Bol. Inst. Oceanog. Venez. 61(01): 116-127 (2021) 06 Figs., 04Tabs.

INVASIÓN DEL ATLÁNTICO OCCIDENTAL POR EL PEZ LEÓN (*Pterois volitans* y *P. miles*): APORTE DEL ADN MITOCONDRIAL

Javier Torres-Rodríguez[1], Luz Helena Guadrón[2], Edna Judith Márquez[3] & Arturo Acero P.[2*]

[1] *Instituto para el Estudio de las Ciencias del Mar (Cecimar), Universidad Nacional de Colombia sede Caribe, El Rodadero, Santa Marta, Colombia*
javiertorres188@yahoo.com. orcid.org/0000-0002-3136-4785

[2] *Instituto para el Estudio de las Ciencias del Mar (Cecimar), Universidad Nacional de Colombia sede Caribe, El Rodadero, Santa Marta, Colombia*

[3] *Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias, Laboratorio de Biología Molecular y Celular, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Medellín, Colombia*
** autor de correspondencia: aacerop@unal.edu.co. orcid.org/0000-0002-6637-9901*

Resumen: El complejo de especies del pez león (*Pterois volitans/P. miles*), nativo del Indo Pacífico, fue introducido en aguas del Atlántico occidental convirtiéndose en especies invasoras causantes del deterioro de procesos ecológicos, disminución de recursos en los diferentes ecosistemas marinos y de sus bienes y servicios derivados. Los marcadores moleculares mitocondriales, ampliamente empleados en el análisis del proceso invasivo, han permitido generar información sobre la estructura genética del invasor en las áreas geográficas afectadas. Este estudio recopila información disponible en bases de datos de las diferentes regiones mitocondriales del pez león, donde fue posible el análisis del gen *cytb* y COI, permitiendo evidenciar el proceso evolutivo y presentar las relaciones filogenéticas del complejo de especies invasoras (*P. volitans/P. miles*) con información disponibles de especies de la subfamilia Pteroinae recolectadas en su hábitat nativo. En este sentido fue posible el análisis de dos mitogenomas para el complejo de especies que constituyen la invasión. Así mismo se comparó la estructura del primer mitogenoma proveniente del Caribe sur con los disponibles, encontrando la misma organización mitocondrial y polimorfismos genéticos característicos.

Palabras claves: Mitogenoma, filogenia, invasión biológica

Abstract: The complex of species of the lionfish (*Pterois volitans* / *P. miles*), native from Indo-Pacific, were introduced into waters of the western Atlantic, becoming invasive species causing deterioration in ecological processes, diminishing of different marine ecosystems resources and of their derived goods and ecologic services. Mitochondrial molecular markers, widely used in the study of the invasive process, have allowed the generation of information about the genetic structure of the invading lionfish in the affected areas. This study summarizes the information available in data bases about different mitochondrial regions of lionfish, allowing the analysis of *cytb* and COI genes, letting us to evidence the evolutive processes, and present the phylogenetic relations of the invading species complex (*P. volitans* and *P. miles*) to other Pteroinae species coming from their native range. It was possible to analyze two mitogenomes from the invading species complex, as well as to compare the structure of the first mitogenome from the southern Caribbean to the available information. Comparison showed the same mitochondrial organization and characteristic genetic polymorphisms that may be used to follow the invasive phenomenon.

Key words: Mitogenome, phylogeny, biological invasion

INTRODUCCIÓN

Las invasiones biológicas constituyen uno de los principales riesgos en la conservación de los recursos biológicos (Mack *et al.* 2000; Bax *et al.* 2003; Badii & Landeros 2007). El complejo invasor del pez león (*Pterois volitans y P. miles*), introducido en Atlántico occidental, se ha convertido en invasor debido principalmente a sus características biológicas (Côté *et al.* 2013). Diversos estudios se han llevado a cabo en las temáticas relacionadas con la ecología y evolución de esta problemática, permitiendo evidenciar los impactos generados en consecuencia de la presencia de *P. volitans* (Albins 2011, 2013, 2015; Acero *et al.* 2019).

El pez león fue registrado en 1985 en la Florida y posteriormente en 2004 en las Bahamas, dispersándose rápidamente en aguas del Atlántico Occidental tropical. Este proceso ha ocasionado una reducción en la variabilidad genética en los invasores causada por un fuerte efecto fundador. Hamner *et al.* (2007) y Freshwater *et al.* (2009a) abordaron el tema comparando ejemplares entre las poblaciones nativas de Filipinas e Indonesia e individuos invasores en Norte América, con

base en el análisis del gen mitocondrial c*ytb* y la región control, respectivamente. En 2009 fue registrado en aguas del Caribe sur, en tanto que Betancur *et al.* (2011) indicó la incidencia de un segundo efecto fundador en el proceso de colonización del Caribe, el cual definió que la población se encuentra estructurada por tan solo cuatro haplotipos de la región control; lo que representa hasta una reducción de 96% en la variabilidad genética (Butterfield *et al.* 2015).

Por otro lado, los estudios de la invasión del pez león a partir del análisis trófico con herramientas como el *¨barcode¨* han generado abundantes secuencias del gen COI, el cual es empleado comúnmente en análisis taxonómicos para la discriminación de especies debido a que se considera altamente conservativo (Côté *et al.* 2013; Eme *et al.* 2019). Así mismo, con el fin de evaluar procesos evolutivos, en 2016 fueron generados los primeros mitogenomas de *P. miles* y *P. volitans* los cuales contaron con una longitud total de 16500 pb, y cuya composición comprendió 13 genes codificadores de proteína, 2 ARN ribosomales y 22 genes de ARN de transferencia; similares a otros registros de la familia Scorpaenidae (Del Río-Portilla *et al.* 2016; Dray *et al.* 2016).

Vale la pena destacar los resultados obtenidos a partir de las comparaciones de los mitogenomas obtenidos y secuencias de ADN nuclear, donde ha sido posible detectar la presencia de pseudogenes de la región control del ADNmt de *P. volitans* y en el ADN nuclear de *P. miles* (Whitaker & Janosik 2020). Estos hallazgos corroboran las evidencias de hibridación encontradas por Wilcox *et al.* (2018) quienes realizaron comparaciones de secuencias de ADNmt (COI) y dos intrones nucleares (S7 RP1 y Gpd2) en individuos provenientes de 10 localidades del área geográfica nativa de dos especies reconocidas como invasores del Atlántico occidental (*P. volitans* y *P. miles*) y dos especies putativas (*Pterois lunulata* y *Pterois russelii*), encontrando dos clados, de los cuales *P. miles* corresponde al océano Índico y *P. lunulata* y *P.russelli* como especies hermanas en el Pacífico, afirmando que todos los individuos identificados como *P. volitans* corresponden a un híbrido entre estos clados. Este estudio pretende generar una visión general a partir de algunas de las secuencias mitocondriales existentes de la subfamilia Pteroinae, así como comparar la estructura del mitogenoma de *P. volitans* del Caribe sur con los generados en el Golfo de México para *P. volitans* y *P. miles*.

MATERIALES Y MÉTODOS

En primera instancia se revisó la literatura publicada y la disponibilidad de secuencias de los diferentes genes mitocondriales en las bases de datos públicas. Debido a que permanece inédita, se incluye aquí una breve descripción de la metodología utilizada por Márquez *et al.* (en preparación) para la secuenciación, ensamblaje y anotación del primer mitogenoma para el Caribe sur (Capurganá, Colombia) del pez león. Brevemente, Márquez *et al.* (en preparación) extrajeron el ADN genómico del tejido muscular de un espécimen de *P. volitans* recolectado en el Caribe colombiano (Capurganá, golfo de Urabá); luego se preparó una biblioteca del genoma completo por el método de escopeta la cual se secuenció utilizando la tecnología 454 GS FLX Titanium (Roche, Basilea, Suiza). El ensamblaje de las secuencias cortas (en inglés, "*reads*") se llevó a cabo utilizando el programa Newbler v2.6 (Margulies *et al.* 2005) y las secuencias ensambladas (en inglés, "*contigs*") que contenían genes mitocondriales se detectaron utilizando BLASTN (Camacho *et al.* 2008) con el genoma mitocondrial de referencia de *P. miles* (NC_024746). Se identificó una secuencia ensamblada de 16.947 bases y una cobertura media de 22X como portador del genoma mitocondrial completo. Mediante PCR y secuenciación capilar se confirmó la circularidad de la molécula. El genoma se anotó utilizando el paquete ARTEMIS (Rutherford *et al.* 2000) y la referencia del genoma mitocondrial de *P. miles* (NC_024746), y se depositó en la base de datos del Genbank con el número de acceso KM488633 (Márquez *et al.*, en preparación)

Se verificó la sintenia y longitud de los 13 CDS de los tres genomas mitocondriales disponibles en las bases de datos para el género *Pterois* con el programa ARTEMIS. Además de examinar la variabilidad de los codones de inicio y parada de cada uno de los tres mitogenomas a partir de la información consignada en las bases de datos de (i.e. Genbank).

El análisis evolutivo de los genes mitocondriales *cytb* y COI (*cox1*), así como del genoma mitocondrial completo, se realizó a partir del método de máxima verosimilitud (ML) con el software MEGA X (Kumar *et al.* 2018) y mediante inferencia bayesiana con el programa MrBayes V. 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). Los alineamientos múltiples se obtuvieron a partir de los registros depositados en las bases de datos (Genbank) con el algoritmo ClustalW. Para *cytb* se seleccionaron 39 secuencias nucleotídicas parciales

del gen (> 900 pb) correspondientes al género *Pterois* y una del sebástido *Sebastolobus alascanus* como grupo externo; para COI se utilizaron 35 secuencias del género (> 500 pb); mientras que el análisis de los genomas mitocondriales completos incluyó los tres registros disponibles de *Pterois*, dos de *P. volitans* (Colombia y México) y uno de *P. miles*, junto con un mitogenoma del scorpaenido *Parapterois heterura y* otro del sebástido *Sebastiscus marmoratus* como grupos externos.

Las relaciones filogenéticas ML se realizaron a partir de 10000 réplicas de ¨*bootstrap*¨ con base en el modelo sugerido por el programa en cada uno de los análisis. En el caso de la exploración por inferencia bayesiana, los modelos de sustitución nucleotídica se calcularon con base en el criterio de información de Akaike (AIC) mediante MrModeltest 2.0 (Nylander 2004) ejecutado en PAUP 4.0 (Swofford 2002), junto con el alineamiento múltiple de las secuencias en formato NEXUS. Los análisis se realizaron para 20'000.000 de generaciones con una frecuencia de muestro de cada 1000 generaciones, en dos corridas simultaneas con cuatro cadenas de MCMC (Markov Chain Monte Carlo), una fría y tres calientes; y un *burnin* de 25 %. Los árboles generados se visualizaron y editaron con Figtreee V 1.4.3 (Rambaut 2017).

RESULTADOS

Luego de la revisión de la información genética registrada, fue posible el análisis de un total de 75 secuencias correspondientes a dos regiones del ADNmt (*cytb* y COI) en el complejo invasor y cuatro grupos externos. Para las comparaciones de mitogenomas se examinaron dos secuencias, una para *P. volitans* estudiada en el Golfo de México y una segunda generada en Colombia, Caribe Sur, además de un mitogenoma correspondiente a *P. miles* (TABLA 1). Los modelos de sustitución nucleotídica del genoma mitocondrial completo y de las regiones parciales de los genes mitocondriales *cytb* y COI fueron estimados por los programas MegaX y MrModelTest2 para los análisis respectivos de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana (TABLA 2).

El cálculo de las distancias genéticas intra e interespecíficas del mitogenoma, mostró un porcentaje de divergencia nucleotídica de 0,4 % entre las dos secuencias de *P. volitans* analizadas, una correspondiente a México y la otra del Caribe sur (Colombia); y de 6 % con *P. miles*. Adicionalmente, se observó una alta divergencia (mayor a 30 %) entre el género *Pterois* y otros miembros de la familia Scorpaenidae, i.e. *P. heterura*, la cual superó el 50 % con respecto a *S. marmoratus* (suborden Scorpaenoidei) (TABLA 3).

Con respecto a las estimaciones para las regiones parciales de CDS analizadas, en el caso de *cytb*, *P. volitans* exhibió las mayores distancias genéticas a nivel intraespecífico (2,3 %) mientras que para las demás especies fue inferior a 1 %. Las diferencias entre *P. volitans* y *P. miles* se encontraron entre el 7 y 8,4%, valores similares a los encontrados entre *P. radiata* y *P. antennata* (6,4 a 7,2 %), así mismo fue evidente la diferencia entre ambos complejos de especies hermanas con valores que oscilaron entre 16,6 y 19,2 % (TABLA 3).

En lo referente al segmento de COI analizado, *P. antennata* presentó la divergencia nucleotídica intraespecífica más amplia (7,4 %), seguida por *P. russelii* con 2,4 % y en menor magnitud *P. volitans* con un máximo de 0,8 %. Por otra parte, entre las especies del género las menores distancia genéticas se presentaron entre *P. volitans* y *P. russelii*, con estimaciones que oscilaron entre 1 y 2,4 %, mientras que *P. miles* divergió con respecto a las anteriores en similar proporción (5 % aprox.). Adicionalmente, *P. antennata* ostentó las mayores diferencias (> 13,2 %) en todos los casos (TABLA 3).

Análisis de regiones del ADNmt

Los análisis filogenéticos de los mitogenomas completos realizados a partir de las tres secuencias del género *Pterois* existentes en las bases de datos, dos de *P. volitans* del área de invasión (México y Caribe sur) y una de *P. miles*, junto con dos secuencias como grupos externos, *P, heterura* (Scorpaenidae) y *S. marmoratus* (Sebastidae), evidenciaron una tipología similar de los árboles obtenidos a partir de las inferencias de ML e IB, con soportes de nodo 100 % de bootstrap y 1 de probabilidad posterior respectivamente, de los nodos que agrupan los dos genomas de *P. volitans*, como del que separa a ésta última de *P. miles* (Fig. 1, Fig. 2).

Por su parte, el análisis filogenético de ML del gen *cytb* incluyó un total de 39 secuencias con un número de 878 pb, secuencias de menor longitud fueron excluidas con el fin de disminuir errores en los análisis. Los valores de ¨*bootstrap*¨ que soportan la totalidad de los nodos que separan las diferentes especies de *Pterois* presentaron valores de 100. Adicionalmente, se observó la conformación de dos clados separados,

Tabla 1. Secuencias de genes de las especies utilizadas en los análisis moleculares obtenidas de la base de datos GenBank.

Especie	Análisis	No. Acceso (GenBank)	N
Pterois volitans	Mitogenoma; *cytb*; COI	KM488633.1	1
	Mitogenoma; *cytb*; COI	KJ739816.1	1
	cytb	DQ482583.1 - DQ482607.1	25
	COI	FJ584040.1 - FJ584044.1	5
	COI	JN312281.1 - JN312284.1	4
	COI	KP194970.1	1
	COI	KP641132.1	1
	COI	MH049314.1	1
	COI	MN123478.1	1
	COI	GU673823.1	1
	COI	MF991316.1	1
	COI	KF930341.1	1
	COI	HM379779.1	1
	COI	JX120606.1	1
	COI	MT048384.1	1
Pterois miles	Mitogenoma; COI	LK022697.1	1
	cytb	EF209664.1	1
	cytb	EF209665.1	1
	cytb	EF209667.1	1
	cytb	EF209672.1	1
	cytb	EF209673.1	1
	cytb	EF209675.1	1
	cytb	EF209676.1	1
	COI	MN150235.1 - MN150238.1	4
	COI	MT881566.1	1
Pterois russelii	COI	MT076825.1 - MT076827.1	3
Pterois radiata	*cytb*	FJ607317.1 - FJ607318.1	2
Pterois antennata	*cytb*	FJ607314.1 - FJ607315.1	2
	COI	Mk567086.1	1
	COI	Mk658603.1	1
	COI	MK545058.1	1
	COI	MK545059.1	1
Parapterois heterura	Mitogenoma	LC493917.1	1
Sebastolobus alascanus	*cytb*	AF031497.1	1
	COI	JQ354498.1	1
Sebastiscus marmoratus	Mitogenoma	AP005989.1	1

Tabla 2. Modelos de sustitución nucleotídica implementados en los análisis filogenéticos de máxima verosimilitud (ML) e inferencia bayesiana (IB) de las regiones del mitogenoma evaluadas.

Análisis	Mitogenoma		*cytb*		COI	
Secuencias	5		39		35	
Prueba	ML	IB	ML	IB	ML	IB
Modelo	GTR + G	GTR + G	TN93 + I	GTR + I	K2 + I	GTR + I
BIC	89299.59	-	6954.42	-	3843.17	-
AIC	-	89128.16	-	6111.39	-	3145.08
(+*G*)	0.1851	0.1622	-	-	-	-
(+*I*)	-	-	0.6588	0.6554	0.6769	0.6781

Tabla 3. Distancias genéticas de los genomas mitocondriales completos y secuencias parciales de los genes *cytb* y COI de cuatro especies del género *Pterois*.

ADN mitocondrial	Especies comparadas			
Mitogenoma	*P. volitans*	*P. miles*	*P. radiata*	*P. antennata*
P. volitans	0.000 - 0.023			
P. miles	0.070 - 0.084	0.001 - 0.009		
P. radiata	0.179 - 0.192	0.176 - 0.185	0.008	
P. antennata	0.166 - 0.176	0.175 - 0.187	0.064 - 0.072	0.007
cytb	*P. volitans*	*P. miles*	*P. radiata*	*P. antennata*
P. volitans	0.000 - 0.023			
P. miles	0.070 - 0.084	0.001 - 0.009		
P. radiata	0.179 - 0.192	0.176 - 0.185	0.008	
P. antennata	0.166 - 0.176	0.175 - 0.187	0.064 - 0.072	0.007
COI	*P. volitans*	*P. russelii*	*P. miles*	*P. antennata*
P. volitans	0.000 - 0.008			
P. russelii	0.010 - 0.024	0.002 - 0.024		
P. miles	0.049 - 0.053	0.051 - 0.055	0	
P. antennata	0.139 - 0.161	0.141 - 0.151	0.132 - 0.148	0.004 - 0.074

uno que agrupa a *P. volitans* junto a *P. miles* y otro correspondiente a *P. radiata* y *P. antennata* (Fig. 3). Esta misma topología se evidenció a partir de inferencia bayesiana, con una probabilidad posterior de 0,99 para el primer grupo previamente señalado, y un valor de 1 en el segundo caso (Fig. 4).

Por su parte, el análisis de ML del gen COI se basó en 35 secuencias con un número final de posiciones de 517 pb. La topología del árbol fue similar al anterior, con dos grupos separados, uno integrado por *P. volitans*, *P. russelii* y *P. miles*, y el otro por *P. antennata*. Los valores de ¨*boostrap*¨ que soportan cada uno de los grupos fue de 100, con un valor menor en el nodo interno (78) que soporta a *P. volitans* y *P. russelii*, esta última parafilética (Fig. 5). A partir del análisis bayesiano se observó un comportamiento similar, aunque con una baja probabilidad posterior (0,5) para el grupo *P. volitans*, *P. russelii* y *P. miles*; esta última con un soporte interno más significativo (0,82) (Fig. 6).

Análisis del mitogenoma

La comparación de los tres genomas mitocondriales evidenció 834 polimorfismos de nucleótido simple entre el mitogenoma de *P. volitans* del Caribe sur y *P. miles*. Todos los mitogenomas presentaron la misma organización génica con una región control (D-loop), 22 ARNt, 2 ARNr y 13 secuencias codificadoras, que a su vez presentaron longitudes (pb) idénticas, excepto por la secuencia de ATP6 de *P. miles* con un nucleótido menos con respecto a *P. volitans* (TABLA 4). La longitud total de los tres mitogenomas osciló entre 14947 y 15000 pb.

Por otra parte, se encontró que el codón de inicio más frecuente de las CDS fue el ATG, presente en 12 de estas, mientras que la restante presentó el codón GTG (COI). De igual forma, los codones de parada TAA y sus formas incompletas TA- y T—fueron los más comunes (12 CDS), en tanto que para ND6 fue TAG. Los codones de parada fueron similares entre los tres genomas, a excepción de ATP6 de *P. miles* (TABLA 4).

DISCUSIÓN

La comparación entre los mitogenomas de *P. volitans* para el Caribe sur y los previamente publicados para *P. volitans* y *P. miles* para el Golfo de México, corrobora que los mitogenomas de los peces son altamente conservados y exhiben idéntica organización de los genes (Miya & Nishida 1999; Satoh *et al.* 2016). Se ha propuesto que esta característica de la estructura de los mitogenomas de vertebrados puede estar relacionada con mecanismos de desaminación y traducción de los genes (Satoh *et al.* 2010).

Al igual que otros grupos de peces óseos, *P. volitans* y *P. miles* utilizan los codones de inicio ATG en la mayoría de los genes codificadores de proteínas (Miya & Nishida 1999; Kim *et al.* 2004;) y el codón GTG en el gen COI (Miya & Nishida 1999; Kim *et al.* 2004; Pang *et al.* 2016a, 2016b). De manera similar, *P. volitans* y *P. miles* utilizan los codones de paro TAA y sus versiones incompletas (TA-; T--) como otras especies de vertebrados (Miya & Nishida 1999; Pang *et al.* 2016a, 2016b; Satoh *et al.* 2016; Gong *et al.* 2017). También utilizan el codón de paro TAG en el gen ND6 descrito para los sebástidos *Sebastiscus albofasciatus* (GenBank: MT117230.1), *S. marmoratus* (GenBank: MT789709; MT584656.1) y *S. tertius* (GenBank: MT117231.1), así como para especies del género *Thunnus* (Pang *et al.* 2016a, 2016b), y dos miembros del género *Auxis* de la familia Scombridae (Catanese *et al.* 2008). Sin embargo, es importante resaltar que el mitogenoma de referencia, al igual que otros mitogenomas depositados para *S.*

Tabla 4. Longitud (pb), codones de inicio (5´) y de parada (3´) de las secuencias codificadoras de proteínas (CDS) de los mitogenomas de *Pterois volitans y P. miles* depositadas en las bases de datos (Genbank). El asterisco denota diferencias.

Especies	*P. volitans*			*P. volitans*			*P. miles*		
No.Genbank	KM488633.1			KJ739816.1			LK022697.1		
CDS	pb	5’	3’	pb	5’	3’	pb	5’	3’
COI	1551	GTG	TAA	1551	GTG	TAA	1551	GTG	TAA
COII	691	ATG	T--	691	ATG	T--	691	ATG	T--
ATP8	168	ATG	TAA	168	ATG	TAA	168	ATG	TAA
ATP6	684	ATG	TAA	684	ATG	TAA	683*	ATG	TA-*
COIII	785	ATG	TA-	785	ATG	TA-	785	ATG	TA-
ND3	349	ATG	T--	349	ATG	T--	349	ATG	T--
ND4L	297	ATG	TAA	297	ATG	TAA	297	ATG	TAA
ND4	1381	ATG	T--	1381	ATG	T--	1381	ATG	T--
ND5	1837	ATG	T--	1837	ATG	T--	1837	ATG	T--
ND6	522	ATG	TAG	522	ATG	TAG	522	ATG	TAG
CYTB	1141	ATG	T--	1141	ATG	T--	1141	ATG	T--
ND1	975	ATG	TAA	975	ATG	TAA	975	ATG	TAA
ND2	1046	ATG	TA-	1046	ATG	TA-	1046	ATG	TA-

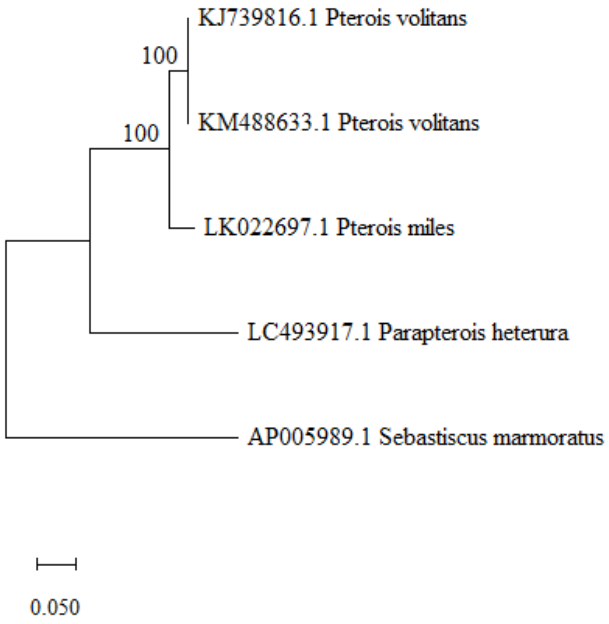


Fig. 1. Árbol obtenido a partir del método de máxima verosimilitud de los genomas mitocondriales completos de *Pterois volitans*, *Pteoris miles* y dos especies del suborden Scorpaenoidei.

marmoratus exhiben terminaciones en TTT (GenBank: NC_013812.1; GU452728.1), TAA (GenBank: AP005989.1) y TTA (GenBank: KF667491.1) (Xu *et al.* 2011). Comparado con *P. miles*, la longitud del gen *atp6* presenta un nucleótido adicional en los dos mitogenomas de *P. volitans*, lo cual está relacionado con el codón de paro incompleto en *P. miles*.

Adicionalmente, 834 polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) fueron identificados entre el mitogenoma de *P. volitans* del Caribe Sur (Capurganá) y *P. miles*. Números similares de SNPs (LF044: 837; LF272, LF287: 707) se encontraron entre los mitogenomas de *P. volitans* del Caribe Sur y tres muestras de *P. miles* procedentes de Bahamas, en donde la mayoría de estos polimorfismos se concentran en los genes COI (104 SNPs) y ARNs de transferencia (101 SNPs) (Whitaker & Janosik 2020). Se ha sugerido que los SNPs, especialmente los no sinónimos que están ubicados en el gen COI, pueden tener un efecto sobre la eficacia biológica por alteración de algunos rasgos tales como la fosforilación oxidativa; por lo tanto, la búsqueda de mutaciones en el genoma mitocondrial puede proporcionar información adicional

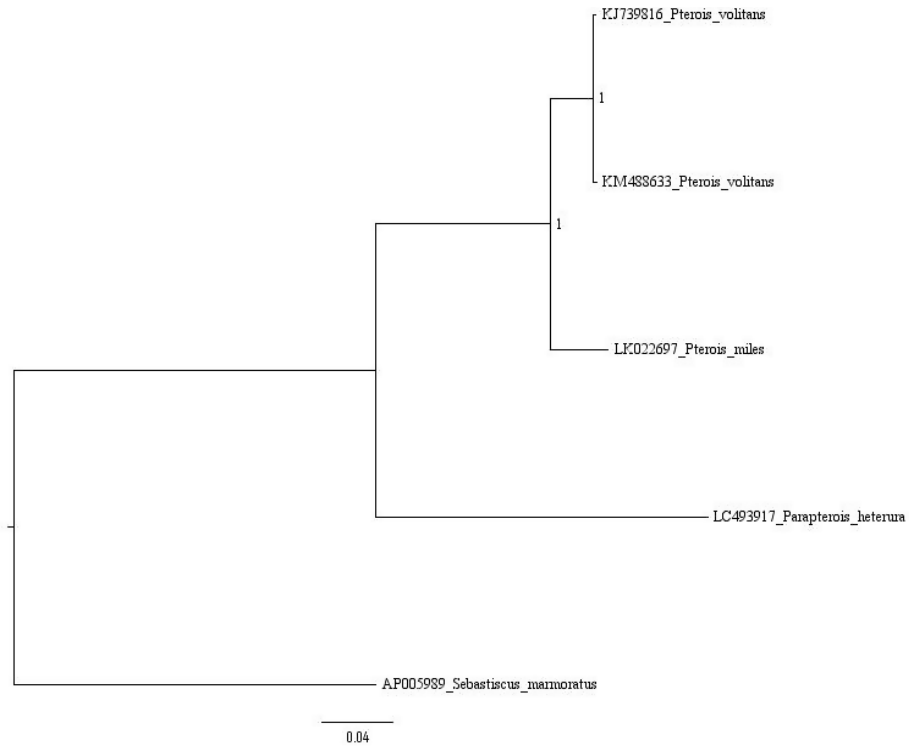


Fig. 2. Árbol obtenido a partir del método de inferencia bayesiana de los genomas mitocondriales completos de *Pterois volitans*, *Pteoris miles* y dos especies del suborden Scorpaenoidei.

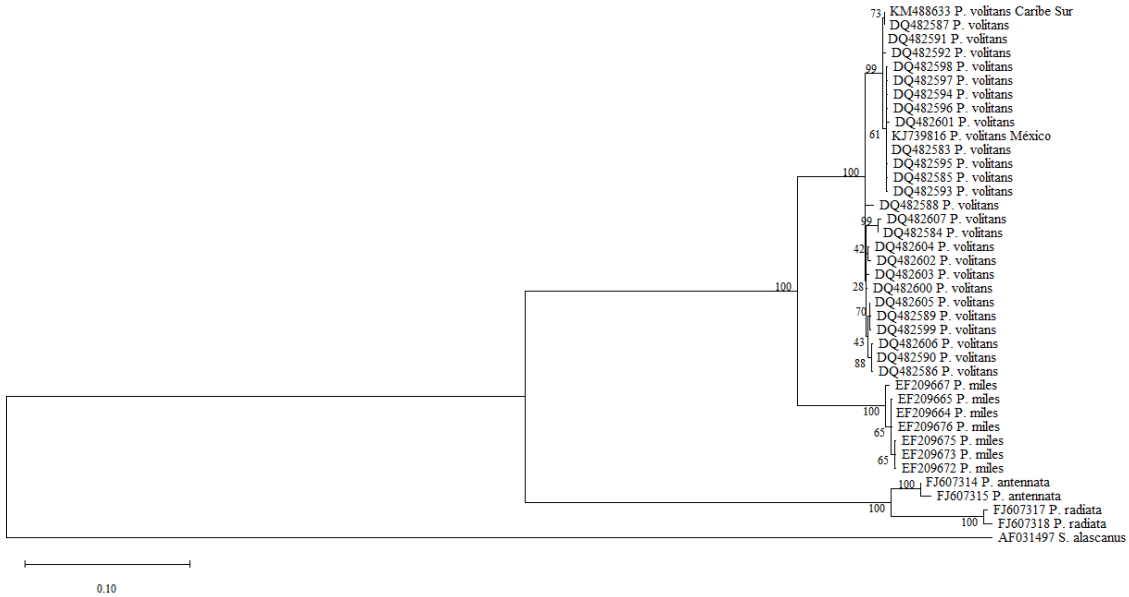


Fig. 3. Árbol obtenido a partir del método de máxima verosimilitud de un fragmento del gen mitocondrial *cytb* para secuencias disponibles del género *Pterois* y una especie de la familia Sebastidae (outgroup).

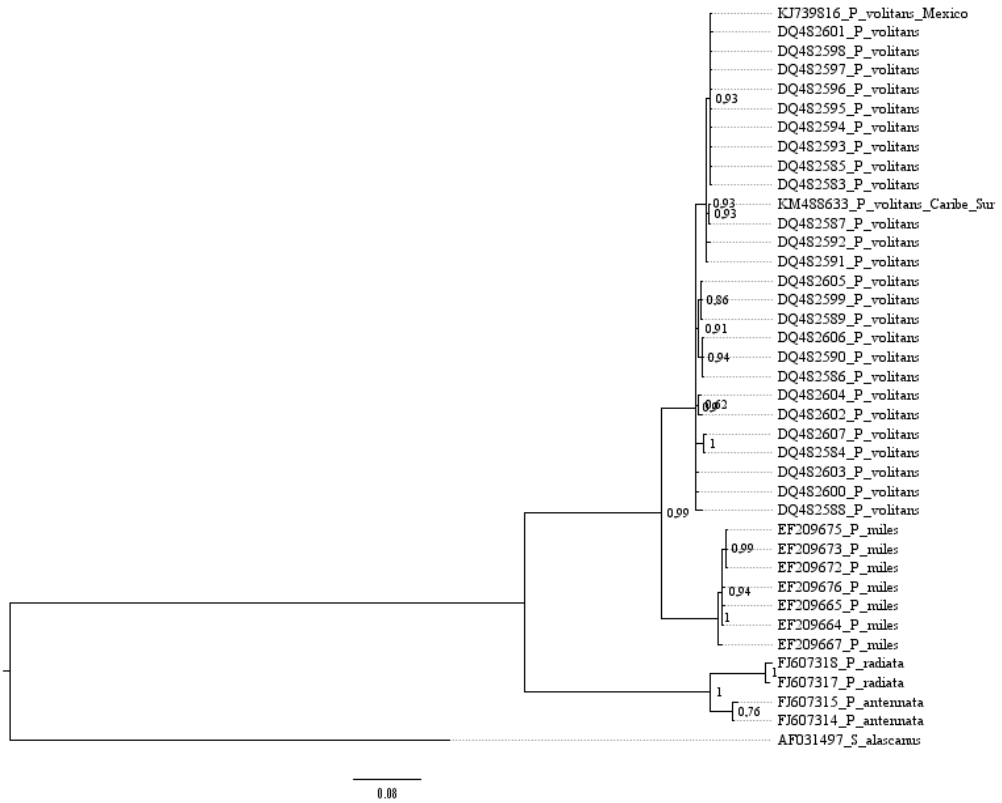


Fig. 4. Árbol obtenido a partir del método de inferencia bayesiana de un fragmento del gen mitocondrial *cytb* para secuencias disponibles del género *Pterois* y una especie de la familia Sebastidae (outgroup).

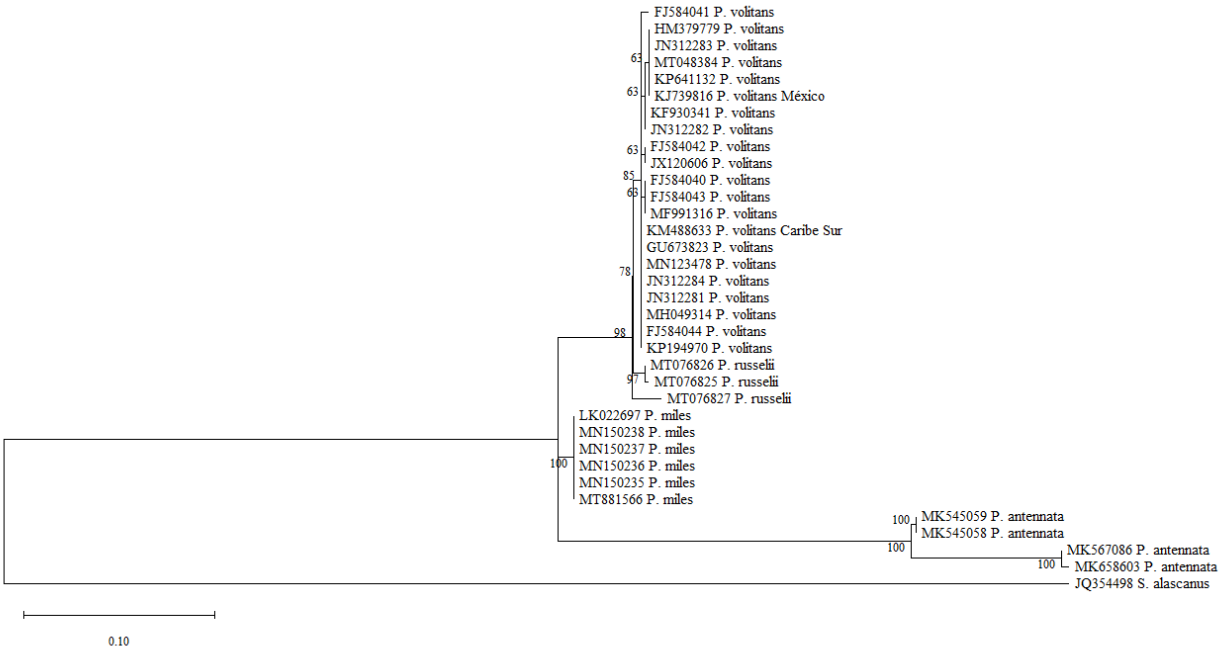


Fig. 5. Árbol obtenido a partir del método de máxima verosimilitud de un fragmento del gen mitocondrial COI para secuencias disponibles del género *Pterois* y una especie de la familia Sebastidae (outgroup).

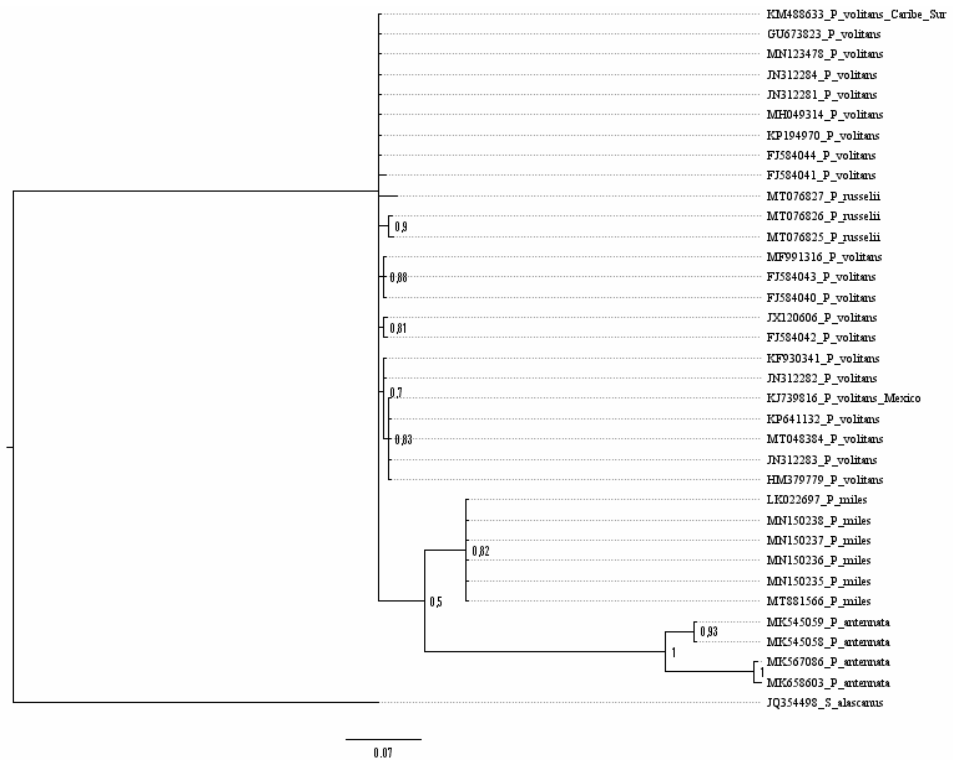


Fig. 6. Árbol obtenido a partir del método de inferencia bayesiana de un fragmento del gen mitocondrial COI para secuencias disponibles del género *Pterois* y una especie de la familia Sebastidae (outgroup).

sobre el éxito reproductivo de la especie (Whitaker & Janosik 2020).

Así mismo, con base en lo señalado por Hamner *et al.* (2007) a partir de *cytb*, el mitogenoma correspondiente al Caribe Sur correspondería al haplotipo de menor frecuencia en la invasión en el Atlántico occidental (i.e., haplotipo E), mientras que aquel generado en golfo de México se designó como el de mayor incidencia en dicho evento (i.e., haplotipo A), ambos con poblaciones nativas originarias de Indonesia, y, en menor medida para este último, de las Filipinas. De manera similar, con base en la región control de cada mitogenoma, el individuo del Caribe Sur corresponde al haplotipo H2 mientras que el de México corresponde al haplotipo H1. Aun cuando esta región ha sido ampliamente utilizada para hacer seguimiento a la invasión del pez león (Freshwater *et al.* 2009a; Betancur-R *et al.* 2011), las evidencias de hibridación interespecífica y pseudogenes en el genoma nuclear que no pueden ser diferenciados de la región mitocondrial, ha cuestionado su utilidad para la identificación de las especies y estudios filogeográficos (Whitaker & Janosik 2020).

La limitación para diferenciar entre pseudogenes y genes funcionales puede solucionarse en genes mitocondriales que codifican proteínas porque presentan codones de paro; sin embargo, la hibridación interespecífica plantea la necesidad de utilizar genes nucleares no solo para discriminar las especies sino también para caracterizar mejor los patrones de invasión y la conectividad genética. En este contexto, Whitaker & Janosik (2020) sugieren prestar cuidadosa atención a la elección del marcador molecular. Hasta ahora, la evidencia se ha obtenido mediante el uso de un gen nuclear (intrón 1 de la proteína ribosomal S7) y una combinación de métodos de secuenciación Sanger y genómica; mientras que el uso de SNPs nucleares de todo el genoma no ha logrado detectar hibridación (Pérez-Portela *et al.* 2018; Bors *et al.* 2019).

Los análisis mitocondriales de la invasión del pez león muestran claramente que el complejo de especie invasora está constituido por *P. volitans* y *P. miles* en el Atlántico noroccidental y ha sido afectado por un fuerte evento fundador (Hamner *et al.* 2007). Así mismo, no se ha encontrado evidencia mitocondrial de la presencia de *P. miles* en el Caribe, confirmando los resultados registrados por Freshwater *et al.* (2009b), Betancur-R. *et al.* (2011) y Butterfield *et al.* (2015), hecho que puede estar relacionado con el número inicial de individuos introducidos por especie.

Al realizar comparaciones entre las diferentes secuencias del gen mitocondrial *cytb* es posible afirmar que *P. volitans* constituye una especie hermana de *P. miles*, los cuales son claramente diferentes de *P. antennata* y *P. radiata,* que a su vez conforman otro grupo hermano, aunque con un mayor grado de divergencia (Figuras 3 y 4), lo cual es consistente con los resultados encontrados en los análisis filogenéticos realizados para varias especies de scorpaenidos (Freshwater *et al.* 2009b). Al igual que en el gen *cytb*, el análisis de la región COI agrupó a las especies relacionadas *P. antennata* y *P. radiata*, lo cual permite afirmar su cercanía evolutiva.

Al revisar el gen COI fue posible evidenciar la relación estrecha entre *P. russelli* y *P. volitans* dada su inclusión en el mismo grupo hermano de *P. miles*. Estas relaciones analizadas en conjunto con genes nucleares llevaron a Wilcox *et al.* (2018), a proponer que *P. volitans* corresponde a un híbrido producto de procesos de introgresión entre *P. miles y P. russelli* del Indo-Pacífico, el cual ha experimentado retro cruzamientos. En este contexto, se plantea que la heterosis estaría relacionada con la magnitud en el área de invasión de este híbrido.

En resumen, los análisis mitocondriales han proporcionado las primeras pistas sobre la evolución de la invasión del pez león en el Atlántico occidental y han puesto en evidencia la estructura conservada de los mitogenomas en el complejo *P. miles/P. volitans*, los cuales exhiben altos niveles de polimorfismo de nucleótidos simples, característica que parece ser generalizada en los miembros de familia Scorpaenidae. Varios estudios tanto en las zonas de origen como en los rangos de invasión han permitido revelar diferentes aspectos evolutivos del pez león que evidencian complejos de especies del género *Pterois* correspondientes a la cuenca del Índico (*P. antennata* y *P. radiata*) y otra al Pacifico occidental (*P. miles/P. volitans*). Además, y aun cuando resulta aún controvertido, varias líneas de evidencia sugieren que *P. volitans* corresponde a un híbrido entre *P. russelli* y *P. miles*; por lo tanto, la pronta integración de diferentes aproximaciones evolutivas y taxonómicas son requeridas para profundizar en el entendimiento de estos complejos de especies.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado parcialmente por Colciencias, proyecto 1361-521-28271. Contribución No. 534 del Instituto para el Estudio de las Ciencias del Mar (Cecimar) de la Universidad Nacional de Colombia sede Caribe.

REFERENCIAS

Acero P., A., D. Bustos-Montes, P.P. Quintero, C.J. Polo-Silva & A. Sanjuan Muñoz. 2019. *Feeding habits of Pterois volitans: a real threat to Caribbean coral reef biodiversity*. En: Makowski, C. & C.W. Finkle (Eds.) *Impacts of Invasive Species on Coastal Environments*. Springer, Cham, Switzerland. 269-314.

Albins, M. A. 2011. *Effects of the invasive Pacific red lionfish* Pterois volitans *on native Atlantic coral-reef fish communities*. PhD Tesis. Oregon State University.

Albins, M. A. 2013. Effects of invasive Pacific red lionfish *Pterois volitans* versus a native predator on Bahamian coral-reef fish communities. *Biol. Inv.* 15(1): 29-43.

Albins, M. A. 2015. Invasive Pacific lionfish *Pterois volitans* reduce abundance and species richness of native Bahamian coral-reef fishes. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*522: 231-243.

Badii, M. H. & J. Landeros. 2007. Invasive species or the third horseman of environmental apocalypses, a threat to sustainability. *Internat. J. Good Cons.* 2(1): 39-53.

Bax, N., A. Williamson, M. Aguero, E- González & W. Geeves. 2003. Marine invasive alien species: a threat to global biodiversity. *Mar. Pol*. 27(4): 313-323.

Betancur-R, R., A. Hines, A. Acero, G. Ortí, A. E.Wilbur & D.W. Freshwater. 2011. Reconstructing the lionfish invasion: insights into Greater Caribbean biogeography. *J. Biogeogr.* 38(7): 1281-1293.

Bors, E. K., S. Herrera, J.A. Morris Jr & T. M. Shank. 2019. Population genomics of rapidly invading lionfish in the Caribbean reveals signals of range expansion in the absence of spatial population structure. *Ecol. Evol.* 9(6): 3306-3320.

Butterfield, J. S., E. Díaz-Ferguson, B. R. Silliman, J. W. Saunders, D. Buddo, A. A. Mignucci-Giannoni, L. Searle, A. C. Allen & M. E. Hunter. 2015. Wide-ranging phylogeographic structure of invasive red lionfish in the Western Atlantic and Greater Caribbean. *Mar. Biol.* 162(4): 773-781.

Camacho, C., T. Madden, N. Ma, T. Tao, R. Agarwala & A. Morgulis. 2008. BLAST command line applications user manual, BLAST®. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda, USA. 37 p.

Catanese, G, C. Infante & M. Manchado. 2008. Complete mitochondrial DNA sequences of the frigate tuna *Auxis thazard* and the bullet tuna *Auxis rochei*. DNA Seq., 19(3): 159–166. http://doi.org/10.1080/10425170701207117

Côté, I. M., S. J. Green, J. A. Morris Jr, J. L. Akins & D. Steinke. 2013. Diet richness of invasive Indo-Pacific lionfish revealed by DNA barcoding.*Mar. Ecol. Progr. Ser.* 472: 249-256.

Del Río-Portilla, M. A., C.E. Vargas-Peralta, S. Machkour-M'Rabet, Y. Hénaut & F. J. García-De-León. 2016. Lionfish, *Pterois volitans* Linnaeus 1758, the complete mitochondrial DNA of an invasive species. *Mitoch. DNA Part A* 27(2): 1423-1424.

Dray, L., M. Neuhof, A. Diamant & D. Huchon. 2016. The complete mitochondrial genome of the devil firefish *Pterois miles* (Bennett, 1828) (Scorpaenidae). *Mitoch. DNA Part A*, 27(1): 783-784.

Eme, D., A.M. Anderson, C.D. Struthers, C.D. Roberts & L. Liggins. 2019. An integrated pathway for building regional phylogenies for ecological studies. *Global Ecol. Biogeogr.* 28(12): 1899-1911.

Freshwater, D.W., A. Hines, S. Parham, A. Wilbur, M. Sabaoun, J. Woodhead… & C.B. Paris. 2009a. Mitochondrial control region sequence analyses indicate dispersal from the US East Coast as the source of the invasive Indo-Pacific lionfish *Pterois volitans* in the Bahamas. *Mar. Biol*. 156(6): 1213-1221.

Freshwater, D.W., R. M. Hamner, S. E. Parham & A. E. Wilbur. 2009b. Molecular evidence that the lionfishes *Pterois miles* and *Pterois volitans* are distinct species. *J. NC Acad. Sci.* 39-46.

Gong, L., L.Q. Liu, B. Y. Guo, Y.Y. Ye & Z. M. Lü. 2017. The complete mitochondrial genome

characterization of *Thunnus obesus* (Scombriformes: Scombridae) and phylogenetic analyses of *Thunnus*. *Cons. Gen. Res*., 9(3): 379-383.

Hamner, R. M., D. W. Freshwater & P. E. Whitfield. 2007. Mitochondrial cytochrome b analysis reveals two invasive lionfish species with strong founder effects in the western Atlantic. *J. Fish Biol.* 71: 214-222.

Kim, I. C., H.S. Kweon, Y.J. Kim, C.B. Kim, M.C. Gye, W.O. Lee ... & J.S. Lee. 2004. The complete mitochondrial genome of the javeline goby *Acanthogobius hasta* (Perciformes, Gobiidae) and phylogenetic considerations. *Gene.* 336(2): 147-153.

Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz & K. Tamura. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35(6): 1547.

Mack, R.N., D. Simberloff, W.M. Lonsdale, H. Evans, M. Clout & F. Bazzaz. 2000. Invasiones biológicas: causas, epidemiología, consecuencias globales y control. *Top. Ecol*. 5: 1-53.

Margulies, M., M. Egholm & W. Altman. 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 437:376–380. https://doi.org/10.1038/nature03959

Miya, M. & M. Nishida. 1999. Organization of the mitochondrial genome of a deep-sea fish, *Gonostoma gracile* (Teleostei: Stomiiformes): first example of transfer RNA gene rearrangements in bony fishes. *Mar. Biotechnol.* 5: 416-426.

Nylander, J. A. A. 2004. MrModeltest v2. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Suecia.

Pang, J., Q. Cheng, D. Sun, H. Zhang & S. Jin. 2016a. The sequence and organization of complete mitochondrial genome of the yellowfin tuna, *Thunnus albacares* (Bonnaterre, 1788). *Mitochondr. DNA Part A* 27(5): 3111-3112.

Pang, J., Q. Cheng, D. Sun, -H. Zhang & S. Jin. 2016b. The complete mitochondrial genome sequence of *Thunnus alalunga* (Bonnaterre, 1788). *Mitochondr. DNA Part A* 27(6): 4189-4190.

Pérez-Portela, R., A. Bumford, B. Coffman, S. Wedelich, M. Davenport, A. Fogg, ... & M. F. Oleksiak. 2018. Genetic homogeneity of the invasive lionfish across the northwestern Atlantic and the Gulf of Mexico based on single nucleotide polymorphisms. *Scient. Rep.* 8(1): 1-12.

Rambaut, A. 2017. FigTree-version 1.4. 3, a graphical viewer of phylogenetic trees. http://tree. bio. ed. ac. uk/software/figtree.

Ronquist, F. & J. P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3.1: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19(12): 1572-1574.

Rutherford, K., J. Parkhill, J. Crook, T. Horsnell, P. Rice, M.A. Rajandream & B. Barrell. 2000. Artemis: sequence visualization and annotation. *Bioinformatics*, 16(10): 944-945

Satoh, T. P., Y. Sato, N. Masuyama, M. Miya & M. Nishida. 2010. Transfer RNA gene arrangement and codon usage in vertebrate mitochondrial genomes: a new insight into gene order conservation. *BMC Gen.* 11(1): 1-10.

Satoh, T. P., M. Miya, K. Mabuchi & M. Nishida. 2016. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes. *BMC Gen.*17(1): 1-20.

Swofford, D. L. 2002. PAUP: phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0 b10. Sunderland (MA): Sinauer Associates.

Whitaker, J. M. & A.M. Janosik. 2020. Missing the mark (er): pseudogenes identified through whole mitochondrial genome sequencing provide new insight into invasive lionfish genetics. *Conserv. Gen.* 21(3): 467-480.

Wilcox, C. L., H. Motomura, M. Matsunuma & B.W. Bowen. 2018. Phylogeography of lionfishes (*Pterois*) indicate taxonomic over splitting and hybrid origin of the invasive *Pterois volitans*. *J. Her*. 109(2): 162-175.

Xu, T. J., Y. Z. Cheng, X. Z., Liu, G. Shi & R. X. Wang. 2011. The complete mitochondrial genome of the marbled rockfish *Sebastiscus marmoratus* (Scorpaeniformes, Scorpaenidae): Genome characterization and phylogenetic considerations. *Mol. Biol.* 45(3): 392-403.

Recibido: Mayo 2021

Aceptado: Agosto 2021