

INFORME CIENTÍFICO TÉCNICO

TÍTULO DEL PROGRAMA: Uso sostenible de los componentes de la diversidad biológica en Cuba.

TÍTULO DEL PROYECTO: Parámetros poblacionales de las especies de caballito de mar *Hippocampus reidi* e *Hippocampus erectus* en diferentes zonas de la costa Norte y Sur de Cuba.



CÓDIGO: P211LH005-001

INSTITUCIÓN EJECUTORA: Acuario Nacional Cuba

Fecha de terminación: 2015

Índice:

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO	4
MATERIALES Y MÉTODOS	4
Densidad poblacional	4
Método de muestreo	5
Diversidad genética	7
Análisis de los datos	8
RESULTADOS	8
Densidad poblacional	9
Utilización de los componentes del hábitat	10
Resultados poblacionales por estaciones	11
Las Cuarenta	11
Bajo de Santa Ana	11
El Casino	12
Barracuda	13
Caleta	14
Análisis de la diversidad y estructura genética en poblaciones naturales de <i>H. reidi</i>	15
DISCUSIÓN	16
Parámetros poblacionales	16
Diversidad y estructura genética en poblaciones naturales de <i>H. reidi</i>	21
CONCLUSIONES	23
RECOMENDACIONES	23
ANEXOS	24
TABLAS Y FIGURAS	24
BIBLIOGRAFÍA	39

RESUMEN

Se presentan los resultados sobre el estudio de las poblaciones de caballitos de mar en cinco estaciones ubicadas en la costa noroccidental y dos en la costa suroccidental de Cuba. Se llevaron a cabo censos visuales mediante buceo libre, utilizando el método de transectos lineales, entre los meses de febrero del 2013 y junio del 2015. La especie *Hippocampus erectus* (Perry, 1810) no se encontró en ninguna de las zonas estudiadas. No aparecieron caballitos en las estaciones de la costa sur. Se obtuvo la densidad media en general para la especie *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) por estaciones y por sexo, así como la densidad media por época de lluvia y seca; meses/años; y época /años. La mayor densidad poblacional se encontró en las estructuras artificiales de las estaciones de Barracuda y Caleta. En época de lluvia se encontró el mayor número de individuos. La especie se caracterizó morfométricamente con cinco medidas corporales y tres medidas del marsupio. Se obtuvo la relación largo- peso total y por sexo para la especie *H.reidi* en la zona de Varadero. Los machos fueron mayores que las hembras. Se infiere un comportamiento monógamo de la especie debido a la proporción sexual encontrada, muy similar a la proporción 1:1. Las macroalgas del género *Caulerpa*, fueron los sustratos más utilizados por juveniles y adultos de *H.reidi*. Las poblaciones de esta especie están estructuradas geográficamente en un arreglo norte-sur. Se georreferenciaron los datos poblacionales obtenidos, para su introducción a la base de datos del Acuario Nacional de Cuba y al Sistema de Información Geográfica Nacional.

INTRODUCCION

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). Es por esto que constituyen objetivos muy importantes, para los estudios y planes de conservación de la diversidad marina.

Los *Hippocampus*, comúnmente conocidos como caballitos de mar, son peces muy peculiares por las características morfológicas que exhiben. Debido a su valor en la medicina tradicional asiática y como especie ornamental, son comercializados internacionalmente. Sus subproductos y derivados son muy utilizados en la Medicina Tradicional China –MTC- (Vincent, 1995) y en la Medicina Alternativa y Complementaria (Hunt y Vincent, 2004). Todo ello junto con: la degradación de sus hábitat, la captura indiscriminada para artesanía o el comercio de peces ornamentales, el uso de artes de pesca poco selectivas y los cambios climáticos han provocado una declinación de sus poblaciones (Meeuwig *et al.* 2003), por esta razón desde el año 2004, todas las especies del género *Hippocampus* están incluidas en el Apéndice II de la Convención Internacional sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres (CITES, 2004) y en la Lista Roja de especies amenazadas (UICN, 2009).

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.

De las 55 especies de caballitos de mar que forman el género *Hippocampus* (Froese y Pauly, 2013) en Cuba solamente se han registrado tres de estas: *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933), *Hippocampus erectus* (Perry, 1810) e *Hippocampus zosterae* Jordan y Gilbert, 1882, las cuales desde el año 2011 están incluidas en el Apéndice II de la Resolución No. 160/2011 sobre Regulaciones para el control y la protección de especies de especial significación para la diversidad biológica en Cuba (Gaceta Oficial de la República de Cuba, 2011).

Existen varios trabajos sobre las poblaciones naturales y la estructura genética de los caballitos de mar. Entre los más importantes sobre la especie *H. reidi* se encuentran los realizados en Brasil por: Dias y Rosa (2003); Silveira (2005, 2011); Rosa *et al.* (2007); Freret-Meurer y Andreatta, (2008), Osorio (2008); Mai y Rosa

(2009); Mai y Gonzálo (2012); Ramineli y Silveira (2013); Oliveira *et al*; (2013); Silveira *et al*; (2014) y Arcos Pulido y Gómez-Prieto (2004) en Santa Marta Colombia.

En relación a la especie *H. erectus*, se destacan los estudios de Teixeira y Musick (2001), en la Bahía de Chesapeake; Baum *et al*. (2003) en el Golfo de México; Andreato, P (2012) en las costas de la Florida y Boehm *et al*; (2015) en la región de la Florida y la costa Este de los Estados Unidos.

En Cuba, la exportación de caballitos de mar vivos de las especies *H. reidi* y de *H. erectus*, se realizó entre los años 1995 y 2005 (UNEP-WCMC CITES, 2006), destacándose el año 2004 con más de 100 individuos 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. (acuariofília, ornamental y medicina tradicional) es una práctica común.

Desde el año 2004 el Acuario Nacional de Cuba, se propuso conocer el estado de las poblaciones de caballitos de mar en dos zonas de la costa norte de Cuba, de las que tradicionalmente se habían extraído individuos para la exhibición, esta tarea formó parte del proyecto "Investigaciones para la "Conservación ex situ" de la especie de caballito de mar (*Hippocampus erectus*). Como resultado del mismo, se estimó por primera vez la densidad poblacional de las especies *H. reidi* e *H. erectus* en dos zonas de la costa norte de La Habana y Artemisa que fueron: El Casino (Santa Fe) y Las Cuarenta (Bahía de Cabaña). El 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, y se propuso hacerlo extensivo a otras zonas del país por un período de tres años.

Posteriormente entre marzo 2007 y abril del 2010, se desarrolló un proyecto de investigación relacionado con el estudio de las poblaciones de caballitos de mar en ocho estaciones, ubicadas en la costa norte de las regiones Occidental y Central de Cuba, y en los biotopos de manglar sumergido, zona estuarina, playas de arena, estructuras artificiales de un canal y pastizales marinos. Como resultado del mismo se obtuvo: la densidad media para *H. reidi* e *H. erectus* por estaciones y época del año, la proporción sexual por especie y el patrón de movilidad, de la especie *H. reidi* en las estaciones de Barracuda y Caleta (Varadero).

A pesar de que este estudio fue más abarcador en cuanto a un mayor número de zonas de muestreos, la cantidad de muestras por estaciones no fue suficiente para arribar a una conclusión con respecto al nivel de diferenciación genética (en caso

de que existiera) entre las diferentes localidades, por lo que la tarea de genética que era uno de los objetivos de este proyecto, se pospuso para continuar en años posteriores. También se determinó, extender los estudios poblacionales y de genética a diferentes zonas de la costa sur de Cuba, que hasta el momento no se habían estudiado.

Por las razones antes expuestas y por la necesidad de incrementar el conocimiento sobre la biología de estas especies de gran significación para la diversidad biológica en el país, se recomendó realizar un segundo proyecto de investigación que continuara con esta importante línea de trabajo, que solamente la ha desarrollado el Acuario Nacional en Cuba.

OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Valorar el estado actual, de las poblaciones naturales de las especies, *Hippocampus reidi* e *Hippocampus erectus* en diferentes zonas de la costa Norte y Sur de Cuba.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO

- 1- Determinar la abundancia y morfometría de las especies *H. reidi* y de *H. erectus* en las zonas de: Las Cuarenta (Bahía de Cabaña); El Casino (Santa Fe); Santa Ana; Barracuda y Caleta (Varadero); Majana y Batabanó.
- 2- Determinar la proporción sexual y época de reproducción de *H. reidi* y de *H. erectus* en las estaciones objeto de estudio.
- 3- Determinar los principales sustratos o hábitats en que se encuentran los juveniles y adultos de ambas especies.
- 4- Analizar la diversidad y estructura genética en poblaciones naturales de *H. reidi* y *H. erectus*, en las zonas seleccionadas para realizar el estudio poblacional.
- 5- Digitalizar y georreferenciar los resultados de este estudio para introducirlos al Sistema de información Geográfica Nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Densidad poblacional

Para el estudio de la densidad poblacional, se seleccionaron siete estaciones, de ellas cinco, ubicadas en la costa noroccidental y dos en la costa suroccidental de Cuba (Fig.1), que fueron las siguientes: Las Cuarenta (Bahía de Cabaña), El

Casino (Santa Fe), Bajo de Santa Ana, Barracuda y Caleta (Dársena de Varadero); Batabanó y Majana. Fuera de proyecto se muestrearon 2 estaciones más que fueron: Playa Cajío y Playa Mayabeque. La descripción de cada zona de estudio aparece en la Tabla.1

Método de muestreo

Se realizaron censos visuales entre las (8 y las 10 de la mañana) mediante buceo en apnea, a una profundidad que osciló entre 50 cm y 2 m. Se hicieron transectos de 20 m de largo por 1 m 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 2). Los muestreos se efectuaron entre febrero del 2013 y mayo del 2015. Se realizaron 3 muestreos en época de lluvia y 3 en época de seca, con excepción de la estación de Barracuda que se realizaron 4 en cada época.

En las estaciones de la costa sur, también se utilizó como método de muestreo un chinchorro de 50 m de largo por 2 m de peralto y una luz de malla de 1 cm, para muestrear los pastos marinos de estas estaciones, abarcando un área de 800 m²

A los individuos colectados se le determinó in situ: la especie según Lourie *et al.* (1999), el sexo, la gravidez o no del macho, cinco medidas corporales, más tres del marsupio en el caso de los machos que fueron las siguientes: Largo Total (LT) referido en Lourie, (2003a) como Altura Total (AT); Longitud de la Cabeza (LCa); Longitud del tronco (LTr); Longitud de la cola (LCo); y la Longitud Estándar (LE), y del marsupio de los machos se midió: L (Longitud); A (Ancho) y la P (Profundidad), con la ayuda de una regla graduada en centímetros (error 0,1 cm). La descripción de todas las medidas aparece en la Figura 2.

Fueron considerados como hembras todos aquellos individuos con Largo Total (LT) igual o mayor que la del macho más pequeño identificado que fue de 6.0 cm, por lo que todos los individuos menores de esta talla se consideraron indiferenciados.

Se filmaron y fotografiaron los caballitos de mar sobre el sustrato en que se encontraron, con la utilización de una cámara profesional Nikon D-200. Los sustratos utilizados por la especie de caballitos fueron identificados hasta el taxón más bajo posible con la ayuda de varios especialistas. También se analizó la frecuencia de utilización de cada sustrato por juveniles y adultos, utilizando la fórmula:

$$\text{HU (\%)} = \frac{\text{número de individuos encontrados en cada sustrato} \times 100}{\text{número total de avistados}}$$

HU: Sustrato utilizado.

Se tomaron otros datos como: color de los individuos y tamaño del grupo.

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

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

Los análisis de densidad, talla y reproducción se hicieron para la especie *H.reidi* en general, por sexo, por estaciones y época del año. 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 especies y por estaciones. Las diferencias estadísticas fueron consideradas con un nivel de significación del 95% ($\alpha = 0.05$).

Se determinó la estadística descriptiva de las medidas (LT, LCa, LTr, LCo y LE) en general, por sexo y para los individuos indiferenciados. Se emplearon los programas Microsoft Excel 2007 y STATISTICA versión 6.0.

Se estimó la relación largo-peso para la especie *H.reidi*, en general para la zona de la Dársena de Varadero (teniendo en cuenta la cercanía de las estaciones de Barracuda y Caleta) mediante la ecuación $W = aL^b$ donde (a) es la constante de proporcionalidad y (b) el coeficiente de alometría (Pauly, 1979).

Para la georreferenciación de los datos poblacionales de la especie *H.reidi* en cada estación, se utilizó el software QGIS Pisa (2.10.1)

Diversidad genética

Para el estudio de la diversidad y estructura genética, se utilizaron muestras provenientes de tres localidades que no estaban incluidas en este proyecto que fueron: la localidad de Punta Francés, al sur de la Isla de la Juventud, Jardines de la Reina también al sur de Cuba, y Caibarién en la costa norte, en esta última zona se utilizaron muestras colectadas durante el período 2007-2010.

Material biológico

Se procesaron un total de 131 individuos capturados en diferentes localidades de las regiones norte (Las Cuarenta, Bajo de Santa Ana, El Casino, Varadero, Caibarién) y sur del país (Punta Francés y Jardines de la Reina) Tabla 3 y Fig. 3. 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 muestras de aleta dorsal (aproximadamente 2-3 mm²). Para la obtención del ADN se utilizó el kit de extracción DNAeasy tissue kit (QIAGEN). El ADN con etanol, este se diluyó en tapón TE 1X (100 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA).

Para la amplificación de la región no codificadora del ADN mitocondrial (ADNmt) se utilizaron los cebadores HCAL2:5'-CACACTTTCATCGACGCTT-3' y HCAH2:5'-TCTTCAGTGTT-ATGCTTTA-3' (Teske *et al.*, 2003). 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 ClustalW implementado en MEGA 6.02 (Tamura *et al.* 2013).

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. Las relaciones entre las secuencias fueron inferidas utilizando el método de máxima verosimilitud implementado en MEGA 6.02. 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 réplicas).

Para determinar la existencia de poblaciones genéticamente diferenciadas, se utilizó el programa SAMOVA2 (Dupanloup *et al.* 2002). Para la estimación de los grupos se establecieron 100 procesos independientes y cada uno con 10000 pasos y como modelo de sustitución se utilizó el de Jukes-Cantor. En este caso, la localidad Varadero fue subdividida en tres grupos correspondientes a los años de colecta. El agrupamiento más probable fue el que mostró un mayor valor del índice *F_{ct}*. Los grupos (poblaciones) obtenidos fueron establecidos para el resto de las estimaciones. Los índices de diversidad nucleotídica (π), diversidad haplotípica (*h*) y el test de neutralidad de Tajima (1989) fueron calculados mediante el programa Dnasp v5 (Librado y Rozas 2009). La distancia genética promedio entre las poblaciones fue estimada en el programa MEGA6.

Para ilustrar las relaciones entre los haplotipos se construyó una red de haplotipos por el método de la red de mínima extensión utilizando el programa Network 4.6.1.3 (Bandelt *et al.*; 1999). El número de ramas conectoras se optimizó por el método de máxima verosimilitud.

RESULTADOS

Se encontró un total de 186 individuos, todos de la especie *H. reidi*, donde 75 fueron hembras (40,3%), 60 machos (32,2%) y 51 indiferenciados (27 %). La proporción sexual fue de 0.6:1 ($\chi^2_c=5.28$ $P > 0.05$), similar a la esperada. El largo

total medio (LT) fue de 8.2 ± 0.2 cm (rango de 1.8-16.7 cm), se encontraron diferencias significativas entre las estaciones con H (4, N=171)= 11.79 $p=0.01$ (Fig. 4).

La estadística descriptiva de las medidas realizadas por sexo y total se presenta en la Tabla 4. Como se puede observar las hembras tuvieron un LT medio de 8.8 ± 0.2 (rango de 6 -13.3 cm) para los indiferenciados fue de 4.6 ± 0.1 (rango de 1.8-6 cm) y para los machos fue de 10.4 ± 0.30 cm (rango de 6.5-16.7 cm), donde los machos fueron significativamente más grandes que las hembras $U=1197$ $p=0.0001$ en cuanto al Largo Total. El marsupio de los machos tuvo LT medio de 2 (rango de 1-3.6 cm); Ancho de 1.3 (rango de 0.5-2.8 cm) y la Profundidad de 0.7 (rango de 0.3-1.5 cm).

La estadística descriptiva y algunos parámetros de la relación largo-peso para la especie *H.reidi* en la Dársena de Varadero, se presentan en la Tabla 5. Como se puede observar el valor del coeficiente b en todos los casos fue menor que 3, lo que indica un crecimiento alométrico negativo, es decir una tasa de crecimiento en peso menor, que el crecimiento en longitud, esto puede estar relacionada con la forma atípica que presentan los caballitos de mar, a diferencia de otros peces óseos.

La especie *H. reidi* se encontró en todas las estaciones de la costa norte de Cuba, tanto en ambientes estuarino como marinos, en un rango de temperatura entre 21 -32°C y en un rango de salinidad entre 15-40 ups.

El 38,5%, de los machos estaban grávidos, como no aparecieron en todos los meses no se pudo definir la época de reproducción, ni un pico reproductivo, pero la mayor cantidad de grávidos se encontró en los meses de mayo y noviembre, con una talla media de 10.9 ± 0.4 cm (rango de 8.5-16.7cm).

En relación a la conducta social de la especie el (100 %) de los individuos estaban solos, por lo que no se pudo determinar tamaño del grupo. Se encontraron especímenes de color amarillo, naranja, negro, pardo oscuro y pardo claro, con predominio del color pardo oscuro.

Densidad poblacional

La densidad media de la especie *H. reidi*, fue de 0.0178 ± 0.004 ind/m² y se encontraron diferencias significativas entre las estaciones con H (4, N=498)= 10,50 $p=0,03$ y entre las estaciones y los diferentes años H (12, N=498)= 27,9 $p=0,005$. Como se observa en la (Fig. 5 y Fig. 6), la mayor densidad se obtuvo en

la estación de Barracuda (0.0318 ± 0.0024 ind/m²) y la menor en Santa Ana (0.0075 ± 0.006 ind/m²).

La densidad en época de lluvia fue significativamente mayor que en época de seca $U = 2854$ $p = 0,03$ (Fig. 7). Se encontraron diferencias significativas entre época de lluvia y seca en los diferentes años, obteniéndose los mayores valores en la lluvia del año 2015, $H(5, N=498) = 13,8$ $p = 0,01$ (Fig. 8), esto puede estar relacionado con el incremento de los nutrientes en esta época producto de los escurrimientos terrestres, lo que favorece una mayor disponibilidad de alimento y a su vez una mayor abundancia de caballitos.

En general los resultados obtenidos en este estudio, muestran una disminución significativa, en la densidad poblacional de *H.reidi* en comparación a los años 2004/2005 y 2007-2010 con $H(2, N=56) = 25,14$ $p = 0,0000$, como se observa en la Figura. 9, posiblemente determinada por algunos factores que se detectaron durante este estudio como: perturbación de sus hábitats naturales provocados por disturbios humanos, disminución de sustratos de apoyos que pueden influir en la abundancia o distribución de los individuos, y posible extracción del medio natural con fines ornamentales, o de lucro por pescadores furtivos.

No se encontró ningún individuo en las estaciones de Batabanó, Majana, Playa Cajío y Playa Mayabeque en la costa sur de Cuba.

Utilización de los componentes del hábitat

La especie *H.reidi* se encontró en diferentes macrohábitats como: estructuras artificiales, fondo de piedra y algas, manglar sumergido y pastos marinos, haciendo uso de una gran variedad de componentes del hábitat como sustrato de apoyo como: macroalgas, raíces de mangle rojo, invertebrados bentónicos entre ellos: moluscos, ascidias, poliquetos, esponjas, corales y briozoos.

En total la especie utilizó 16 sustratos de apoyo ($n=186$), resultando la macroalga *Caulerpa sertularioides*, la de mayor ocurrencia con (21%) ($n=39$), seguido por *Caulerpa racemosa* (12 %), briozoos (11%), esponjas (10 %), ascidias (9 %), el coral *Porites porites* (6%), el poliqueto *Sabellastarte magnifica* (6 %), el molusco *Isognomon alatus* (4%), las algas *Halimeda opuntia* (1%), *Dictyota sp.* (1%), *Caulerpa prolifera* (1%), *Galaxaura sp.* (1%), *Laurencia sp.*, la esponja *Dysidea etheria* (1,1%), Otros (4%) y nadando (11%) como se muestra en la (Fig. 10).

Resultados poblacionales por estaciones

Las Cuarenta

Se encontró un total de 11 individuos de la especie *H. reidi*, de ellos 3 machos y 8 indiferenciados, que representaron el (27,2%) y el (72%) respectivamente del total. Como no aparecieron hembras no se pudo determinar la proporción sexual. El largo total medio (LT) fue de 6.2 ± 0.7 cm (rango de 4.3-11 cm). La estadística descriptiva de las medidas realizadas por sexo y total se presenta en la Tabla 6. Los indiferenciados tuvieron un LT medio de 5.1 ± 0.2 (rango de 4.3-6 cm) y los machos tuvieron un LT medio de 9.3 ± 0.9 (rango de 8 -11 cm), el marsupio tuvo una Longitud media (L) de 1.7 (1- 2.5 cm), el Ancho medio (A) de 1.4 (0.8-2.2) y la Profundidad media (P) fue de 0.6 (0.4- 1cm).

La especie apareció en un rango de temperatura entre 22-29⁰C y en un rango de salinidad entre 15-40.

Se encontraron dos machos grávidos, que representaron el (66%) del total, uno en el mes de mayo y otro en el mes de noviembre del 2013, por lo que no se pudo definir la época de reproducción. La talla media fue de 10 ± 0.4 cm (rango de 9-11 cm).

El (100 %) de los individuos estaban solos. Se encontraron especímenes de color negro y pardo oscuro, resultando este último el color predominante.

La densidad media fue de $0,0085 \pm 0,0013$ ind/m.² No se encontraron diferencias significativas entre las densidades de lluvia y seca $U= 381,5$ $p=0,96$. En la Tabla. 7, aparecen los valores de densidad media total y por sexo en ambas épocas. Tampoco se encontraron diferencias entre las densidades por época/año $H(3, N=64) = 1.18$ $p= 0,75$, ni por meses/año $H(4, N=64) = 7.91$ $p= 0,1$

Los principales sustratos utilizados tanto por los juveniles como por los adultos de *H.reidi* fueron: *Caulerpa sertularioides*, *Caulerpa racemosa*, las raíces de mangle rojo *Rhizophora mangle* y la esponja *Amphimedon viridis*.

Bajo de Santa Ana

Se encontró un total de 6 individuos, de ellos 2 machos, 2 hembras y 2 indiferenciados, que representaron el (33%) del total. La proporción sexual fue de

0.125:1 ($\chi^2_c=0.55$ $P > 0.05$ similar a la esperada. El largo total medio (LT) fue de 7.0 ± 1.06 (rango de 2.8-10.3 cm).

La estadística descriptiva de las medidas realizadas por sexo se presenta en la Tabla 8. Las hembras tuvieron un LT medio de 7.8 ± 0.7 (rango de 7.1 -8.5 cm) para los machos fue de 9.1 ± 1.3 cm (rango de 7.8-10.3 cm) y para los indiferenciados fue de 4.1 ± 1.3 (rango de 2.8- 5.3 cm). No se encontraron diferencias significativas entre los machos y las hembras en cuanto al Largo Total $U=1.00$ $p=0.43$. El largo medio del marsupio de los machos fue de 1.4 (1- 1.7 cm), el Ancho medio (A) de 1.0 (0.7-1.2) y la Profundidad media (P) fue de 0.6 (0.4- 0.7cm).

La especie apareció en un rango de temperatura entre 22-30°C y en un rango de salinidad entre 31-32 ups.

No aparecieron individuos grávidos, por lo que no se pudo definir la época de reproducción, ni un pico reproductivo.

El (100 %) de los individuos estaban solos. Todos los especímenes encontrados fueron de color pardo oscuro.

La densidad media fue de $0,0075 \pm 0,0010$ ind/m². No se encontraron diferencias significativas entre la época de lluvia y seca $U=189$ $p=0,76$, ni total, ni por sexo. En la Tabla. 9, aparecen los valores de densidad media por sexo y total en ambas épocas.

No se encontraron diferencias significativas entre las densidades por época/años, $H(2, N=40) = 0.80$ $p= 0,66$, ni por época/meses, $H(3, N=40) = 0.80$ $p= 0,84$, como lo muestra el resultado de la prueba estadística aplicada.

Los principales sustratos utilizados tanto por juveniles y adultos de *H.reidi* fueron: el alga *Caulerpa sertularioides*, el molusco *Isognomon alatus*, esponjas y algas filamentosas.

El Casino

Se encontró un total de 4 individuos, de ellos 3 hembras y 1 macho, que representaron el (75%) y el (25%) respectivamente del total. La proporción sexual fue de 0.5:1 ($\chi^2_c=0.5$ $P > 0.05$), similar a la esperada. El largo total medio (LT) fue de 9.6 ± 1.2 cm (rango de 7-12.5 cm).

La estadística descriptiva de las medidas realizadas por sexo se presenta en la Tabla 10. Las hembras tuvieron un LT medio de 9.3 ± 1.6 (rango de 7 -12.5 cm), el macho tuvo un LT medio de 10.4 ± 0 . No se encontraron diferencias significativas entre las hembras y los machos en cuanto al Largo Total $U=00.00$ $p=1$. El marsupio tuvo un Largo de (1.7 cm), un Ancho de (1cm) y una Profundidad de (0.5 cm).

La especie apareció en un rango de temperatura entre 24 y 29°C y en un rango de salinidad entre 28 y 34 ups.

No aparecieron individuos grávidos, por lo que no se pudo definir la época de reproducción.

El (100 %) de los individuos estaban solos. Se encontraron especímenes de color pardo claro.

La densidad media de la especie fue de $0,01 \pm 0,0003$ ind/m². En la Tabla. 11, se muestra la densidad por sexo y total en ambas épocas. Como se puede observar todos los individuos aparecieron en época de seca. No se encontraron diferencias significativas entre las densidades por época/años, $H(1, N=20) = 0.00$ $p= 1,00$, ni por meses/años $H(1, N=20) = 0.37$ $p= 0.54$, aunque los individuos que se encontraron fueron en los meses de abril/2013 y abril/2014.

Los principales sustratos utilizados tanto por juveniles y adultos de *H.reidi* fueron: las algas *Caulerpa racemosa*, y *Penicillum sp* y el poliqueto *Sabellastarte magnifica*.

Barracuda

Se encontró un total de 119 individuos de la especie *H. reidi*, de ellos 39 machos (32.7%); 56 hembras (47%) y 24 indiferenciados (20%). La proporción sexual fue de 0.9:1 ($\chi^2_c=0.49$ $P > 0.05$), similar a la esperada. El largo total medio (LT) fue de 8.6 ± 0.3 cm (rango de 3.8-16.5 cm).

La estadística descriptiva de las medidas realizadas por sexo se presenta en la Tabla 12. Las hembras tuvieron un LT medio de 8.7 ± 0.3 (rango de 6,2 -13 cm), para los machos fue de 10.1 ± 0.4 cm (rango de 6.5-16.5 cm) y para los indiferenciados fue de 4.9 ± 0.1 (rango de 3.8-6 cm). Los machos fueron significativamente más grandes que las hembras $U=602,5$ $p=0.004$. El marsupio de los machos tuvo un Largo medio de 2 (1-1.4 cm) el Ancho de 1.3 (0.5-2.4 cm) y una Profundidad media de 0.7 (0.3-1.5 cm).

La especie apareció en un rango de temperatura entre 21 y 30°C y en un rango de salinidad entre 31 y 40 ups.

Se encontró un 28% de machos grávidos, como no aparecieron en todos los meses no se pudo definir la época de reproducción, ni un pico reproductivo, pero la mayor cantidad de individuos grávidos se encontró en los meses de mayo y noviembre/2014, con una talla media de 8.5 ± 0.4 cm (rango de 8.5-15.3cm).

El (100 %) de los individuos estaban solos. Se encontraron especímenes de color amarillo, naranja, pardo oscuro y pardo claro, con predominio del color pardo oscuro y el naranja.

La densidad media fue de $0,0318 \pm 0,0053$ ind/m². No se encontraron diferencias significativas entre la densidad de lluvia y seca, $U=10,00$ $p=0,44$, aunque el mayor número de individuos apareció en lluvia. En la Tabla. 13, aparecen los valores de densidad media por sexo y total en ambas épocas.

Se encontraron diferencias significativas entre las densidades por época/años, $H(5, N=187)=15,75$ $p=0,007$, donde los mayores valores se alcanzaron en la época de lluvia del 2015; también se encontraron diferencias significativas entre las densidades por meses/años, $H(10, N=187)=19,34$ $p=0,03$, donde el mayor valor se obtuvo, en el mes de mayo/2015, coincidiendo con el inicio del período lluvioso en el país.

Los principales sustratos utilizados tanto por juveniles y adultos de *H.reidi* fueron las algas *Caulerpa sertularioides*, *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa prolifera*, briozoos, ascidias, las esponjas *Dysidea etheria* y *Tedania ignis*, y corales entre ellos *Porites porites*.

Caleta

Se encontró un total de 46 individuos, de ellos 15 machos (32.6%); 14 hembras (30.4%) y 17 indiferenciados (37%). La proporción sexual fue de 0.8:1 ($\chi^2_c=2.7$ $P > 0.05$), similar a la esperada. El largo total medio (LT) fue de 7.9 ± 0.6 cm (rango de 1.8-16.7 cm).

La estadística descriptiva de las medidas realizadas por sexo se presenta en la Tabla 14. Las hembras tuvieron un LT medio de 9.0 ± 0.6 (rango de 6 -13.3 cm), para los machos fue de 11.3 ± 0.7 cm (rango de 8.5-16.7 cm) y para los indiferenciados fue de 4.0 ± 0.3 (rango de 1.8-5.8 cm). Los machos fueron

significativamente más grandes que las hembras $U=49.0$ $p=0.014$ en cuanto al LT. La longitud media del marsupio fue de 1.7 (1-2.5 cm), el Ancho de 1.4 (0.8-2.2 cm) y la Profundidad de 0.6 (0.4-1 cm).

La especie apareció en un rango de temperatura entre 21 y 30°C y en un rango de salinidad entre 31 y 35 ups.

Se encontró un 73%, de machos grávidos, como no aparecieron en todos los meses no se pudo definir la época de reproducción, ni un pico reproductivo, pero la mayor cantidad de grávidos se encontró en los meses de noviembre/2013 y septiembre/2014, con una talla media de 11.0 ± 0.4 cm (rango de 8.5-16.7cm).

En relación a la conducta social de la especie el (100 %) de los individuos estaban solos. Se encontraron especímenes de color amarillo, pardo oscuro y pardo claro, con predominio del color pardo oscuro.

La densidad media fue de $0,012 \pm 0,0042$ ind/m². No se encontraron diferencias significativas entre la densidad entre época de lluvia y época de seca, $U=4134.0$ $p=0,58$. En la Tabla. 15, aparecen los valores de densidad media total y por sexo en ambas épocas.

No se encontraron diferencias entre las densidades por época/años $H(5, N=187)=4.60$ $p=0,46$, ni por meses/años $H(10, N=187)=10,65$ $p=0,38$, como lo muestran los resultados de las pruebas estadísticas aplicadas.

Tanto los juveniles como los adultos de *H.reidi* utilizaron los mismos sustratos de apoyo que fueron: las algas *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa sertularioides*, *Dictyota sp* y *Dictyopteri sp*; el poliqueto *Sabellastarte magnifica* y ascidias.

Todos los datos poblacionales obtenidos en las cinco estaciones de la costa norte, se georreferenciaron para su introducción en la base de datos del Acuario Nacional y el Sistema de información Geográfica Nacional (Fig.11)

Análisis de la diversidad y estructura genética en poblaciones naturales de *H. reidi*

El análisis de la estructura de poblaciones con el uso del programa SAMOVA indicó la existencia de dos grupos o poblaciones. El valor del índice de diferenciación, para dos poblaciones ($F_{ct} = 0.152$) fue superior al estimado para tres ($F_{ct} = 0.126$) lo que indica que el número máximo de posibles particiones es dos. Un grupo incluye a todas las localidades del norte de la isla (Las Cuarenta,

Bajo de Santa Ana, El Casino, Varadero, Caibarién y Jardines de la Reina) y el otro, conformado por la localidad Punta Francés, al sur. Igualmente, no se observó variación temporal en las frecuencias haplotípicas entre los tres periodos de muestreo en la localidad de Varadero.

Los estimados de diversidad genética en las localidades muestreadas aparecen en la Tabla 3. En general los estimados fueron similares para todas las localidades, aunque destacan con los mayores estimados Caibarién, El Casino y Las Cuarenta por ese orden. Sin embargo, en todas estas localidades el número de muestras es pequeño. El test de Tajima fue estadísticamente no significativo para las localidades muestreadas, lo que sugiere ausencia de selección y estabilidad demográfica. Sin embargo, el índice fue significativo y negativo para el total de las localidades, aspecto que refuerza la existencia de al menos dos entidades genéticas en el conjunto analizado.

El número de haplotipos encontrados en las diferentes localidades fue similar con la excepción de Varadero, donde la proporción de variantes haplotípicas fue menor, de ahí los valores relativamente más discretos de los estimados de diversidad con respecto al resto de las localidades. Esto pudiera sugerir que aunque los estimados del número censal en Varadero son mucho mayores, estos datos pudieran sugerir que esta 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. No obstante, la prueba de neutralidad de D de Tajima (1989) indicó que los valores del estadístico no fueron diferentes de cero. En la Figura. 3 se presenta la red de haplotipos y la distribución de las localidades de muestreo.

DISCUSIÓN

Parámetros poblacionales

Durante el período de estudio solamente apareció la especie *Hippocampus reidi* en cinco de las siete estaciones estudiadas, aunque se reportó su presencia en 15 nuevas localidades de la costa norte y dos en la costa Sur de la Isla. Según (Pastor y col. en prensa), *H.reidi* es la especie más abundante y la de mayor distribución en la costa norte de las regiones Occidental y Central de Cuba, aunque también registraron la presencia de *H. erectus* en varias de estas estaciones. Resultados similares reportan Rosa *et al.* (2002) y Silveira (2011) para la costa norte y sur de Brasil. Sin embargo en el Golfo de México y costas orientales de Estados Unidos (Bruckner *et al.* 2005) plantean que *H.reidi* es la menos abundante de las especies presentes.

Según (Lourie *et al.* 2004) *H. reidi* tiene una amplia distribución vertical en un rango que oscila entre los 15 y 55 m de profundidad y es común encontrarla en manglares, pastos marinos, algas, ostras, cnidarios, esponjas, tunicados, estructuras artificiales en estuarios, gorgonáceos y corales pétreos.

En Cuba esta especie se ha encontrado fundamentalmente en estructuras artificiales y manglar sumergido entre 50 cm y 2 m de profundidad (Pastor y *col.* 2011) y también a aparecido en: fondos de piedra y algas, playa de arena y pastos marinos (Pastor y *col.* en prensa) a profundidades similares.

Rosa *et al.* (2002) reportó la ocurrencia de esta especie desde 10 cm hasta 55 m de profundidad según (Vari, 1982). También fue confirmada su presencia a pocos metros de la superficie por (Rosa *et al.* 2007; Oliveria y Freret- Meurer, 2012) en diferentes zonas de Brasil.

En general la especie *H.reidi* apareció en un rango de temperatura entre (21 - 32°C) y de salinidad entre (15-40 ups) mayor que el reportado por Freret-Meurer y Andreato (2008); Mai y Rosa (2009); Mai y Gonzalo (2012); Ramineli y Silveira (2013) y menor que lo reportado por Silveira (2005) (5-40 ups) y Pastor *et al.* (2011) (19-31°C) reafirmando el criterio de que es una especie eurihalina que soporta grandes rangos de salinidad.

Se encontró una proporción sexual similar a la esperada 1:1 estos resultados coinciden con lo reportado por (Silveira, 2005; Freret-Meurer y Andreato, 2008; Osorio, 2008; Mai y Rosa, 2009; Pastor y *col.* 2011; Ramineli, 2012, Pastor y *col.* en prensa). 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 *Hippocampus comes* (Perante *et al.* 2002) e *Hippocampus abdominalis* (Rosa *et al.* 2007).

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

La talla de diferenciación sexual, así como la talla del menor macho grávido encontrado en este trabajo, fueron menores que los reportados por (Silveira, 2005; Rosa *et al.* 2007; Osorio, 2008; Mai y Rosa, 2009; Mai y Gonzalo, 2012) es posible que estas diferencias estén relacionadas con el método de muestreo

utilizado en este estudio, teniendo en cuenta la distribución vertical que se reporta para esta especie y a un tamaño de muestra menor analizado por estos autores.

En general los machos de *H. reidi* fueron mayores que las hembras, en cuanto al largo total, resultados similares obtuvieron (Dias, 2002; Barros, 2005; Rosa *et al.* 2007; Osorio, 2008; Pastor y *col.*, en prensa), Bell *et al.* (2003), para la especie *H. capensis* y Anderson (2012), para la especie *H. erectus*. Según Foster y Vincent (2004) el dimorfismo sexual en cuanto al largo total es inusual en los caballitos de mar, aunque en algunos individuos las proporciones del cuerpo muestran dimorfismo sexual, donde el macho presenta la cola mayor que las hembras.

La especie *H. reidi* mostró un crecimiento alométrico negativo en cuanto al Largo total y el peso, resultados similares obtuvo Claro y *col.* (2001) para la especie *H. erectus* en la costa noreste de Cuba.

La cantidad de individuos grávidos encontrados fue baja y menor que lo registrado por (Silveira, 2005; Rosa *et al.* 2007). Como no aparecieron grávidos en todos los meses no se pudo determinar la época de reproducción, ni un pico reproductivo para la especie, a diferencia de otros autores que sí reportan actividad reproductiva en *H. reidi* durante todo el año (Silveira, 2005; Rosa *et al.* 2007; Freret-Meurer y Andreatta, 2008; Osorio, 2008; Mai y Rosa, 2009; Mai y Gonzálo, 2012).

Pastor y *col.* (2011) en las zonas de Las Cuarenta y El Casino encontraron un 28% de machos grávidos, que sólo aparecieron en los meses de junio y diciembre del 2004 y abril del 2005, por lo que no se pudo definir la época de reproducción, sin embargo en un estudio posterior durante el 2007-2010, (Pastor y *col.* prensa), encontraron al menos un individuo grávido en todos los meses de muestreo, como un indicador de que la especie se reproduce todo el año, aunque no pudo determinar un pico reproductivo, sí encontró que la mayor cantidad de machos grávidos aparecieron en los meses de Abril y Junio, coincidiendo con el final de la época de seca y principio de la época de lluvia.

En Brasil, Silveira (2005) encontró picos reproductivos para la especie *H. reidi* en los meses de junio y octubre; Rosa *et al.* (2007), en los meses de verano para el hemisferio sur (octubre a febrero), mientras que Mai y Gonzálo (2012), lo reportaron en mayo y noviembre, sugiriendo que las condiciones ambientales de cada sitio pueden influir en el período reproductivo de la especie.

Se encontró un alto por ciento de individuos solitarios (100%) con un valor superior al reportado por (Rosa *et al.* 2007; Mai y Rosa, 2009 y Pastor y *col.* en prensa),

esto puede estar relacionado a que dichos autores encontraron varias parejas y grupos entre 2 y 7 individuos que no se encontraron en este estudio.

Pastor y *col.* (2011), en un estudio previo en el año (2004/2005), en las estaciones de Las Cuarenta y El Casino, encontraron a todos los individuos de *H. reidi* solos, resultados similares reportaron (Martin-Smith y Vincent, 2005) para la especie *H. abdominalis*. Según Claro *et al.*; (2001) la especie *H. reidi* es más común encontrarla sola que formando grupos.

La densidad media encontrada en general para esta especie fue menor (0.0178 ± 0.0015 ind/m²), que la reportada por Dias y Rosa (2003); Rosa *et al.* (2007); Freret-Meurer y Andreatta (2008); Osorio, (2008); Mai y Rosa (2009) en diferentes zonas de Brasil; y (Pastor y *col.*, en prensa) en varias zonas de la costa norte de Cuba y mayor a la encontrada por Arcos-Pulido y Gómez-Prieto (2004) en Santa Marta, Colombia y Pastor y *col.* (2011) utilizando métodos de muestreo similares.

Los valores de densidad media total y por estaciones para *H. reidi* fueron bajos con valores que oscilaron entre 0.0075 ind/m² y 0.0318 ind/m², 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), que plantean que estas especies presentan bajas densidades que pueden estar entre 0.006 a 1.1 individuos/ m² de acuerdo a la especie.

En general, la especie *H. reidi* fue más abundante durante la época de lluvia que de seca, esto puede estar relacionado con una mayor disponibilidad de alimento producto del incremento de los nutrientes en esta época. Resultados similares reportaron (Pastor y *col.*, en prensa) durante el período 2007/2010.

Osorio, (2008) encontró el mayor número de individuos grávidos de *H. reidi* durante la época lluviosa en dos estuarios en Brasil, mientras que Teixeira y Musick (2001) encontraron que la especie *H. erectus* en la Bahía de Chesapeake, Virginia, es más abundante en una época que en otra, planteando que el incremento o disminución en la abundancia de los individuos, se debe a cambios estacionales.

El uso de estructuras artificiales como sustratos de anclaje o de apoyo se ha observado en algunas especies de *Hippocampus* (Foster y Vincent, 2004), y también se ha reportado para la especie *H. reidi* por (Dias y Rosa, 2003; Oliveira, 2007), lo que sugiere una relativa plasticidad de esta especie en relación a modificaciones antrópicas en los ecosistemas costeros, aunque los hace más vulnerables a la explotación (Mai y Rosa, 2009).

En este estudio las densidades más altas se obtuvieron en las estructuras artificiales (muelle de hormigón y de madera) de las estaciones de Barracuda y Caleta, que están dentro de un canal con salida al mar (0.0318 ± 0.0032 y 0.0125 ± 0.0041 ind/m²) con valores superiores al encontrado por (Pastor y col. 2011) en estructuras artificiales de El Casino, Santa Fe, (0.0037 ind/m²) en el período 2004/2005 y menor que lo reportado por (Pastor y col., en prensa), durante el período 2007/2010 en la misma zona de estudio (0.053 ind/m² y 0.042 ind/m²).

Las estaciones de Barracuda y Caleta están próximas a la Bahía de Cárdenas en la provincia de Matanzas, por lo que el constante aporte de nutrientes proveniente de ella y de los desagües de albañales activos que existen en el lugar, han provocado el desarrollo de abundantes especies de macroalgas, esponjas, bivalvos, poliquetos tubícolas, ascidias, briozoos, entre otros organismos que se encuentran asociados a las paredes y pilotes de los muelles y que brindan amplias oportunidades para el anclaje, alimentación y el camuflaje de los caballitos. Todo este complejo estructural existente también favorece los patrones de coloración de *H.reidi*, pues se encontraron individuos de color amarillos, naranjas, negros, pardos claros y oscuros a diferencia del resto de las estaciones, donde sólo aparecieron individuos de color pardo.

El valor de densidad media obtenida en la estación de Barracuda durante este estudio fue significativamente menor $U= 20617$ $p=0.000$ que la registrada durante el período 2007/2010 por (Pastor y col. en prensa) es posible que esta disminución se deba a: la introducción de un disturbio humano introducido desde enero del año 2013 hasta febrero del año 2014, donde se realizaron construcciones y vertimientos de desechos constructivos en la zona y al cambio de observadores para realizar los muestreos. A partir de marzo del 2014, comenzó una recuperación paulatina de la población, resultando el año 2015, el de mayor densidad poblacional durante los tres años de estudio.

La densidad encontrada en la estación de Las Cuarenta, fue menor a la obtenida por Pastor y col. (2011) entre los meses de abril del 2004 y abril del 2005 (0.010 ind/m²) y que la reportada por (Pastor y col. en prensa), durante el período 2007-2010, lo que indica una disminución de la cantidad de especímenes en el área, probablemente provocada por el incremento de pescadores furtivos utilizando redes de arrastre y al aumento de turistas con fines recreativos a esta zona, donde en algunos casos se han visto sacando los caballitos del medio (R. Díaz, 2013, com. pers., 9 de marzo). 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.

En el estuario del río de Santa Ana, la densidad encontrada (0,0075 ind/m²) fue menor que la obtenida por (Pastor y col. en prensa) en durante los años 2007-2010, (0,019 ind/m²) observándose durante el período de estudio, una disminución en la disponibilidad de hábitats que le servían de apoyo a los caballitos de mar, así como pescadores constantemente en el área de muestreo.

Esta densidad en Santa Ana, también fue menor que la registrada para los ríos: Maracaípe, Camurupin/Cardoso, y Timonha/Ubatuba (Silveira, 2005; Mai y Rosa, 2009) y que la encontrada por Días y Rosa (2003); en Río Grande y Osorio (2008) en los estuarios de los ríos de Pacoti y Malcozinhado, en Brasil.

Según los resultados de este estudio, las algas del género *Caulerpa* fueron los sustratos de mayor utilización por juveniles y adultos de la especie *H.reidi*, específicamente las especies *Caulerpa sertularioides* y *Caulerpa racemosa* resultados similares obtuvieron Dias y Rosa (2003), en un muelle de madera y una zona estuarina, en Río Grande, Brasil y (Pastor y col. en prensa) en la costa norte de Cuba. Sin embargo fueron diferentes a lo reportado por (Rosa et al. 2007; Osorio, 2008; Mai y Rosa, 2009; Ramineli y Silveira, 2013) donde las raíces de mangle blanco *Laguncularia racemosa*, de mangle rojo *Rhizophora mangle*, y el alga parda *Sargassum sp* fueron los más utilizados.

Rosa et al. (2007), encontraron que la disponibilidad de hábitats parece influir en la abundancia y distribución espacial de la especie *H. reidi*, sugerido por el uso de briozoos y macroalgas abundantes en las estaciones de la costa sur, mientras que las raíces de mangle lo fueron en las estaciones de la costa norte de Brasil. Resultados similares reportaron Curtis y Vincent (2005) para la especie *H. guttulatus*.

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

El balance de muestras colectadas en las diferentes localidades es desproporcionado hacia la localidad Varadero. Sin embargo, el total de muestras analizadas aquí, corresponden a tres años de colecta. En este sentido, el análisis de diferenciación no evidenció diferencias entre años, por lo que se puede considerar que la población no muestra variaciones significativas en la frecuencia de las diferentes variantes genéticas en el tiempo.

El resultado más interesante derivado del presente análisis es la distinción de dos poblaciones, geográficamente delimitadas al norte y el sur de la isla. Aunque algunos individuos de la Isla de la Juventud presentaron haplotipos compartidos con las localidades del norte, se encontraron haplotipos únicos en esta localidad,

no detectados en las localidades del norte. Esto sugiere que el archipiélago puede representar una barrera para la dispersión norte-sur de esta especie.

En el caso de la localidad Jardines de la Reina, el número de muestras es insuficiente para llegar a cualquier inferencia. Similar resultado se observa en la especie *Stegastes partitus* (Castellanos *et al.* inédito). Las características biológicas de la especie pueden constituir un factor determinante en la capacidad de dispersión. Los estimados de dispersión, mediante captura y recaptura de individuos, sugieren que sus desplazamientos se encuentran muy por debajo de los 50 km (Informe Final de Proyecto 2007-2010) y la estructura aquí observada refuerzan la idea de que se trata de una especie que tiene una capacidad de dispersión limitada. Esto se ha observado también para *H. erectus* en la región de la Florida y la costa Este de los Estados Unidos (Boehm *et al.* 2015).

Adicionalmente, la incubación parental de los huevos, hasta la liberación de los alevines, puede limitar la capacidad de dispersión en las primeras etapas de desarrollo de estas especies de peces. Esto concuerda con lo observado en la especie *Stegastes partitus*, que produce huevos bentónicos que son cuidados por los machos hasta su eclosión.

Los resultados hasta el momento disponibles, indican que existen poblaciones genéticamente diferenciadas en el archipiélago. La distinción de las poblaciones cubanas con respecto a las muestras de otras regiones del Caribe (Informe Final de Proyecto 2007-2010) y la estructura aquí observada refuerzan la idea de que se trata de una especie que tiene capacidades de dispersión relativamente limitadas tanto a nivel regional como en el propio archipiélago y por lo tanto puede ser vulnerable a la sobreexplotación.

CONCLUSIONES

- 1- La especie *H. reidi* presentó una densidad poblacional baja ($0,0178\text{ind}/\text{m}^2$) en comparación a lo registrado en años anteriores en el país, y a lo reportado por otros autores en Brasil.
- 2- En las estructuras artificiales de las estaciones de Barracuda y Caleta, se encontraron las mayores densidades de caballitos, posiblemente relacionado con el mayor número de hábitats existente.
- 3- La especie *H. reidi* se caracterizó morfométricamente en general y por sexo con cinco medidas corporales, tres del marsupio y la relación largo-peso para la zona de Varadero.

- 4- La talla media de diferenciación sexual y la talla media total encontrada para de *H.reidi* en este estudio fue menor que la reportada por otros autores en las costas de Brasil.
- 5- Los machos de *H. reidi* fueron mayores que las hembras.
- 6- Se infiere un comportamiento monógamo de la especie *H. reidi* debido a la proporción sexual encontrada, muy similar a la proporción 1:1.
- 7- Los juveniles y adultos de *H.reidi* utilizaron los mismos sustratos de apoyo, resultando las macroalgas del género *Caulerpa* las más importantes.
- 8- Las poblaciones de la especie *H. reidi* están estructuradas geográficamente en un arreglo norte-sur.
- 9- No se encontró la especie *H. erectus* en ninguna de las estaciones estudiadas donde anteriormente se había reportado su presencia.
- 10- El estado actual de las poblaciones de *H.reidi* en la costa norte de Cuba se puede catalogar como crítica. La escasa presencia de la especie, la disminución de su densidad poblacional en el transcurso del tiempo, su bajo potencial reproductivo, baja movilidad, alta fidelidad al sitio y su capacidad de dispersión relativamente limitada tanto a nivel regional como en el propio archipiélago, indican que esta especie puede ser muy vulnerable a la sobreexplotación.

RECOMENDACIONES

- 1- Reforzar las medidas para la protección y conservación de las poblaciones naturales de la especie *H. reidi* por parte de las autoridades competentes en el país, que eviten tanto: la destrucción de sus hábitats naturales, como la extracción del medio natural con fines ornamentales o de lucro.
- 2- Realizar proyectos de cultivo y repoblación de la especie *H.reidi* en las zonas más afectadas por disminución de sus poblaciones naturales.
- 3- Realizar muestreos en otros biotopos y a mayor profundidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, A. Paul (2012): Sexual Dimorphism in Morphometry and Allometry of the adult Lined Seahorse, *Hippocampus erectus* Published By: The American Society of Ichthyologists and Herpetologists. *Copeia*, (3):389-393. 2012.
- Arcos-Pulido, M. & Gómez-Prieto, C. (2004). Valoración de la población de *Hippocampus reidi* en la región de Santa Marta. Recuperado en diciembre 10, 2004, disponible en <http://www.sur.iucn.org/listaraja/documentos/Hippocampus>.
- Bandelt H-J, Forster P, Rohlf A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16:37–48.
- Barros, A. T. (2005). Taxonomia e análise da estrutura populacional comercializada de cavalos-marinhos (Syngnathidae: Teleostei: *Hippocampus*) no Brasil. Unpublished Dissertation, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 63p.
- Bell, E.M., Lockyear, J. F., McPherson, J. M., Marsden, A. D. & Vincent, A. C. J. (2003). First field studies of an Endangered South African seahorse, *Hippocampus capensis*. *Env. Biol. Fish.*, 67, 35-46.
- Boehm JT, Waldman J, Robinson JD, Hickerson MJ (2015) Population Genomics Reveals Seahorses (*Hippocampus erectus*) of the Western Mid-Atlantic Coast to Be Residents Rather than Vagrants. *PLoS ONE* 10(1): e0116219. doi:10.1371/ journal.pone.0116219.
- Bruckner, A.W., J. D. Field & N. Daves (editors). (2005). The Proceedings of the International Workshop on CITES Implementation for Seahorse Conservation and Trade. NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR-36, Silver Spring, MD 171 pp.
- Claro, R., Lindeman, K. C. & Parenti, L. R. (2001). *The Marine Ichthyofauna of Cuba*. En R. Claro, K. C. Lindeman & L. R. Parenty (eds.), *Ecology of The Marine Fishes of Cuba*. (pp. 21-32). Washington, D.C., EE.UU.: Smithsonian Institution.

- Cites. (2004). Convención Sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Recuperado en marzo 18, 2004 disponible en [www.cites.org /common/com/AC/20](http://www.cites.org/common/com/AC/20)
- Curtis, J., Moreau, M. A., Marsden, D. Bell, E., Martin-Smith, K., Samoily, M. & Vincent, A. (2004). *Underwater visual census for seahorse population assessments*. Vancouver, B.C., Canada. Project Seahorse, Fisheries Centre.
- Dias, T. L. P. (2002). Ecología poblacional de *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae) no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Unpublished Dissertation, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 77p.
- Dias, T. L. P. & Rosa, I. M. L. (2003). Habitat preferences of a seahorse species, *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil. *J. Ichthyology Aquat. Biol.*, 6, 165-176.
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11(12):2571-81.
- Foster, S. J. & Vincent, A. C. J. (2004). Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. *J. Fish. Biol.*, 65, 1-61.
- Freret-Meurer, N. V. & Andreatta, J. V. (2008). "Field Studies of a Brazilian Seahorse Population, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933." *Braz. Arch. Biol. Techn.*, 51(4), 743 -751.
- Froese, R. & Pauly, D. (2013). FishBase. Available from: <http://www.fishbase.org> (accessed 1 October 2013) Ginsburg, I. (1933) Description of five new species of seahorse. *Journal of the Washington Academy of Science*, 23 (12), 560–563.
- Gaceta Oficial de la República de Cuba (2011). Resolución No. 160/2011 sobre Regulaciones para el control y la protección de especies de especial significación para la diversidad biológica en Cuba. MINJUS. No 26.
- Guindon S, Gascuel O 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst. Biol.*, 52, 696–704.

- Hall TA (1999). "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT." *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Hunt, B. & Vincent, A.C.J. (2004). World Conservation Congress-UICN-: "The use of marine organisms in traditional and allopathic medicine", [en línea], disponible en:
<http://app.iucn.org/congress/documents/outputs/biodiversity-loss/use->
- Librado P, Rozas J (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451–1452.
- Lourie, S. A., Vincent, A. C. J. & Hall, H. J. (1999). *Seahorses: an identification guide to the world's species and their conservation*. London, UK.: Project Seahorse.
- Lourie, S. A. (2003^a). "Measuring Seahorses" [en línea], disponible en: www.projectseahorse.org Project Seahorse Technical Report No. 4, Version 1.0. Project Seahorses, Fisheries Centre, University of British Columbia. 15 pp.
- Lourie, S. A., Foster, S. J., Cooper, E. W. T. & Vincent, A. C. J. (2004). *A Guide to the Identification of Seahorses*. Washington, D.C. EE.UU.: University of British Columbia and World Wildlife Fund.
- Mai, A. C. G. & Rosa, I. M. L. (2009). Aspectos ecológicos do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* no estuário Camurupim/Cardoso, Piauí, Brasil, fornecendo subsídios para a criação de uma Área de Proteção Integral. *Biota Neotrop.* 9(3), 85-91.
- Mai. A.G. & V. Gonzalo (2012): Population dynamics and reproduction of wild longsnout seahorse *Hippocampus reidi*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2012, 92(2), 421–427.
- Martin-Smith, K. M. & Vincent, A. C. J (2005). Seahorse declines in the Derwent estuary, Tasmania in the absence of fishing pressure. *Biological Conservation*.
- Meeuwig, J. & Samoilys, M. (2003). "Guide to monitoring seahorse fisheries" [en línea], disponible en: www.projectseahorse.org. Project Seahorse Technical

Report No.1, Version 1.1. Project Seahorse, Fisheries Centre, University of British Columbia. 10 pp.

- Oliveira, T.P.R. (2007). Ecologia populacional de *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) em dois estuários do estado de Pernambuco, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, p. 69.
- Oliveira, V. & Freret-Meurer, N. (2012). Distribuição vertical do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 na região de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil. *Biotemas*, 25 (2), 59-66.
- Oliveira, T.P.R., Garcia, A. C; Silveira, R. B., Neves, C. H; Montes, M. A. (2013). Polimorfismo em 78 loci de seis cavalos-marinhos, *Hippocampus reidi*, Ginsburg 1933 (osteichthyes: syngnathidae) no estuário do rio maracaípe, Ipojuca, Pernambuco. XIII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX
- Osório, F. M. (2008). Estudo populacional do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae) em dois estuários cearenses. Universidade Federal do Ceará Instituto de Ciências do Mar Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais
- Pastor, L; Piloto, Y; Corrada, R. & Chevalier, P. (2011). Estudio de las poblaciones de caballitos de mar en dos zonas de la costa norte de la Habana y Pinar Del Río. *Rev. Mar. Cost.* vol. (3), 171-181.
- Pastor, L; Corrada, R; Piloto, Y; De la Nuez, D; Pérez, A (en prensa). Caracterización de las poblaciones de caballitos de mar en diferentes zonas de la costa norte de las regiones Occidental y Central, Cuba.
- Pauly, D. (1979): Gill size and temperature as governing factors in fish growth: a generalization of von Bertalanffy's growth formula. *Ber. Inst. Meereskunde (Kiel)*, 63: 156 pp.
- Perante, N. C., Pajaro, M. G., Meewig, J. J. & Vincent, A. C. J. (2002). "Biology of a seahorse species *Hippocampus comes* in the central Philippines". *J. Fish. Biol.*, 60, 821-837.

- Posada D (2008). JModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25, 1253–1256.
- Ramineli, S. M. (2012). Aqui não tem, não: uma pesquisa socioambiental para a conservação de cavalos-marinhos (Syngnathidae: Hippocampus) em Paraty/RJ. Dissertação de Mestrado em Ciência Ambiental. UFF. Niterói,.
- Ramineli, S. M & Silveira, R.B. (2013). A população de cavalos-marinhos (*Hippocampus reidi*) no costão rochoso da praia do cruzeiro, saco do Mamanguá, paraty/rj. XI Congresso de Ecologia do Brasil, Setembro 2013, Porto Seguro – BA
- Rosa, I. L.; Dias, T. L. & Baum, J. K. (2002). Threatened fishes of the world: *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Syngnathidae). *Environmental Biology of Fishes*, Dordrecht, v. 64, p. 378.
- Rosa, I. L., Oliveira, T. P. R., Castro, A. L. C., Moraes, L. E; Xavier, J. H. A., Nottingham, M. C., Dias, T. L. P., Bruto-Costa, L. V., Araújo, M. E; Birolo, A. B., Mai, A. C. G. & Monteiro-Neto C. (2007). Population characteristics, space use and habitat associations of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae), Sociedade Brasileira de Ictiologia. *Neotro. Ichthyology*, 5(3), 405-414.
- Schwarz G (1978). "Estimating the dimension of a model." *Annals of Statistics* 6(2): 461-464.
- Silveira R.B. (2005). Dinamica populacional do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* no manguezal de Maracáípe, Ipojuca, Pernambuco, Brasil. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul Faculdade, Porto Alegre, Brasil.
- Silveira, R.B. (2011). Registros de cavalos-marinhos (Syngnathidae: *Hippocampus*) ao longo da costa Brasileira. Laboratório de Aqüicultura Marinha (LABAQUAC)-Projeto Hippocampus. Rua da Esperança, 700, Porto de Galinhas, Ipojuca, PE. Brasil. *Oecologia Australis* 15(2): 316-325.
- Silveira, R.B; Ramirez, R. S; Silva. J. R. S. & Oliveira. C. (2014). Morphological and molecular evidence for the occurrence of three *Hippocampus* species (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil. *Zootaxa* 3861 (4): 317–332.

- Tajima F (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism," *Genetics* 123(3), 585–595.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- Teixeira, R. L. & Musick, J. A. (2001). Reproduction and food habits of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* (Teleostei: Syngnathidae) of Chesapeake Bay, Virginia. *J. Brazilian Biol.*, 61(1), 79-90.
- Teske PR, Cherry MI, Matthee CA (2003). Population genetics of the endangered Knysna seahorse, *Hippocampus capensis*. *Molecular Ecology*, 12(7): 1703–1715.
- UICN. (2009). "Red List of Threatened Species". Recuperado en noviembre 20, 2009 disponible en <http://www.iucnredlist.org/apps/redlist.html>.
- UNEP-WCMC CITES. (2006). CITES trade statistics derived from the *CITES TradeDatabase*, UNEP World Conservation Monitoring Centre, Cambridge, UK. Recuperado en marzo 15, 2006, disponible en <http://sea-bov.unep-wcmc.org/citestrade.html>
- Vari, R. P. (1982). Fishes of the Western North Atlantic, subfamily Hippocampinae. The seahorses. Marine Research Memoir, New Haven, vol. (1), 173-189.
- Vincent, A. (1995). Trade in seahorses for traditional Chinese medicines, aquarium fishes and curios. *Traffic Bulletin*. Vol. 15(3), 125-129.
- Vincent, A. C. J. (1996). *The International Trade in Seahorses*. Cambridge, London.: TRAFFIC International.
- Zar, J. H. (1996). *Biostatistical Analysis*. New Jersey, EE.UU.: Prentice Hall Inc.