

INFORME FINAL

Título del Proyecto: Estudio Poblacional de dos especies de caballito de mar en diferentes zonas de Cuba

Código: DB-013

Programa Ramal: "Diversidad Biológica"

Clasificación: Investigación-Básico.

Institución cabecera: Acuario Nacional de Cuba

Nombres y apellidos del Investigador Principal: MC Lourdes Fidelina Pastor Gutiérrez.

CORRESPONDENCIA ENTRE LOS OBJETIVOS PLANTEADOS EN EL PROYECTO Y LOS RESULTADOS ALCANZADOS

Los resultados alcanzados se corresponden con los objetivos planteados. Se obtuvo la densidad media para *Hippocampus reidi* e *Hippocampus erectus*, así como la densidad media por estaciones y por época del año. Se determinó la proporción sexual por especie y en cada estación. Se caracterizaron morfométricamente ambas especies. Los collares artesanales resultaron efectivos para el marcaje de *H. reidi* e *H. erectus* en condiciones de laboratorio. Se obtuvo el patrón de movilidad, el rango de movimiento y la fidelidad al sitio de la especie *H. reidi* en el medio natural en las estaciones de Barracuda y Playa Caleta (Varadero). Se estimó la diversidad genética en las localidades muestreadas, de Santa Ana, Varadero, Caibarién y Cayo Coco. Se encontró que las poblaciones de ambas especies y en particular *H. reidi* muestran un nivel alto de diferenciación genética a nivel geográfico amplio (Caribe). Se obtuvo un número de haplotipos considerables en las muestras secuenciadas. De acuerdo a los resultados obtenidos se sugiere que las poblaciones locales deben ser tratadas como unidades de manejo independientes.

ANTECEDENTES DE LA TEMÁTICA

Unas de las especies de peces ornamentales de mayor interés para las exhibiciones en el Acuario Nacional de Cuba son los caballitos de mar (género *Hippocampus*), importantes no sólo por su exótica belleza, si no también por ser especies representativas de importantes biotopos, entre los que se encuentran los manglares y pastos marinos fundamentalmente.

Desde el año 2004 el Acuario Nacional se propuso conocer el estado de las poblaciones de caballitos de mar en dos zonas de la costa norte de Cuba, donde tradicionalmente se había reportado la presencia de estos peces. Como resultado se estimó por primera vez la densidad poblacional de las especies *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) y de *Hippocampus erectus* (Perry, 1810) en La Laguna de Santa Fé (costa norte de la Habana) y en Las Cuarenta, Bahía de Cabaña (costa norte de Pinar del Río), en los biotopos de: pastizales marinos, manglar sumergido y estructuras de concreto sumergidas (muros y fragmentos de estos, con un fondo de piedras, algas y arena).

Este estudio se realizó por un período de un año, por lo que se consideró que los datos obtenidos eran insuficientes para una estimación confiable de la densidad poblacional de las dos especies de caballitos en la costa norte de Cuba, por lo que se propuso hacer extensivo este estudio a otras zonas del país por un período de 3 años.

En Cuba, la exportación de caballitos de mar vivos de las especies *Hippocampus reidi* (*H. reidi*) y de *Hippocampus erectus* (*H. erectus*) se realizó desde el año 1995 hasta el año 2005 (UNEP-WCMC CITES. 2006), destacándose el año 2004 con más de 100 ejemplares vivos de la especie *H. erectus*. Actualmente sus poblaciones se encuentran sometidas a una presión de explotación, si consideramos que la pesca furtiva con diferentes fines (Ej. Uso en acuariofilia, como amuletos, souvenirs y medicamentos) es una práctica común.

A nivel mundial los caballitos de mar son unas de las especies marinas más afectadas por la sobreexplotación y la degradación del ambiente, (Vincent, 1996; Foster y Vincent, 2004; Martin-Smith *et al*; 2004). Es por esto que constituyen objetivos muy importantes, para los estudios y planes de conservación de la diversidad marina.

Por esta razón desde el año 2004, todas las especies del género *Hippocampus* están incluidas en el APENDICE II de la Convención Internacional sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres (CITES) (Mazatlan, México 2004), y en la Lista Roja de especies amenazadas (UICN, 2004).

Dentro del género *Hippocampus* aparecían descritas 33 especies hasta el año 2004 (Lourie *et al*; 2004), en la actualidad se han encontrado 5 nuevas especies según lo publicado por (Lourie y Kuitert, 2008). En Cuba solamente se han registrado tres de estas: *H. erectus*; *H. reidi* e *H. zosterae*, la primera se encuentra en la categoría de VULNERABLE (VU) en la LISTA ROJA de la (UICN 2006), pues se plantea que en varios países sus poblaciones han disminuido al menos en un 30 %, ya que es una de las especies más comercializadas (UICN 2009). Mientras que por no contar con información suficiente sobre su distribución y estatus poblacional en el mundo tanto *H. reidi*; como *H. zosterae*, se encuentran en la categoría taxón con Datos Deficientes (DD), a nivel mundial por lo que el riesgo real en que se encuentran no puede ser valorado actualmente. Esto conduce a que se realicen investigaciones sobre abundancia y distribución, que puedan mostrar cuál es la clasificación más apropiada para estas especies (Project Seahorse 2003).

En la actualidad entre el 75 y el 90 por ciento de las poblaciones de *H. reidi* y de *H. erectus*, muestran una reducción progresiva de sus efectivos en varios países del Atlántico Occidental, provocada por la captura excesiva con fines comerciales, la captura fortuita por actividades pesqueras y la degradación y pérdida de hábitat (Project Seahorse 2003)

En el ámbito mundial el estudio poblacional de caballitos de mar, se realiza utilizando el método de censos visuales, mediante recorridos lineales (Curtis, *et al*; 2004), el cual es trabajoso y engorroso, sobre todo por el poder de camuflaje y el lento movimiento de los caballitos, que los hacen muy difíciles de detectar.

En general son pocos los estudios que se han realizado sobre las poblaciones naturales de caballitos de mar. Es escasa la información sobre la abundancia, proporción sexual y talla de reclutamiento. Entre lo trabajos más importantes sobre abundancia, densidad,

características morfométricas y época de reproducción de la especie *H. reidi* se encuentran los realizados por Diaz y Rosa (2003); Rosa *et al.* (2005, 2007); Freret-Meurer y Andreatta, (2008) y Giacometti y Rosa (2009) en Brasil y Arcos Pulido y Gómez-Prieto (2004, 2005, y 2006) en Santa Marta, Colombia. Teixeira y Musick (2001), estudiaron los hábitos alimentarios y reproductivos de la especie *H. erectus* en la bahía de Chesapeake, Estados Unidos.

Existen varios trabajos sobre este tema en especies, regiones geográficas y biotopos diferentes a los de Cuba como son los siguientes: Bell *et al.*; (2003), que estudiaron la población de *H. capensis* en el estuario de Knysna en Sur África; Perante *et al.*; (2002) que describieron la distribución y abundancia de *H. comes* en un arrecife de coral en Filipinas, así como Moreau y Vincent (2004) y Vincent *et al.*; (2005) sobre *H. whitei* en un lecho de pastos marinos en Australia.

Según (Lourie *et al.*; 2004), la mayoría de las especies de caballitos de mar no han sido estudiadas en el medio natural, especialmente en zonas tropicales, y los pocos estudios que se han realizado en zonas templadas, no son muy útiles a la hora de explicar la conducta reproductiva y la ecología de las especies de bajas latitudes.

En general se consignan densidades de 0,002 a 0,1 por metro cuadrado para la mayoría de las poblaciones sobre las que se dispone de datos transversales, si bien puede haber densidades de hasta 10-15 caballitos por metro cuadrado en manchas de zosteras marinas localizadas. Existen algunas especies como por ejemplo, *H. bargibanti* que se encuentra en grupos de hasta 28 parejas en una sola gorgonia. (Lourie *et al.*; 2004)

Según (Curtis *et al.*; 2004) las áreas coralinas son de todos los hábitat donde se distribuyen estos especímenes, los de más baja densidad con un promedio de 0.006 m²

Existe poca información sobre el patrón de movilidad, el rango de movimientos y la fidelidad al sitio, así como sobre la estructura y diversidad genética de las especies *H. reidi* e *H. erectus* en el medio natural.

El marcaje de los individuos es una de las herramientas más eficaces para determinar los patrones de movimiento, la estructura de las poblaciones, la talla, el crecimiento, la conducta, la edad o la fecundidad. Uno de los métodos más efectivos para ello es el marcaje directo de los ejemplares tanto interna como externamente, lo cuál ha sido empleado tanto en peces (Griffiths, 2002; Perante *et al.*, 2002; Doupé *et al.*; 2003, Rosa *et al.*; 2007) como en otros grupos (Godin *et al.*; 1996; Matsuda y Richardson, 1999; Davis *et al.*; 2004; Frisch y Hobbs, 2006; Campbell, 2008).

Entre las múltiples técnicas de marcaje que han sido descritas hasta el momento y que han sido probadas con éxito en estudios poblacionales de caballitos de mar se destacan los collares, los implantes de elastómeros (Visible Implant Elastomer -VIE-, Visible Implant Fluorescent Elastomer -VIFE-) y los radiofaros de respuesta (Passive Integrated Transponder - PIT-) (Morgan y Martin-Smith, 2004; Morgan y Bull, 2005).

Existen varios trabajos de marcaje y genética en diferentes especies de caballito de mar, entre los que están los realizados por (Vincent y Sadler, 1995; Bell *et al.*; 2003; Vincent *et al.* 2004; Moreau y Vincent, 2004; Lipton y Thangaraj, 2007; Planas y Villar 2007; López *et al.*; 2007; Freret-Meurer y Andreatta, 2008), utilizando collares alrededor del cuello del espécimen, para la identificación individual.

En cuanto al marcaje con elastómeros fluorescentes han sido utilizadas con éxito en caballitos de mar cautivos y silvestres (Morgan y Martin-Smith, 2004; Morgan y Bull, 2005; Curtis, 2006; Curtis y Vincent, 2006), así como en la identificación individual de signátidos (Woods y Martin-Smith, 2004; Sánchez-Camara *et al*; 2006; Sogabe y Yanagisawa, 2007).

El análisis genético en ejemplares vivos de caballito de mar, se realiza a partir del corte y extracción de una porción de la aleta dorsal de los individuos. Esta técnica ha sido ampliamente utilizada como método de identificación en pesquerías e investigación (Coombs *et al*; 1990; Moring, 1990 citado por Lourie, 2003b) y para obtener muestras de tejido vivo sin causar efectos significativos en el crecimiento o mortalidad de los individuos (Armstrong, 1947; Coble, 1967; Coombs *et al*;, 1990; Conover y Sheehan, 1999; Tyus *et al*;, 1999 citado por Lourie, 2003b) con el fin de, realizar estudios sobre dinámica poblacional e interacción entre poblaciones, parentesco, genealogía, taxonomía, análisis de contaminantes en el medio, detección de enfermedades y estudios con isótopos estables (Lourie, 2003b).

Esta técnica puede llevarse a cabo dentro y fuera del agua, el corte consiste en extraer una pequeña porción triangular (2mm diagonal) de la punta posterior de la aleta caudal del individuo siguiendo las técnicas y protocolos estandarizados para su preservación y posterior análisis genético (Lourie, 2003b).

Entre los estudios genéticos se destacan los realizados en la especie *H. guttulatus*, por (López *et al*; 2007; Planas *et al*; 2007), utilizando marcadores microsatélite, para el análisis poblacional y de parentesco. Otros autores; Lourie *et al*; 2005; Teske *et al*; 2005; Wilson *et al*; 2007) trabajaron con la especies *H. abdominalis*.

Casey *et al*; (2003), utilizaron el gen mitocondrial Citocromo B (*cytb*) para el análisis de ADN mitocondrial, en un estudio filogenético de diferentes especies de caballitos entra las que se encuentran *H. reidi* e *H. erectus*.

No hay antecedentes de marcaje con elastómeros en las especies *H.reidi* e *H. erectus* por lo que los resultados de este proyecto, aportaran datos importantes sobre el estado de sus poblaciones en el medio natural, con vistas a futuros planes de repoblación y estrategias de conservación de estas especies.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Con el objetivo de evaluar el estado de las poblaciones de caballitos de mar en diferentes localidades, en un inicio se trabajó en 21 estaciones ubicadas en la costa norte Occidental y Central de Cuba, pero solamente en 11 se encontraron ejemplares, por lo que en ellas enfocamos nuestros objetivos de trabajo y son las que se describen a continuación.

Las Cuarenta (Bahía de Cabaña), Santa Fe (Casino), Santa Ana (Bajo), Varadero (Barracuda) y (Caleta), Caibarien (Refugio, Cerco, Cayo Francés y Marina Periquillo) y Cayo Coco (Playa Flamenco y Canalizo de los perros).

Descripción de las zonas de estudio

Las Cuarenta: Estación que se ubica entre los 22° 58.33' N y 082° 57.52' W. en la Ensenada de Silvera, Bahía de Cabaña, perteneciente a la provincia de Pinar del Río. Se caracteriza por la presencia de costas bajas rocosas interrumpidas por playas con fondos cubiertos de abundante vegetación (*Thalassia testudinium*, fundamentalmente) y una

amplia extensión de mangle rojo (*Rhizophora mangle*) que bordea toda la zona interior (Fig. 1) presentando un fondo fangoso fundamentalmente.

Dentro de las raíces de mangle se refugian abundantes especies marinas como peces e invertebrados típicos de este ecosistema. Entre los que se encuentran esponjas (*Amphimedon viridis*, *Suberites aurantiaca* y *Dysidea etheria*), crustáceos, bivalvos, poliquetos tubícolas, ascidias, juveniles de peces, entre otros organismos. También crecen varias especies de algas como (*Acetabularia crenulata* y *Bostrychia tenella*). Frente al manglar, se ubica un extenso pastizal en el que habitan equinodermos, moluscos, crustáceos y diferentes especies de algas como: *Penicillum sp.*, *Udotea sp.*; *Rhipocephalus sp.* y *Caulerpa sp.*

Santa Ana: Estación ubicada entre los 23° 03.56' N 082° 31.96' W en la desembocadura del Río Santa Ana (Fig.2), perteneciente a la provincia de Ciudad de la Habana. Zona estuarina muy cercana al río que se caracteriza por tener un fondo fangoso con abundantes piedras sobre las que viven varias especies como: bivalvos (*Crasostrea virginica*), esponjas y algas filamentosas. La turbidez en la zona es elevada, debido al aporte de agua dulce y sedimentos del río.

Santa Fé: Situado a 3,3 millas al ENE de la boca del río Baracoa, perteneciente a la provincia de Ciudad de la Habana, se caracteriza por tener una costa baja y rocosa, interrumpida en algunas partes por pequeños segmentos de playa arenosa.

El área de estudio se ubicó entre los 23° 04.96' N y los 082° 30.42' W en un lugar conocido como El Casino, dentro de la Laguna de Santa Fé (Fig. 2). Este sitio se encuentra dentro de un canal artificial de más de 100 metros de longitud, presenta dos muros grandes con una parte sumergida y un fondo de piedra sueltas con crecimiento de algas, *Thalassia* y arena. Las paredes que están debajo del agua están cubiertas por algas (*Halimeda sp.*), esponjas, ascidias, poliquetos tubícolas, erizos, entre otros. En el extremo del canal que da hacia el mar hay un pequeño parche de *Thalassia testudinum* (esta es la zona donde incide más el oleaje),

Se seleccionaron dos estaciones dentro de la Dársena de Varadero: Barracuda y Caleta, (Fig. 3), que pertenece a la provincia de Matanzas. El canal de Paso Malo (lugar donde se encuentra la Dársena) se comunica por un lado con la Bahía de Cárdenas y por el otro con el mar exterior. Por este se mueven corrientes de flujo y refluo asociadas al llenante y vaciante de marea.

Barracuda: Estación ubicada frente al Club de buceo Barracuda entre los 23° 08.04' N y 081° 17.15' W (Fig. 3), es la localidad más cercana a las compuertas del canal. Presenta un muelle de concreto en forma de acera que incluye una pared y varios pilotes de concreto en forma de prisma, que se encuentran a una profundidad entre 1,0 y 1,5 metros. En la pared existen desagües de albañales activos, por lo que se observa generalmente una gran cantidad de partículas en suspensión. El fondo es mayormente fangoso y existe gran cantidad de organismos marinos asociados a la pared y pilotes del muelle entre los que se encuentran: (*Ulva fasciata*, *Ulva lactuca*, *Enteromorpha intestinalis*, *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa pusilla*, *Caulerpa sertularioides*, *Dasya ramosissima*, *Acanthophora spicifera*, *Centroceras clavulatum*, *Hypnea spinella*), esponjas (*Dysidea etheria*, *Tedania ignis*, *Halidona sp.*), bivalvos, poliquetos tubícolas (*Sabellastarte magnifica*), ascidias, *Aiptasia sp* y erizos (*Diadema Antillarum*).

Caleta: Estación ubicada frente al hotel Caleta entre los 23°07.91' N, 081° 18.25' W. (Fig. 3). En ella existe un muro que bordea la orilla del canal y perpendicular a la pared se encuentran 15 muelles de madera, con una longitud de 10 metros cada uno que descansan en dos pilotes con forma de prisma y se encuentran a una profundidad entre 1.5 – 2 metros.

Esta estación se encuentra más cerca de la salida del canal al mar que Barracuda, por lo que tiene más probabilidades de renovación por las corrientes de marea y esto influye en que el agua sea mucho más clara que en Barracuda. A pesar de esto no existe tanta diversidad de organismos marinos como en la estación de Barracuda, entre los más importantes asociados a los pilotes se encuentran: algas (*Dictyota sp.* y *Dictyopteri sp.*), bivalvos, poliquetos (*Sabellastarte magnifica*), acidias y algunas esponjas y erizos. El fondo es fango-arenoso.

Caibarién, provincia de Villa Clara, en ella se muestreo 1 estación cercana al pueblo (Refugio) y 3 en las afueras: Cerco, Cayo Francés y Marina Periquillo

Refugio: Pequeño embarcadero ubicado entre los 22° 52.43' N 079° 45.30' W. (Fig. 4) cercana al pueblo de Caibarién Generalmente en este lugar, el agua es muy turbia debido a la presencia de desperdicios sólidos, manchas de grasa y petróleo que provienen de los barcos que atracan allí diariamente. Frente al muelle hay una línea de mangle rojo (*Rhizophora mangle*).

Cerco: Estación ubicada entre los 22° 34.68' N 079° 15.76' W, en los cayos al Norte del pueblo de Caibarién, (Fig. 5). Se llama Cerco por la existencia de un cercado de ocho cuartones y sobre el crecen algas, esponjas y otros invertebrados que sirven para el anclaje de los caballitos de mar. En los alrededores del Cerco hay un pastizal con predominio de la fanerógama *Thalassia testudinum*.

Cayo Francés: Ubicado entre 22°37.56' N y 079° 12.77' W (Fig. 6). Este lugar cuenta con un pastizal que rodea la zona de muestreo y bordeando el cayo existe una densa línea de mangle rojo (*Rhizophora mangle*) en cuyas raíces se pueden observar abundantes invertebrados.

Marina de Periquillo: Estación ubicada en las coordenadas 22° 37.54' N y 079° 10.44' W (Fig. 7). El entorno que rodea esta marina consiste en un pastizal y una zona de mangle rojo. El lugar que se estudió fue el muelle flotante sobre el cual hay gran cantidad de invertebrados.

En Cayo Coco, provincia de Ciego de Ávila se establecieron dos estaciones de muestreos: Playa Flamenco y Canalizo de los perros.

Playa Flamenco: Estación que se ubicó en las coordenadas 22°32.75' N y 078° 25.84' W (Fig. 8). Esta playa es poco profunda y con la marea baja se forman pequeñas lagunas en la zona más cercana a la arena. El fondo presenta gran cantidad de piedras con abundantes algas, entre las que se encuentran *Penicillium sp.*, *Udotea sp.* *Avranvillia sp* y *Caulerpa sp.*

Canalizo de los perros: Zona en el interior de la Bahía de los Perros, cercana a uno de los puentes construidos en el pedraplén que conduce al cayo Este lugar se ubica entre 22°32.02' N 078° 26.36' W (Fig. 8). Se caracteriza por presentar corrientes muy intensas

en una u otra dirección, provocadas por los cambios en la marea. Dichas corrientes pueden tener como valores promedio entre 50 y 60 cm/s con máximos cercanos a los 150 cm/s (Fernández. y Núñez, 1993).

La zona tiene una franja de mangle rojo, que se continúa con un pastizal. Entre estos dos ecosistemas existe una especie de canal natural por donde fluye intensamente la corriente. Las raíces de mangle retienen el sedimento hasta unos dos metros de profundidad creando como una especie de pared que da hacia el canal. Existen pocos organismos asociados a estas raíces, solo se encontraron algunas algas.

Método de muestreo

Densidad poblacional

Se llevaron a cabo censos visuales durante el horario de la mañana entre las (8 y las 10 am) mediante buceo libre, entre los meses de Marzo del 2007 y Abril del 2010. Se hicieron transectos de 20m de largo por 1m de ancho como modificación de la metodología propuesta por Curtis *et al;* (2004). El número de transectos varió por estaciones de acuerdo a las características geográficas de cada localidad (Tabla.1). Se realizaron muestreos en época de lluvia y seca anual en todas las estaciones.

A todos los ejemplares colectados se le determinó *in situ*: la especie según Lourie *et al;* (1999), el sexo, la gravidez o no del macho, el estado ovogénico de las hembras, por abultamiento abdominal y cuatro medidas corporales. La diferenciación entre machos y hembras fue posible gracias al dimorfismo sexual que exhiben los caballitos. Con una regla graduada en centímetros (error 0,1 cm) se midió el Largo Total (LT) desde la corona hasta el extremo de la cola, el Largo Hocico (LH) desde el opérculo hasta el extremo del hocico, Largo Estándar (LE) desde el extremo del hocico hasta el opérculo y desde este hasta el extremo de la cola (OC) Figura 9. Además se anotó el tamaño del grupo.

Para diferenciar los sexos, se determinó que serían considerados como hembras todos aquellos ejemplares con longitud total (LT) igual o mayor que la del macho más pequeño identificado que fue de 6 cm, por lo que todos los individuos menores de esta talla se consideraron indiferenciados.

Se determinaron algunos parámetros físico-químicos del agua como: Temperatura, Salinidad y PH. La temperatura se midió con un termómetro (in situ), tanto la Salinidad como el PH se analizaron en el laboratorio. La salinidad se determinó con un refractómetro de 1 unidad estándar de salinidad y el PH con un PH metro digital de 0,01.

Análisis de los datos

Para el análisis estadístico de los datos, sólo se tomaron en cuenta, aquellas estaciones donde se vieron más de 3 individuos, por lo que no se hace este análisis para las zonas de Canalizo de los Perros en (Cayo Coco), y las estaciones de Marina Periquillo, y Cayo Francés en (Caibarien).

Para verificar la distribución normal de los datos se usó la prueba Kolmogorov- Smirnov con el programa Statistica 6.0 (Statsoft Inc, 2007) y para comprobar la homogeneidad de varianza de los mismos se empleó la relación de Taylor. Como los datos no cumplieron con estos requisitos se emplearon análisis estadísticos no paramétricos.

Los análisis de densidad, talla y reproducción se hicieron por estación para cada especie y por sexo. Para la comparación de las relaciones proporcionales entre hembras y machos se aplicó la prueba t de Student con significación de 0,05. Para la comparación de medias se aplicaron las pruebas de Kruskal Wallis y Man-Whitney. Como pruebas de comparación múltiple de medias se aplicaron las pruebas Dunn (Zar, 1996), mediante el programa GraphPadInStat y el Post-hoc del programa Statistica versión 6.0 para pruebas no paramétricas. Se aplicó la prueba Chi Cuadrado (Zar, 1996) para determinar las diferencias entre la proporción sexual esperada 1:1 (Lourie *et al.*; 1999) y la observada por estaciones, teniendo en cuenta las proporciones de cada muestreo.

Se determinó la estadística descriptiva de las medidas (LT, LH, OC y LE) por sexo y para los ejemplares indiferenciados. Se calcularon las relaciones proporcionales y las ecuaciones de regresión lineal entre las medidas tomadas y el LT. Todas las regresiones determinadas se realizaron por el modelo 1 considerando una variable independiente y la otra dependiente, por lo que se calculó el coeficiente de determinación r^2 . Se emplearon los programas Microsoft Excel 2007 y STATISTICA versión 6.0.

Marcaje de caballitos en cautiverio

Los experimentos de marcas se desarrollaron en el laboratorio de Cultivo del Acuario Nacional. Se utilizaron ejemplares de *H. reidi* e *H. erectus*, obtenidos a partir de experimentos anteriores de cultivo y donaciones de pescadores, buzos y bañistas. Se marcaron ejemplares de ambos sexos mayores de 8 cm de Largo Total (LT).

Confección de los collares

Para la preparación de los collares se tomó un cordel (en este caso se probaron dos materiales: nylon de pescar y caprón) de aproximadamente 10 cm y se cortó un fragmento de cable eléctrico con un diámetro de luz que permitiera el ajuste del cordel sin que se rodara fácilmente (Fig. 10). Se pasaron los extremos del cordel por el interior del canal del cable. La colocación del collar tuvo lugar fuera del agua, se introdujo primeramente el hocico y después el resto de la cabeza, de forma que el collar quedara alrededor del cuello. El collar se ajustó deslizando la sección de cable y con una tijera se cortaron los extremos del cordel, siempre dejando una longitud que permitiera el reajuste del collar en función del crecimiento del pez. Toda la manipulación anteriormente descrita se hizo con la mayor rapidez posible para minimizar el estrés de los ejemplares.

Experimentación

Se realizó un primer experimento con fines descriptivos. Se confeccionaron los collares con nylon de pescar y se marcaron 14 caballitos, 7 de cada especie, mientras que se dejaron 6 sin marcar (3 de cada especie), para comparar de forma cualitativa la influencia del collar en la conducta durante la alimentación y la reproducción. Todos los peces se mantuvieron en un tanque con 500 L de capacidad a la intemperie (fotoperíodo natural), con aireación constante. El experimento abarcó un mes (20/06/2007_20/07/2007).

En un segundo experimento se emplearon 42 ejemplares, se marcaron 21 y el resto se dejó sin marcar como grupo control. Cada grupo se dividió en 3 réplicas con 7 ejemplares (6 *H. erectus* y 1 *H. reidi*) que se colocaron en cajas de poli-espuma con una capacidad de 40 L. Las marcas se confeccionaron con hilo de caprón. Los caballitos se midieron (Largo Total) con una regla (0,1 cm de precisión) y se pesaron con una balanza digital (0,1 g de precisión), al comenzar y al finalizar el experimento. Se verificó que al comienzo no existieran diferencias significativas entre las réplicas en cuanto al peso y la talla. Las

cajas se mantuvieron a la intemperie (fotoperíodo natural) con aireación constante. El experimento tuvo una duración de un mes (15/11/2007_15/12/2007).

Tanto el tanque como las cajas se ambientaron con esqueletos de gorgonias como sustrato para la fijación de los ejemplares. En todos los casos diariamente se midió la temperatura del agua y se suministró alimento *ad libitum*. La dieta estuvo compuesta fundamentalmente por *Artemia* adulta que se enriqueció con Spirulina en polvo y una mezcla de microalgas vivas (***Nannochloropsis***, ***Tetraselmis*** y ***Dunaliella***). En ocasiones también se suministraron mysidáceos, vivos y congelados, capturados en el medio natural. Diariamente se sifonearon las heces y restos de alimentos y se hicieron cambios parciales de agua (50%) para mantener la calidad de la misma. Se realizaron observaciones de la conducta, salud de los ejemplares y condiciones de las marcas.

Análisis de los datos

Se determinó para cada réplica el crecimiento y el incremento en peso de los ejemplares. Para detectar las diferencias entre las medias se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple o unifactorial, con un nivel de significación de 0,05. El programa utilizado fue STATISTICA versión 6.0 para Windows.

Marcaje de los caballitos en el medio natural con elastómeros fluorescentes

Se escogieron las zonas de Barracuda (BR) y Caleta (PC), para realizar el marcaje de caballitos en el medio natural. Ambas estaciones están ubicadas dentro de la Dársena de Varadero, muy próximas entre sí, separadas por una distancia de 1600 metros aproximadamente.

Se marcaron 72 ejemplares en 17 viajes de muestreo, (10) en Barracuda y (7) en Caleta. De estos, 68 eran de la especie ***H. reidi*** y 4 eran ***H. erectus***. Se llevaron a cabo censos visuales durante el horario de la mañana, mediante buceo libre, entre los meses de Abril del 2009 y Agosto del 2010. Se hicieron 17 transectos de 20m de largo por 1m de ancho encada viaje de muestreo.

Para la identificación individual de los caballitos se emplearon implantes de elastómeros fluorescentes (VIE, North-west Marine Technologies, Inc. Shaw Island, WA, U.S.A). Estos consisten en un polímero sintético que al mezclarse con un agente (proporción 10:1) y ser inyectado debajo de la piel, se endurece sin provocar reacciones adversas.

Previo a la colecta de los ejemplares, se preparó la marca, utilizando combinaciones de los colores amarillo y rojo. Cada ejemplar observado se sacó del agua y se introdujo en un recipiente plástico, que contenía una solución del anestésico MS-222 (50 mg/l) con el objetivo de facilitar su manipulación y reducir el estrés. A todos los ejemplares se le determinó: especie, sexo, estado reproductivo. A todos los ejemplares se le tomaron las mismas medidas descritas anteriormente en el método de muestreo. El Peso en g (**P**), se determinó con una balanza de una precisión de 0.1 g. Todos estos datos fueron registrados en una planilla.

Cada ejemplar se marcó con dos etiquetas VIE en los segmentos torácicos y de la cola, (en esta posición solo las hembras, para evitar colocar el implante cerca de la bolsa incubadora de los machos) de manera tal que por su posición y su color (rojo y/o amarillo), resultaran en una combinación única que permitiera su identificación posterior (Fig. 11). El código de la marca, se registró en la planilla así como la presencia de algún

carácter morfológico distintivo que facilitara la identificación del ejemplar en caso de pérdida de la marca. Se utilizó una linterna de luz ultravioleta para visualizar las marcas.

Análisis de los datos

La fidelidad al sitio, el movimiento y el rango de movimientos se determinaron siguiendo el criterio de Sánchez-Camara y Booth (2004) como se describe a continuación.

Fidelidad al sitio.

Se determinó a partir de la persistencia en el tiempo, de los caballitos en el sitio donde fueron originalmente marcados. Las recapturas realizadas durante el período de un año se dividieron en bloques de tres meses con el objetivo de agrupar un mayor número de reavistamiento de ejemplares, ya que algunos de los marcados no fueron recapturados en todas las ocasiones.

Movimiento.

Se determinó registrando los diferentes sitios donde fue identificado cada caballito de mar durante todo el tiempo del estudio.

Rango de movimiento.

Se determinó por la distancia total (en metros), medida entre los extremos donde fue encontrado cada individuo. El rango de movimiento entre hembras y machos en cada sitio fue comparado empleando la prueba no paramétrica de comparación de medias Mann-Whitney, pues los datos no siguieron una distribución normal.

Diversidad y estructura genética en las poblaciones de *H. reidi* e *H. erectus* en las zonas estudiadas.

Material biológico

Se procesaron un total de 181 muestras de ejemplares capturados en diferentes localidades de la zona norte del país (Bajo de Santa Ana, Varadero, Caibarién y Cayo Coco) Tabla 44. Las muestras de aleta dorsal de los individuos capturados (y liberados) fueron conservadas en etanol al 90 por ciento.

Análisis molecular

Las extracciones de ADN genómico se realizaron a partir de la muestra disponible de aleta (aproximadamente 2-3 mm²). El tejido fue digerido a 55°C en tampón de extracción (100 mM Tris-HCl, pH8.0, 10 mM EDTA, 100 mM NaCl, 0.1% SDS y 50 mM DTT) conteniendo 100 µg/mL de proteinasa K (Sambrook *et al*; 1989). El ADN se purificó mediante dos extracciones con fenol-cloroformo y una con cloroformo. Después de precipitar el ADN con etanol, este se resuspendió en tapón TE 1X (100 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA). La calidad del ADN extraído se verificó en geles de agarosa al 1 % empleando tampón TBE 1X (40 mM Tris-Ácido Bórico, 1mM EDTA).

Para la amplificación de la región no codificadora del ADN mitocondrial (ADNmt) se ensayaron inicialmente los oligo-nucleótidos universales CR-A 5'-AATTCTCACCCCTAGCTCCCAAAG-3' y CR-E 5'-CCTGAAGTAGGAACCAGATG-3' (Lee *et al*; 1995). Sin embargo, con estos los resultados fueron negativos, por lo que se sustituyeron por cebadores específicos, para especies del género, propuestos por Teske *et al*; (2003) HCAL2:5'-CACACTTTCATCGACGCTT-3' y HCAH2:5'-TCTTCAGTGTT-ATGCTTTA-3'. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se efectuó en un volumen final de 25 µl con las siguientes proporciones: 0.05 µg - 0.1 µg de ADN, tampón de amplificación 1X (Promega, USA), 250 µM de dNTPs, 2 mM de MgCl₂, 200 nM de cada uno de los cebadores, 1 u de GoTaq Polimerasa (Promega, USA). El programa de amplificación fue el siguiente: 3 min a 93°C de desnaturalización inicial de seguido de 35 ciclos con el siguiente perfil: 30 s a 93°C, 45 s a 50°C para la unión de los cebadores y 60 s a 72°C para la extensión de las cadenas. Al final del programa se añadieron 10 min a 72°C. Las secuencias del fragmento amplificado de la región de control se realizaron utilizando el estuche de reactivos BigDye terminator (Applied Biosystems). Se empleó un secuenciador automático ABIPrism 3100 (Applied Biosystems).

Análisis de los datos

Las secuencias obtenidas fueron editadas utilizando el programa BioEdit 5.0.9 (Hall, 1999) y alineadas con el programa Clustal X implementado en MEGA 4.02 (Tamura *et al*; 2007). Los índices de diversidad nucleotídica (π), diversidad haplotípica (Hd) y el test de neutralidad de Tajima (1989) fueron estimados mediante el programa Dnasp v5 (Librado y Rozas 2009).

Las secuencias obtenidas en este trabajo se compararon con las disponibles, de ambas especies, en las bases de dato. Los números de acceso para *H. reidi* son los siguientes: AY642330.1; DQ288334.1; DQ288330.1; DQ288335.1; DQ288336.1; y para *H. erectus*: DQ288325; DQ288326; EU547205. Las relaciones entre las secuencias fueron inferidas utilizando el método de máxima verosimilitud implementado en MEGA 5Beta. El modelo que se ajusta al tipo de cambio nucleotídico que presenta el conjunto de secuencias fue seleccionado mediante el Criterio de Información Bayesiano (BIC; Schwarz, 1978) mediante el programa jModelTest versión 0.1.1 (Guindon y Gascuel, 2003; Posada, 2008). La robustez de los nodos se estimó mediante el método de bootstrap (100 remuestreos).

Para ilustrar las relaciones entre los haplotipos se construyó una red de haplotipos por el método de la red de mínima extensión (del inglés *minimum spanning network*) utilizando el programa Network 4.5.1.6 (Bandelt *et al*; 1999). No se realizan otros análisis debido al reducido tamaño muestra.

OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Valorar el estado actual, de las poblaciones naturales de las especies, *Hippocampus reidi* y *Hippocampus erectus* en diferentes zonas de la costa Norte, que incluye localidades, tanto en la parte Occidental, como Central de Cuba.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO

- Determinar la abundancia, tamaño del grupo, proporción sexual y caracteres morfométricos de las especies *H. reidi* y de *H. erectus* en las zonas de: Santa Fe; Bajo de Santa Ana; Cabaña; Varadero; Caibarien y Cayo Coco.
- Determinar la composición sexual y época de mayor reproducción.
- Evaluar la efectividad, de un tipo de marca artificial, en diferentes ejemplares de *H. reidi* e *H. erectus*, en condiciones de laboratorio.
- Marcar los ejemplares para evaluar el comportamiento de fidelidad (estacionalidad en el sitio encontrado o desplazamiento) de ambas especies de caballito en dos localidades de Varadero.
- Analizar la diversidad y estructura genética en poblaciones naturales de *H. reidi* e *H. erectus*, en las zonas seleccionadas para realizar el estudio poblacional

SALIDAS PREVISTAS:

Elaboración de un Informe Final con todos los resultados del proyecto.

RESULTADOS

Resultado 1: Densidad poblacional

Se encontró un total de 600 ejemplares, de ellos 562 fueron de la especie *H. reidi*, para un 93,6% del total de ejemplares encontrados en todas las estaciones muestreadas, a continuación se presenta un resumen general de la especie.

H. reidi

De los 562 ejemplares de *H. reidi*, 250 fueron hembras (44%), 214 machos (38%) y 98 indiferenciados (17%). Esta especie apareció en todas las estaciones y en diferentes biotopos: manglar sumergido, playas de arena, estuario y estructuras de concretos artificiales. Se encontró en un rango de temperatura entre 19-31°C (25.1±0,4°C) y en un rango de salinidad entre 10-39 ups (33,3±0,9 ups)

La densidad media de la especie *H. reidi*, fue de 0,0306± 0,0017 ind/m² Se encontraron diferencias significativas entre las estaciones con H (7, N=966)= 200,5 p< 0,01. Como se observa en la (Fig.12) los mayores valores de densidad se encontraron en las estaciones de Barracuda y Caleta, aunque la prueba Dunn no permitió esclarecer las diferencias.

La densidad en época de lluvia fue de 0,0319± 0,0025 ind/m², similar a la época de seca que fue de 0,02943± 0,0023 ind/m², no se encontraron diferencias significativas (U= 102522 p=0,56).

La cantidad de ejemplares grávidos encontrados en esta especie fue baja respecto al total de machos (11%). Aparecieron ejemplares grávidos en todos los meses, por lo que la especie se reproduce todo el año, no fue posible determinar un pico reproductivo, pero la mayor cantidad de ejemplares grávidos se encontró en los meses de Abril y Junio.

Se encontró una proporción sexual de 0,9:1 ($X^2_c=2,64$ p<0,3), similar a la esperada. En relación a la conducta social de la especie *H. reidi* el (97.5%) de los ejemplares estaban solos. De las 8 estaciones estudiadas sólo en Barracuda se encontraron 7 parejas, de las que 4 estaban realizando el cortejo. El tamaño del grupo fue de 2 individuos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas, poliquetos, esponjas y ascidias.

Densidades poblacionales de la especie *H. reidi* por estaciones.

Las Cuarenta

En esta zona la temperatura osciló entre 21 y 26^oc y la salinidad entre 30 y 36 ups. En un muestreo en época de lluvia donde la salinidad fue de 10 ups, no apareció ningún caballito.

Se encontró un total de 20 ejemplares todos de la especie *H. reidi*, 7 hembras, 6 machos y 7 indiferenciados, con una densidad media de $0,0078 \pm 0,0018$ ind/m² (intervalo: $0 - 0,0156 \pm 0,0075$ ind/m²). En la Tabla 2, aparecen los valores de densidad medias por sexo en ambas épocas. La densidad media en seca fue significativamente mayor que la encontrada en época de lluvia ($U_{64,64} = 1787$ $p=0,04$). No se encontraron diferencias significativas entre las densidades de hembras y machos por época, pero sí para los indiferenciados ya que todos aparecieron en seca ($U_{64,64} = 1856$ $p=0,01$).

Se encontró un macho grávido en el mes de Marzo del 2009 que representó el 17% del total de machos encontrados, por esta razón no se pudo definir la época de reproducción.

La proporción sexual fue de 0,9 machos por cada hembra, similar a la proporción esperada de 1:1 ($X^2_c = 0,00$ $p < 0,9$). No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas, esponjas y raíces de mangle rojo.

Santa Ana

En la zona del bajo de Santa Ana, la temperatura varió entre 23 y 30^oc y la salinidad fluctuó entre 10 y 37 ups. Aparecieron caballitos a una salinidad de 10 ups en un muestreo en época de lluvia.

Se encontraron un total de 20 ejemplares de *H. reidi*, 6 hembras, 11 machos y 3 indiferenciados. La densidad media fue de $0,0175 \pm 0,0031$ ind/m² (intervalo: $0,01 - 0,02 \pm 0,0082$ ind/m²). En la Tabla 3, aparecen los valores de densidad por sexo en ambas épocas. La densidad total en época de seca fue similar a la encontrada en época de lluvia ($U_{30,30} = 435$ $p=0,79$).

Se encontraron 3 machos grávidos en los meses de Junio del 2007 y Enero del 2008 que representó el 27 % del total de machos encontrados. No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos.

Se encontró una proporción sexual de 1,8 machos por cada hembra, similar a la proporción esperada de 1:1 ($X^2_c = 0,94$ $p < 0,5$). La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas, y esponjas.

Santa Fé

En esta zona la temperatura osciló entre 19 y 28^oc y la salinidad entre 23 y 38 ups. En un muestreo realizado en época de seca se encontró una salinidad de 41ups, y en otro

realizado en época de lluvia se encontró una salinidad de 9 ups, en ninguno de los dos aparecieron caballitos.

Se encontraron 20 ejemplares de ellos 19 de la especie *H. reidi*, con 12 hembras, 6 machos, 1 indeterminado y 1 hembra de *H. erectus*. La densidad media de *H. reidi* fue de $0,0086 \pm 0,0019$ ind/m² (intervalo: $0 - 0,0250 \pm 0,0083$ ind/m²). En la Tabla 4, aparecen los valores de densidad media por sexo en ambas épocas. La densidad media en lluvia fue significativamente mayor que la encontrada en época de seca ($U_{60.50}=1241,5$ $p=0,015$). Se encontraron diferencias significativas entre las densidades de hembras y total por época y año, pero la prueba Dunn no detectó entre qué pares de medias estaban dada.

Aparecieron 2 machos grávidos en los meses de Mayo del 2008 y Marzo del 2009 que representó el 33 % del total de machos encontrados, por esta razón no se pudo definir la época de reproducción.

La proporción sexual fue de 0,5 machos por cada hembra, similar a la proporción esperada de 1:1 ($X^2_c = 1,39$ $p<0,3$). No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares aparecieron asociados a diferentes especies de macroalgas, poliquetos, esponjas.

Barracuda

En esta estación la temperatura osciló entre 19 y 31°C y la salinidad entre 21 y 39 ups. Se encontraron 355 ejemplares, de ellos 329 fueron de la especie *H. reidi*, para un 93% del total.

De los 329 ejemplares, 132 fueron hembras, 143 machos y 54 indiferenciados. La densidad media fue de $0,058 \pm 0,0036$ ind/m² (intervalo: $0,0206 - 0,1118 \pm 0,0132$ ind/m²). En la Tabla 5, aparecen los valores de densidad media por sexo en ambas épocas. La densidad media de los indiferenciados en seca fue significativamente mayor que la encontrada en época de lluvia ($U_{136.170}=9587$ $p=0,0000$).

Se encontraron 15 machos grávidos que representó el 10% del total de machos encontrados, aunque el por ciento fue bajo, aparecieron en todos los meses, por lo que se puede afirmar que la especie se reproduce todo el año.

También aparecieron 11 hembras ovogénicas, para un 8% del total de hembras, en los meses de Abril, Septiembre, Noviembre y Diciembre del 2009 y en Enero y Abril del 2010.

La proporción sexual fue de 1,1 machos por cada hembra, similar a la proporción esperada de 1:1 ($X^2_c = 0,36$ $p<0,7$). Se observaron 7 parejas, de ellas 4 realizando cortejo. El tamaño del grupo fue de 2 individuos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas (fundamentalmente diferentes especies de Caulerpas), poliquetos, esponjas y ascidias.

Caleta

En esta estación la temperatura osciló entre 21 y 30°C y la salinidad entre 24 y 38 ups. Se encontraron 158 ejemplares de *H. reidi*, para un 98% de ellos 86 fueron hembras, 46 machos y 26 indiferenciados. La densidad media fue de $0,0422 \pm 0,0041$ ind/m² (intervalo: $0,0088 - 0,0941 \pm 0,0218$ ind/m²).

En la Tabla 6, aparecen los valores de densidad media por sexo en ambas épocas. La densidad media de las hembras en lluvia fue significativamente mayor que la encontrada en época de seca ($U_{119,160}=3387$ $p=0,026$). Se encontró diferencias para las hembras, indiferenciados y total en relación a época por año. Se obtuvo mayor número de ejemplares en época de lluvia que de seca, aunque la prueba Mann-Whitney no las detectó.

Aparecieron 3 machos grávidos que representó el 6% del total de machos encontrados, en los meses de Agosto del 2008 y en Mayo y Noviembre del 2009. En Julio del 2008 apareció una hembra ovogénica.

La proporción sexual fue de 0,5 machos por cada hembra, diferente a la proporción esperada de 1:1 ($X^2_c = 11,52$ $p<0,01$). No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares aparecieron asociados a diferentes especies de macroalgas, poliquetos y esponjas.

Playa Flamenco

En esta estación la temperatura osciló entre 19,5 y 27°C y la salinidad entre 14 y 39 ups. Se hizo un muestreo en época de seca y se obtuvo una salinidad de 10 ups, no aparecieron caballitos.

Se encontraron 4 ejemplares de la especie ***H. reidi*** (1 hembra y 3 indiferenciados) todos encontrados en época de seca.

La densidad media total de la especie fue de $0,0027 \pm 0,0013$ ind/m² (intervalo: 0 – 0,0067 $\pm 0,0045$ ind/m²). En la Tabla 7, aparecen los valores de densidad media para hembras e indiferenciados en ambas épocas.

No se encontraron machos, por lo que no se puede determinar la proporción sexual. No se observaron grupos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas.

Cerco

En esta estación la temperatura osciló entre 22 y 27°C y la salinidad entre 36 y 39 ups. Se encontraron 10 ejemplares de ***H. reidi*** de los cuales 6 fueron hembras, 2 machos y 2 indiferenciados. La densidad media fue de $0,0422 \pm 0,0041$ ind/m² (intervalo: 0,0088 – 0,0941 $\pm 0,0218$ ind/m²). En la Tabla 8, aparecen los valores de densidad media por sexo en ambas épocas.

La densidad media de las hembras en época de lluvia fue significativamente mayor que la encontrada en época de seca ($U_{20,30}=225$ $p=0,004$, ya que todos los individuos aparecieron en época de lluvia).

La proporción sexual fue de 0,3 machos por cada hembra, similar a la proporción esperada de 1:1 ($X^2_c = 1,13$ $p<0,5$). No se encontró ningún macho grávido. No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares aparecieron asociados a diferentes especies de macroalgas y esponjas.

Refugio

En esta estación la temperatura osciló entre 22 y 27°C y la salinidad entre 38 y 40 ups. Se encontró 1 ejemplar hembra de la especie *H. reidi*. La densidad media fue de 0,0004 ± 0,0001 ind/m² (intervalo: 0 – 0,003 ± 0,0007 ind/m²). No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a raíces de mangle rojo.

Mediciones morfométricas de la especie *H. reidi* en general.

El largo total (LT) de todos los ejemplares de *H. reidi* fue de 9,8±0.2 cm (rango de 2,4-18,3 cm), se encontraron diferencias significativas entre las estaciones con H (5, N=558)=37,4 p<0,01. Como se observa en la (Fig. 13). Los mayores valores del LT se encontraron en las estaciones de Santa Ana y Santa Fé, aunque la prueba Dunn no permitió esclarecer las diferencias.

Las hembras tuvieron un LT de 9,9±0,2 (rango de 6 -16,1 cm) para los machos fue de 12,2±0,2 cm (rango de 6-18,3 cm) y para los indiferenciados fue de 4,5±0,1 (rango de 2,4-5,9 cm). Los machos mostraron mayor talla que las hembras U=14566 p<0,01.

De forma general se observó que los machos de *H. reidi* encontrados durante el estudio y en todas las estaciones mostraron mayor LT (U=14665 p<0,01), LH (U=17074,5 p<0,01), OC (U=14623 p<0,01) y LE (U=14829 p<0,01) que las hembras. Los valores medios para cada una de las medidas aparecen en la Tabla 9. Los machos grávidos mostraron una talla media de 12,5±0,5 (rango 6,8- 15,4 cm).

Sin embargo en el análisis de las relaciones proporcionales que aparecen en la Tabla 10, donde prueba t solo detectó diferencias en cuanto al LH/LT con valores mayores en las hembras (t= 4,25 p<0,01), mientras que las proporciones OC/LT y LE/LT fueron similares para ambos sexos (t= 0,10 p=0,92 y t= 1,81 p=0,07 respectivamente).

Mediciones morfométricas de la especie *H. reidi* por estaciones.

Las Cuarenta

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas por sexo de *H. reidi* se presenta en la Tabla 11. No se encontraron diferencias significativas entre las hembras y los machos de *H. reidi* en cuanto a las medidas analizadas.

Las relaciones proporcionales por sexo de *H. reidi* se presentan en la Tabla 12, donde la prueba t no detectó diferencias significativas para ninguna de las relaciones proporcionales determinadas.

El resultado de las regresiones lineales entre las mediciones por sexo, se presentan en la Tabla 13, donde se obtuvo un alto coeficiente de determinación con todas las relaciones proporcionales con el LT, lo que indica que el modelo lineal se ajusta a todas las relaciones determinadas.

Santa Ana

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas por sexo de *H. reidi* se presenta en la Tabla 14. Los machos mostraron mayor LT (U=5,50 p<0,05), LE (U=5,5 p<0,05) y OC (U=5 p<0,05) que las hembras. El LH fue similar para los ejemplares de ambos sexos

Las relaciones proporcionales por sexo de *H. reidi* se presentan en la Tabla 15, donde la prueba t detectó diferencias significativas solo para LH/LT, siendo mayor en los machos (t=-3,62 p<0,05) que en las hembras

El resultado de las regresiones lineales entre las mediciones por sexo de *H. reidi*, se presentan en la Tabla 16, en la cual se obtuvo un alto coeficiente de determinación con todas las relaciones proporcionales con el LT, lo que indica que el modelo lineal se ajusta a todas las relaciones determinadas.

Santa Fé

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas por sexo de la especie *H. reidi* se presenta en la Tabla 17. Los machos mostraron mayor LT (U=14 p=0,04), LE (U=15 p=0,04) y OC (U=15 p=0,04) que las hembras. El LH fue similar para los ejemplares de ambos sexos.

Las relaciones proporcionales por sexo de la especie se presentan en la Tabla 18, donde la prueba t no detectó diferencias significativas para ninguna de las relaciones proporcionales determinadas.

El resultado de las regresiones lineales entre las mediciones por sexo, se presentan en la Tabla 19, en la cual se obtuvo un alto coeficiente de determinación con todas las relaciones proporcionales con el LT, lo que indica que el modelo lineal se ajusta a todas las relaciones determinadas.

Barracuda

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas por sexo de *H. reidi* se presenta en la Tabla 20, donde los machos mostraron mayor LT (U=1199 p<0,05), LE (U=1202 p<0,05), OC (U=1198 p<0,05) y LH (U=1289 p<0,05) que las hembras.

Las relaciones proporcionales por sexo se presentan en la Tabla 21. Al aplicar la prueba t se detectó que las hembras de *H. reidi* mostraron mayor proporción LH/LT (t= -3,15 p<0,05) que los machos, mientras que las proporciones OC/LT y LE/LT fueron similares para ambos sexos

El resultado de las regresiones lineales entre las mediciones por sexo, se presentan en la Tabla 22, en la cual se obtuvo un alto coeficiente de determinación con todas las relaciones proporcionales con el LT, lo que indica que el modelo lineal se ajusta a todas las relaciones determinadas.

Caleta

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas por sexo de *H. reidi* se presenta en la Tabla 23, donde los machos mostraron mayor LT (U=5254 p<0,05), LE (U=5310,5 p<0,05), OC (U=5239 p<0,05) y LH (U=6193 p<0,05) que las hembras.

Las relaciones proporcionales por sexo para *H. reidi* se presentan en la Tabla 24. La prueba t no detectó diferencias significativas para ninguna de las relaciones proporcionales determinadas.

El resultado de las regresiones lineales entre las mediciones por sexo, se presentan en la Tabla 25, en la cual se obtuvo un alto coeficiente de determinación con todas las relaciones proporcionales con el LT, lo que indica que el modelo lineal se ajusta a todas las relaciones determinadas.

Playa Flamenco

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas para los indiferenciados de *H. reidi* se presenta en la Tabla 26, así como las relaciones proporcionales en la Tabla 27.

Cerco

La estadística descriptiva de las medidas (lineales en cm) por sexo en *H. reidi* en el Cerco (Caibarien) se presentan en la Tabla 28, así como las relaciones proporcionales en la Tabla 29.

El resultado de las regresiones lineales entre las mediciones, para las hembras se presentan en la Tabla 30, en la cual se obtuvo un alto coeficiente de determinación con todas las relaciones proporcionales con el LT, lo que indica que el modelo lineal se ajusta a todas las relaciones determinadas.

Especie *H. erectus*

Densidad poblacional

De los 38 ejemplares de *H. erectus* 26 fueron machos (68%), 7 hembras (18%) y 5 indiferenciados (13%). Se encontró una proporción sexual de 3,7:1 ($X^2_c=9,82$ p<0,01), diferente a la esperada.

La especie se encontró en un rango de temperatura entre 19-30°C (24,6.1±0,7°C) y en un rango de salinidad entre 14-40 ups (34,7±1,7 ups)

La densidad media de la especie *H. erectus*, fue de 0,0058± 0,0010 ind/m² y no se encontraron diferencias significativas entre las estaciones con H (2, N=295)= 3,9 p= 0,15, como se observa en la (Fig.14). La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas, poliquetos, y esponjas.

La densidad en época de lluvia fue de 0,0029± 0,0012, y en época de seca fue de 0,0072± 0,0014, no se encontraron diferencias significativas (U= 9107,5 p=0,32)

La cantidad de ejemplares grávidos encontrados en esta especie fue baja respecto al total de machos (38%), con una talla media de $13,4 \pm 0,8$ (rango 8- 18 cm). Solo aparecieron en los meses de Febrero y Octubre/ 2008 y Enero/2009, por lo que no se puede determinar el período reproductivo.

En relación a la conducta social de la especie *H. erectus* se encontró que el (100%) de los ejemplares estaban solos. No aparecieron grupos.

Densidad poblacional de la especie *H. erectus* por estaciones.

Barracuda

Se encontraron 26 ejemplares de la especie *H. erectus* lo que representó el (0,7%). De ellos 21 fueron machos, 3 hembras y 2 indiferenciados. La densidad media fue de $0,0074 \pm 0,0015$ ind/m² (intervalo: $0,0029 - 0,0265 \pm 0,0076$ ind/m²). En la Tabla 31, aparecen los valores de densidad media por sexo en ambas épocas. No se encontraron diferencias significativas en la densidad media por sexos, ni total por época, aunque se obtuvo una mayor abundancia de ejemplares en época la de seca.

Se encontraron 9 machos grávidos que representó el 82% del total de machos encontrados, en los meses de Febrero, Octubre del 2008 y en Enero del 2009.

La proporción sexual fue de 7 machos por cada hembra, diferente a la proporción esperada de 1:1 ($\chi^2_c = 12,04$ p<0,01). No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas, poliquetos, y esponjas.

Playa Flamenco

Se encontraron 6 ejemplares de la especie *H. erectus*, de ellos 3 fueron hembras y 3 machos, todos en época de seca. La densidad media fue de $0,0040 \pm 0,0018$ ind/m² (intervalo: $0 - 0,0167 \pm 0,0080$ ind/m²). En la Tabla 32, aparecen los valores de densidad media por sexo en ambas épocas.

Se encontró 1 macho grávido que representó el % del total de machos encontrados, en el mes de Marzo del 2007.

La proporción sexual fue de 1:1. No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a diferentes especies de macroalgas.

Refugio

Se encontraron 3 ejemplares indiferenciados en época de lluvia, de la especie *H. erectus*. La densidad media fue de $0,0030 \pm 0,0010$ ind/m² (intervalo: $0 - 0,0150 \pm 0,0076$ ind/m²). No se observaron grupos, todos los individuos se encontraron solos. La mayor parte de los ejemplares se encontraron asociados a las raíces de mangle rojo.

De acuerdo a los resultados obtenidos, sobre abundancia y densidad poblacional de las especies *H. reidi* e *H. erectus* se puede decir que es escasa la presencia de ambas en la

costa norte de Cuba, por lo que cualquier extracción de ejemplares puede afectar irremediablemente la población en cualquiera de las localidades estudiadas.

Mediciones morfométricas de la especie *H. erectus* en general.

El largo total (LT) de todos los ejemplares de *H. erectus* fue de $10,6 \pm 0,7$ cm (rango de 2,7-18 cm) se encontraron diferencias significativas entre las estaciones con H (2, N=35)=12,9 $p < 0,01$. Como se observa en la (Fig.15), el mayor valor del LT se encontró en la estación de Barracuda aunque la prueba Dunn no permitió esclarecer las diferencias.

Las hembras tuvieron un LT de $8,4 \pm 0,6$ (rango de 6,8-10,5 cm), para los machos fue de $12,6 \pm 0,6$ cm (rango de 7,5-18 cm) y para los indiferenciados fue de $4,6 \pm 0,5$ (rango de 2,7-5,6 cm). Los machos mostraron mayor talla que las hembras $U=27,5$ $p < 0,01$.

De forma general se observó que los machos de *H. erectus* encontrados durante el estudio y en todas las estaciones mostraron mayor LT ($U=21$ $p=0,01$), LH ($U=26$ $p=0,02$), OC ($U=25$ $p=0,01$) y LE ($U=25,5$ $p=0,02$) que las hembras. Los valores medios para cada una de las medidas aparecen en la Tabla 33.

Sin embargo en el análisis de las relaciones proporcionales que aparecen en la Tabla 34, la prueba t no detectó diferencias.

Mediciones morfométricas de la especie *H. erectus* por estaciones.

Barracuda

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas por sexo de *H. erectus* se presenta en la Tabla 35, donde los machos mostraron mayor LH ($U=8$ $p=0,04$) que las hembras, mientras que las otras medidas fueron similares para ambos sexos

Las relaciones proporcionales por sexo para *H. erectus* se presentan en la Tabla 36. Al aplicar la prueba t se detectó que los machos mostraron mayor proporción que las hembras LH/LT ($t=-2,50$ $p=0,02$).

El resultado de las regresiones lineales entre las mediciones para las hembras, se presenta en la Tabla 37, en la cual se obtuvo un alto coeficiente de determinación con todas las relaciones proporcionales con el LT, lo que indica que el modelo lineal se ajusta a todas las relaciones determinadas. No se presentan estas regresiones para los machos ni los indiferenciados por ser pocos ejemplares.

Playa Flamenco

La estadística descriptiva de las mediciones realizadas por sexo para *H. erectus* se presenta en la Tabla 38. No se encontraron diferencias significativas entre hembras y machos para ninguna de las medidas analizadas.

Las relaciones proporcionales por sexo para *H. erectus* se presentan en la Tabla 39. Al aplicar la prueba t se detectó que las hembras mostraron mayor proporción que los machos LH/LT ($t=-2,99$ $p=0,04$), mientras que las proporciones OC/LT y LE/LT fueron similares para ambos sexos.

Refugio

La estadística descriptiva de las medidas (lineales en cm) para los indiferenciados de *H. erectus* en el Refugio (Caibarien) se presenta en la Tabla 40, así como las relaciones proporcionales en la Tabla 41.

Resultado 2. Marcaje de caballitos en condiciones de Laboratorio

Como resultado del marcaje con collares de nylon, la mayoría de los ejemplares de ambas especies de caballitos, mostraron movimientos agitados de la cabeza una vez colocado el collar. Esta conducta se observó durante unas horas y posteriormente comenzaron a mostrar signos de recuperación con sus movimientos lentos característicos.

Los collares no interfirieron en la detección y captura del alimento, por lo que no se observó diferencias en cuanto a la alimentación de los ejemplares marcados con los no marcados. Tampoco se detectaron diferencias en los movimientos operculares

En cuanto a la conducta reproductiva se observaron manifestaciones de cortejo, tanto entre ejemplares marcados con collares de nylon, como entre estos y los no marcados. Ninguno de los ejemplares mostró lesiones en la piel como resultado del roce del collar y todos los ejemplares se mantuvieron saludables durante el experimento. Durante el período de experimentación con los collares de nylon se observó crecimiento de algas filamentosas sobre ellos sólo al finalizar el experimento.

Los ejemplares marcados con collares de caprón, se comportaron de forma similar, a los marcados con collares de nylon. Se alimentaron normalmente, se observaron manifestaciones de cortejo y no se presentaron lesiones en la piel. Aunque a diferencia de los collares de nylon, los de caprón propiciaron desde un inicio el crecimiento de un alga costrosa de color carmelita sobre los collares, y posteriormente el desarrollo de un alga filamentosa que llegó a alcanzar más de 1 cm de longitud, al finalizar el experimento.

Con los ejemplares marcados con caprón no se encontraron diferencias significativas en cuanto al crecimiento ($F(5,36)=0,46$ $p=0,81$), ni en cuanto al incremento en peso de los ejemplares ($F(5,36)=0,37$ $p=0,87$) entre los ejemplares marcados y los no marcados. Los valores promedios aparecen en la Tabla 42.

Ambos collares confeccionados de forma manual y con materiales de fácil adquisición, resultaron eficaces para el marcaje e identificación de ejemplares de *H. reidi* e *H. erectus* en condiciones de cautiverio, con un 100% de retención. Los collares de nylon, por las características propias del material, resultaron más apropiados, para el marcaje, debido a la poca colonización de algas sobre ellos con el transcurso del tiempo.

Resultado 3. Marcaje de caballitos con elastómeros en el medio natural

Fidelidad al sitio

Del los 68 ejemplares de caballitos de mar *H. reidi* marcados entre Abril y Septiembre del 2009, fueron recapturados 33, al menos una vez, para un (48,5%) entre ambas localidades. En Barracuda (BR) se marcaron 43 ejemplares y se recapturaron 24 para un (55,4%), mientras que en Playa Caleta (PC) fueron marcados 25 y recapturados 9 para un (36%) Figura 16.

En ambos sitios el mayor porcentaje de caballitos se recapturó en el primer trimestre del año, a partir del momento en que fueron marcados, a partir del segundo trimestre el porcentaje de recaptura fue disminuyendo, aunque en el cuarto trimestre aún fueron encontrados algunos ejemplares. Cuando se analizó por sexo, se obtuvo, que en BR, fueron recapturados al menos una vez 19 machos de los 26 marcados (73,1%) y solo cinco hembras de las 17 marcadas (29,4%). En este caso en todos los trimestres predominó la recaptura de los ejemplares machos, y en el último trimestre no fue recapturada ninguna hembra. En PC, donde se capturaron y marcaron menos ejemplares, fueron recapturados cuatro de los 11 machos marcados (36,4%) y cinco de las 14 hembras (35,7%). En este caso la recaptura se comportó de manera muy similar en todos los trimestres, excepto en el tercero, donde solo se recapturó una hembra y ningún ejemplar macho (Fig. 17).

Casi la mitad de los caballitos marcados fueron recapturados al menos una vez en el mismo sitio donde fueron marcados inicialmente, llegando en BR a recapturarse aproximadamente la tercera parte de los machos marcados. Estos porcentajes pueden considerarse elevados para el tiempo de estudio, que abarcó 17 meses en su totalidad y hacen inferir que los ejemplares de esta especie son fieles a sus sitios de residencia, particularmente los machos. Además se debe tener en cuenta que estos valores pueden estar subestimados, ya que en este tiempo algunos de los ejemplares marcados pueden morir por causas naturales (principalmente por senescencia y depredación), ser capturados por pescadores, no ser detectados por su alta capacidad críptica, o por la pérdida o deterioro de la marca al pasar los meses.

Rango de movimiento

Excepto un ejemplar hembra, que fue capturado y marcado en PC y recapturado en BR, el resto de los ejemplares fueron recapturados en el sitio donde fueron marcados. Para el análisis estadístico se excluyó únicamente este individuo que se movió aproximadamente 1820 m.

Teniendo en cuenta la totalidad de ejemplares de *H. reidi* recapturados entre ambos sitios, el rango de movimiento de la especie fue de (70,6±60,1 m (20-200)). Por estación se determinó que el rango para BR fue de (56,6±44,0 m (20-200)) y en PC fue de (112,5±83,5 m (20-200)). Al analizar esta variable por sexos, se obtuvo que en BR el rango de movimiento de los machos fue de (50,5±35,5 m (20-180)) mientras que el de las hembras fue de (80±67,8 m (40-200)). En PC el rango de movimiento de los machos fue de (110±80,8 (40-180)) y de las hembras (115±98,5 m (20-200)). En numerosas ocasiones los rangos de movimiento tanto de los machos como de las hembras se superpusieron en ambos sitios estudiados (Fig. 18). No hubo diferencias significativas entre el rango de movimiento entre machos y hembras en BR (U=31,0, p=0,24) ni tampoco en PC (U=7,0, p=0,77). Tampoco se encontraron diferencias entre los machos de ambos sitios (U=23,0, p=0,22) ni las hembras (U=10,0, p=1,00) de ambos sitios, así como en total, sumando machos y hembras, entre ambos sitios (U=71,0, p=0,27).

No se observó un patrón de movimiento, que indique migración hacia algún sitio de la dársena en algún momento del año ni en hembras ni machos (Fig. 19 y 20). No obstante

arribar a resultados concluyentes en este caso no es prudente ya que amplias áreas de este canal no estaban incluidas dentro del área de muestreo, sobre todo las partes más profundas, y la ausencia por varios meses de algunos ejemplares puede estar dada por movimientos a estas zonas.

La coloración de los caballitos fue variable en este estudio, se encontraron individuos amarillos, naranjas y con diferentes tonalidades de pardo. En BR, del total de caballitos marcados, 9 (37,5%) cambiaron la coloración inicial que tenían cuando fueron capturados por primera vez, de los machos cambiaron su coloración 6 (31,6%) y de las hembras 3 (60%). En PC cambiaron el color inicial solamente 2 (22,2%) de los ejemplares capturados, de los machos todos la mantuvieron mientras 2 (40%) de las hembras la cambiaron. En total el 33,3% (11) de los individuos recapturados cambió su coloración durante el transcurso del estudio.

Resultado 4. Analizar la diversidad y estructura genética en poblaciones naturales de *H. reidi* e *H. erectus*, en las zonas seleccionadas para realizar el estudio poblacional.

Los resultados que se presentan constituyen una evaluación muy preliminar de algunos aspectos genéticos de las especies *H. reidi* e *H. erectus*, a partir de individuos procedentes de diferentes localidades de la costa norte de Cuba.

El alineamiento final de las secuencias tuvo una longitud de 331 sitios alineados. No se observaron inserciones/deleciones entre las secuencias de *H. reidi*, mientras que solo uno fue detectado en el caso de *H. erectus*. Al comparar entre especies se observaron diferencias de longitud entre las secuencias que involucraron de 1 a 4 nucleótidos.

Los estimados de diversidad genética en las localidades muestreadas, donde el número de ejemplares secuenciados fue mayor de 5 se presenta en la Tabla 45. Si se compara las localidades de Bajo de Santa Ana y Varadero, se puede observar que la primera, presentó mayor diversidad, que se refleja en un mayor número de sitios segregantes y consecuentemente mayor número de haplotipos ($Hd = 0.6$). El valor de diversidad nucleotídica también indica que los haplotipos ahí presentes muestran mayor divergencia entre ellos ($\pi=0.0055$) que los detectados en Varadero ($\pi=0.0014$). La prueba de neutralidad de D de Tajima (1989) indicó que los valores del estadístico no fueron diferentes de cero en los casos analizados.

El resultado de las relaciones filogenéticas entre los haplotipos y las especies analizadas se presentan en la Figura 21. El árbol de máxima verosimilitud ($\ln L = -807.65$) fue inferido utilizando el modelo GTR-G, con valor del parámetro $a=0.705$. El análisis de dichas relaciones entre los haplotipos detectados y las especies permiten constatar que las secuencias obtenidas de individuos procedentes de las localidades de Cuba se agrupan como lo esperado con las correspondientes de cada especie, lo que confirma la especificidad de las amplificaciones realizadas.

En la Figura 22, se muestran las asociaciones entre los haplotipos encontrados. Los haplotipos observados en Cuba se relacionan entre sí a través de 1 a 3 cambios mutacionales.

DISCUSIÓN

En este estudio la especie *H. reidi* resultó la más abundante, se encontró en un rango de temperatura y salinidad mayor que el reportado por Freret-Meurer y Andreatta (2008).

La densidad media encontrada en este estudio en general para la especie *H. reidi* fue mayor ($0,0306 \pm 0,0017$ ind/m²) que la reportada por Rosa *et al*; (2007), en un estudio que incluyó 12 localidades a lo largo de Brasil (0.026 ind/m²). Al comparar con otras especies también fue mayor que la reportada para *H. abdominalis* (Martin-Smith y Vincent, 2005), para *H. hippocampus* (Curtis y Vincent, 2005) y para *H. capensis* (Bell *et al*; 2003), utilizando una metodología de muestreo similar.

Los valores de densidad media para *H. reidi*, en todas las estaciones fueron bajos como se observa en la Tabla. 43, esto coincide con la tendencia general descrita para las especies de caballitos de mar por Lourie *et al*; (1999, 2004) y Foster y Vincent, (2004).

Para *H. reidi* se obtuvo la mayor densidad media ($0,0306 \pm 0,0017$ ind/m²) en las estructuras artificiales (muelle de hormigón) de las estaciones de Barracuda y Caleta, con un valor superior al encontrado por (Pastor, datos no publ.) en estructuras de concreto sumergidas en Santa Fe, Cuba (0.0012 ind/m²) en el año 2004-2005 y menor que el observado por Días y Rosa (2003) en muelles de madera ($0,51$ ind/m²) dentro de una estación en Río Grande Noreste de Brasil.

En ese mismo estudio Días y Rosa encontraron una marcada diferencia entre las densidades en estructuras artificiales y una zona estuarina (0.006 ind/m²), atribuyendo la misma a la atracción que ejercen varios de los microhábitat presentes en el muelle como macroalgas, esponjas, cnidarios y tunicados. Esto coincide con lo encontrado en este estudio, donde la densidad en estructuras artificiales en (Barracuda y Caleta) fue mayor que en el resto de las estaciones.

Las estaciones de Barracuda y Caleta están próximas a la Bahía de Cárdenas, por lo que el constante aporte de nutrientes provenientes de ella y de los desagües de albañales, que existen en el lugar han provocado el desarrollo de abundantes especies de algas, esponjas, bivalvos, poliquetos tubícolas entre otros organismos asociados a las paredes y pilotes de los muelles. Esta complejidad estructural y diversidad de colores brindan amplias oportunidades para el anclaje y el camuflaje de los caballitos.

Es posible que este ambiente con tanta diversidad favorezca también el desarrollo de numerosos organismos pequeños que podrían servir de alimento a los caballitos. Según Lourie *et al*; (1999) estos peces se alimentan de cualquier animal vivo con un tamaño que puedan ingerir como pequeños peces crustáceos y otros invertebrados.

Partiendo de lo antes analizado, se considera que los mayores valores de densidad encontrados en Barracuda y Caleta pueden estar dados por diferencias en la disponibilidad de sustratos para el anclaje y en la disponibilidad de alimentos.

La densidad encontrada en Las Cuarenta, durante los 3 años de estudio, fue menor que la obtenida por (Pastor, datos no publ) de 0.010 ind/m², en la misma zona entre los meses de Abril/2004 y Abril/2005, lo que indica una disminución de la cantidad de ejemplares, aunque las causas son desconocidas. También fue menor que la densidad reportada por Rosa *et al*; (2007), en las zonas de manglar de Tubarao y Casqueira (Río Grande del Norte en Brasil) que fueron de $0,06$ y $0,014$ ind/m².

En la estación de Playa Flamenco, se encontró una densidad menor que la reportada por Freret-Meurer y Andreatta (2008) en la Playa de Araçatiba, Ilha Grande, Brasil (0.18 ind/m²), y que la obtenida por Rosa *et al.*; (2007), en las Playas de Andorinhas y Itaipu en Río de Janeiro.

En la estación de Santa Ana se obtuvo una densidad menor que la encontrada en los estuarios de los ríos Camurupin/Cardoso, Timonha/Ubatuba y Pacote. (Rosa *et al.*; 2007; Giacometti y Rosa, 2009) y fue mayor que la reportada por Días y Rosa (2003), en la zona estuarina en Río Grande al Noreste de Brasil 0,006 ind/m²

Los ejemplares de *H. reidi* tanto hembras como machos, presentaron tallas medias menores que los encontrados por (Rosa *et al.*; 2007; Giacometti y Rosa, 2009), aunque se debe tener en cuenta que ellos abarcaron un mayor número de localidades y analizaron una mayor cantidad de ejemplares por sexo.

De forma general los machos de *H. reidi* presentaron tallas mayores que las hembras. Este resultado coincide con lo reportado por Rosa *et al.*; (2007) y por Bell *et al.*; (2003) para la especie *H. capensis*. Sin embargo según Foster y Vincent (2004) el dimorfismo sexual en cuanto al largo total es inusual en los caballitos de mar. Este planteamiento fue el resultado del análisis de 16 especies, incluida *H. reidi*. En los pocos casos en que se encontró este tipo de dimorfismo los autores lo atribuyeron a diferencias sexo-específicas en las tasas de mortalidad.

La proporción sexual para *H. reidi* se corresponde con la frecuencia esperada de 1:1. Esto coincide con Freret-Meurer y Andreatta (2008) y Giacometti y Rosa (2009). Según Lourie *et al.*; (1999), esta proporción indica que la estructura social podría ser en parejas para un comportamiento monógamo de la especie. Dicha organización social es común en muchas especies del género *Hippocampus* como *H. comes* (Perante *et al.*; 2002); *H. abdominalis* (Martin-Smith y Vincent, 2005 en: Rosa *et. al.*, 2007). Sólo en la estación de Caleta se encontró una proporción sexual diferente, con una mayor cantidad de hembras...

La cantidad de ejemplares grávidos encontrados en este trabajo, fue menor que la reportada por Rosa *et al.*; (2007). La presencia de al menos un ejemplar grávido en todos los meses, es un indicador de que la especie se reproduce todo el año, esto coincide con (Rosa *et al.*; 2007; Freret-Meurer y Andreatta, 2008). No se encontró un pico reproductivo para la especie *H. reidi* a diferencia de Rosa *et al.*; (2007), que lo reportaron entre los meses de de verano (Octubre a Febrero, hemisferio sur). La talla de diferenciación sexual, así como el menor macho maduro fue menor que lo reportado por Rosa *et al.*; (2007) y Giacometti y Rosa (2009).

En este estudio, más del 70 % de los ejemplares diferenciados mostraron tallas superiores al del menor macho maduro (6,8 cm), por tanto, si se asume que todos esos ejemplares estaban aptos para reproducirse es poco probable que esta haya sido la causa principal de la baja actividad reproductiva encontrada en todas las estaciones. Otras posibles causas podrían ser el desplazamiento de algún ejemplar grávido fuera del área de muestreo o que no haya sido detectado, lo que sería significativo teniendo en cuenta la baja densidad.

El porcentaje de ejemplares solitarios encontrado en este trabajo fue mayor que el reportado por (Rosa *et al.*; 2007 y Giacometti y Rosa 2009), esto se debe a que dichos

autores encontraron un mayor número de parejas y grupos de 3 a 7 individuos, que no se encontraron en este estudio. Según Claro *et al;* (2001) es más común encontrar a *H.reidi* sola que formando grupos.

Estos resultados no coinciden, con lo reportado por Perante *et al;* (2002), que plantea que por lo general las especies del género ***Hippocampus*** son encontradas en parejas relativamente alejadas unas de otras, pero que se mantienen estables debido en parte a la fidelidad que existe entre ellas y al pequeño espacio que utilizan para establecerse.

Aunque no se hizo un estudio detallado sobre los diferentes sustratos utilizados por la especie ***H. reidi***, si podemos decir que el mayor número de ejemplares se encontraron sobre diferentes tipos de macroalgas como: ***Caulerpa racemosa***, ***Caulerpa pusilla***, ***Caulerpa sertularioides***, poliquetos tubícolas ***Sabellastarte magnifica***, en las esponjas ***Agilas sp*** y ***Alsina sp*** y en las raíces de mangle rojo, ***Rhizophora mangle***. Esto se asemeja a lo reportado por (Rosa *et al;* 2007; Giacometti y Rosa 2009), donde la macroalga (*Caulerpa sertularioides*), el mangle rojo (*Rhizophora mangle*) y el mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), resultaron los sustratos más utilizados por esta especie.

H. erectus

La especie ***H. erectus***, apareció en las estaciones de Barracuda, Playa Flamenco y Refugio. El mayor número de ejemplares se encontró en las estructuras artificiales de la estación de Barracuda. Apareció en un rango de temperatura menor que el reportado por Teixeira y Musick (2001), mientras que la salinidad se encontró en un rango mayor que el reportado por estos autores, corroborando el criterio de ellos que la especie ***H. erectus*** puede tolerar amplios rangos de salinidad.

Para ***H. erectus*** se obtuvo una mayor densidad en Barracuda ($0,0074 \pm 0,0015$), que la encontrada por Pastor (datos no publ.) en estructuras de concreto sumergidas (0.0012 ind/m²) en Santa Fe.

Teixeira y Musick (2001) estudiaron la reproducción y alimentación de ***H. erectus***, en la Bahía de Chesapeake, Virginia, utilizando una red de arrastre para la colecta de 136 ejemplares, los que posteriormente se sacrificaron para el análisis del contenido estomacal.

Según Böhlke (1982) en Teixeira y Musick (2001) ***H. erectus*** es más frecuente en aguas profundas donde la vegetación es abundante. Quizás por esa razón se encontraron tan pocos ejemplares en las estaciones estudiadas, ya que la profundidad de las mismas no sobrepasa los 3m.

Los machos de *H.erectus* presentaron tallas mayores que las hembras. Se encontró para esta especie una proporción sexual diferente a la esperada, esto coincide con lo reportado por Teixeira y Musick (2001).

La cantidad de ejemplares grávidos encontrados en esta especie fue baja respecto al total de machos (38%), resultando menor que el encontrado por Teixeira y Musick (2001) que reportan el período reproductivo de ***H. erectus*** de mayo a Octubre.

El 100 % de los ejemplares de ***H. erectus*** se encontraron solos, esto coincide con lo reportado por Claro *et al;* (2001), que dice que esta especie es más común encontrarla sola que formando grupos.

Marcaje de caballitos con collares en el Laboratorio

Tanto los collares de nylon como los de caprón resultaron efectivos para el marcaje de los caballitos de las especies *H. reidi* e *H. erectus* en condiciones de cautiverio. Esto coincide con lo reportado por Morgan y Martin-Smith (2004) según estudios realizados en condiciones de laboratorio con las especies *H. capensis* (Tops, 1999; Le_Cheminant, 2000) y *H. erectus* (Hughes, 1999), donde se emplearon collares para la identificación de los ejemplares. Además la retención de las marcas fue de un 100%, similar a lo reportado por Lipton y Thangaraj (2007), quienes emplearon collares artesanales en la especie *H. kuda* y resaltaron la importancia de dicho resultado, como una prueba de la eficiencia de las marcas.

A pesar de que algunos autores, como Morgan y Martin-Smith (2004), no recomiendan el uso del nylon de pescar para la confección de collares por su dureza y rigidez, en el presente estudio se empleó dicho material sin que se detectaran lesiones en la piel de los caballitos. Planas *et al;* (2007), obtuvieron un resultado similar al emplear collares de nylon con 0,8 mm de grosor para diferenciar los reproductores de la especie *H. guttulatus* en condiciones de laboratorio.

El crecimiento de algas sobre el cordel de los collares que se observó en el presente estudio también fue descrito por Planas *et al;* (2007), para lo cual dichos autores recomendaron la extracción y limpieza de los collares con ácido acético. El crecimiento de algas se ha visto además en investigaciones realizadas en el medio natural. Curtis y Vincent (2006) emplearon collares para marcar ejemplares de la especie *H. guttulatus* en condiciones naturales, en un experimento que duró 45 días y tuvieron que desarrollar un monitoreo diario para revisar los collares y limpiar las incrustaciones. Perante *et al;* (2002) observaron crecimiento de algas en los collares colocados a caballitos de la especie *H. comes*, en un estudio desarrollado en las poblaciones naturales de Filipinas.

En este trabajo no se observaron afectaciones en la conducta de los ejemplares debido al crecimiento de las algas. Algunos autores plantean que en el medio natural esto podría favorecer el camuflaje de los ejemplares (Perante *et al;* 2002), no obstante es posible que un crecimiento excesivo de las mismas dificulte la visión de los caballitos y afecte la detección y captura del alimento. El crecimiento de las algas fue más lento sobre los collares de nylon quizás por presentar una superficie más lisa que el hilo de caprón trenzado.

Marcaje de caballitos con elastómeros en el medio natural

Los resultados del marcaje de *H. reidi* en el medio natural con el empleo de elastómeros fluorescentes, nos confirman aspectos de la conducta previamente estudiados para otras especies de caballitos de mar.

El hecho de que solo un ejemplar marcado en un sitio fue encontrado en el otro, así como los porcentajes altos de recaptura obtenidos, particularmente los de Barracuda (BR), sugieren que los adultos de *H. reidi* presentan fidelidad al sitio, esto es similar a lo reportado por Curtis y Vincent (2006) en la especie *H. guttulatus* en Rio Formosa, Portugal, y a lo encontrado por Moreau y Vincent (2004) en la especie *H. breviceps* dentro de la Bahía de Port Phillip, en Victoria, Australia.

Una marcada fidelidad también ha sido comprobada en el pariente cercano de los caballitos de mar *Phyllopteryx taeniolatus*, un dragón de mar habitante de las costas australianas (Sánchez-Camara y Booth, 2004). El uso de un área preferencial por los adultos de caballitos de mar, puede estar dado por las facilidades que este le ofrece para alimentarse (Jones, 1984) o como áreas de refugio o descanso (Eristhee y Oxenford, 2001). También estos sitios pueden ser importantes para las interacciones de cortejo (Moreau y Vincent, 2004).

Teniendo en cuenta el período de estudio (17 meses), se considera que la retención de las marcas fue alta, detectándose ejemplares marcados, hasta después de un año, este resultado es similar al obtenido por Dewey y Zigler (1996), donde las tasas de retención estuvo por encima del 90%, mientras que Woods y Martin-Smith (2004) obtuvieron un 100% de retención por un período de 7 meses en la especie *H. abdominalis*. Curtis (2006) obtuvo una pérdida total o parcial del elastómero en solo el 2,3% de los individuos marcados durante 14 meses de estudio con *H. guttulatus*. La pérdida de las marcas puede ser provocada por los movimientos del animal, que pueden fragmentar el material y ser expulsado por el punto donde fue inyectado (Hale y Gray, 1998), aunque la morfología rígida de estos peces quizás reduce considerablemente esta posibilidad. También el crecimiento de tejidos pigmentados sobre la marca puede provocar que esta no sea detectada al recapturar el animal (Olsen y Vollestad, 2001).

Existe una pequeña posibilidad de que los porcentajes de recaptura obtenidos en este estudio, estén subestimados debido a un aumento de la depredación de los caballitos de mar a consecuencia de la marca, que podría disminuir su capacidad críptica. Pocos trabajos han abordado este tema, pero un estudio realizado por Malone *et al*; (2009) en dos especies de gobios demostró que el marcaje no afectó la vulnerabilidad de estos peces a la depredación. La visibilidad de los marcadores disminuye considerablemente aunque de forma gradual a medida que transcurre el tiempo, esto, unido al pequeño tamaño de la marca, quizás no implicaría efectos negativos en la capacidad críptica de los caballitos, aunque estudios encaminados en determinar el efecto real se deben realizar...

El rango de movimiento para los adultos de *H. reidi* en este estudio no fue grande, y en la mayoría de los ejemplares las recapturas ocurrieron en el mismo transecto donde fueron marcados inicialmente o muy cerca de este. No obstante fue mayor que el registrado por Dauwe (1993, citado por Moreau y Vincent (2004)), el cuál fue de 3,5-13,3 m², aunque estos valores fueron obtenidos con una metodología diferente a la de este trabajo.

Tanto (Vincent *et al*; 2004; Curtis y Vincent, 2006), reportan rangos de movimientos pequeños para las especies *H. whitei* y *H. guttulatus*. Para el dragón de mar *Phyllopteryx taeniolatus* el rango de movimientos para un año de estudio fue de 115±10 m (Sánchez-Camara y Booth, 2004). En este trabajo se observaron tanto en (BR) como en (PC), corrientes relativamente fuertes en ambas direcciones dentro del canal, por lo que este es un factor que pudiera condicionar el rango de movimientos obtenidos para la especie *H. reidi* en ambas estaciones.

Según Foster y Vincent (2004), los hipocampos mantienen un rango de movimiento pequeño quizás porque el costo del movimiento para estas especies es mayor que el beneficio que obtienen de él, en términos de supervivencia, crecimiento y reproducción. Movimientos más amplios podrían comprometer la estrategia de camuflaje con el medio, ya que los cambios de coloración generalmente en estas especies no son tan rápidos, y en las especies que lo hacen de forma más inmediata, como la especie *H. whitei* según

Vincent *et al*; (2005), podrían llamar la atención de los depredadores y las potenciales presas.

No se encontraron diferencias entre las hembras y los machos de *H. reidi*, en relación al rango de movimiento, esto coincidió con lo reportado por Perante *et al*; (2002) para la especie *H. comes* y no coincide con lo reportado por Dauwe (1993, citado por Moreau y Vincent (2004) para *H. reidi* y Moreau y Vincent (2004) en la especie *H. breviceps*, donde las hembras se movieron por áreas más amplias que los machos.

El rango de movimiento de los dragones de mar *Phycodurus eques* (Connolly *et al*; 2002) y *Phyllopteryx taeniolatus* (Sánchez-Camara y Booth, 2004), coincide con lo obtenido en este estudio, resultando similar para ambos sexos y los juveniles. La variación del rango de movimientos entre los sexos ha sido relacionada con la conducta reproductiva en algunas especies de caballitos de mar como *H. comes* e *H. withei* (Perante *et. al.* 2002, Vincent *et al*; 2005).

En este trabajo no se encontró un patrón de movimiento en las dos estaciones estudiadas para la especie *H. reidi*. Sin embargo Connolly *et al*; (2002b) detectaron que los machos de *Phycodurus eques* se movían a aguas poco profundas cuando eran portadores de huevos. Diversos patrones por similares causas han sido encontrados en otros signátidos como el pez pipa *Syngnathus fuscus* (Lazzari y Able, 1990) y en *Hippocampus subelongatus* (Kvarnemo *et al*; 2000).

El dragón de mar *Phyllopteryx taeniolatus* presenta movimientos hacia áreas fuera de su rango de movimiento común en determinadas estaciones, lo cuál puede estar relacionado con migraciones a sitios de apareamiento más favorables o áreas que son más propicias para el desarrollo de los alevines (Sánchez-Camara y Booth, 2004).

La fidelidad al sitio y la escasa movilidad, de *H. reidi* hacen de esta una especie muy vulnerable a la explotación y la perturbación de su hábitat. Estas características conductuales, demostradas para otras especies de caballitos también (Perante *et. al.* 2002; Curtis y Vincent, 2006) implican que cualquier extracción masiva en un sitio puede afectar irremediamente una población. Estudios de mayor amplitud y en diferentes áreas pueden contribuir de manera trascendental a conocer otras características y conducta de esta especie, así como evaluar el impacto antropogénico sobre las poblaciones locales.

Diversidad y estructura genética en poblaciones naturales de *H. reidi* e *H. erectus*.

Los números de muestra son muy pequeños para obtener conclusiones importantes. No obstante, los resultados obtenidos permiten realizar una serie de inferencias válidas. La mayor diversidad genética encontrada en la zona de Santa Ana respecto a Varadero para *H. reidi* sugiere que se trata de una población más abierta o más estable demográficamente en el tiempo. Aunque aparentemente contradictorio con respecto al número censal, dado que en Varadero son mucho mayores, estos datos pudieran sugerir también, que esta última localidad sostiene una población que transitó por una reducción drástica de su efectivo (por cuello de botella o por efecto fundador) y actualmente se encuentra en expansión demográfica.

Desde el punto de vista filogenético, las secuencias obtenidas de individuos procedentes de las localidades de Cuba se agrupan como lo esperado con las correspondientes de cada especie (*H. reidi*, *H. erectus*), lo que confirma la especificidad de las

amplificaciones realizadas. Ambas especies no están directamente relacionadas (Teske *et al*; 2007). Es interesante señalar que en el caso de los haplotipos de otras regiones (Ej. Brasil, Honduras, México y Estados Unidos) tienen un grado de relación variable con respecto a las muestras de Cuba y en todos los casos constituyen haplotipos diferentes a los encontrados en la zona norte de esta última.

En el caso de *H. erectus*, el número de muestra es poco y desconocemos el origen geográfico de los haplotipos. No obstante, uno de los haplotipos CC76 es idéntico una de las secuencias informada en la base de datos.

Los haplotipos observados en Cuba, como se presentó en los resultados, se relacionan entre si a través de 1 a 3 cambios mutacionales. Sin embargo, estos con respecto a las muestras foráneas se relacionan a través de 3 a 11 cambios. En particular, las secuencias de México son las más divergentes sugiriendo un completo aislamiento de sus poblaciones con respecto a las otras analizadas. En el caso opuesto se encuentran los individuos de Brasil y E.U. que comparten un mismo haplotipo. Esto sin dudas necesita verificación debido a la distancia geográfica que separa ambos territorios y a la pertenencia a áreas biogeográficas distintas (Rochas *et al*; 2004, 2007).

Las localidades del norte de Cuba muestran una mayor identidad entre ellas y el haplotipo 2 (H-2) parece ser común entre todas las localidades. El haplotipo 4 (H-4) aparece también en alta frecuencia, pero esencialmente en Varadero. El número de muestras es aun limitado para llegar a alguna conclusión con respecto al nivel de diferenciación genética (en caso de que existiera) entre las localidades.

No obstante, se puede inferir que a nivel geográfico amplio (Ej.: el Caribe) las poblaciones de estas especies y en particular *H. reidi* muestran un nivel alto de diferenciación genética.

Aunque se detectó un número de haplotipos considerable de 6 en 18 muestras secuenciadas, su distribución, en varios casos, pudiera ser local, lo que unido a tamaños censales pequeños y posiblemente ausencia de migrantes provenientes de otras regiones del Caribe, hacen a estas especies muy vulnerables a la sobreexplotación. Esto sugiere, de forma preliminar, que las poblaciones locales deben ser consideradas tentativamente como unidades de manejo independientes.

ARTÍCULOS CIENTÍFICO TÉCNICOS PRODUCIDOS CON LOS RESULTADOS DEL PROYECTO:

*Pérez, A. (2010). Caracterización de las poblaciones de caballitos de mar (Gasterosteiformes: Syngnathidae) en dos estaciones del canal de Varadero, Matanzas. Tesis de Diploma de Licenciatura en Biología.

TRABAJOS PRESENTADOS EN EVENTOS CIENTÍFICOS

* Pastor, L; R, Corrada; D, Hernández; A, Pérez; Y, Piloto; P, Chevalier. (2009). Abundancia y Distribución de caballitos de mar (Pisces: Syngnathidae) en la costa Norte de Cuba. Conferencia temática. ColacMarCuba.

* De la Nuez, D; L, Pastor; A, Pérez; R, Corrada; Y, Piloto. (2009). Marcaje con elastómeros fluorescentes (VIE) para el estudio de dos especies de caballitos de mar (*Hippocampus* sp) en Varadero, Matanzas. ColacMarCuba.

CONCLUSIONES

1- El estado actual de las poblaciones de *H.reidi* e *H.erectus* en la costa Norte de Cuba se puede catalogar como vulnerables. La escasa presencia de ambas especies, la fidelidad al sitio y la poca movilidad, indican que las poblaciones naturales no sustentan una explotación sostenible del recurso.

2- Las especies *H. reidi* e *H. erectus* presentaron bajos valores de densidad poblacional (0,0027-0,054 ind/m²) en todas las zonas estudiadas en comparación con lo reportado por otros autores (0,007-0,51 ind/m²).

2a- De las especies encontradas, *H. reidi* fue la más abundante y de mayor distribución en las 8 estaciones ubicadas en la costa Norte de las regiones Occidental y Central de Cuba. El rango de tolerancia a factores abióticos como la salinidad, fue mayor que lo reportado para esta especie en las costas de Brasil.

2b- En las estructuras artificiales de las estaciones de Barracuda y Caleta, se encontró la mayor densidad de caballitos, posiblemente relacionado con el mayor número de microhábitats existente.

3- Las tallas por sexo de las dos especies encontradas en este estudio, fueron menores que las reportadas por otros autores en las costas de Brasil.

3a- Los machos tanto en *H. reidi* como en *H. erectus* fueron mayores que las hembras.

3b- La relación proporcional LH/LT fue significativamente mayor en las hembras que en los machos de *H. reidi*, mientras que en *H. erectus* fue similar.

4- La especie *H. reidi* se reproduce todo el año, mientras que de *H. erectus*, sólo se encontraron machos grávidos en los meses de Febrero y Octubre/ 2008 y Enero/2009.

4a- Se supone un comportamiento monógamo de la especie *H. reidi* debido a la proporción sexual encontrada, muy similar a la proporción 1:1. Mientras que para *H. erectus* la proporción fue diferente a la esperada.

5- Los collares artesanales, confeccionados con nylon y caprón, resultaron efectivos para el marcaje de *H. reidi* y *H. erectus* en cautiverio.

5a- El marcaje con elastómeros en el medio natural resultó efectivo para determinar la fidelidad al sitio, el rango y patrón de movimiento de la especie *H. reidi*. No se encontraron diferencias en el rango de movimiento entre hembras y machos en esta especie.

5b- Los porcentajes de recaptura obtenidos sugieren que *H. reidi* muestra fidelidad al sitio y su rango de movimiento fue de 70,6±60,1 m.

5c- No se observó un patrón de movimiento para *H. reidi* en ninguno de los dos sitios estudiados dentro de la dársena.

6- Las poblaciones de estas especies y en particular *H. reidi* muestran un nivel alto de diferenciación genética a nivel geográfico amplio (Caribe).

6a- Aunque se detectó un número de haplotipos considerable (6 haplotipos en 18 muestras secuenciadas), su distribución pudiera ser local, lo que unido a tamaños censales pequeños y posible ausencia de migrantes provenientes de otras regiones del Caribe, también hacen vulnerables a estas especies a la sobreexplotación.

6b- De forma preliminar, se sugiere que las poblaciones locales deben ser consideradas tentativamente como unidades de manejo independientes.

RECOMENDACIONES:

1- Extender este tipo de estudio poblacional y de marcaje en el medio natural a otras áreas de Cuba.

2- Realizar muestreos en otros biotopos y a mayor profundidad.

3- Utilizar las marcas artesanales de nylon y caprón solamente en condiciones de laboratorio y si se usan para el marcaje de los ejemplares en el medio natural, se recomienda un monitoreo constante, para la limpieza de los collares.

4- Aumentar las áreas de muestreo dentro de la dársena a sitios más profundos, así como muestrear a intervalos de tiempo menores, con el fin de detectar posibles movimientos migratorios en una escala menor, que quizás no hayan sido detectados con la presente metodología.

5- Reforzar las medidas para la protección y conservación de las especies *H. reidi* e *H. erectus*, que eviten su extracción del medio natural, con fines acuaristas, como amuletos o para la exportación.

6- Aumentar el número de muestras para arribar a una conclusión con respecto al nivel de diferenciación genética (en caso de que existiera) entre las localidades.