



---

---

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**FILOGEOGRAFÍA DE LOS CORALES HERMATÍPICOS  
PAVONA GIGANTEA Y PORITES PANAMENSIS DEL PACÍFICO  
MEXICANO**

Tesis para obtener el título de:  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

Miguel Ángel Chávez González

DIRECTOR: Axayácatl Rocha Olivares

CO-DIRECTORA: Nancy Claudia Saavedra Sotelo

Noviembre/2019



## **DEDICATORIA**

*A mis padres*

*Miguel y Cristina*

*A mis abuelos*

*Miguel y Rosa*

*Roberto y Cristina*

*A mi hermana*

*Cristina*

*Al resto de mi familia y amigos que me apoyaron  
en el desarrollo y conclusión de este trabajo de tesis.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Doctor Axáyacatl Rocha y a la Doctora Nancy Saavedra por brindarme la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis en el CICESE y por guiarme de la mejor manera durante todo el proceso.

A Ivonne, Celia, Anita y a todos los miembros del Laboratorio de Ecología molecular del CICESE por brindarme su ayuda cada que yo la necesitaba.

A mi primo Pepe por ser prácticamente mi maestro e instruirme en todas las nociones de biología molecular, que yo desconocía hasta antes de esta tesis.

A CONACYT por otorgarme el apoyo financiero para Ayudantes de Investigador Nivel III o Emérito (CVU: 867840/ Exp: 15485).

A mi familia y amigos que siempre me apoyaron, especialmente a mis padres, abuelos y hermana.

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>9</b>
1.1. Los arrecifes de coral y su importancia ecológica .....	9
1.2. La filogeografía y sus aplicaciones en la conservación.....	10
1.3. Ecología molecular de corales hermatípicos.....	11
1.4. Biología general de las especies de estudio .....	13
1.4.1.1. <i>Pavona gigantea</i> .....	13
1.4.1.2. <i>Porites panamensis</i> .....	14
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>16</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>22</b>
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>23</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>24</b>
5.1. General .....	24
5.2. Particulares .....	24
<b>6. METODOLOGÍA.....</b>	<b>25</b>
6.1. Área de estudio .....	25
6.2. Trabajo de campo .....	26
6.3. Trabajo de laboratorio .....	27
6.3.1.1. Extracción de ADN.....	27
6.3.1.2. Amplificación de loci mitocondriales .....	27
6.4. Análisis de datos .....	30
6.4.1.1. Edición y alineamiento de secuencias .....	30
6.4.1.2. Estimación de diversidad genética. ....	30
6.4.1.3. Estructura genética. ....	31
6.4.1.4. Relaciones filogenéticas entre haplotipos.....	31
<b>7. RESULTADOS .....</b>	<b>32</b>
7.1. Amplificación de genes mitocondriales. ....	32
7.2. Edición y alineamiento de secuencias. ....	33
7.3. Estimación de diversidad genética.....	34
7.4. Estructura genética .....	38
7.5. Relaciones filogeográficas entre haplotipos.....	39
<b>8. DISCUSIÓN .....</b>	<b>44</b>

8.1. Diversidad genética mitocondrial en corales hermatípicos.....	44
8.2. Moderada estructura genética mitocondrial en <i>Porites panamensis</i> del Pacífico mexicano. ....	46
8.3. Filogeografía mitocondrial de <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano.....	48
<b>9. CONCLUSION .....</b>	<b>51</b>
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>52</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localidades de muestreo de <i>Pavona gigantea</i> . Cabo Pulmo (CP), La Paz (LP), Islas Marías (IMA), Islas Marietas (IM), Islas Revillagigedo (IR) Carrizales (CO), Ixtapa(IX) y Bahías de Huatulco (OX).....	25
Figura 2. Localidades de muestreo de <i>Porites pamamensis</i> . Bahía de Los Ángeles (BA), Bahía Concepción-Loreto (BCLO), Cabo Pulmo (CP), Mazatlán (MZ), Islas Marías (IMA), Islas Marietas (IM), Carrizalez y Playa la Boquita (CO), Bahías de Huatulco (OX). ....	26
Figura 3. Gráficas circulares de las frecuencia de haplotipos de ND1 y COI en <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano. Los haplotipos compartidos están identificados por color mientras que los privados se encuentran en blanco. ....	36
Figura 4. Árbol filogenético Neighbor joining utilizando haplotipos del ND1 en <i>Porites panamensis</i> , los distintos linajes fueron resaltados en colores y letras para ser identificados en el mapa. Valores de Bootstrap en los nodos. ....	40
Figura 5. Árbol filogenético Maximum likelihood utilizando haplotipos del ND1 en <i>Porites panamensis</i> , los distintos linajes fueron resaltados en colores y letras para ser identificados en el mapa. Valores de Bootstrap en los nodos. ....	41
Figura 6. Árboles filogenéticos Neighbor joining y Maximum likelihood utilizando haplotipos del COI en <i>Porites panamensis</i> , los distintos linajes fueron resaltados en colores y letras para ser identificados en los mapas. Valores de Bootstrap en los nodos.....	42
Figura 7. Red de haplotipos del ND1 de <i>P. panamensis</i> en el Pacífico mexicano. ....	43

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro1. Lista de cebadores utilizados para <i>Porites panamensis</i> . Tomados de Paz-García et al. 2016.....	29
Cuadro2. Número de secuencias de buena calidad obtenidas para cada gen de <i>Porites panamensis</i> por localidad.....	33
Cuadro3. Estadísticas de los loci amplificados para <i>Porites panamensis</i> . ....	34
Cuadro4. Frecuencias absolutas de los haplotipos de COI por localidad en <i>Porites panamensis</i> . ....	34
Cuadro5. Frecuencias absolutas de los haplotipos de ND1 por localidad en <i>Porites panamensis</i> . ....	35
Cuadro6. Valores de diversidad genética. Número de haplotipos ( $N$ ), índice de diversidad haplotípica ( $h$ ) e índice de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) por localidad para cada locus de <i>Porites panamensis</i> . ....	37
Cuadro7. AMOVA global utilizando secuencias del ND1 de <i>Porites panamensis</i> . ....	38
Cuadro8. Valores pareados de $\Phi_{ST}$ . Los valores en negritas fueron significativos posterior a la corrección secuencial de Bonferroni.....	39

## RESUMEN

La filogeografía es la disciplina que se encarga de estudiar los procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes genealógicos, es decir que estudia los procesos históricos (geológicos, climáticos y ecológicos) que dieron lugar a las distribuciones actuales de los taxa y de sus linajes intra-específicos. Los corales hermatípicos son los organismos ingenieros de los ecosistemas arrecifales debido a que son los principales constructores de la matriz arrecifal, proporcionando hábitat a muchas especies marinas. La distribución de estos organismos en las costas depende del transporte de larvas a través de las corrientes marinas. Los estudios filogeográficos permiten determinar los patrones de distribución de acuerdo su variación genética. El Pacífico Mexicano (PM) cuenta con formaciones de comunidades coralinas que sobreviven a condiciones ambientales extremas, ya que las oscilaciones de la temperatura son amplias aunado la presencia de un hábitat fragmentado por playas arenosas y estuarios. Las especies de corales presentes en el PM varían en formas y estrategias reproductivas, las cuales son clave para su sobrevivencia en dichos ambientes. Debido a lo anterior, la distribución geográfica de los linajes de cada especie será concordante con las barreras geográficas y hábitats discontinuos que existen a lo largo del PM; aunado a esto, el grado de diferenciación genética poblacional será concordante con las estrategias reproductivas que presenta cada especie de coral. Por lo que el objetivo del presente estudio fue realizar un análisis filogeográfico de dos especies constructoras de arrecifes, *Pavona gigantea* y *Porites panamensis*, utilizando marcadores mitocondriales (un intrón del gen *COI* para *P. gigantea*, y los genes ND1 y *COI* para *P. panamensis*) en 8 localidades del PM. En *P. gigantea* se encontró nulo polimorfismo en el locus *COI*, por lo que no fue posible evaluar su diversidad y estructura genética. Por el contrario, *P. panamensis* mostró una moderada estructura genética ( $\Phi_{STND1} = 0.109$ ,  $p = >0.001$ ) donde los corales de Mazatlán y Colima fueron los más diferenciados. La reconstrucción filogenética de los linajes de *P. panamensis* no mostró ningún patrón de correspondencia geográfica observable, aunque la presencia de los haplotipos ancestrales en las zonas insulares de Islas Marías e Islas Marietas concuerda con la hipótesis de dispersión histórica, la cual plantea una ruta de colonización desde el Indo-Pacífico y Pacífico Medio hacía el Pacífico Oriental mexicano utilizando estas zonas insulares como primeros puntos de colonización.

Si bien no se encontraron patrones filogeográficos claros, los resultados encontrados si son correspondientes con las hipótesis de dispersión planteadas para corales del PM, aunque deben tomarse en consideración que las limitantes del presente estudio (p.ej., diferencias en el tamaño de muestra entre localidades, calidad del ADN) pudieron verse reflejadas en los resultados, por lo que son necesarios más estudios de este tipo en la zona del PM para esclarecer los patrones filogeográficos de los corales hermatípicos.

**Palabras clave:** linaje genético, estructura genética, diversidad genética

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Los arrecifes de coral y su importancia ecológica

Los corales hermatípicos son organismos que forman arrecifes de coral debido a sus estructuras de carbonato de calcio; estas estructuras duras son secretadas por una colonia de pólipos que mantienen una relación simbiótica con dinoflagelados fotosintéticos del género *Symbiodinium*, llamadas comúnmente “zooxantelas”. Esta asociación simbiótica permite a los corales obtener nutrientes resultantes de la actividad fotosintética de estos protistas, mientras que los dinoflagelados de igual forma obtienen nutrientes de los desechos nitrogenados de estos cnidarios, así como un sitio donde refugiarse en la mesoglea de los pólipos de corales. Debido a esta simbiosis, los corales constructores de arrecifes se ven restringidos a habitar en la zona fótica y dentro de un rango de temperatura de 22 y 28°C, particularmente en aguas claras oligotróficas (Jones *et al.*, 2008). El rango de profundidad en el que habitan los corales es desde 1m hasta los 100m, siempre y cuando las condiciones de luz y oxígeno sean adecuadas (Glynn y Wellington, 1983).

Las estructuras calcáreas de los corales hermatípicos proporcionan el sustrato para uno de los ecosistemas con mayor diversidad en el planeta, ya que proveen refugio y alimento a organismos de casi todos los grupos (peces óseos y cartilaginosos, cnidarios, equinodermos, moluscos, crustáceos, etc.) por lo que resulta relevante contar con estrategias de conservación adecuadas para evitar la disminución de sus poblaciones y por lo tanto de estos ecosistemas (Knowlton, 2001).

Los arrecifes de coral son un ecosistema frágil debido a las condiciones específicas que requieren para vivir, por lo que dicho ecosistema puede ser afectado tanto por

procesos naturales como antropogénicos. Entre las causas naturales se encuentran los huracanes y tormentas tropicales, cuya duración y magnitud daña severamente los arrecifes, destruyéndolos o cubriéndolos de sedimentos acarreados de las zonas costeras (Hughes y Connell, 1999). Otros procesos que los afectan son las oscilaciones climáticas, como el fenómeno de El Niño (ENSO), este fenómeno climático provoca el aumento de la temperatura en aguas del Pacífico oriental desde las costas de Perú y el norte de Chile hasta el Golfo de California (GC), provocando blanqueamientos masivos de corales hermatípicos (Carriquiry et al. 2001; Reyes-Bonilla *et al.* 2002; Jiménez-Centeno et al. 2001). Por otra parte, las principales amenazas de origen antropogénico incluyen la extracción directa de corales para ornato, la contaminación de zonas costeras, que puede provocar la interferencia en procesos como la señalización química requerida para la sincronización reproductiva, metamorfosis y asentamiento de larvas. Por último, la tala de árboles tierra adentro provoca arrastre de sedimentos hasta zonas costeras generando turbidez en la columna de agua, minimizando la cantidad de luz que penetra y afectando por consecuencia la relación simbiótica alga-coral (Folke et al., 2000).

## **1.2. La filogeografía y sus aplicaciones en la conservación**

La filogeografía es la disciplina que se encarga de estudiar los procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes genealógicos (Avice, 2000), es decir que estudia los procesos históricos (geológicos, climáticos y ecológicos) que dieron lugar a las distribuciones actuales de los taxa y de sus linajes intra-específicos. Estos estudios han sido usados para describir eventos históricos, como la fragmentación de hábitats, expansiones en rangos de distribución de especies y poblaciones, eventos de migración,

vicarianza o extinción de linajes génicos (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

Los estudios filogeográficos son realizados utilizando el análisis de secuencias de ADN; las variantes en los loci del ADN conocidas como “haplotipos”, revelan eventos mutacionales relacionados con procesos demográficos y/o de selección natural. Las relaciones de ancestría y descendencia entre dichas secuencias se representan filogenéticamente mediante un árbol de genes o filograma (Avice, 2000; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

Los estudios filogeográficos pueden aplicarse también en la conservación, tanto a nivel de especie como en poblaciones dentro de una misma especie. La conservación a nivel intraespecífico consiste en identificar de manera precisa las “Unidades Evolutivamente Significativas” o “ESU” por sus siglas en inglés. Dichas unidades son linajes de genes que son utilizados para identificar las poblaciones de una especie que requieren esfuerzos de conservación. Con este conocimiento, se pueden crear programas de conservación adecuados dirigidos a poblaciones en riesgo o en peligro de extinción (Pertoldi, Bijlsma y Loeschcke, 2007; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

### **1.3. Ecología molecular de corales hermatípicos**

Los marcadores moleculares son herramientas de gran utilidad en trabajos de ecología sobre cnidarios, ya que con estos es posible evaluar procesos como flujo génico, estructura poblacional, diversidad genética, entre otros (Van Oppen y Gates, 2006). Estos patrones nos permiten mejorar los esfuerzos de conservación y entender mejor la adaptación de las especies al ambiente (Van Oppen y Gates, 2006).

Estudios previos de ecología molecular en corales hermatípicos han evaluado patrones poblacionales utilizando regiones del genoma mitocondrial como el gen que codifica la *Citocromo C oxidasa subunidad 1* (COI1) y la región espaciadora entre los genes NAD3 y NAD5, así como algunas regiones del ADN nuclear como son las regiones ITS (Internal Transcribed Spacer) de los genes ribosomales (Saavedra-Sotelo, 2007,2011,2013; Blancas-López, 2009). Sin embargo, se han encontrado bajos niveles de polimorfismo en el genoma mitocondrial de organismos diploblásticos (como cnidarios y ctenóforos) (Shearer et al., 2002; Saavedra-Sotelo et al., 2011; León-Pech et al., 2015), ya que éste presenta una evolución hasta cien veces más lenta que el resto de los metazoarios (Hellberg, 2006). Por lo tanto, ha sido poco útiles para estudios de diversidad genética intraespecífica. A pesar de la utilización amplia de las regiones ITS del ADN ribosomal, diversos autores han identificado problemas en la interpretación de patrones filogenéticos debido a la característica de hiper-variabilidad que muestran las regiones en algunas especies, así como su variabilidad intragenómica la cual involucra la presencia de más de un haplotipo por organismo (Forsman, 2003). Por esta razón, se considera importante la exploración genómica de estas especies, ya que de esta forma se pueden encontrar nuevas regiones variables que serán de utilidad y relevancia para futuros estudios de ecología molecular.

## 1.4. Biología general de las especies de estudio

### 1.4.1.1. *Pavona gigantea*

Clasificación taxonómica:

**Phylum:** Cnidaria

**Clase:** Anthozoa

**Orden:** Scleractinia

**Familia:** Agariciidae

**Género:** *Pavona*

**Especie:** *Pavona gigantea* (Verrill, 1869)

*Pavona gigantea* es una especie que se distribuye en el Pacífico oriental desde el Golfo de California hasta la costa norte de Perú y en archipiélagos como Islas Marías, Islas Marietas y Atolón Clipperton (Glynn et al. 1996; Glynn y Ault 2000; Veron 2000). Tiene como hábitat sustratos rocosos en profundidades de 1 a 30 metros en aguas tropicales costeras (Veron, 2000). Su reproducción es principalmente sexual alternando periódicamente al gonocorismo y hermafroditismo, aunque en las colonias predominan los individuos dioicos. La reproducción sexual es externa mediante la expulsión de gametos a la columna de agua durante las estaciones con el fotoperiodo más prolongado (primavera y verano). Una vez fertilizados los gametos, las larvas se asientan posteriormente en un sustrato duro (Veron 2000; Glynn et al.1996).

#### 1.4.1.2. *Porites panamensis*

Clasificación taxonómica:

**Phylum:** Cnidaria

**Clase:** Anthozoa

**Orden:** Scleractinia

**Familia:** Poritidae

**Género:** *Porites*

**Especie:** *Porites panamensis* (Verrill, 1866)

*Porites panamensis* es una especie endémica del Pacífico oriental, cuya distribución se extiende desde las costas de Ecuador, hasta la parte más boreal del GC, también se encuentra en archipiélagos como Islas Marías, Islas Revillagigedo e Islas Galápagos (Reyes-Bonilla y López-Pérez 1998; Veron 2000). Se encuentra comúnmente sobre sustratos rocosos en profundidades que van desde 0 a 20 metros y presenta un crecimiento anual de 0.4-1.0 mm (Reyes-bonilla *et al.* 2007; Cabrera-Tena *et al.* 2013). Esta especie se caracteriza por formar colonias incrustantes y/o masivas, con reproducción sexual y fecundación interna, generando larvas bien desarrolladas que se asientan cerca de las colonias parentales limitando su potencial de dispersión (Paz-García *et al.* 2008). En *P. panamensis* no se ha reportado estacionalidad en sus procesos reproductivos, ya que esta especie libera plánulas bien desarrolladas la mayor parte del año (Glynn *et al.* 1994). Esta es una de las pocas especies que soporta temperaturas por debajo del promedio de la mayoría de los corales hermatípicos (frías), lo cual le permite

distribuirse hasta el norte del GC en donde es más abundante ( Reyes-Bonilla y López-Pérez 1998; Glynn y Ault 2000).

Estas diferencias en las estrategias reproductivas pueden tener consecuencias en la distribución geográfica de los linajes génicos debido al potencial de dispersión que pueden presentar y las preferencias de hábitat. Las especies con una fecundación interna, como es el caso de *P. panamensis*, suelen tener menor potencial de dispersión ya que la larva lecitotrófica que producen dura menos tiempo en la columna de agua y por lo tanto se asientan más cerca de la colonia parental. Por otro lado, especies con una reproducción sexual externa como *P. gigantea* tienen mayor potencial de dispersión ya que los gametos son expulsados directamente a la columna de agua en donde se realiza la fertilización y desarrollo de las larvas planctotróficas (Carlson, 1999).

## 2. ANTECEDENTES

Las comunidades coralinas del Pacífico oriental se encuentran aisladas de las del Indo-Pacífico debido a la “Barrera del Pacífico oriental” (Glynn y Ault, 2000). En particular en la costa del Pacífico Mexicano (PM) se han evaluado diversos factores que influyen en la distribución de las especies de corales y sus poblaciones, dichos factores son: la plasticidad en las estrategias de reproducción de las especies, el transporte y dispersión de larvas en la columna de agua, la dinámica de las corrientes oceánicas, las oscilaciones decadales, y las características fisiográficas de la zona costera. Todos estos factores han moldeado la distribución de las especies coralinas y los patrones de dispersión poblacional en la región (Bonilla, 1992; Ketchum y Reyes-Bonilla, 1997; Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Glynn y Ault, 2000; Saavedra-Sotelo, 2007, 2011, 2013a).

Un análisis biogeográfico de las especies coralinas del Pacífico oriental, que incluyó la presencia y abundancia relativa de 41 especies en 14 localidades, derivó en una hipótesis biogeográfica en la que el origen de los corales del Pacífico Oriental fue por dispersión y colonización de corales provenientes del Indo-Pacífico y del Pacífico medio. Esta colonización involucró franquear la “Barrera del Pacífico oriental” tomando como primer eslabón de dispersión el atolón Clipperton y al archipiélago de Islas Revillagigedo (Glynn y Ault 2000). Una hipótesis alternativa es la diversificación por vicarianza, la cual establece que los corales constructores de arrecifes del Pacífico Oriental son descendientes de la fauna coralina del Caribe que vivió durante el Neógeno. Desde esa perspectiva, la fauna coralina moderna del Pacífico Oriental se consideraría como un relictos de la fauna coralina del Caribe después del cierre del istmo de Panamá hace unos 3 millones de años aproximadamente (McCoy y Heck, 1976).

En el PM existen diversos estudios sobre biogeografía de corales hermatípicos, uno de los cuales reporta 23 especies pertenecientes a 6 géneros, siendo la mayor cantidad reportada para esta área. Este listado muestra nuevas especies colonizadoras del Indo-Pacífico en las localidades de Islas Revillagigedo y Oaxaca, siendo estas localidades las dos vías principales de entrada para especies que proceden de otras regiones geográficas (Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Glynn y Ault 2000). Las características fisiográficas de la costa del PM han moldeado el ensamble de comunidades coralinas. La zona costera se caracteriza por una heterogeneidad de hábitats, entre los cuales las costas rocosas son ideales para la proliferación de corales. Sin embargo, las playas arenosas, sistemas de lagunas costeras, manglares y desembocaduras de ríos de la costa son regiones inadecuadas para el asentamiento, supervivencia y desarrollo de especies coralinas. En consecuencia, existe discontinuidad en el hábitat coralino dada por la estructura fisiográfica costera del Pacífico oriental tropical (Glynn y Ault, 2000; Saavedra-Sotelo, 2013).

Estudios biogeográficos a escalas locales muestran que la diversidad de especies puede estar siendo subestimada en el PM. En las Islas Marías se revisó el elenco de especies presentes, donde se identificaron 20 especies ,8 especies más que en el último registro en 1997 (Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998). Además de realizar un análisis biogeográfico en donde se concluyó que la entrada al GC representa una región clave para la inmigración de especies del Pacífico Occidental. Del mismo modo, las Islas Marías juegan un papel importante para la dispersión de especies coralinas hacia el norte (Pérez-Vivar et al., 2006).

Estudios intraespecíficos sobre genética poblacional de corales hermatípicos en el Pacífico oriental indican diversos patrones biogeográficos y demográficos en algunas especies. En corales del género *Pocillopora* se evaluó la posible hibridación entre poblaciones de *Pocillopora damicornis* a lo largo del océano Pacífico (Panamá, Clipperton, Hawaii, Japón y Taiwán) y otras cuatro especies del género utilizando la región ITS del ADN nuclear como marcador; dos de las especies con las que se encontró evidencia de hibridación se distribuyen ampliamente en el Pacífico (*Porites eydouxi* y *Pocillopora elegans*) y dos más son endémicas del Pacífico Oriental Tropical (*Pocillopora inflata* y *Pocillopora effusus*). Los resultados indicaron hibridación periférica entre *P. damicornis* y sus congéneres, ya que de los 3 haplotipos del gen ITS encontrados, en uno estuvo presente en las 4 especies antes mencionadas. Además se encontró que las poblaciones de *P. damicornis* del Pacífico medio y Occidental están notoriamente diferenciadas, por lo que hay una restricción en el flujo de genes hacia el Pacífico oriental tropical (Combosch *et al.*, 2008).

Un primer registro sobre filogeografía en el Pacífico oriental mostró diferencias genéticas y morfológicas entre poblaciones aisladas de *Porites lobata* en Panamá, Islas Galápagos, Isla de Pascua, Fiji, Rarotonga y Australia. En el estudio se utilizó como marcador molecular la región ITS del ADN nuclear, con el cual infirieron que la población más diferenciada fue la ubicada en la Isla de Pascua, la localidad más distante. Estos resultados se correlacionan con los patrones de corrientes oceánicas superficiales, las cuales parecen tener un efecto de barrera a la dispersión larval y por lo tanto restringe el flujo de genes entre localidades (Forsman, 2003).

Los primeros estudios de genética poblacional en la costa del PM fueron en *Pavona gigantea*, en esta especie se ha registrado un patrón marcado de estructura genética, es decir, que presentan escaso flujo génico entre poblaciones (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2011). Esta baja conectividad se puede deber a que la especie se distribuye en dos ecorregiones marinas diferentes (GC y PM) y la estructura en la fisiografía de la costa antes mencionada. Además, se observó que las localidades con mayor número de haplotipos compartidos fueron Islas Marías e Islas Marietas, localidades que se encuentran en la zona de transición entre dichas ecorregiones (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2011); este patrón concuerda con una hipótesis previa en donde las Islas Marías fungen como una zona de transición que impide la dispersión de larvas hacia el norte del PM (Pérez-Vivar *et al.* 2006).

Otra especie de coral abundante en el PM, *Pocillopora verrucosa*, mostró ausencia de estructura genética por lo que se considera una población panmíctica. En *P. verrucosa* se hizo una aproximación filogeográfica en donde se utilizaron tanto marcadores ribosomales (ITS2) como mitocondriales (intrón NAD5) para detectar patrones genético-poblacionales. Los resultados mostraron que no hubo un patrón entre la filogenia de los haplotipos y su ubicación geográfica. Además, se evaluaron otros aspectos que resultan de utilidad para explicar la actual distribución de la especie, como el flujo larvario y las rutas de dispersión de estas de acuerdo con los patrones de circulación oceanográfica. Se encontró una concordancia entre los patrones de flujo génico de *P. verrucosa* y la hidrodinámica del PM, resultando en un flujo de genes que va en dirección Sur-Norte, proveniente desde Oaxaca y por la posible acción de la Corriente de Costa Rica y corriente del Este de México hacia la entrada del GC (Blancas-López, 2009).

*Pocillopora damicornis* y *Porites panamensis*, dos especies abundantes del PM y GC mostraron una estructura genética, utilizando 4 sistemas aloenzimáticos. A pesar de tener distintas estrategias reproductivas (*P. damicornis* fecundación externa y *P. panamensis* fecundación interna), los patrones de conectividad encontrados fueron muy similares para ambas especies. El flujo de genes entre la entrada del GC y la zona costera de Nayarit fue de moderado a alto, posiblemente favorecido por los patrones de circulación estacional de la región y por la reproducción sexual. En contraste, se observó un bajo flujo de genes entre las poblaciones del sur (Oaxaca) y el resto de la costa de México. Esto puede deberse a la discontinuidad de hábitats ya que la línea costera entre Nayarit y Oaxaca predominan las playas arenosas y los sistemas de lagunas costeras (Paz-García et al. 2012). Aunado a este estudio, un registro posterior para *P. panamensis* mostró una clara estructura genética nuclear entre el GC y las localidades ubicadas en los márgenes continentales del PM, esto fue concordante con los patrones de abundancia y probabilidad de ocurrencia de la especie a lo largo de la región (Saavedra-Sotelo et al. 2013).

Un análisis filogeográfico comparativo de tres especies de corales hermatípicos del PM (*P. panamensis*, *P. gigantea* y *P. verrucosa*) resultó en dos patrones diferentes entre las tres especies (Saavedra-Sotelo, 2013). Los haplotipos de *P. panamensis* y *P. verrucosa* mostraron un patrón similar, en donde los haplotipos ancestrales se ubicaron en el GC. Este patrón concuerda con la hipótesis biogeográfica sobre el Golfo como un refugio para la fauna marina durante las extinciones causadas por las glaciaciones del Pleistoceno y que a partir del GC se recolonizaron las regiones sureñas en el Holoceno (Reyes-Bonilla, 1992). Mientras que la reconstrucción filogenética de *P. gigantea* mostró

que los haplotipos ancestrales se encuentran en las zonas insulares frente a Nayarit, por lo que se plantean diversas hipótesis: 1) *P. gigantea*, es la especie con el registro fósil más reciente de las tres mencionadas (Pleistoceno temprano), evolucionó a partir de alguna de las especies recolonizadoras provenientes del GC (Saavedra-Sotelo, 2013); o 2) su origen es del Indo-Pacífico, un posible ancestro colonizó esta región a través de las islas del Pacífico medio (Glynn y Ault, 2000).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Los ecosistemas arrecifales se caracterizan por ser frágiles y susceptibles a perturbaciones, por lo que su biodiversidad puede estar en riesgo ante cambios ambientales y antropogénicos. Debido a esto, estudios filogeográficos en especies de corales hermatípicos resultan útiles y aplicables para la conservación de estos ecosistemas (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

Si bien hay un gran número de estudios sobre filogeografía de corales en zonas como el Indo-Pacífico, Pacífico Occidental y el Océano Atlántico, los esfuerzos de investigación en el PM han sido escasos (Saavedra-Sotelo, 2007, 2013; Saavedra-Sotelo, et al. 2011, 2013; Paz-García, et al. 2012; Blancas-López, 2009), los cuales han aportado información relevante al tema pero también han dejado incógnitas respecto a los patrones fitogeográficos encontrados.

Dado que la mayoría de los trabajos sobre filogeografía de corales en el PM han utilizado genes ribosomales (p.ej. región ITS) como marcadores moleculares, los cuales tiene la desventaja de presentar variación genética intra-individual (un individuo puede tener más de un haplotipo) dando como resultado topologías complejas (Wei et al., 2006; Forsman et al., 2009; Saavedra-Sotelo, 2013); el presente estudio tiene como objetivo evaluar la filogeografía de *P. panamensis* y *P. gigantea* utilizando marcadores mitocondriales (intrón entre los loci COI y 1Rna, ND1 y COI). Los resultados de esta investigación serán de utilidad para la mejor comprensión de la actual distribución de los corales hermatípicos en aguas mexicanas y también sienta un precedente para futuros estudios.

#### 4. HIPÓTESIS

1. Dada la discontinuidad del hábitat coralino a lo largo del Pacífico tropical mexicano causada por la presencia de costas arenosas, lagunas costeras y desembocaduras de ríos que pueden actuar como barreras a la dispersión, se espera encontrar una distribución geográfica de linajes génicos concordante con dichas barreras en *P. gigantea* y *P. panamensis*.
2. Dada la distancia geográfica que abarca el PM (~ 7,828 km), se espera que los corales de las localidades sureñas (costa de Guerrero y Oaxaca) se encuentren aislados reproductivamente y diferenciados genéticamente de localidades norteñas (dentro del GC) y zonas insulares (Islas Marietas, Marías y archipiélago Revillagigedo), como resultado del aislamiento geográfico.
3. Dado que *P. gigantea* y *P. panamensis* son especies simpátricas, se espera un patrón de estructura genética similar para ambas; sin embargo, debido a la diferencia en sus estrategias reproductivas y tipo de fase larvaria (lecitotrófica vs. planctotrófica), se espera además que el grado de diferenciación genética será mayor en *P. panamensis* que en *P. gigantea*.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. General

- Evaluar los patrones filogeográficos de *Pavona gigantea* y *Porites panamensis* en el Pacífico Mexicano (PM).

### 5.2. Particulares

- Valorar los niveles de diversidad genética de ambas especies en el PM.
- Calcular el grado de diferenciación genética entre localidades de cada especie.
- Evaluar la topología de las filogenias génicas para cada especie en el PM.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1. Área de estudio

La línea costera del PM comprende unos 7,828 kilómetros que van desde Baja California hasta Chiapas (INEGI, 2003). A lo largo de esta línea costera existe una dinámica de corrientes y temperaturas que hacen que los ecosistemas varíen dependiendo de la latitud a la que se encuentren. Las especies de corales del presente estudio se distribuyen ampliamente a lo largo del PM, principalmente en latitudes tropicales y subtropicales. Las localidades que se analizaron en este estudio fueron:

Para *P. gigantea* (Figura 1):

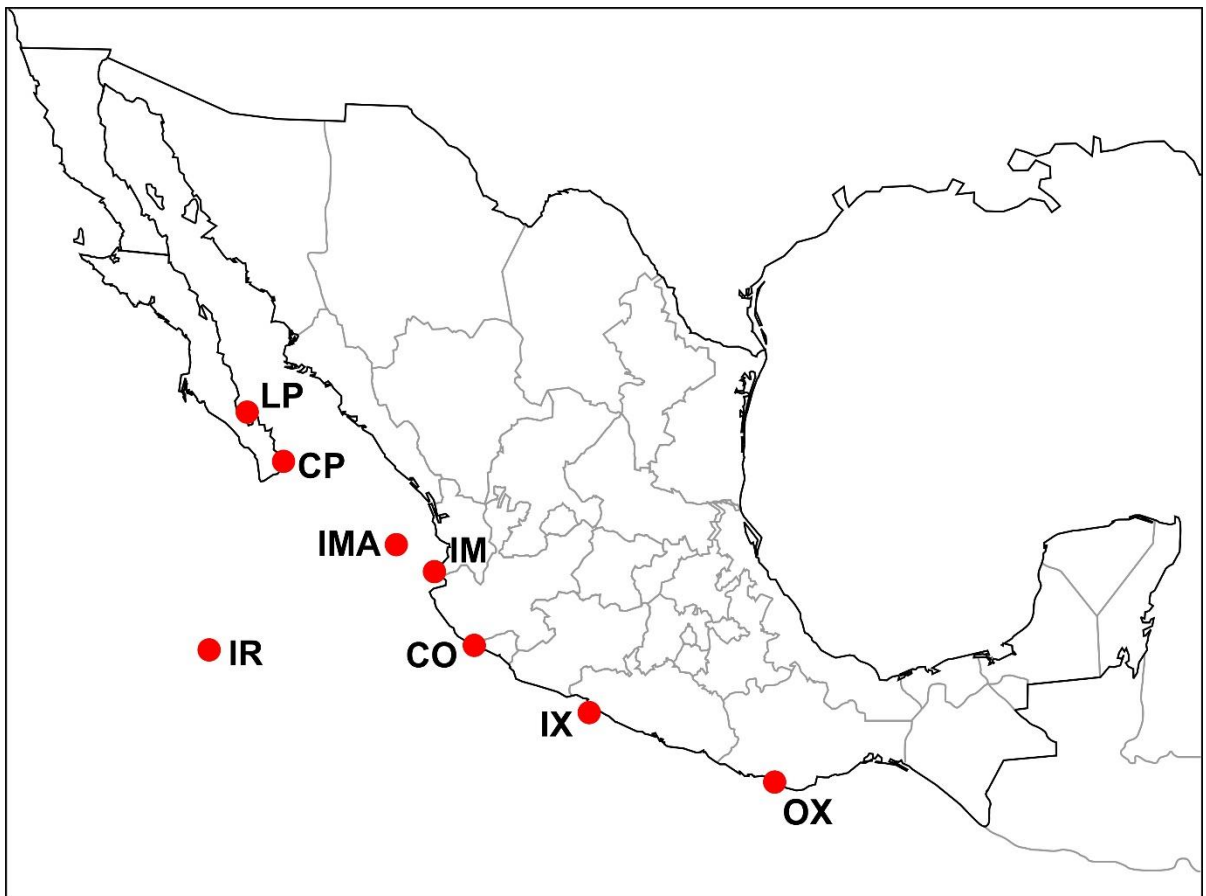


Figura 1. Localidades de muestreo de *Pavona gigantea*. Cabo Pulmo (CP), La Paz (LP), Islas Mariás (IMA), Islas Marietas (IM), Islas Revillagigedo (IR) Carrizales (CO), Ixtapa (IX) y Bahías de Huatulco (OX).

Para *Porites panamensis* (Figura 2):

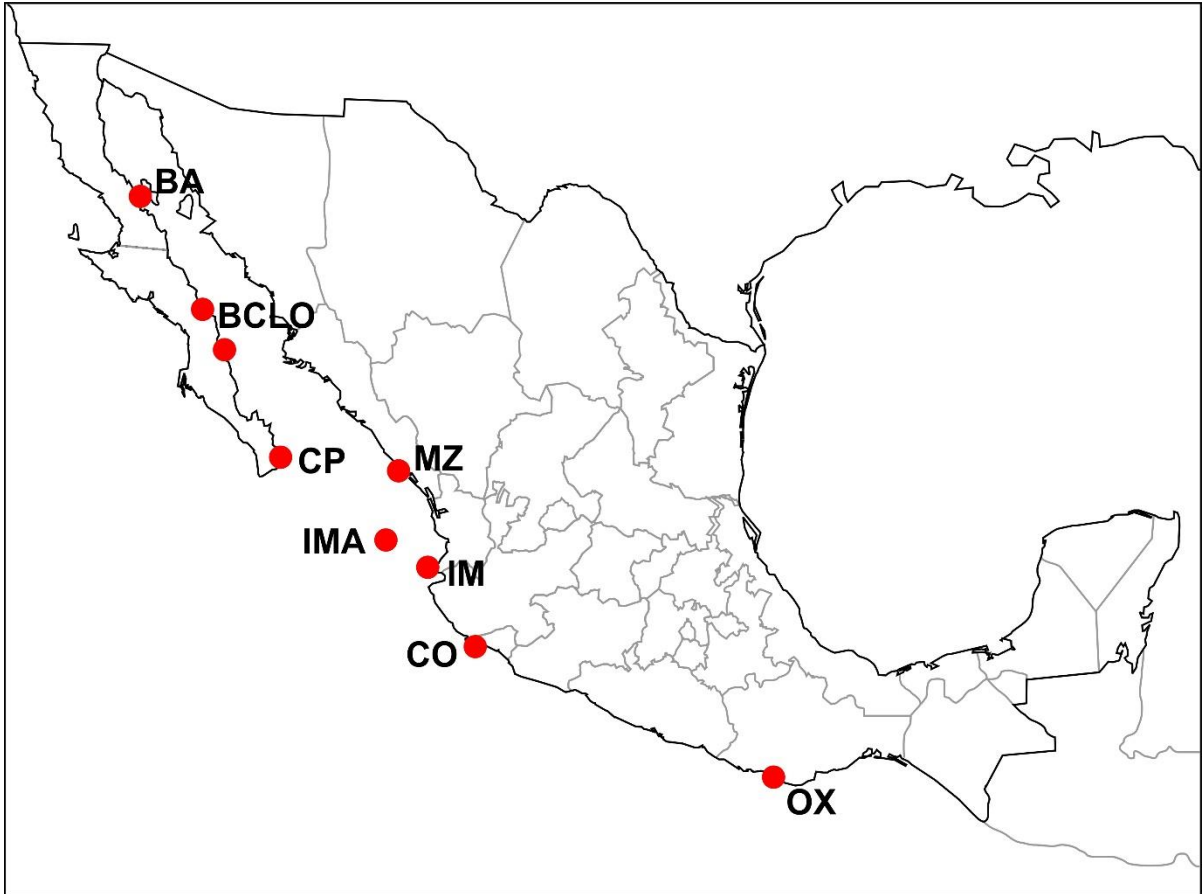


Figura 2. Localidades de muestreo de *Porites panamensis*. Bahía de Los Ángeles (BA), Bahía Concepción-Loreto (BCLO), Cabo Pulmo (CP), Mazatlán (MZ), Islas Mariás (IMA), Islas Marietas (IM), Carrizalez y Playa la Boquita (CO), Bahías de Huatulco (OX).

## 6.2. Trabajo de campo

Las colectas de tejidos fueron realizadas a lo largo de varios años (2007, 2011 y 2013) con un tamaño de muestra promedio de 30 colonias por localidad, tomando en cuenta que cada colonia estuviera separada una de otra por al menos 2 o 3 metros de distancia para evitar la recolección de clones. Una vez colectadas las muestras, se preservaron en una solución salina (DMSO 20%, NaCl saturado y EDTA 250 mM pH 8) para su traslado al laboratorio y posterior análisis.

## 6.3. Trabajo de laboratorio

### 6.3.1.1. Extracción de ADN

Las extracciones de ADN fueron realizadas con los protocolos de Cloruro de Litio (LiCl) y precipitación con cloruro de sodio (NaCl) y etanol (Aljanabi y Martínez, 1997). Se evaluó la concentración y calidad del ADN mediante un espectrofotómetro de micro-volúmenes (Nanodrop Lite, Thermo Science). El ADN obtenido fue puesto en refrigeración a -80° para su preservación. Se realizaron diluciones de ADN con H<sub>2</sub>O estéril a una concentración final de 20ng/μl para la posterior amplificación de genes.

### 6.3.1.2. Amplificación de loci mitocondriales

Por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) se amplificó la región espaciadora no codificante ubicada entre los genes *COI* y el *1Arn* ribosomal del mitogenoma de *P. gigantea* con los cebadores ZFCOXIF (5'-TCT GGT GAG CTC TTT GGG CTC T-3') y ZFtrnar (5'-CGA ACC CGC TTC TTC GGG GC-3') (temperatura de anillamiento 63°) (Luck *et al.*, 2013), además se diseñó un cebador reverso extra (5'-GGC TGT CAA GCY GTG GAG GG-3') con el objetivo de mejorar la calidad de la secuenciación.

Para el caso de *P. panamensis* se probaron 10 pares de cebadores para 10 regiones del mitogenoma, las cuales fueron reportados por Paz-García, *et al.* (2016) como las regiones que presentaban mayor cantidad de sitios polimórficos de un listado total de 30 pares de cebadores (Cuadro 1). Para cada marcador se enviaron a secuenciar 12 individuos para determinar el nivel de polimorfismo. Se realizaron varias pruebas de optimización de las condiciones químicas y térmicas de amplificación, esto se hizo con

los marcadores descritos en la Cuadro1. De los 10 loci mitocondriales, los genes ND1 y COI fueron los que presentaron mayor polimorfismo y por lo tanto los dos genes con los que se realizaron los análisis del presente estudio.

Se realizaron reacciones de PCR con micro-volúmenes de 12.5 µl, cada una incluyó H<sub>2</sub>O estéril, dNTPs (0.2mM), Buffer de PCR Kapa™ (Kapa Biosystems) (10X), cebadores (Forward y Reverse a 0.4 µM), Taq DNA pol Kapa™ (0.5 U), albúmina de suero bovino (BSA 0.0011 mg/ml) y 20 ng totales de ADN molde. Estas reacciones fueron sometidas al siguiente perfil de temperaturas: un periodo inicial de desnaturalización a 95° C por 2 minutos; seguido por 35 ciclos de 30s a 95°C, 30s de la temperatura de anillamiento propia de cada primer (Cuadro1), 60 s a 72°C y una extensión final de 10 min a 72°C de elongación. La calidad y cantidad de los productos de PCR fueron verificadas mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5%, cargando 2 µl de producto de PCR y 2 µl de GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain. El gel fue sometido a una corriente de 85 volts por 45 min para posteriormente ser observado bajo luz UV en un fotodocumentador de geles (Biorad).

Una vez obtenidas las amplificaciones, estas fueron purificadas mediante el protocolo de purificación QIAGEN (QIAquickPCR Purification Kit) para ser sometidas al proceso de secuenciación por BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit en un secuenciador automático ABI 3730 xl (Applied Biosystems, CA.).

Cuadro1. Lista de cebadores utilizados para *P. panamensis*. Tomados de Paz-García, *et al.* (2016).

Nombre de primer	Región del mitogenoma	Posición en el genoma	Secuencia	Temperatura de anillamiento (°C)	Tamaño del producto
01_S	<i>ND1</i>	847-1554	F: CAGGTAACAAAATTGGAGGT R: AGAGCCAACACACAATAGAA	51.74	707
04_I	<i>CytB</i>	1997-2953	F: CTAGTGTTCTTTTGGGGTTT R: CACTGGAGTTACCAACGAG	51.7	956
09_I	<i>ND6-Atp6</i>	5597-6597	F: TTCAAACAAGTCGGTAAAAA R: ATTAAGAGCCCATTTAGCAG	51.5	1000
12_A	<i>ND4-12S rRNA</i>	7318-8356	F: TAGCGGTAAAATTCCTCAA R: AGTGAAAATGTGGCTCCTAA	60	1038
16_N	<i>COIII-COII</i>	9707-10859	F: TGGAATGCTTTTATTTATACTCTC R: CATCCATTTTTACACCCAAG	60	1152
20_Z	<i>ND5-tRNA-Trp-Atp8-COI</i>	12160-13510	F: AGTGCGGGGTCTGTTATT R: ACGTACCAATGTCTTTATGGT	60	1350
24_E	<i>COI</i>	13476-14389	F: GGC GTTTTCTACTAACCATAA R: AGCAGGACAAAGCTCAAA	60	913
26_M	<i>COI</i>	14484-15500	F: ATCAGTGGGAAACTAAGACC R: TACA ACTCCAGTCAAACCAC	60	1016
30_H	<i>16S rRNA</i>	16452-17345	F: TGAAGGAAAGTTGAAAGAGAC R: GCGTTTATTATTATCACCCATC	60	893
33_A	<i>16S rRNA-Nd5</i>	18214-173	F: TTGGTCTGTTTCGTCCATT R: TGTGTCGTAGAAAACTTAAAAC	51.7	609

## **6.4. Análisis de datos**

### **6.4.1.1. Edición y alineamiento de secuencias**

Las secuencias fueron editadas con el programa Codon Code Aligner v7.1.1 (CodonCode corp.). Una vez editadas, las secuencias se exportaron al programa MEGA v7.0.25 (Tamura *et al.*, 2013) para ser alineadas. Para identificación de haplotipos se utilizó el programa DnaSp v5.10.1 (Rozas *et al.*, 2003).

### **6.4.1.2. Estimación de diversidad genética.**

Se identificaron los haplotipos con el uso del programa DnaSp v5.10.1 (Rozas *et al.*, 2003). Se estimó para cada localidad el índice de diversidad haplotípica ( $h$ ), que representa la probabilidad de que dos haplotipos elegidos al azar sean diferentes (Nei, 1987). También se calculó el índice de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), el cual estima la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos elegidos al azar sean diferentes (Nei, 1987). Para realizar este análisis se utilizó el programa Arlequin v3.3.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005).

#### **6.4.1.3. Estructura genética.**

Se realizó un AMOVA global (de sus siglas en inglés: Analysis of Molecular Variance) con el objetivo de probar la hipótesis nula de panmixia entre las localidades de muestreo. Para realizar el AMOVA se generó una matriz de distancias inter-haplotípicas con ayuda del programa MEGA v7.0.25 (Tamura *et al.*, 2013). Para identificar las localidades que aportaron el mayor grado de diferenciación genética se obtuvieron  $\Phi_{ST}$  pareadas, se corrigió el umbral de significancia de los valores  $p$  mediante la corrección secuencial de Bonferroni (Rice, 1989).

#### **6.4.1.4. Relaciones filogenéticas entre haplotipos.**

Se utilizó el programa J-Modeltest (Posada y Crandall, 1998) para determinar el modelo mutacional que mejor se ajustara a las secuencias de ADN y posteriormente se construyeron los árboles filogenéticos para determinar las relaciones filogenéticas entre los haplotipos. Los árboles se construyeron con los métodos de neighbor joining (NJ) y maximum likelihood (ML) con ayuda del programa MEGA v7.0.25 (Tamura *et al.*, 2013). Para enraizar los árboles se utilizaron secuencias ortólogas como grupo externo (ejemplo: *Porites lutea*). Se realizaron 1000 pseudoréplicas de Bootstrap no paramétrico para evaluar la solidez de los clados identificados. Para las reconstrucciones por el método NJ se utilizó el modelo de evolutivo de Hasegawa-Kishino-Yano 1985 (HKY85). Aunado a esto, se evaluaron las relaciones entre los haplotipos mediante una red de haplotipos sin raíz con el uso del programa TCS (Clement *et al.*, 2000).

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Amplificación de genes mitocondriales.

En *P. gigantea* se amplificó exitosamente el intrón COI-rRNA en 24 individuos de los que se obtuvieron 17 secuencias de buena calidad. Se pudo observar que se trataba de una región monomórfica, es decir, que no presentaba variación genética, por lo que no fue útil para llevar a cabo los análisis filogeográficos posteriores.

En *P. panamensis* se logró la amplificación exitosa del gen ND1 en 84 individuos de los que se obtuvieron 66 secuencias de buena calidad para el estudio; mientras que para el gen *COI*, se amplificaron 43 muestras de las cuales 22 secuencias fueron de buena calidad (Cuadro2). El gen ND1 fue el más polimórfico por lo que se decidió darle prioridad y secuenciar un mayor número de organismos.

Cuadro2. Número de secuencias de buena calidad obtenidas para cada gen de *P. panamensis* por localidad.

Localidades	Locus	
	ND1	COI
Concepción-Loreto	11	-
Cabo Pulmo	8	6
Bahía de los Ángeles	2	1
Mazatlán	14	2
Islas Marietas	10	5
Islas Marías	4	-
Colima	8	4
Oaxaca	8	4
<b>TOTAL</b>	<b>65</b>	<b>22</b>

## 7.2. Edición y alineamiento de secuencias.

Después de realizar la edición y alineamiento de secuencias de cada locus, se cortaron los extremos para generar un fragmento del mismo tamaño para todos los individuos. Para el ND1 se obtuvo un alineamiento de secuencias de 514 pb y para el gen *COI* un alineamiento de 523 pb (Cuadro3).

Cuadro3. Estadísticas de los loci amplificados para *P. panamensis*.

Loci	Longitud (pb)	Sitios		
		Conservados	Variables	parsimonia-informativos
ND1	514	497	17	12
COI	523	518	4	1

### 7.3. Estimación de diversidad genética.

El alineamiento del locus ND1 generó 13 haplotipos mientras el locus COI generó sólo 5. Para el locus COI mostró un haplotipo frecuente (COI-1), el cual se encontró en seis de las ocho localidades. La localidad con mayor número de haplotipos fue CP con tres de los cinco encontrados, mientras que los haplotipos COI2, COI4 y COI5 fueron exclusivos de las localidades CP, MZ e IM, respectivamente (Cuadro4 y Figura 3).

Cuadro4. Frecuencias absolutas de los haplotipos de COI por localidad en *Porites panamensis*.

Haplotipo	Localidad					
	BA (n= 1)	CP (n= 6)	MZ (n= 2)	CO (n=4)	IM (n=5)	OX (n=4)
COI-1	1	4		4	3	2
COI-2		1				
COI-3		1			1	2
COI-4			2			
COI-5					1	

Para el caso de ND1, el haplotipo más frecuente (ND-2) se encontró en seis de las ocho localidades. BCLO fue la localidad con mayor cantidad de haplotipos, presentando seis de los 13 totales. Se observaron haplotipos privados en las localidades de MZ (ND1-8), IM (ND1-10), IMA (ND1-11) y OX (ND1-12 y ND1-13) (Cuadro5 y Figura 3).

Cuadro5. Frecuencias absolutas de los haplotipos de ND1 por localidad en *Porites panamensis*.

Haplotipo	Localidad							
	BA (n=2)	BCLO (n=11)	CP (n=8)	MZ (n=14)	IM (n=10)	IMA (n=4)	CO (n=8)	OX (n=8)
ND1-1	1		1				1	
ND1-2	1	2	4	11	4			2
ND1-3		4				1	1	1
ND1-4		2						
ND1-5		2	2	2	2		6	3
ND1-6		1						
ND1-7			1					
ND1-8				1				
ND1-9					3	1		
ND1-10					1			
ND1-11						2		
ND1-12								1
ND1-13								1

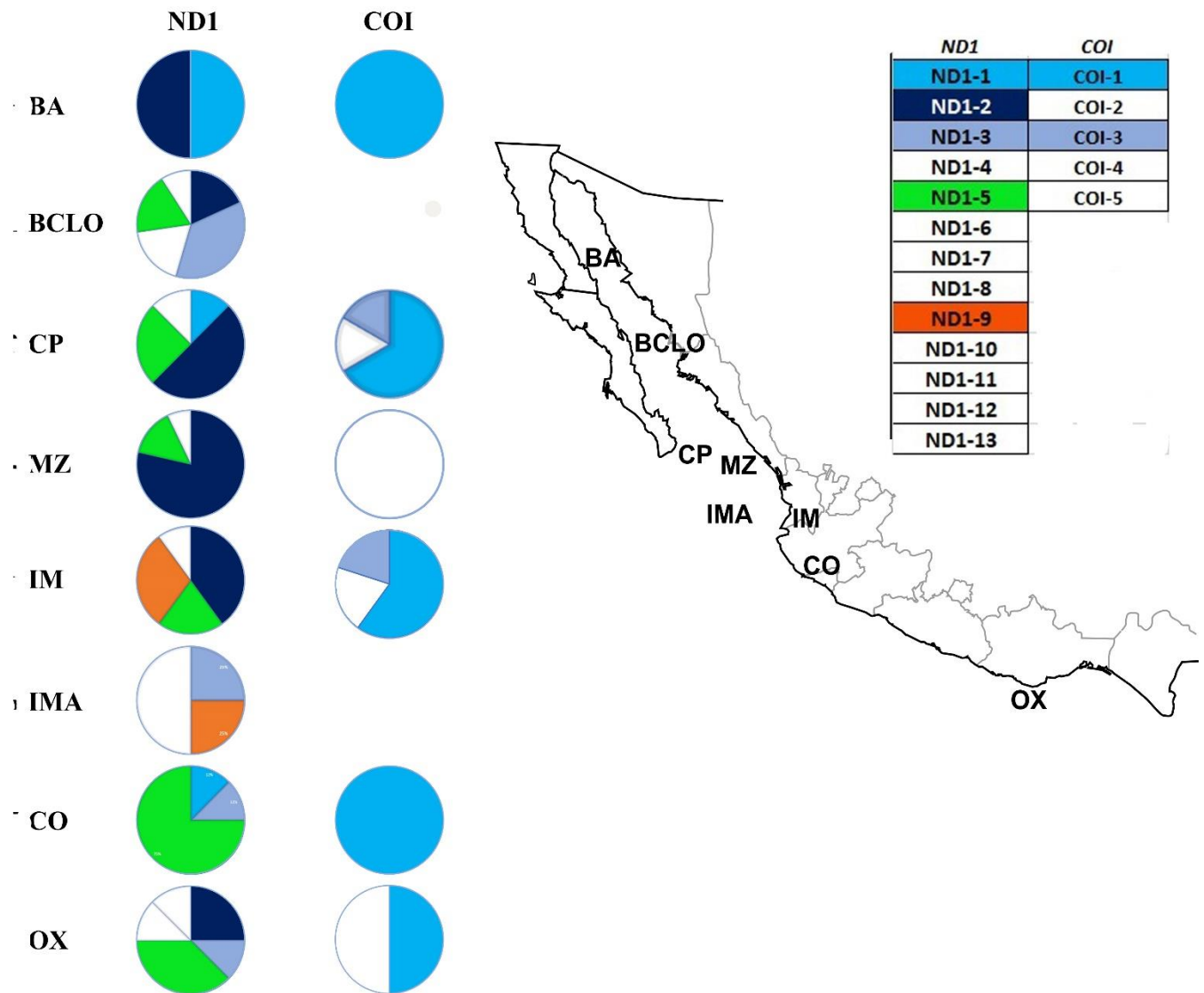


Figura 3. Frecuencias de haplotipos de ND1 y COI en *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano. Los haplotipos compartidos están identificados por color mientras que los privados se encuentran en blanco.

Los valores de diversidad haplotípica ( $h$ ) y nucleotídica ( $\pi$ ) fueron bajos o nulos en el locus *COI*, esto debido al bajo tamaño de muestra y a que probablemente se trate de una región conservada del genoma mitocondrial de *P. panamensis*. La localidad de IM presentó los valores de diversidad más altos:  $h=0.400$  y  $\pi=0.000126$  (Cuadro6).

Para el caso del locus ND1 se obtuvieron valores de  $h$  altos, siendo las localidades de IMA y OX las que presentaron un mayor valor de diversidad haplotípica  $h=0.883$  y  $h=0.857$ , respectivamente, mientras que la más baja fue MZ ( $h=0.384$ ). La localidad con mayor valor de  $\pi$  fue BA ( $\pi= 0.036$ ), mientras que la más baja fue CO ( $\pi= 0.009$ ) (Cuadro6).

Cuadro6. Valores de diversidad genética. Número de haplotipos ( $H$ ), índice de diversidad haplotípica ( $h$ ) e índice de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) por localidad para cada locus de *Porites panamensis*.

Localidad	COI			ND1		
	$H$	$h$	$\pi$	$H$	$h$	$\pi$
BA	-	-	-	2	1.000 ± 0.500	0.036 ± 0.036
BCLO	-	-	-	6	0.836 ± 0.080	0.018 ± 0.010
CP	2	0.333 ± 0.215	0.001 ± 0.0007	5	0.750 ± 0.139	0.019 ± 0.011
MZ	1	0	0	7	0.384 ± 0.149	0.009 ± 0.005
IM	2	0.400 ± 0.237	0.001 ± 0.0007	6	0.777 ± 0.09	0.003 ± 0.002
IMA	-	-	-	3	0.883 ± 0.222	0.032 ± 0.021
CO	1	0	0	5	0.464 ± 0.222	0.009 ± 0.006
OX	1	0	0	6	0.857 ± 0.108	0.024 ± 0.014

#### 7.4. Estructura genética

Los análisis de estructura genética sólo se realizaron con el locus ND1 debido a que el *COI* mostró bajos niveles de polimorfismo intra-específico. Para estandarizar y robustecer el tamaño de muestra de las localidades se agruparon algunas localidades más cercanas geográficamente (ejemplo: BA=2 e IMA=4). Por lo que el AMOVA se realizó con 6 localidades en lugar de 8, en las que la localidad de “Golfo de California” resultó de la unión de las localidades de BA y BCLO y la localidad de “Islas” de la unión de las localidades de IM e IMA. El AMOVA global mostro un  $\Phi_{ST}$  de 0.109 el cual indicó una ligera pero significativa diferenciación entre las localidades (Cuadro7).

Cuadro7. AMOVA global utilizando secuencias del ND1 de *Porites panamensis*.

<b>Fuente de variación</b>	<b>% de variación</b>	<b><math>\Phi_{ST}</math></b>	<b>Valor P</b>
<b>Entre poblaciones</b>	10.99	0.109	< 0.001
<b>Dentro de poblaciones</b>	89.01		

Los  $\Phi_{ST}$  pareadas mostraron diferencias significativas entre MZ y CO después de la corrección secuencial de Bonferroni (Cuadro8).

Cuadro8. Valores pareados de  $\Phi_{ST}$ . Los valores en negritas fueron significativos posterior a la corrección secuencial de Bonferroni.

	GC	CP	MZ	IS	CO	OX
GC	-					
CP	-0.026	-				
MZ	0.165	0.073	-			
IS	0.067	0.047	0.167	-		
CO	0.135	0.069	<b>0.488</b>	0.174	-	
OX	0.003	-0.085	0.145	0.074	0.46	-

### 7.5. Patrones filogeográficos.

La reconstrucción filogenética del locus ND1 de *P. panamensis* mediante el método de neighbor joining (NJ) mostró una topología compleja con valores bajos de bootstrap (<50%). El haplotipo más cercano a la raíz corresponde a secuencias procedentes de la localidad de IMA por lo que podríamos decir que se trata del haplotipo más ancestral. Por otra parte, el haplotipo más derivado corresponde a la localidad de BCLO. En general, se identificaron cinco linajes distribuidos a lo largo del PM (Figura 4)

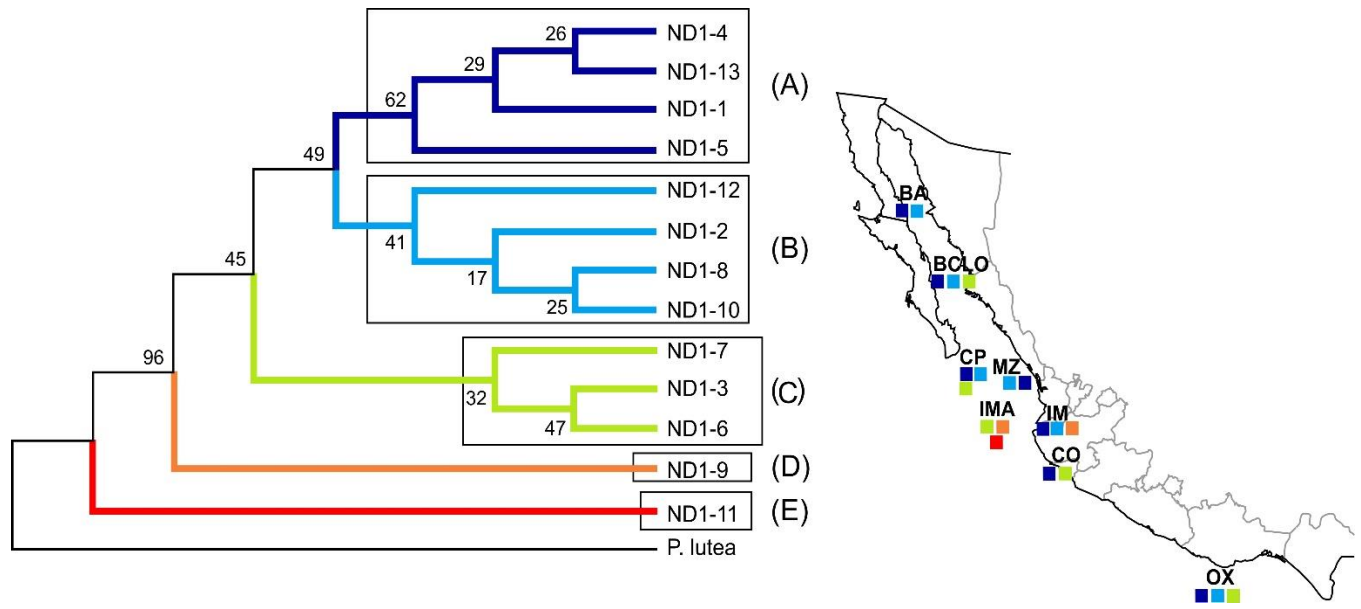


Figura 4. Árbol filogenético neighbor joining utilizando haplotipos del ND1 en *Porites panamensis*, los distintos linajes (A,B,C,D y E) fueron resaltados en colores y letras para ser identificados en el mapa. Valores de bootstrap en los nodos.

En la reconstrucción con el método de Maximum likelihood (ML) utilizando el locus ND1 se encontró una topología similar a la de NJ con valores de bootstrap similares, en donde se puede observar los mismos linajes (A-E) observados en el árbol NJ, así como el mismo haplotipo de IM (ND1-11) como el más cercano a la raíz (Figura 5).

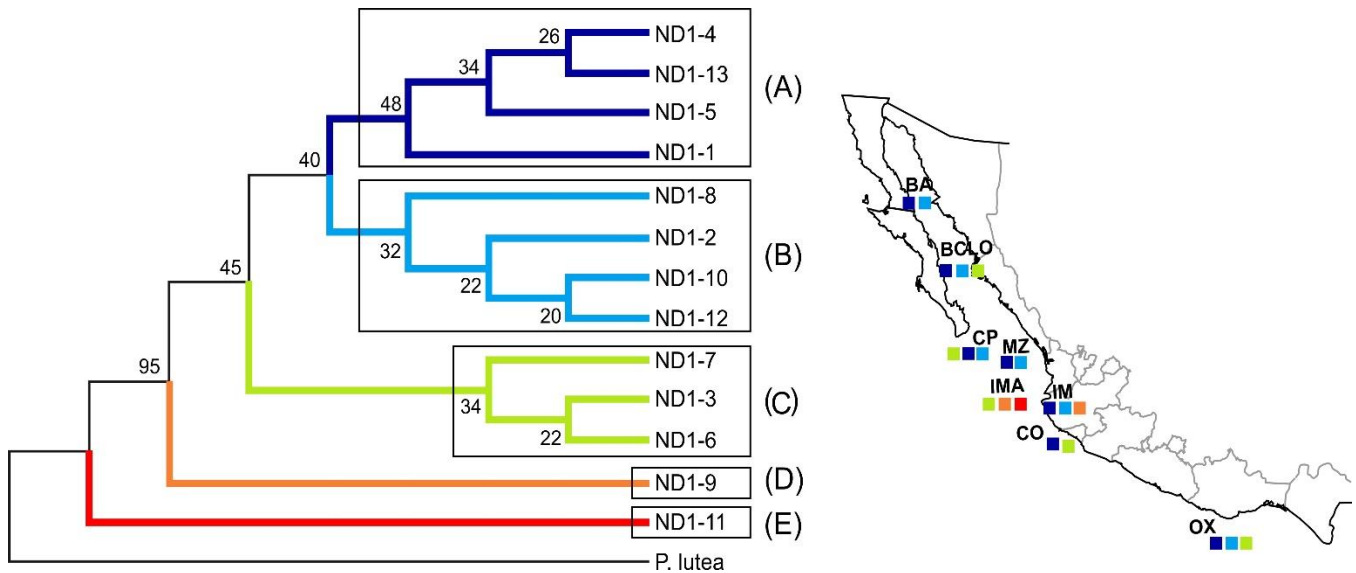


Figura 5. Árbol filogenético Maximum likelihood utilizando haplotipos del ND1 en *Porites panamensis*, los distintos linajes fueron resaltados en colores y letras para ser identificados en el mapa. Valores de bootstrap en los nodos.

Finalmente, se realizaron las reconstrucciones filogenéticas (NJ y ML) con los haplotipos del gen COI, de las cuales se obtuvieron topologías sencillas. En ambas topologías se observan a los haplotipos COI-2 y COI-4 como derivados y que los haplotipos ancestrales son diferentes. El árbol NJ muestra al haplotipo COI-5 de IM como el más ancestral, mientras que en el árbol ML mostró al haplotipo COI-3 de CP, IM, y OX; se identificaron los mismos tres linajes (A, B y C) en ambos métodos de reconstrucción (Figura 6).

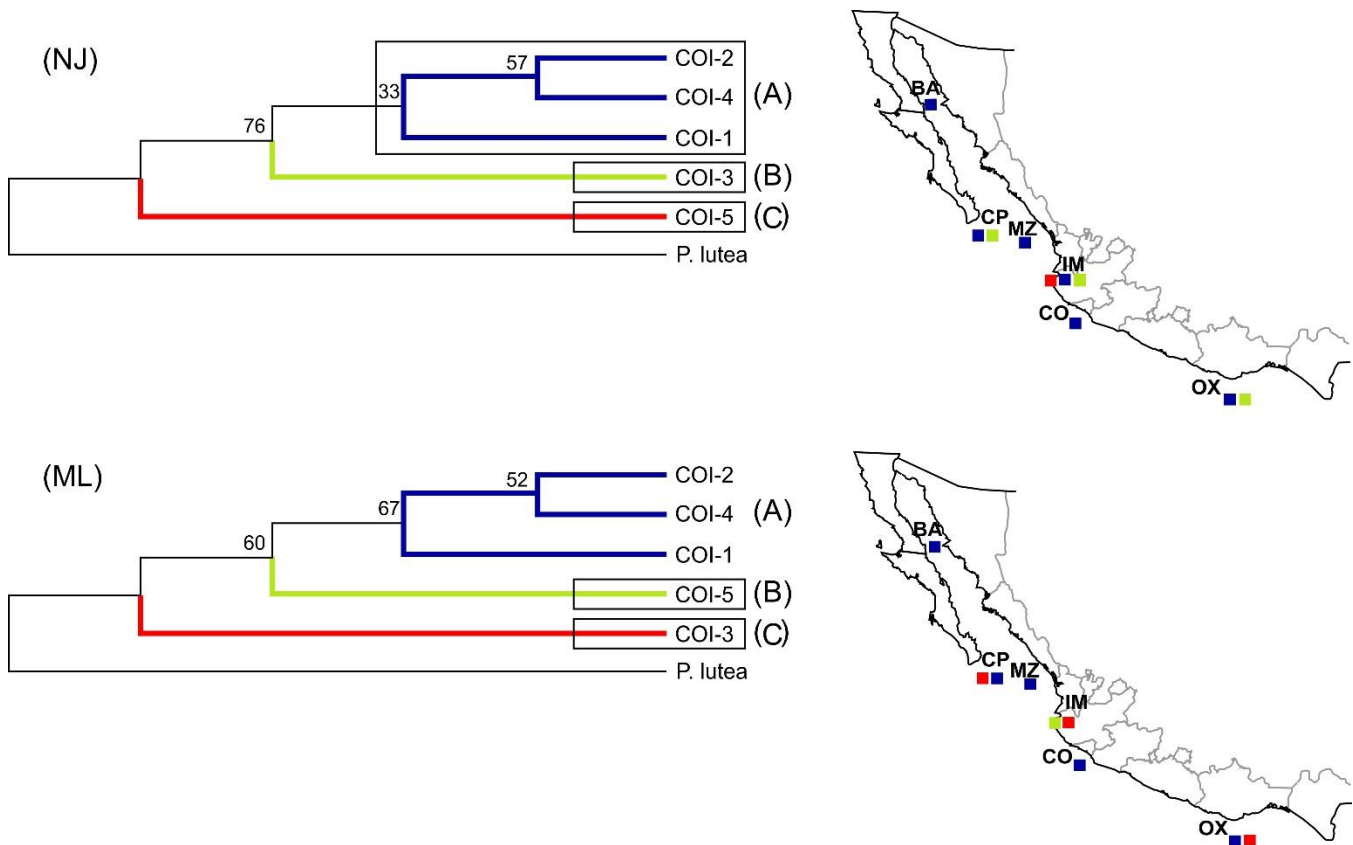


Figura 6. Árboles filogenéticos Neighbor joining y Maximum likelihood utilizando haplotipos del COI en *Porites panamensis*, los distintos linajes fueron codificados con colores y letras para ser identificados en los mapas. Valores de bootstrap en los nodos.

Se obtuvo una red de haplotipos del locus ND1 de *P. panamensis* en donde se muestran 3 tres haplotipos abundantes (ND1-2, ND1-3 y ND1-5), los cuales forman una topología de estrella con el resto de haplotipos. De los principales haplotipos se derivan el resto que son en su mayoría privados. Las diferencias entre los haplotipos se dieron por un único paso mutacional, a excepción de ND1-1, ND1-5 y ND1-11 (Figura 7)

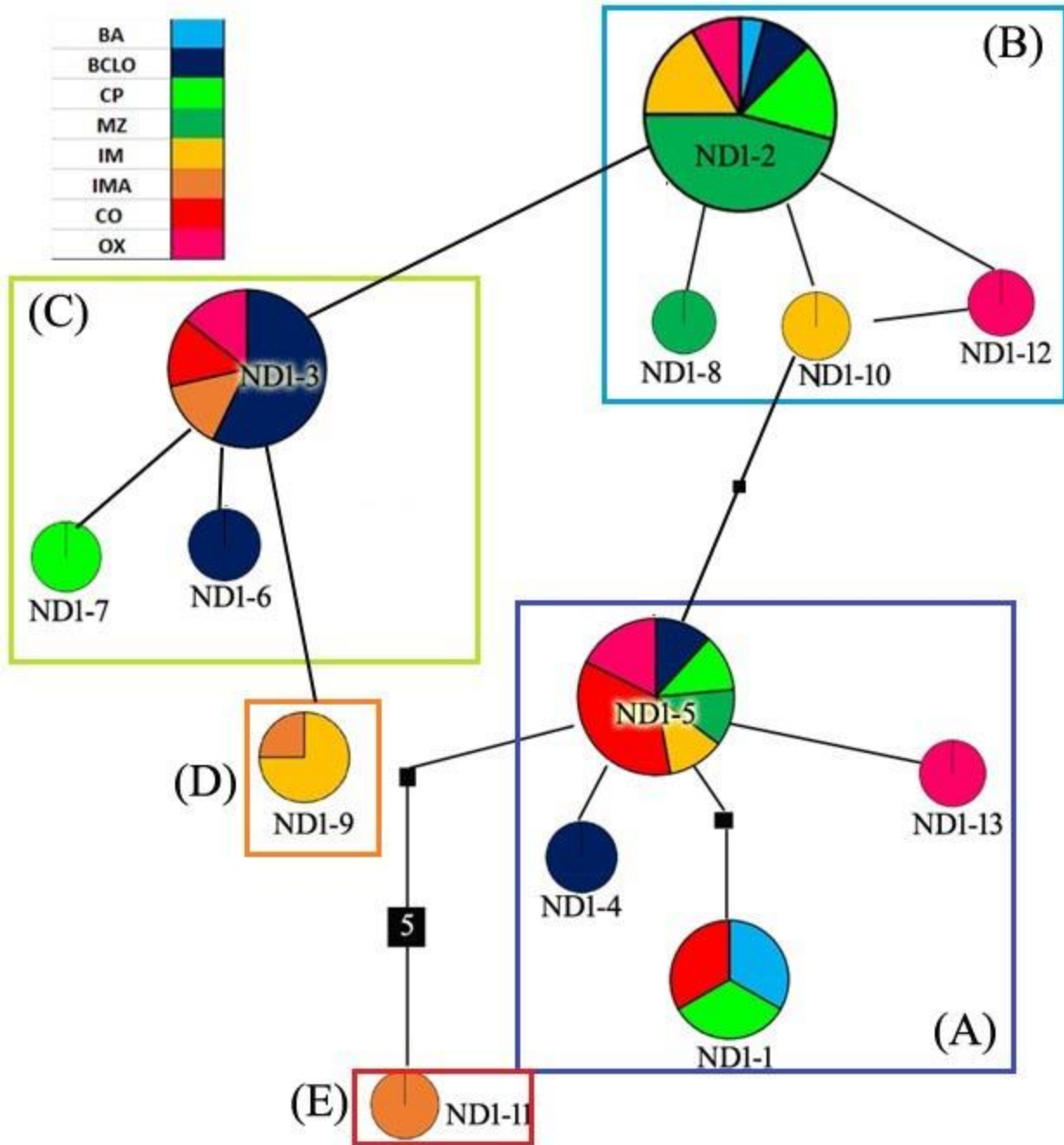


Figura 7. Red de haplotipos del ND1 con los linajes identificados en la reconstrucción filogenética resaltados en cuadros de colores de *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano, los distintos linajes fueron identificados con colores y letras.

Tanto en las reconstrucciones filogenéticas como en la red de haplotipos no se identificó ningún patrón filogeográfico claro, es decir que no se encontró ninguna correspondencia entre la distribución espacial de los linajes génicos y las barreras naturales presentes a lo largo del PM. Sin embargo, la presencia de haplotipos ancestrales de *P. panamensis* en la localidad de Islas Marías concuerda con la hipótesis de dispersión histórica planteadas para dicha especie.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. Diversidad genética mitocondrial en corales hermatípicos

Los niveles de variabilidad genética mitocondrial en las especies de coral hermatípico *Porites panamensis* y *Pavona gigantea* fueron de moderados a nulos. Estos bajos niveles de polimorfismo se deben a que el ADN mitocondrial de cnidarios suele tener bajas tasas mutacionales comparadas con otros metazoarios, estas tasas pueden ser de 50 hasta 100 veces más bajas (Shearer *et al.* 2002; Hellberg, 2006). Una explicación a estos bajos niveles de variabilidad es que los genes mitocondriales están bajo fuertes presiones selectivas, ya que las principales diferencias se observan en niveles supraespecíficos como género o familia. Otra posible explicación es la presencia de mecanismos de reparación de ADN, como genes de reparación de desajustes (mismatch-repair genes), que no se encuentran en metazoarios, por lo que sus tasas mutacionales son bajas (Flot y Tillier, 2007).

La región espaciadora no codificante ubicada entre los genes COI y el 1Arn ribosomal del mitogenoma de *Pavona gigantea* no presentó variación alguna (fue monomórfico), lo que difiere con resultados previos en especies del género *Pavona* y *Leptoseris* (ambos géneros de la familia Agaricidae) del Indo-Pacífico (Luck *et al.* 2013). La razón por la cual

resultó útil para dichas especies y no con *P. gigantea* puede ser debido a que esa parte específica del genoma evolucionó de manera diferente a otros corales del género *Pavona* del Indo-Pacífico.

En el caso de los loci utilizados en *Porites panamensis*, ambos mostraron variación genética, principalmente el ND1, esto se debe a que la variación en el mitogenoma de corales del género *Porites* puede ser de tres a 10 veces más alta que en otros géneros de corales constructores de arrecifes como *Acropora* y *Pocillopora* (Paz-García *et al.*, 2016). Esto a pesar de que tanto *Porites*, como los dos géneros mencionados y junto con *Pavona*, forman parte del grupo filogenético llamado “clado complejo” o “Complex clade”, el cual se caracteriza porque su genoma mitocondrial evoluciona más lento que el “Robust clade” (Generos: *Astrangia*, *Montastraea*, *Copohylia* y *Mussa*) (Chen *et al.*, 2002; Medina *et al.*, 2006).

Los índices de diversidad genética ( $h$  y  $\pi$ ) encontrados en *Porites panamensis* en general fueron bajos. El locus *COI* mostró niveles bajos de polimorfismo consistentes con lo reportado en otros estudios con *Pavona gigantea* (Saavedra-Sotelo, 2007). Mientras que en el locus ND1 mostró índices de diversidad haplotípica relativamente altos. Si bien el ND1 no ha sido empleado antes como marcador en estudios de filogeografía de corales, si se han utilizado regiones similares como las regiones no codificadoras entre los genes que codifican para las subunidades NAD, los cuales mostraron índices de diversidad genética bajos en *Pavona gigantea* (3 haplotipos con intrón NAD3-NAD5) y *Pocillopora verrucosa* (5 haplotipos con intrón NAD5-NAD1) (Saavedra-Sotelo, 2007; Blancas-López, 2009). Por lo tanto, el locus ND1 es más informativo para estudios

intraespecíficos en *P. panamensis* comparado con otros marcadores mitocondriales reportados por Saavedra-Sotelo (2007).

La distribución espacial de los haplotipos de ND1 y COI no mostraron un patrón claro de distribución entre regiones, ya que la mayoría de los haplotipos encontrados en ambos marcadores fueron abundantes en casi todas las localidades. Sin embargo, resalta la presencia de un haplotipo del locus ND1 que solo se comparte entre regiones insulares (IM e IMA), por lo que este patrón concuerda parcialmente con la hipótesis planteada la distribución de linajes respecto a barreras geográficas (Pérez-Vivar *et al.*, 2006).

## **8.2. Moderada estructura genética mitocondrial en *Porites panamensis* del Pacífico mexicano.**

En la evaluación de la estructura genética de *Porites panamensis* se pudo observar una moderada diferenciación poblacional, en donde las localidades de Mazatlán y Colima fueron las que aportaron el mayor grado de diferenciación genética ( $\Phi_{ST} = 0.488$ , MZ vs CO). De acuerdo con estudios previos en la misma especie y región, utilizando marcadores moleculares nucleares, se observa una concordancia parcial en el patrón de diferenciación genética, ya que el grado de diferenciación genética fue marcado con respecto al presente estudio ( $\Phi_{ST} ADNr = 0.726$ ;  $\Phi_{ST} ORF = 0.385$ ;  $F_{ST} aloenzimas = 0.138$ ; Saavedra-Sotelo *et al.* 2013). De acuerdo con el estudio previo, Mazatlán y Carrizales (Colima) mostraron una marcada diferenciación ( $\Phi_{ST} ADNr = 0.809$ ;  $\Phi_{ST} ORF = 0.753$ ) al igual que en el presente estudio; sin embargo, con los marcadores nucleares se encontró un mayor número de diferencias pareadas entre localidades del GC (donde se ubica MZ) y las del continente (donde se ubica CO). Esta concordancia parcial entre

ambos estudios responde a dos factores principalmente: 1) el número de secuencias obtenidas para cada estudio (ND1= 65 vs. ADNr=215, ORF=108, Aloenzimas=139) y 2) las diferencias en los niveles de polimorfismo entre los marcadores utilizados, el gen mitocondrial ND1 utilizado en el presente estudio fue menos polimórfico que los marcadores de ADN nuclear. El mismo patrón fue reportado por Paz-García (2008) quien observó una estructura genética significativa en *P. panamensis* ( $\Phi_{ST}=0.104$ ), en donde las poblaciones del Norte, Centro y Sur del PM se encuentran diferenciadas.

Del mismo modo, se ha reportado que existe estructura genética en el PM en otras especies de corales co-distribuidas, como lo es *Pavona gigantea* y *Pocillopora damicornis* (Saavedra-Sotelo, 2007; Paz-García *et al.*, 2012). En particular para *P. gigantea* se observó un patrón de diferenciación en donde la localidad de Carrizales, Colima, fue la más diferenciada genéticamente. Esto puede deberse a las características hidrológicas de la zona, la cual es caracterizada por eventos de surgencia estacional lo que resulta desfavorable para el reclutamiento de larvas (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2011). Este patrón de diferenciación es similar al encontrado en *P. panamensis* a pesar de ser especies con distintos tipos de reproducción, aunque se ven influenciadas por las mismas condiciones oceánicas.

Las diferencias en la magnitud de la estructura genética en las especies de corales del PM antes mencionadas radican en que cada especie presenta una diferente estrategia reproductiva, esto aunado a las densidades de sus poblaciones, la distancia geográfica entre localidades, la discontinuidad de hábitat y dirección y estacionalidad de las corrientes (de la Rosa-Velez *et al.*, 2000; Paz-García *et al.*, 2008; Saavedra-Sotelo 2013).

Estas diferencias en la estructura genética en base a la estrategia reproductiva se han abordado en diversos estudios en el PM en donde los objetos de estudio han sido corales hermatípicos tanto con fecundación externa o desovadores (spawners) como con fecundación interna o incubadores (brooders). Un ejemplo del primer caso es el estudio de Blancas-López (2009) en el cual se reporta la ausencia de diferencias significativas entre localidades del PM en *Pocillopora verrucosa*, especie que se caracteriza por ser muy abundante y presentar fecundación externa. Por otra parte, Saavedra-Sotelo (2011) encontró un patrón de estructura distinto para *Pavona gigantea*, el cual se caracterizó por presentar altos niveles diferenciación entre localidades, a pesar del hecho de que *P. gigantea* también es una especie con fecundación externa, pero menos abundante que *P. verrucosa*, por lo que su baja conectividad demográfica puede ser atribuida a poca viabilidad de hábitats y a la vulnerabilidad de poblaciones locales. Por último, para el caso de *P. panamensis* se han encontrado patrones en donde hay una marcada diferenciación entre localidades, lo cual es una característica de los corales con fecundación interna (Saavedra-Sotelo, 2013; Paz-García *et al.* 2012).

### **8.3. Filogeografía mitocondrial de *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano**

Tanto las reconstrucciones filogenéticas como la red de haplotipos no mostraron algún patrón de correspondencia geográfica observable. En la reconstrucción filogenética tres de los cinco linajes observados en ND1 fueron de amplia distribución (A, B y C), encontrándose desde Oaxaca hasta localidades del GC como Bahía Concepción-Loreto, mientras que los linajes con los haplotipos más basales (D y E) se distribuyeron en las zonas insulares a la entrada del GC (Islas Marietas e Islas Marías). Este resultado difiere de lo reportado en la misma especie con marcadores nucleares, en donde la

reconstrucción filogenética mostró a los haplotipos más ancestrales dentro del GC (Saavedra-Sotelo, 2013). Esta diferencia en los patrones filogeográficos entre ADNmt y ADNn suelen ser comunes, ya que la molécula de ADNmt se caracteriza por presentar herencia matrilineal y sin recombinación, a diferencia del ADNn; además de que ambos genomas presentan diferencias marcadas en las tasas de mutación (Lanteri y Confalonieri, 2003; Pérez-Ponce de León, 2003). Un patrón similar a *P. panamensis* es el que se observa en *P. gigantea* en el PM con ambos marcadores, en donde la reconstrucción filogenética del locus mitocondrial COI mostró que los haplotipos más ancestrales se encontraban dentro del GC, específicamente en la localidad de La Paz, mientras que la reconstrucción con un locus nuclear (ITS 1-5.8S-2) mostró a los haplotipos ancestrales en la localidad de Bahías de Huatulco (Saavedra-Sotelo, 2007).

A pesar de la falta de concordancia en los patrones filogeográficos entre métodos de reconstrucción, marcadores moleculares y especies, los resultados apoyan diversas hipótesis de colonización de especies de corales hermatípicos en el PM. Una de las hipótesis de colonización reciente es que durante las glaciaciones del Pleistoceno, los corales del Pacífico oriental redujeron su cobertura y algunas especies lograron refugiarse dentro del GC, ya que es probable que este mar no se enfriara drásticamente como el resto del Pacífico (Reyes-Bonilla, 1992; Jacobs et al., 2004). De acuerdo a las reconstrucciones filogenéticas de tres especies de coral del PM utilizando un locus nuclear, las especies *P. panamensis* y *P. verrucosa* mostraron que los haplotipos ancestrales se encuentran dentro del GC, mientras que *P. gigantea* muestra haplotipos basales en zonas insulares (Saavedra-Sotelo, 2013). Aunado a esto, la presencia de haplotipos basales en zonas insulares, tanto en *P. panamensis* de este estudio como *P.*

*gigantea* (Saavedra-Sotelo et al. 2011) concuerda con las hipótesis de dispersión de especies desde el Indo-Pacífico y Pacífico Medio al Pacífico oriental vía zonas insulares como Islas Revillagigedo e Islas Marías (Ketchum y Reyes-Bonilla, 1997; Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Pérez-Vivar et al, 2006).

Los registros fósiles de las dos especies bajo estudio en este trabajo indican que *P. panamensis* es la especie más antigua de las dos (en cuanto a su presencia en el PM). *P. panamensis* posee registros fósiles encontrados en localidades como Isla Tiburón y Bahía Coyote, Baja California Sur, que datan desde el Plioceno tardío hasta el Pleistoceno temprano (~6 Ma), mientras que *P. gigantea* cuenta con registros en el GC e Islas Galápagos que datan del Pleistoceno temprano (~1.5 Ma) (López-Pérez, 2005). Estos registros fósiles son congruentes con los resultados genéticos, lo cual se ve reflejado en la coincidencia de haplotipos ancestrales en las localidades en las que se encuentran estos registros fósiles. Para el caso particular de *P. panamensis*, los haplotipos ancestrales se localizaron en las zonas insulares de Islas Marías e Islas Marietas, lo cual no corresponde completamente con los registros fósiles descritos para esta especie, sin embargo, si se ha corroborado en otros estudios en donde los haplotipos ancestrales de *P. panamensis* se encuentran dentro del GC (Saavedra-Sotelo, 2013). En *P. gigantea* del presente estudio no se realizó una reconstrucción filogenética, pero de la misma forma que *P. panamensis*, existen estudios en donde existe correspondencia entre el registro fósil y los haplotipos ancestrales de las reconstrucciones filogenéticas (Saavedra-Sotelo, 2007). Esta correspondencia entre datos fósiles y datos genéticos sirven para darle solidez a las diversas hipótesis de dispersión histórica que existen para estas especies.

## 9. CONCLUSIÓN

Los marcadores de ADNmt utilizados mostraron una menor variabilidad en comparación con marcadores nucleares de estudios previos en las mismas especies y región. En este estudio se demostró que por lo menos para la especie de *Porites panamensis*, el ADNmt es adecuado para estudios de filogeografía, a pesar de que no lo ha sido para otras especies de corales como *Pavona gigantea*. Asimismo, se observó mayor diversidad genética en *P. panamensis* que en *P. gigantea*, a pesar de que se esperaba encontrar lo opuesto debido a las diferencias en las estrategias reproductivas.

No se encontró ningún patrón de correspondencia geográfica en las reconstrucciones filogenéticas de *P. panamensis*, sin embargo, la presencia de los haplotipos ancestrales en las zonas insulares de IM e IMA concuerdan con la hipótesis de dispersión histórica que indica que la fauna coralina del Indo-Pacífico y Pacífico Medio colonizó el Pacífico Oriental a través de las zonas insulares.

El patrón de estructura genética encontrado en *P. panamensis* con el marcador mitocondrial ND1 concuerda con las barreras geográficas presentes en el GC y PM ya que se detectó una ruptura genética entre la entrada del GC y el Pacífico tropical mexicano (MZ vs CO).

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aljanabi, S. M. y Martinez, I. (1997) 'Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques', *Nucleic Acids Research. Oxford University Press*, 25(22), pp. 4692–4693.

Awise, J. C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press.*

Blancas-López, A. (2009) 'Conectividad demográfica de *Pocillopora verrucosa* En el Pacífico Mexicano', *Tesis de maestría*, Centro de Investigación y Estudios Superiores de Ensenada, Baja California, México.

Cabrera-Tena, R., Cabral-Tena, R. A., Reyes-Bonilla, H., Lluch-Cota, S., Paz-García, D. A., Calderón-Aguilera, L. E., Norzagaray-López, O., & Balart, E. F. (2013) 'Different calcification rates in males and females of the coral *Porites panamensis* in the Gulf of California', *Marine Ecology Progress Series*, 1(476), pp. 1–8.

Carlson, D. B. (1999) 'The evolution of mating systems in tropical reef corals', *Trends in Ecology & Evolution*, 14(12), pp. 491–495.

Carriquiry, J. D. Cupul-Magaña, A. L., Rodríguez-Zaragoza, F., & Medina-Rosas, P. (2001) 'Coral bleaching and mortality in the Mexican Pacific during the 1997–98 El Niño and prediction from a remote sensing approach', *Bulletin of Marine Science*, 69(1), pp. 237–249.

Chen, C. A., Wallace, C. C. y Wolstenholme, J. (2002) 'Analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene supports a two-clade hypothesis of the evolutionary history of scleractinian corals',

*Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23(2), pp. 137–149.

Clement, M., Posada, D. y Crandall, K. A. (2000) 'TCS: a computer program to estimate gene genealogies', *Molecular Ecology*, 9(10), pp. 1657–1659.

Combosch, D. J. *et al.* (2008) 'Interspecific hybridization and restricted trans-Pacific gene flow in the Tropical Eastern Pacific Pocillopora', *Molecular Ecology*, 17(5), pp. 1304–1312.

De la Rosa-Velez, J. *et al.* (2000) 'Genetic structure of two commercial penaeids (*Penaeus californiensis* and *P. stylirostris*) from the Gulf of California, as revealed by allozyme variation', *Fishery Bulletin*, 98(4), pp. 674-683.

Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. (2009) 'Filogeografía: Aplicaciones en taxonomía y conservación', *Animal Biodiversity and Conservation*, 32(1), pp. 59–70.

Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. (2005) 'Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis', *Evolutionary bioinformatics online*. Libertas Academica, 1, p. 47.

Flot, J. F. y Tillier, S. (2007) 'The mitochondrial genome of Pocillopora (Cnidaria: Scleractinia) contains two variable regions: The putative D-loop and a novel ORF of unknown function', *Gene*, 401(1-2), pp. 80–87.

Folke, C. *et al.* (2000) 'Coral reef disturbance and resilience in a human-dominated environment', *Trends in Ecology and Evolution*, 15(10). pp.413-417.

Forsman, Z. (2003) Phylogeny and Phylogeography of Porites & Siderastrea ( *Scleractinia* : *Cnidaria* ) Species in The Caribbean and Eastern ( *Tesis Doctoral* ) Univesity of Houston, Estados Unidos.

Forsman, Z. H. Barshis, D. J., Hunter, C. L., & Toonen, R. J. (2009) 'Shape-shifting corals : Molecular markers show morphology is evolutionarily plastic in *Porites*', *BMC Evolutionary Biology*, 9(45), pp. 1–9.

Glynn, P.W. Colley, S. B. Eakin C.M. Smith D.B. Cortes, J., Gassman, N.J., Guzmfin,H.M. , Del Rosari, J.B. (1994) 'Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panamá and Galápagos Island (Ecuador). II. Poritidae', *Marine Biology*, 118(2). pp. 191–208.

Glynn, P.W.,Colley, S.B. Gassman, N.J. Black, K. Cortés, J. Maté, J. (1996) 'Reef coral reproduction in the eastern Pacific : Costa Rica , Panama , and Galapagos Islands ( Ecuador ). II1 . Agariciidae', *Marine Biology*, 125(3)pp. 579–601.

Glynn, P. W. y Ault, J. S. (2000) 'A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region', *Coral Reefs*, 19(1), pp. 1–23.

Glynn, P. W., Veron, J. E. N. and Wellington, G. M. (1996) 'Coral Reefs Clipperton Atoll ( eastern Pacific ): oceanography , geomorphology , reef-building coral ecology and biogeography', *Coral Reefs*, pp. 71–99.

Glynn, P. W. y Wellington, G. M. (1983) 'Corals and coral reefs of the Galápagos Islands'. *University of California Press*.

Hellberg, M. E. (2006) 'No variation and low synonymous substitution rates in coral mtDNA despite high nuclear variation', *BMC Evolutionary Biology*, 6(1), p.24 .

Hughes, T. P. y Connell, J. H. (1999) 'Multiple stressors on coral reefs: A long-term perspective', *Limnology and Oceanography*, 44(3.2), pp. 932–940.

Jacobs, D. K., Haney, T. A. y Louie, K. D. (2004) 'Genes, Diversity, and Geologic Process on

the Pacific Coast', *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 32(1), pp. 601–652.

Jiménez-Centeno, C. E. León, A., & Ruíz, E (2001) 'Coral bleaching and mortality associated with the 1997-98 El Niño in an upwelling environment in the Eastern Pacific (Gulf of Papagayo, Costa Rica).', *Bulletin of Marine Science*, 69(1), pp. 151–169.

Jones, A. M., Berkelmans, R., van Oppen, M. J., Mieog, J. C., & Sinclair, W. (2008) 'A community change in the algal endosymbionts of a scleractinian coral following a natural bleaching event: field evidence of acclimatization.', *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 275(1641), pp. 1359–65.

Ketchum, J. T. y Reyes-Bonilla, H. (1997) 'Biogeography of hermatypic corals from the Revillagigedo Archipelago, Mexico', *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium, Panama*, pp. 471–476.

Knowlton, N. (2001) 'Coral reef biodiversity–habitat size matters', *Science*, 292(5521), pp. 1493–1495.

Lanteri, A. A. y Confalonieri, V. (2003) 'Filogeografía: Objetivos, métodos y ejemplos: Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía' *Facultad de Ciencias, UNAM, México*, pp.186-193.

León-Pech, M. G. , Cruz-Barraza, J. A., Carballo, J. L., Calderon-Aguilera, L. E., & Rocha-Olivares, A. (2015) 'Pervasive genetic structure at different geographic scales in the coral-excavating sponge *Cliona vermifera* (Hancock, 1867) in the Mexican Pacific', *Coral Reefs*, 34(3), pp. 887–897.

López-Pérez, A. (2005) 'The Cenozoic hermatypic corals in the eastern Pacific: History of

research The Cenozoic hermatypic corals in the eastern Pacific: History of research', *Earth-Science Reviews*, 72(1-2), pp. 67-87.

Luck, D. G. *et al.* (2013) 'Polyphyly and hidden species among Hawaii's dominant mesophotic coral genera, *Leptoseris* and *Pavona* (Scleractinia: Agariciidae)', *PeerJ*, 1, p. e132.

McCoy, E. y Heck, K. (1976) 'Society of Systematic Biologists Biogeography of Corals , Seagrasses and Mangroves: An Alternative to the Center of Origin', *Society of Systematics Biologist*, 25(3), pp. 201–210.

Medina, M. Collins, A. G., Takaoka, T. L., Kuehl, J. V., & Boore, J. L. (2006) 'Naked corals: Skeleton loss in Scleractinia', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(24), pp. 9096–9100.

Nei, M. (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.

Paz-García, D.A. Correa-Sandoval, F. Chávez-Romo, H.E. Reyes-Bonilla, H. López-Pérez, R.A. Medina-Rosas, P. Hernández-Cortés, M. P. (2008) 'Genetic structure of the massive coral *Porites panamensis* ( Anthozoa : Scleractinia ) from the Mexican Pacific', *Proc 11th Int Coral Reef Symp*, pp.449-453.

Paz-García, D. A., Chávez-Romo, H. E., Correa-Sandoval, F., Reyes-Bonilla, H., López-Pérez, A., Medina-Rosas, P., & Hernández-Cortés, M. P. (2012) 'Genetic Connectivity Patterns of Corals *Pocillopora damicornis* and *Porites panamensis* ( Anthozoa : Scleractinia ) Along the West Coast of Mexico', *BioOne research Evolved*, 66(1), pp. 43-61.

Paz-García, D. A., Galván-Tirado, C., Alvarado, J. J., Cortés, J., García-De-León, F. J., Hellberg, M. E., & Balart, E. F. (2016) 'Variation in the whole mitogenome of reef-building *Porites* corals',

*Conservation Genetics Resources*, 8(2) pp.123-127.

Pérez-Ponce de León, G. (2003) 'Una perspectiva latinoamericana de la Biogeografía: Las prensas de ciencias', *Acta Zoológica Mexicana*, (90), pp. 315–318.

Pérez-Vivar, T.L , Reyes-Bonilla, H, Padilla, C. (2006) 'Corales pétreos (Scleractinia) de las Islas Marías, Pacífico de México', *Ciencias Marinas*, 32(2), pp. 259–270.

Pertoldi, C., Bijlsma, R. y Loeschcke, V. (2007) 'Conservation genetics in a globally changing environment: Present problems, paradoxes and future challenges', *Biodiversity and Conservation*, 16(14), pp. 4147–4163.

Posada, D. y Crandall, K. A. (1998) 'Modeltest: testing the model of DNA substitution', *Bioinformatics*, 14(9), pp. 817–818.

Reyes-Bonilla, H. (1992) 'New Records for Hermatypic Corals (Anthozoa, Scleractinia) in the Gulf-of-California, Mexico, with an Historical and Biogeographical Discussion', *Journal of Natural History*, 26(6), pp. 1163–1175.

Reyes-Bonilla, H., Carriquiry, J., Leyte-Morales, G., & Cupul-Magaña, A. (2002) 'Effects of the El Niño-Southern Oscillation and the Anti-El Niño event ( 1997-1999 ) on coral reefs of the western coast of Mexico, *Coral Reefs*, 21(4) pp.368-372.

Reyes-Bonilla, H., González-Romero, S., Cruz-Piñón, G., y Calderón-Aguilera, L. E. (2007). Corales pétreos. *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad. Línea base*, pp.291-317.

Reyes-Bonilla, H. y López-Pérez, A. (1998) 'Biogeografía de los corales pétreos (Scleractinia) del Pacífico Mexicano.', *Ciencias Marinas*, 24(2), pp. 211–214.

Reyes-Coca, S. y Troncoso-Gaytán, R. (2001) “El Niño Oscilación del Sur” y los fenómenos hidrometeorológicos en Baja California: el evento de 1997/98’, *Ciencia pesquera*, 15(15), pp. 89–96.

Rice, W. R. (1989) ‘Analyzing tables of statistical tests’, *Evolution*, 43(1), pp. 223–225.

Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X., & Rozas, R. (2003) ‘DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods’, *Bioinformatics*, 19(18), pp. 2496–2497.

Saavedra-Sotelo, N. C. (2007) ‘Estructura y flujo genético de *Pavona gigantea* (Anthozoa: Scleractinia) en las costas del Pacífico mexicano. *Tesis de Maestría*. Centro de Investigación y Estudios Superiores de Ensenada, Baja California, México.

Saavedra-Sotelo, N. C., Calderón-Aguilera, L. E., Reyes-Bonilla, H., López-Pérez, R. A., Medina-Rosas, P., & Rocha-Olivares, A. (2011) ‘Limited genetic connectivity of *Pavona gigantea* in the Mexican Pacific’, *Coral Reefs*, 30(3), pp. 677–686.

Saavedra-Sotelo, N. C. (2013) ‘Viviendo en el límite: evaluación del efecto de hábitats marginales en la diversidad y diferenciación genética de corales hermatípicos en el Golfo de California y el Pacífico mexicano’, *Tesis doctoral*. Centro de Investigación y Estudios Superiores de Ensenada, Baja California, México.

Shearer, T.L Van Oppen, J.H Romano, S.L Worheide, G. (2002) ‘Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa ( Cnidaria )’, *Molecular Ecology*, (11), pp. 2475–2487.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013) ‘MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0’, *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), pp. 2725–

2729.

Van Oppen, M. J. H. y Gates, R. D. (2006) 'Conservation genetics and the resilience of reef-building corals', *Molecular Ecology*, 15(13), pp. 3863–3883.

Veron, J. E. N. (2000) 'Corals of the World, vol. 1–3', *Australian Institute of Marine Science, Townsville*.

Wei, N.-W. V., Wallace, C.C., Feng-Dai, C., Moothien-Pillay, K.R., Chen, C.A., (2006) 'Analyses of the ribosomal internal transcribed spacers (ITS) and the 5.8 S gene indicate that extremely high rDNA heterogeneity is a unique feature in the scleractinian coral genus *Acropora* (Scleractinia; Acroporidae)', *Zoological Studies*, 45(3), pp. 404–418.