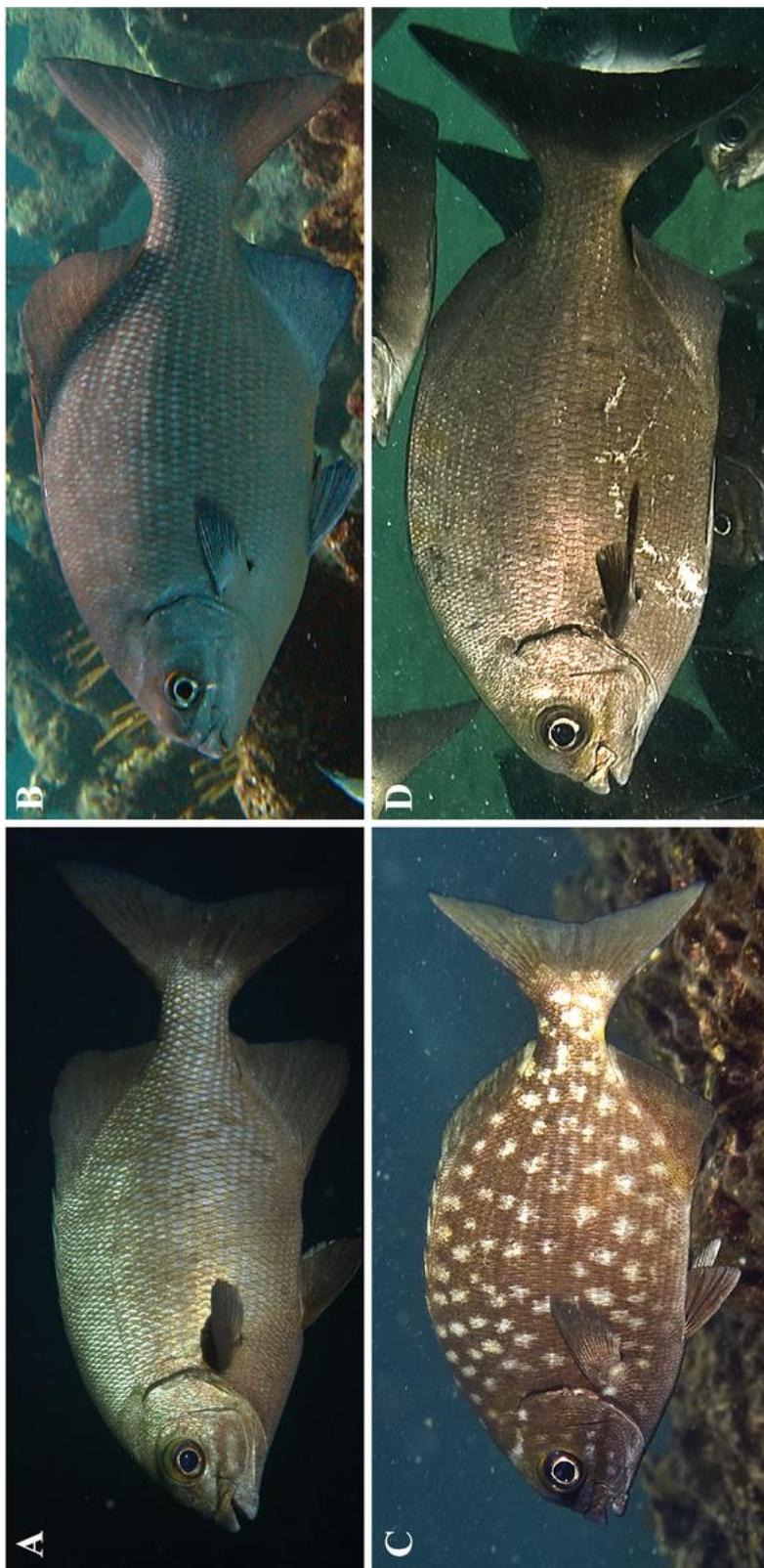
Anexo 2: Mapa base de la Propuesta de Reserva Nacional: “Mar Tropical del Perú”. Las áreas en amarillo corresponden a los sectores principales donde se eligieron los puntos de colecta del material biológico. (Tomado de Hooker *et al.* 2011).



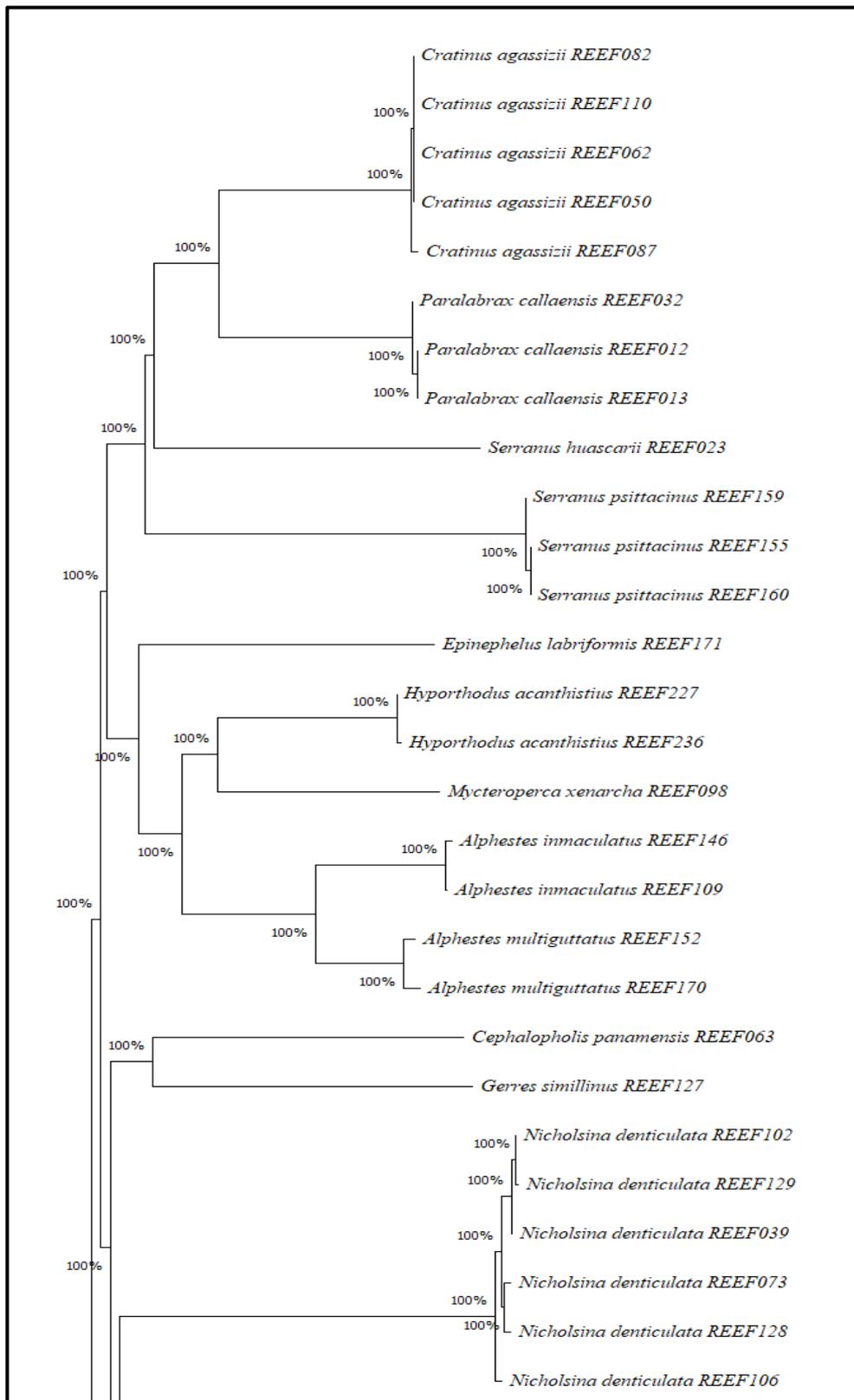
Anexo 3: Puntos de Colecta en los departamentos de Piura (Isla Foca y Talara) y Tumbes.

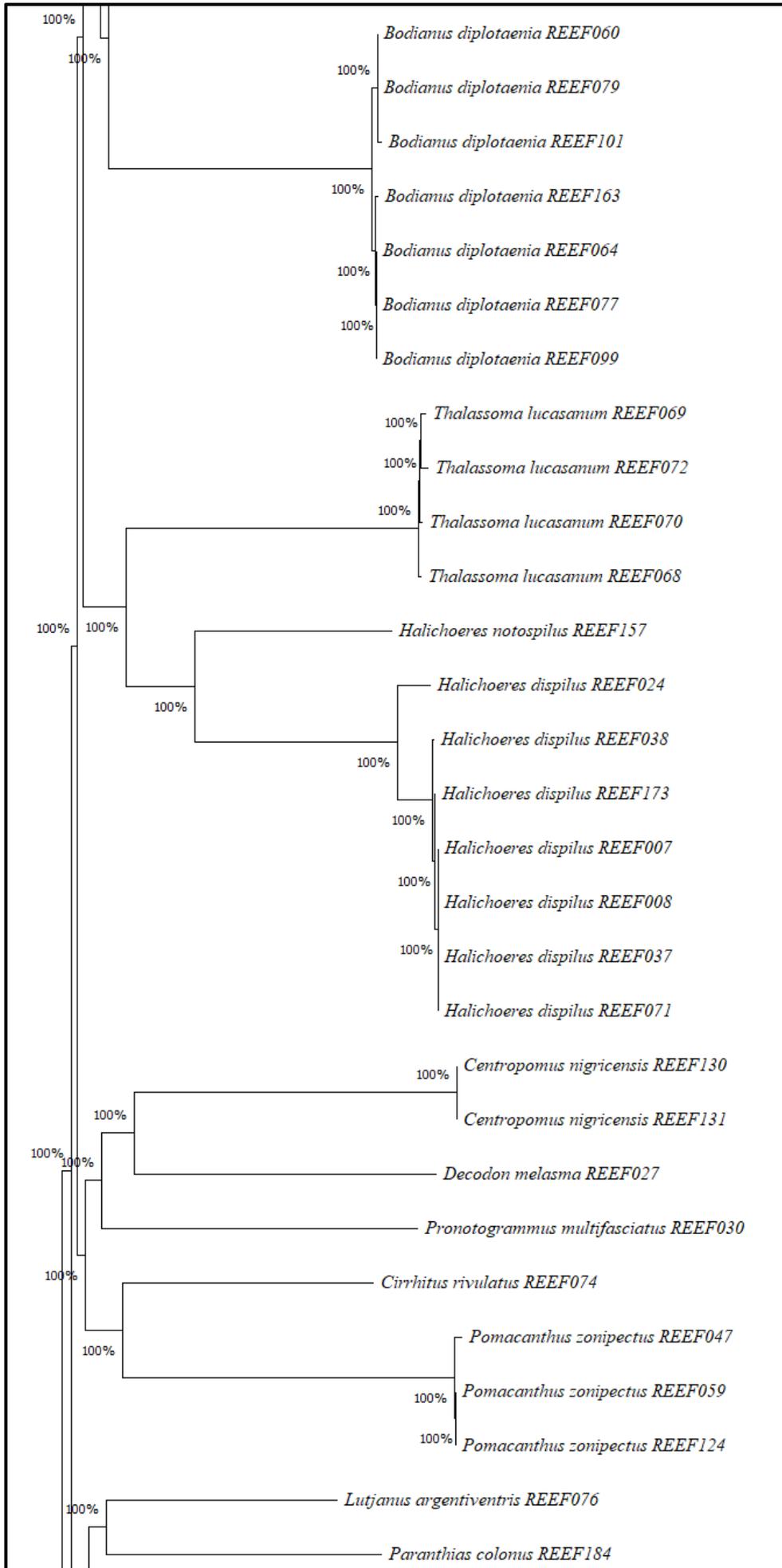


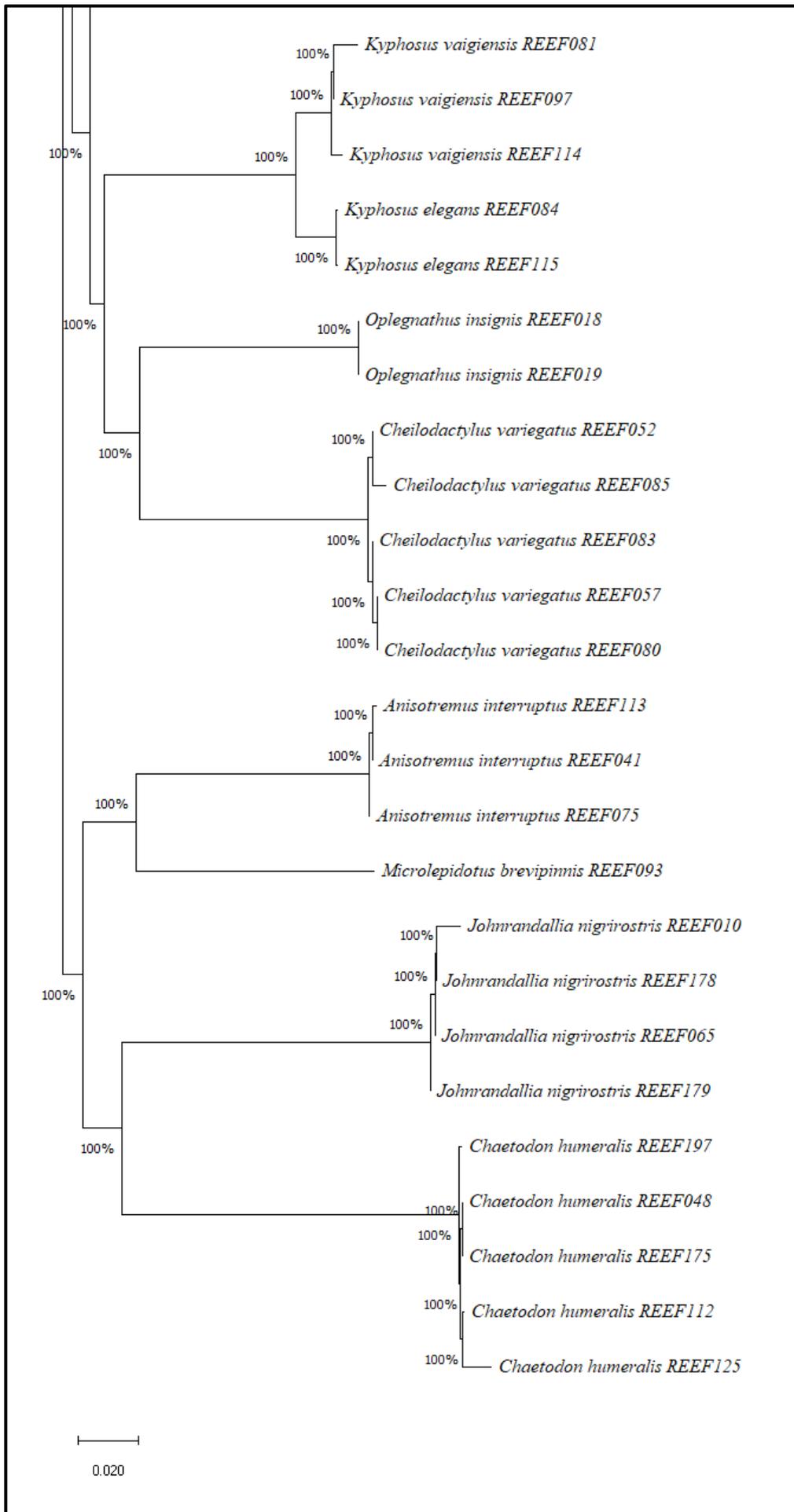
Anexo 4. Fotografías submarinas de *K. cinerascens* (A y B) y *K. elegans* (C y D).
(Tomado de Knudsen & Clements, 2013).



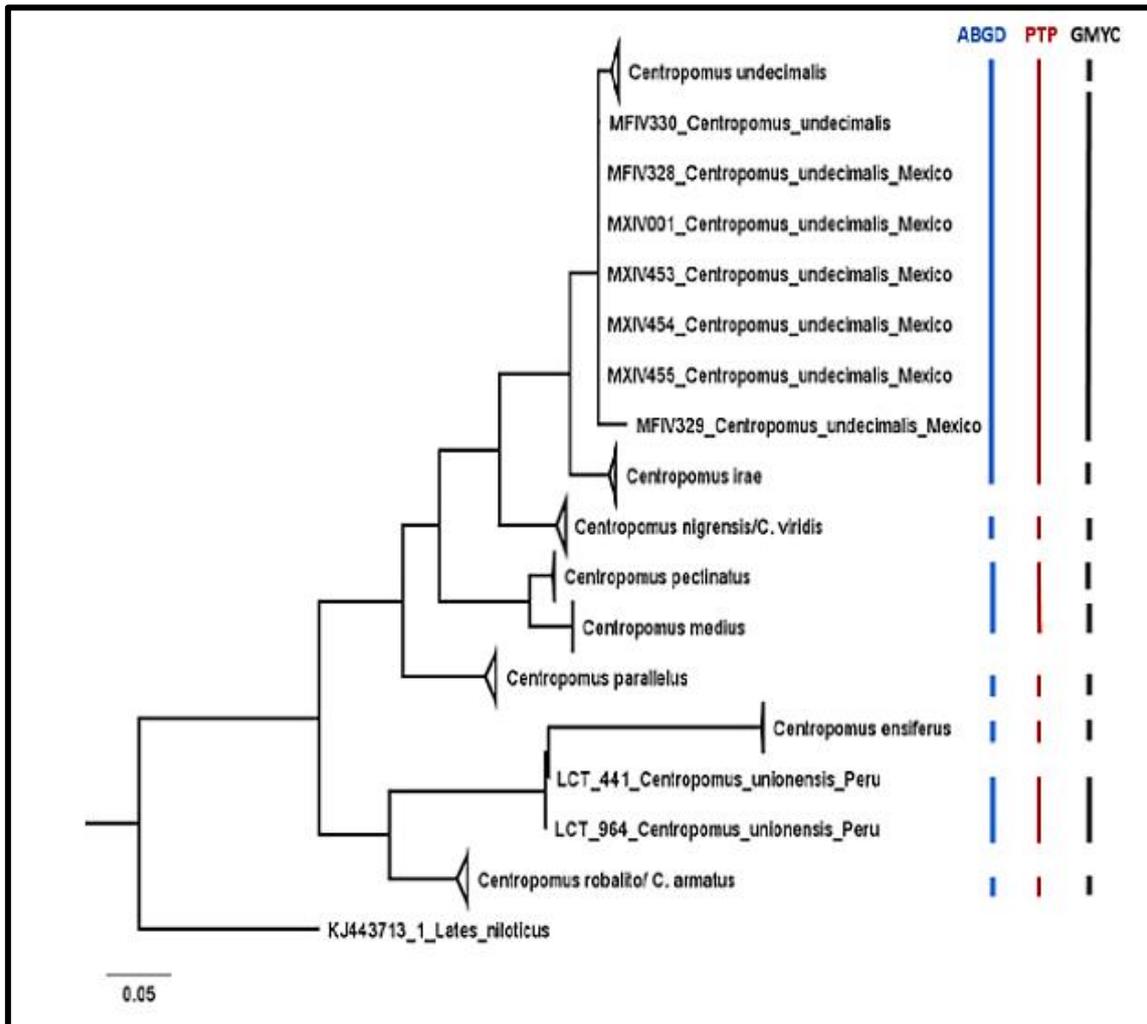
Anexo 5: Árbol obtenido a partir del método NJ con el modelo de sustitución K2P. (Kimura, 1980) en el programa MEGA X. (Los valores en los nodos son el soporte bootstrap para cada una de las ramas).



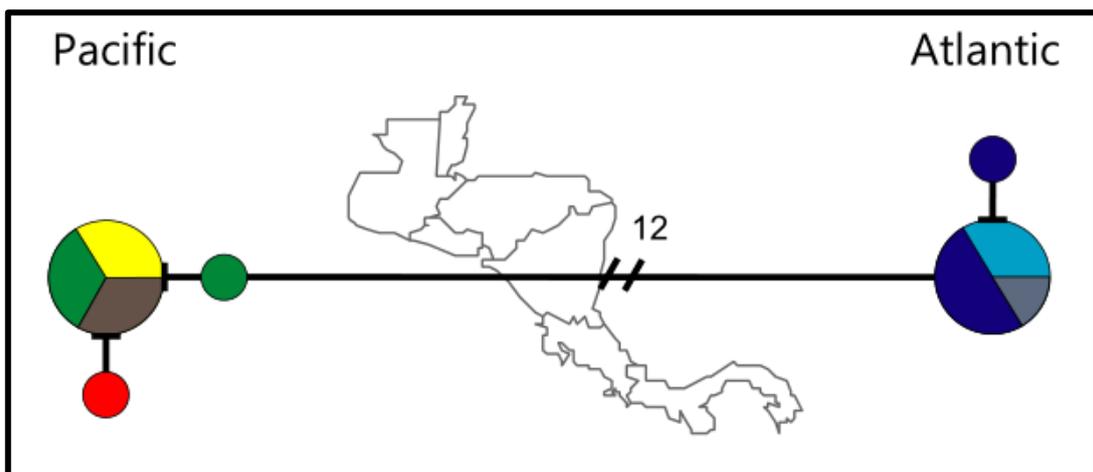
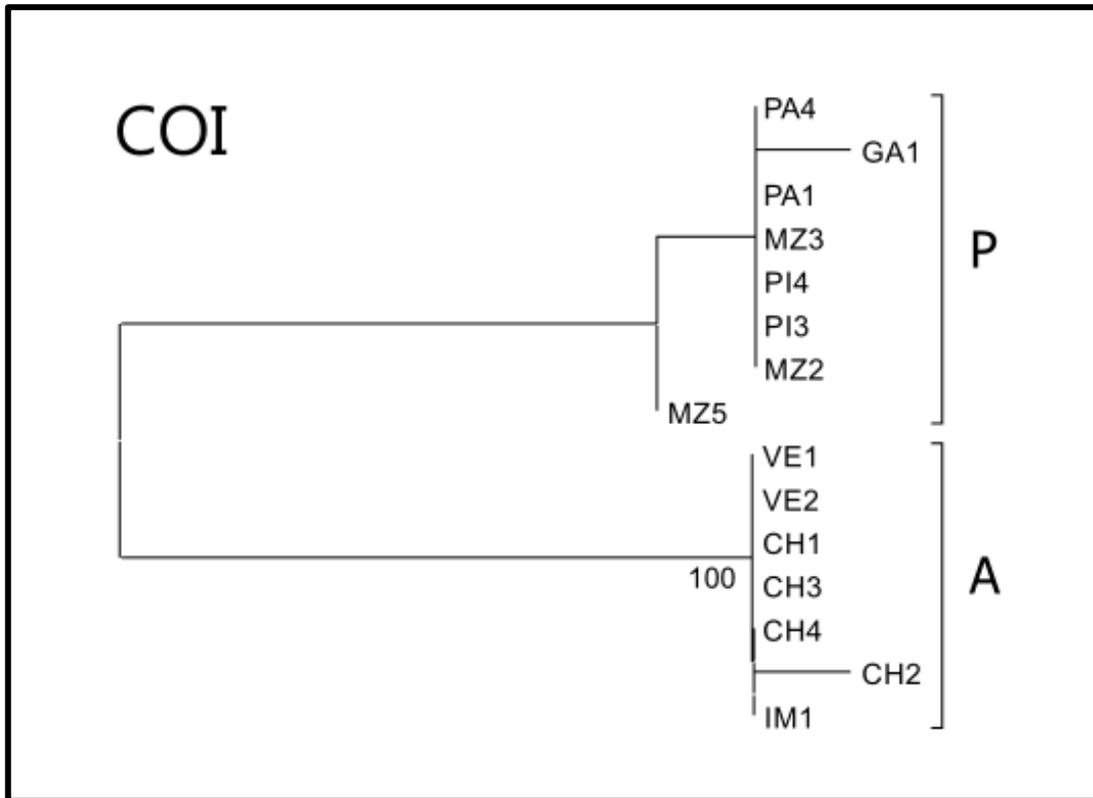




Anexo 6: Árbol de Máxima verosimilitud comprimido de *Centropomus* con el modelo evolutivo HKY + I, basado en el Gen COI obtenido por De Figueiredo-Filho *et al.* (2021). ABGD, PTP, y GMYC representan los análisis de delimitación de MOTUs.



Anexo 7: Árbol NJ obtenido por García *et al.* (2018) a partir del Gen COI y el modelo de sustitución K2P para las muestras de *Gerres simillimus* (en P: Pacífico) y *Gerres cinereus* (Para A: Atlántico). En la parte inferior se presenta las redes de haplotipos para las mismas muestras (el número indica el número de bases que difieren)



Anexo 8: Relaciones Filogenéticas y distribución de las especies de la familia Kyphosidae, propuesta inicialmente por Knudsen & Clements, (2016).

